

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA**

**Desenvolvimento e Avaliação *In Vitro* de
um Cimento de Fosfato de Cálcio**

Autora: Claudenete Vieira Leal

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cecília A. Carvalho Zavaglia

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS**

Desenvolvimento e Avaliação *In Vitro* de um Cimento de Fosfato de Cálcio

Autora: Claudenete Vieira Leal

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cecília Amélia de Carvalho Zavaglia

Curso: Engenharia Mecânica

Área de Concentração: Materiais e Processos de Fabricação

Dissertação de mestrado apresentada à comissão de Pós Graduação da Faculdade de Engenharia Mecânica, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Mecânica.

Campinas, 2006

S.P. – Brasil

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

UNIDADE BC
Nº CHAMADA TI/UNICAMP L473d
L473d
V EX
TOMBO BC/ 71420
PROC. 16.145-02
C D X
PREÇO 1100
DATA 13-02-07
BIB-ID 400408

Leal, Claudenete Vieira

Desenvolvimento e avaliação *In Vitro* de um cimento de Fosfato de Cálcio / Claudenete Vieira Leal. --
Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientador: Cecília Amélia de Carvalho Zavaglia
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica.

1. Fosfato de Cálcio. 2. Cerâmica em medicina. 3.
Material biomédico. I. Zavaglia, Cecília Amélia de
Carvalho. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia Mecânica. III. Título.

Título em Inglês: Development and *In Vitro* evaluation of a Calcium Phosphate cement

Palavras-chave em Inglês: Calcium Phosphate, Ceramics in medicine, Biomedical
materials

Área de concentração: Materiais e Processos de Fabricação

Titulação: Mestre em Engenharia Mecânica

Banca examinadora: Célia Marina Alvarenga Freire e Luis Alberto dos Santos

Data da defesa: 17.03.2006

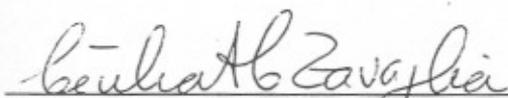
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Desenvolvimento e Avaliação *In Vitro* de
um Cimento de Fosfato de Cálcio**

Autora: Claudenete Vieira Leal

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cecília Amélia de Carvalho Zavaglia



Prof^a. Dr^a. Cecília A. C. Zavaglia, Presidente
Universidade Estadual de Campinas – FEM



Prof^a. Dr^a. Célia Marina Alvarenga Freire
Universidade Estadual de Campinas – FEM



Prof. Dr. Luis Alberto dos Santos
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

A minha família, principalmente ao
Campinas, 17 de março de 2005. e à
nossa filhinha que está chegando...

000708676

Dedico,

**À minha família, principalmente ao
Maurício e à
nossa filhinha que está chegando...**

Agradecimentos

À Profª. Drª. Cecília Amélia de Carvalho Zavaglia, pela oportunidade, orientação, apoio e confiança,

Ao Prof. Dr. Raúl García Carrodéguas pela ajuda importantíssima e fundamental nesse trabalho,

Aos Professores da Faculdade de Engenharia Mecânica/Departamento de Engenharia de Materiais pela oportunidade de continuar estudando,

À Profª. Drª. Eliana Rigo por ter me recebido e me ajudado na UFSCAR,

Aos funcionários e alunos da Faculdade de Engenharia Mecânica/Departamento de Engenharia de Materiais pela ajuda, apoio e compreensão durante o desenvolvimento do trabalho, em especial à Vanessa, Mariana, Emília, Rita, José Luis.

*As coisas que amamos,
as pessoas que amamos,
são eternas até certo ponto.
Duram o infinito variável
no limite de nosso poder
de respirar a eternidade.*

Carlos Drumond de Andrade

Resumo

LEAL, Claudenete Vieira. *Desenvolvimento e Avaliação In Vitro de um Cimento de Fosfato de Cálcio*, Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2006. 82p. Dissertação (Mestrado).

Os cimentos ósseos a base de fosfato de cálcio são materiais cerâmicos que apresentam biocompatibilidade devido a sua composição química semelhante à dos ossos, e bioatividade, promovendo a osteocondução. Com essas características, é possível a utilização desses materiais como implantes ósseos ou como preenchimento. Os cimentos de fosfato de cálcio são materiais constituídos por um pó e um líquido, que, ao serem misturados formam uma pasta que endurece espontaneamente à temperatura ambiente ou corpórea como resultado da precipitação de um ou vários fosfatos de cálcio. O pó pode ser composto por um ou vários fosfatos de cálcio, outros sais de cálcio e aditivos orgânicos. O líquido pode ser água ou soluções aquosas de compostos de cálcio ou fosfato. A proposta desse trabalho foi estudar a síntese de monolitos de fosfatos de cálcio baseado no sistema β -Fosfato Tricálcio/Ácido Fosfórico (β -TCP/ H_3PO_4), que produz hidrogeno fosfato de cálcio dihidratado (DCPD), um cimento de fosfato de cálcio que possui como principal vantagem baixo custo e a desvantagem de possuir pH ácido, podendo causar necrose em tecidos. Para contornar esse problema, o DCPD foi convertido em apatita pela hidrólise em solução alcalina. O estudo envolveu a síntese do β -TCP, a preparação do cimento, caracterizações físicas e químicas e o estudo do cimento em Fluido Corpóreo Simulado (FCS), solução que simula o plasma sanguíneo humano, para avaliar seu comportamento *in vitro*.

Palavras-chave: Biomateriais, Biocerâmicas, Cimento Ósseo, Fosfato de Cálcio

Abstract

LEAL, Claudenete Vieira. *Desenvolvimento e Avaliação In Vitro de um Cimento de Fosfato de Cálcio*, Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2006. 82p. Dissertação (Mestrado).

Calcium phosphate bone cements are ceramics materials that present biocompatibility because of their chemical composition similar to the human bone, and bioactivity, promoting osteoconduction. Due to these characteristics, it is possible the use of these materials as bone implants. Calcium phosphate cements are composed of a powder and liquid phases, which, when mixed form a paste that hardens spontaneously as result of the precipitation of one or more calcium phosphates. The powder may be composed of one or some calcium phosphates, others salts and organics additives. The liquid may be water or calcium phosphates aqueous solutions. The purpose of this work is the synthesis of calcium phosphate monoliths based on β -tricalcium phosphate/ortho-phosphoric acid (β -TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2/\text{H}_3\text{PO}_4$), that produce dicalcium phosphate dehydrate (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) as phase precipitated as a result of the setting reaction. DCPD is inexpensive, but is quite soluble and has an acidic hydrolysis, which may cause necrosis in vivo. To resolve this problem, DCPD was converted in apatite phase by hydrolysis in NaOH aqueous solution. This study included β -TCP synthesis, cement preparation, chemical and physical characterizations and the study of the cement in Simulated Body Fluid (SBF), with ion concentrations nearly equal to those of human blood plasma, to evaluate the *in vitro* behavior.

Key words: Biomaterials, Bioceramics, Bone Cement, Calcium Phosphate

Índice

Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	vii
Nomenclatura	viii
Abreviações	x
1. Introdução	1
1.1. Objetivo	3
2. Revisão da Literatura	4
2.1. Biomateriais	4
2.1.1. Classificação dos Biomateriais	6
2.2. Biocerâmicas	7
2.2.1. Classificação das Biocerâmicas	8
2.2.1.1. Segundo o tipo de resposta ao tecido	8
2.2.1.2. Segundo sua aplicação	9
2.2.1.3. Segundo as características do material (De Groot, 1991)	9
2.3. Apatitas Biológicas	9
2.4. Estrutura Óssea	11
2.5. Biocerâmicas de Fosfatos de Cálcio	14
2.6. Fosfatos de Cálcio	16
2.6.1. Fosfatos de Cálcio de Baixa Temperatura	18
2.6.1.1. Hidrogeno Fosfato de Cálcio Dihidratado (DCPD)	18
2.6.1.2. Fosfato Octacálcio (OCP)	19

2.6.1.3. Hidroxiapatita Deficiente de Cálcio (CDHA)	20
2.6.1.4. Diidrogeno Fosfato Monocálcio Monohidratado (MCPM)	20
2.6.1.5. Hidrogeno Fosfato de Cálcio (DCP)	20
2.6.2. Fosfatos de Cálcio de Alta Temperatura	21
2.6.2.1. Hidroxiapatita (HA)	21
2.6.2.2. Fosfato Tricálcio (TCP)	21
2.6.2.3. Diidrogeno Fosfato Monocálcio (MCP)	21
2.6.2.4. Fosfato Tetracálcio (TetCP)	22
2.7. Cimentos Ósseos de Fosfato de Cálcio (CFC)	22
2.7.1. Cimento de DCPD	25
2.7.2. Transformação de DCPD am Apatita	26
2.8. Aplicação de CFC como substituto ósseo em Prototipagem Rápida em	27
Medicina	
3. Materiais e Métodos	30
3.1. Materiais Utilizados	33
3.2. Síntese de β -Fosfato Tricálcio (β -TCP) (Slosarczyk <i>et al.</i> , 1996)	33
3.3. Preparo do cimento de fosfato de cálcio (DCPD) (Bohner <i>et al.</i> , 1993)	35
3.4. Hidrólise do cimento de DCPD/ β -TCP	37
3.4.1. Hidrólise do cimento de DCPD/ β -TCP em formato de cilindros e	37
discos	
3.4.2. Hidrólise do cimento de DCPD/ β -TCP em pó	37
3.5. Estudo <i>In Vitro</i> do cimento	37
3.6. Métodos de Caracterização	38
3.6.1. Tempo de Pega	38
3.6.2. Tamanho de Partículas	39
3.6.3. Difração de Raios X	40
3.6.4. Microscopia Eletrônica de Varredura	41
3.6.5. Resistência Mecânica	42
3.6.6. Porosimetria de Mercúrio	43
3.6.7. Picnometria de Hélio (Webb, 2001)	44
3.6.8. Análise de Infravermelho	45

4. Resultados e Discussões	46
4.1. Síntese e Caracterização do β -TCP	46
4.1.1. Difração de Raios X	46
4.1.2. Análise Granulométrica	48
4.2. Caracterização do cimento de DCPD/ β -TCP	49
4.3. Transformação do DCPD em CDHA e OCP	51
4.3.1. Cimento de DCPD/ β -TCP após 48 horas de hidrólise	51
4.3.2. Cimento DCPD/ β -TCP após 6 horas de hidrólise	59
4.3.3. Cimento DCPD/ β -TCP após 24 horas de hidrólise	60
4.3.4. Cimento DCPD/ β -TCP após 72 horas de hidrólise	62
4.3.5. Análise de Infravermelho	63
4.3.6. Resistência à Compressão	65
4.4 Transformações em Fluido Corpóreo Simulado (FCS)	67
4.4.1. Caracterizações	67
5. Conclusões e Sugestões para Próximos Trabalhos	72
Referências Bibliográficas	74

Lista de Figuras

Figura 2.1. Ilustração de osso do crânio mostrando osso compacto e osso esponjoso.	12
Figura 2.2. Ilustração do osso esponjoso mostrando rede de trabéculas.	13
Figura 2.3. Isotermas de solubilidade de vários fosfatos de cálcio em água. A solubilidade é expressa na quantidade total de íons cálcio na solução.	17
Figura 2.4. Fluxograma geral de preparação de um CFC (Carrodéguas, 2000).	22
Figura 2.5. Imagem computadorizada mostrando estrutura tridimensional de crânio.	27
Figura 2.6. Modelo de réplica de crânio.	28
Figura 2.7 a) Molde em poliamida para fabricação da prótese; b) defeito em que será colocado a prótese.	29
Figura 3.1. Fluxograma com as etapas do trabalho.	32
Figura 3.2. Ilustração de esquema utilizado para a síntese de β -TCP (1).	34
Figura 3.3. Ilustração de esquema utilizado para a síntese de β -TCP (2).	34
Figura 3.4. Moldes de Teflon [®] - a) cilindros para ensaio de compressão e b) discos para ensaio de compressão diametral.	36
Figura 3.5. Corpos de prova – a) cilindros e b) discos.	36
Figura 3.6. Reflexão de Raios X de natureza monocromática por planos de um cristal.	40
Figura 4.1. Difração de Raios X do β -TCP em pó.	47
Figura 4.2. Diagrama de fases do sistema CaO-P ₂ O ₅ . C ₂ P = Ca ₂ P ₂ O ₇ ; C ₃ P = Ca ₃ (PO ₄) ₂ ; C ₄ P = Ca ₄ O(PO ₄) ₂ .	47

Figura 4.3- Distribuição Granulométrica do β -TCP.	48
Figura 4.4. Difração de Raios X do cimento de DCPD.	50
Figura 4.5. Micrografia do cimento de DCPD/ β -TCP, a) superfície do cimento, b) superfície de fratura do cimento – setas indicam a presença de grãos remanescentes de β -TCP.	50
Figura 4.6. Micrografia do cimento após 48h de hidrólise em solução de NaOH.	51
Figura 4.7. Difração de Raios X dos cimentos após 48h de hidrólise: a) cilindro total, b) camada externa do cilindro.	52
Figura 4.8. Micrografia da superfície do cimento após 48h de hidrólise.	53
Figura 4.9. a) e b) Micrografias da camada externa da superfície de fratura do cilindro após 48 de hidrólise – setas indicam grãos de β -TCP.	53
Figura 4.10. a) e b) Micrografias da superfície de fratura do centro do cilindro após 48h de hidrólise – setas indicam grãos remanescentes de β -TCP.	54
Figura 4.11. Difração de Raios X do cimento hidrolisado por 48 horas: a) na forma de pó, b) camada externa do cilindro.	55
Figura 4.12. Micrografia do cimento após hidrólise por 48 horas: a) camada externa do cilindro, b) cimento hidrolisado na forma de pó.	55
Figura 4.13. Difração de Raios X do cimento após 06 horas de hidrólise: a) cilindro total, b) camada externa do cilindro.	59
Figura 4.14. Micrografia do cimento após 6 horas de hidrólise: a) camada externa, b) centro do cilindro.	60
Figura 4.15. Difração de Raios X do cimento após 6 horas de hidrólise na forma de pó.	60
Figura 4.16. Difração de Raios X do cimento após 24 horas de hidrólise: a) cilindro total, b) camada externa do cilindro.	61
Figura 4.17. Difração de Raios X do cimento após 24 horas de hidrólise na forma de pó.	61

Figura 4.18. Micrografia do cimento após 24 horas de hidrólise - camada central.	62
Figura 4.19. Difração de Raios X do cimento após 72 horas de hidrólise: a) cilindro total, b) na forma de pó.	62
Figura 4.20. Micrografia do cimento após 72 horas de hidrólise: a) camada externa, b) centro do cilindro.	63
Figura 4.21. Espectros de Infravermelho do cimento hidrolisado na forma de pó: a) 6 horas de hidrólise, b) 24 horas de hidrólise e c) 48 horas de hidrólise.	63
Figura 4.22. Espectros de Infravermelho da camada externa do cilindro hidrolisado: a) 6 horas de hidrólise, b) 24 horas de hidrólise e c) 48 horas de hidrólise.	64
Figura 4.23. Resistência à compressão do cimento antes e após a reação de hidrólise.	67
Figura 4.24. Difração de Raios X do cimento após imersão em FCS: a) 01 dia de imersão, b) 14 dias de imersão.	68
Figura 4.25. Difração de Raios X do cimento após 21 dias de imersão em FCS.	68
Figura 4.26. a) e b) Micrografias da superfície do cimento antes da imersão em FCS.	69
Figura 4.27. a) e b) Micrografias da superfície do cimento após 01 dia de imersão em FCS.	69
Figura 4.28. a) e b) Micrografias da superfície do cimento após 21 dias de imersão em FCS.	69
Figura 4.29. Micrografias da superfície de fratura antes e após imersão em FCS: a), b) e c) camada externa do cilindro antes da imersão, após 07 e após 21 dias respectivamente; d), e) e f) porção central do cilindro antes da imersão e após 07 e 21 dias respectivamente.	70
Figura 4.30. Resistência à compressão e compressão diametral do cimento antes após imersão em FCS.	71

Lista de Tabelas

Tabela 2.1. Aplicações clínicas dos biomateriais (Zavaglia, 1993).	7
Tabela 2.2. – Composição dos tecidos duros do corpo humano, morfologia e tamanho dos cristais (Spector, 1975; Robinson, 1952).	10
Tabela 2.3. Ocorrências de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos (Le Geros, 1991).	11
Tabela 2.4. Valores de resistência à compressão do osso (Hench & Wilson, 1993).	13
Tabela 2.5 – Compostos de fosfato de cálcio que podem ser precipitados a temperatura ambiente ou em sistemas aquosos (Bohner, 2000).	15
Tabela 2.6. Compostos de fosfato de cálcio obtidos por decomposição térmica ou síntese térmica (Bohner, 2000).	16
Tabela 2.7. Fatores que afetam as propriedades das pastas de cimento (Driessens <i>et al.</i> , 1997).	23
Tabela 3.1. Concentração de íons nas soluções calcificantes e no plasma sanguíneo.	38
Tabela 4.1. Parâmetros dos tamanhos das partículas do β -TCP.	49
Tabela 4.2. Dados obtidos na análise de porosimetria de mercúrio.	56
Tabela 4.3. Valores de densidade teórica utilizados para cálculo da contração de massa e volumétrica (JCPDS, 1997).	58
Tabela 4.4. Resultados obtidos na análise de picnometria de hélio.	58
Tabela 4.5. Relação das bandas observadas nos espectros infravermelho.	64

Nomenclatura

cm - centímetro

cm³ – centímetro cúbico

cos - coseno

d_{hkl} – distância entre dois planos

g – grama

h_{cp} – altura do corpo de prova

kN – kilonewtons

kV - kilovolts

L – litro

m – massa da amostra

min – minuto

mL – mililitro

mm – milímetro

MPa - megapascal

nm – nanometro

P_1 – pressão antes da expansão com gás hélio

P_2 – pressão após expansão da câmara com gás hélio

P_a - pressão absoluta externa exercida

pH – potencial hidrogeniônico

sen – seno

V – volume

$V_{amostra}$ – volume da amostra

$V_{expansão}$ – volume de expansão

$V_{porta-amostra}$ – volume do porta-amostra

v – volume da amostra

λ – comprimento de onda

θ – ângulo do feixe de Raios X incidentes

θ - ângulo de contato entre o mercúrio e a parede do poro

σ_c – resistência à compressão

σ_{CD} – resistência à compressão diametral

p – carga máxima de ruptura

ϕ_{cp} – diâmetro do corpo de prova

ϕ_p - diâmetro aparente do poro

γ - tensão superficial do mercúrio

μm – micrometro

ρ – densidade da amostra

$^{\circ}\text{C}$ – graus centígrados

Abreviações

β -TCP – β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ β -fosfato tricálcio

α -TCP – α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ α -fosfato tricálcio

HA – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ou $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ hidroxiapatita

CDHA – $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ hidroxiapatita deficiente de cálcio

OCP - $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ octacálcio fosfato

DCP – CaHPO_4 hidrogeno fosfato de cálcio

DCPD – $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ hidrogeno fosfato de cálcio dihidratado

ACP – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ fosfato de cálcio amorfo

MCP – $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ dihidrogeno fosfato monocálcio

MCPM – $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dihidrogeno fosfato monocálcio monohidratado

TetCP – $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ tetracálcio fosfato

OXA – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$ Oxiapatita

$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ - pirofosfato de cálcio

CaSO_4 – sulfato de cálcio

H_2O – água

CO_3^{-2} – íon carbonato

PO_4^{-3} – íon ortofosfato

CaO – óxido de cálcio

F^- - íon fluoreto

$\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ - íon pirofosfato

Mg^{2+} - íon magnésio

OH⁻ - íon hidroxila
Na₂HPO₄ – Hidrogeno fosfato de sódio
NaH₂PO₄ – Diiidrogeno fosfato de sódio
H₃PO₄ – ácido fosfórico
NaOH – hidróxido de sódio
C₆H₈O₇.H₂O - ácido cítrico monohidratado
HCl - ácido clorídrico
NaHCO₃ - Bicarbonato de Sódio
CaCl₂.2H₂O - Cloreto de Cálcio Dihidratado
MgCl₂.6H₂O - Cloreto de Magnésio hexahidratado
KCl - Cloreto de Potássio
NaCl - Cloreto de Sódio
K₂HPO₄ - Hidrogeno fosfato de potássio
Na₂SO₄ - Sulfato de Sódio
C₄H₁₁NO₃ - Tris(Hidroximetil)Amino metano
P₂O₅ – óxido de fósforo
C₂P -Ca₂P₂O₇
C₃P - Ca₃(PO₄)₂
C₄P - Ca₄O(PO₄)₂.
FCS – fluido corpóreo simulado
MEV – microscopia eletrônica de varredura
PROMED - Prototipagem Rápida na Medicina
MTS – equipamento de ensaio universal
CenPRA - Centro de Pesquisas Renato Archer
ASTM - American Society for Testing and Materials
Ca/P – relação Ca/P
CFC – cimento ósseo de fosfato de cálcio
L/P – relação líquido/sólido

Capítulo 1

Introdução

A ciência dos biomateriais tem experimentado um grande desenvolvimento graças, principalmente, a disponibilidade de materiais metálicos, cerâmicos, poliméricos e compósitos, que permitem a preparação de materiais com aplicações avançadas e novas gerações de implantes bioestáveis ou biodegradáveis, tanto para tecidos duros como moles.

A utilização de implantes e enxertos tem aumentado significativamente nos últimos anos, principalmente devido ao aumento da vida média da população e ao índice elevado de acidentes automobilísticos. O mercado nacional de implantes ortopédicos está estimado em US\$ 64 milhões anuais. No mundo, este índice atingiu o montante de US\$ 4,4 bilhões em 1999. São realizados em média 24 mil implantes de prótese total de quadril por ano no Brasil (Ipen, 2006).

É importante ressaltar que, apesar de tudo, muitos implantes apresentam problemas de estabilidade na superfície devido a interações com os tecidos humanos e os fluídos fisiológicos que entram em contato. Um aspecto importante sobre as possibilidades de aplicação dos biomateriais é a necessidade de que todos os componentes, como os produtos que possam ser gerados em processos biodegradativos devem ser biocompatíveis (Monteiro & San Román, 2004).

As principais características que um biomaterial deve possuir para ser considerado biocompatível são as seguintes (Cano & Peraire, 2004):

- Não produzir resposta ao sistema imunológico;
- Não ser tóxico;
- Não ser carcinogênico;
- Não ser incompatível medicamente;
- Não ser incompatível hemodinamicamente.

Dentre os materiais desenvolvidos e pesquisados nos últimos anos, que possuem essas e outras características importantes para utilização como biomateriais, estão as biocerâmicas de fosfato de cálcio.

Os fosfatos de cálcio são de especial interesse em medicina devido, principalmente, à sua ocorrência em calcificações normais (dentina, esmalte, osso) e patológicas (cálculos). A parte mineral do dente, dentina e osso humano foi identificada como um fosfato de cálcio com estrutura de apatita por volta de 1926 utilizando difração de Raios X (Le Geros, 1991). Porém, uma de suas limitações, é devida à sua baixa resistência mecânica, sendo, portanto, um material direcionado para aplicações que não exijam grandes esforços mecânicos, como substituto de ossos da face e crânio, com exceção da mandíbula.

O tecido ósseo tem a capacidade de regeneração com a produção de novo tecido com a mesma alta organização estrutural original. No entanto, esta capacidade regenerativa é limitada pelo tamanho da lesão. Assim, defeitos ósseos extensos, provocados por traumas, infecções, neoplasias e anomalias de desenvolvimento não se regeneram espontaneamente, representando um problema atual na medicina e odontologia. O preenchimento de defeitos ósseos com osso autógeno (do mesmo indivíduo) é uma opção de tratamento regenerativo. Entretanto, o osso autógeno tem uma disponibilidade limitada para enxertos. Substitutos apropriados e biocompatíveis para enxertos são, portanto requeridos. Uma outra opção é a utilização de osso alógeno (de outro indivíduo), o que geralmente não é desejável por constituir um possível vetor de doenças. Alguns biomateriais podem ser usados com sucesso para o preenchimento de cavidades óssea na reposição de osso perdido após a remoção de um tumor ou trauma. A

semelhança química com a fase mineral dos ossos, a excelente biocompatibilidade com o meio fisiológico e as fortes ligações com o tecido ósseo são fatores que têm estimulado a aplicação dos fosfatos de cálcio sintéticos como biomateriais (Prado da Silva, 2004).

A maioria das biocerâmicas de fosfato de cálcio não induz qualquer reação imunológica ou tóxica indesejável quando utilizadas. Não apresentam riscos de transmissão de patologias infecto-contagiosas, em razão de apresentarem alta pureza em decorrência de seu processo de obtenção com rígido e sistemático controle de acordo com os padrões exigíveis. A utilização de biocerâmicas sintéticas representa, portanto, uma alternativa aos implantes autógenos e alógenos.

Essas biocerâmicas estão disponíveis em formato de blocos, que possuem formas e tamanhos preestabelecidos, sendo difícil sua adaptação aos locais de implantação; ou estão em forma de grânulos, em que suas partículas podem migrar do local do implante para outros locais do corpo humano, aumentando a possibilidade de infecções (Carrodéguas, 2000).

Uma alternativa a essas limitações foi encontrada no desenvolvimento de cimentos ósseos de fosfato de cálcio, que podem ser obtidos na forma e tamanho desejados, de acordo com a aplicação, pois, a maioria dos defeitos ósseos do crânio e da face possui formas assimétricas.

1.1. Objetivo

O objetivo desse trabalho é o desenvolvimento de um cimento ósseo de fosfato de cálcio biocompatível e biodegradável para ser utilizado como substituto ósseo. Para isso foi utilizada uma formulação de cimento previamente conhecida e estudada, mas que possui algumas limitações (β -TCP + $H_3PO_4 \rightarrow$ DCPD), como alta solubilidade e baixo pH, podendo causar problemas após o implante. Esse cimento (DCPD), de fácil obtenção e baixo custo, foi transformado, após reação de hidrólise com uma solução alcalina, em um cimento de composição trifásica (β -TCP + CDHA + OCP), que possui qualidades superiores ao cimento de DCPD, como baixa solubilidade e não afetam o pH em meio aquoso.

Capítulo 2

Revisão da Literatura

2.1. Biomateriais

Durante séculos, quando um tecido ou órgão humano ficava doente com certa gravidade, o especialista médico possuía poucas alternativas.

A utilização de alguns biomateriais para aplicações médicas remonta aos tratados médicos mais remotos, existindo já descrição detalhada de algumas aplicações na medicina oriental há mais de 2500 anos, além de técnicas utilizadas pelos egípcios que desenvolveram sofisticados implantes para a época. Alguns dados históricos mostram a evolução da medicina, dos biomateriais e suas aplicações (Science, 2002):

1504 – Desenvolvimento de prótese de mão de ferro com juntas de dedos flexíveis;

1597 – Reconstrução de nariz por enxerto de tecidos;

1666 – Primeira transfusão de sangue – realizada entre dois cachorros;

1667 - Transfusão de sangue entre coelho e humano;

1682 - Reparo de crânio humano com osso de crânio de cachorro;

1847 – Introdução de prata para preenchimentos dentários;

1863 – Introdução de técnicas anti-sépticas para cirurgias;

1881- Primeiro enxerto temporário de pele;

1883 – Desenvolvimento de solução de Ringer para manter tecidos vivos fora do corpo;
1888 – Primeiros relatos sobre uso de lentes de contato para corrigir visão;
1905-1906 - Primeiros relatos de transplante de córnea;
1905 – Descoberta de técnica para crescimento de células de tecido *in vitro*;
1905 – Transfusão de sangue entre humanos com sucesso;
1908 – Tentativa de cirurgia de substituição de joelho, utilizando um cadáver para retirar o implante;
1914 - Identificação de citrato como anticoagulante sanguíneo, permitindo o armazenamento de sangue;
1951 – Primeira válvula de coração artificial implantada;
1956 – Primeiro transplante de medula óssea com sucesso;
1958 – Tentativa em desenvolver um marcapasso implantável;
1969 – Primeira cerâmica biocompatível desenvolvida que forma ligação com colágeno e o osso;
1972 – Desenvolvimento de uma moderna junta de quadril de aço e polímero;
1982 – Implante total de um coração artificial permanente;
1987 – Primeiro uso clínico de um fígado bioartificial;
1998 – Transplante de mão humana;
1998 – Transplante total de laringe;
2000 – Implante de um protótipo de pâncreas artificial;
2005 – Transplante de rosto

Devido aos avanços da medicina e tecnologia, na segunda metade do século XX houve uma grande revolução que mudou o conceito de tratamento de um grande número de doenças, foram traçadas alternativas como seleção adequada de materiais e metodologias, além de avanços nas técnicas de anestesia, esterilização e desenvolvimento de novos tratamentos médicos: os implantes e os transplantes. Essas alternativas apresentam vantagens e limitações, mas seu desenvolvimento tem sido espetacular e hoje oferece garantias de vida que não seriam possíveis cerca de 30 anos atrás. A principal vantagem dos biomateriais como implantes, próteses ou dispositivos implantáveis é sua disponibilidade, reprodutibilidade e adaptação biomecânica.

A ciência dos biomateriais tem se desenvolvido graças à disponibilidade de materiais metálicos, cerâmicos, poliméricos e compósitos, que permitem a preparação de materiais com aplicações avançadas em novas gerações de implantes tanto para tecidos duros como moles.

Apesar de todos os avanços, muitos implantes que são utilizados hoje em dia apresentam problemas de estabilidade na superfície por suas interações com os tecidos humanos e com os fluidos fisiológicos (Monteiro & San Román, 2004).

2.1.1. Classificação dos Biomateriais

Os biomateriais podem ser classificados de acordo com o seu comportamento fisiológico 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 de químicos, íons, produtos de corrosão e outros por parte do material implantado. Quanto maior a espessura da camada de tecido fibroso formado, menor a tolerabilidade dos tecidos ao material. Os materiais biotoleráveis são a maior parte dos polímeros sintéticos assim como a grande maioria dos metais.

- **Bioinerte**, materiais também tolerados pelo organismo, nos quais a formação de tecido envoltório fibroso é mínima, praticamente inexistente. O material não libera nenhum tipo de componente ou, mais realisticamente, o faz em quantidade mínimas. A quantidade de células fagocitárias na interface é mínima, a resposta fagocítica será passageira e uma fina cápsula tomará lugar na interface 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 a 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 lático.

A tabela 2.1 relaciona alguns biomateriais sintéticos e suas aplicações (Zavaglia, 1993):

Tabela 2.1. Aplicações clínicas dos biomateriais (Zavaglia, 1993).

Biomaterial	Vantagens	Desvantagens	Aplicações
Polímeros Polietileno PTFE Poliéster Poliuretano PMMA Silicona	Elasticidade, fácil fabricação, baixa densidade Baixo custo (maioria)	Baixa resistência mecânica Pode sofrer degradação com o tempo Difícil de esterilizar	Suturas, artérias, veias; maxilofacial (nariz, orelha, maxilar, mandíbula); cimentos odontológicos e ortopédicos, tendão artificial; componentes de oftalmologia
Metais e Ligas Aço Inoxidável Ligas de Titânio Liga Cobalto-Cromo	Alta resistência mecânica, alta resistência ao desgaste, conformabilidade plástica	Baixa biocompatibilidade, corrosão em meio fisiológico, alta densidade	Fixação ortopédica (parafusos, pinos, placas, fios, hastes); implantes dentários
Cerâmicas e Vidros Alumina Zircônia Carbono Fosfatos de Cálcio Porcelana Vidros bioativos	Boa biocompatibilidade, resistência à corrosão, inércia química, elevada resistência ao desgaste	Baixa resistência à tração Dificuldade de fabricação Altos módulos de elasticidade	Ossos, juntas, dentes, válvulas, tendões, vasos sanguíneos, traquéias artificiais
Compósitos Fibra carbono-resina Termofixa Fibra carbono-termoplástico Fosfato de cálcio-colágeno	Boa biocompatibilidade, inércia, resistência à corrosão, elevada resistência mecânica (dependendo dos constituintes)	Dificuldade de processamento Alto custo	Válvula cardíaca artificial (carbono ou grafite pirolítico), implantes de juntas de joelho; dispositivos de fixação de fratura

2.2. Biocerâmicas

Materiais cerâmicos são constituídos por compostos inorgânicos não metálicos, e as cerâmicas utilizadas para reparação e reconstrução de partes do corpo humano doentes são denominadas biocerâmicas (Williams, 1987).

A utilização de cerâmicas como biomateriais remonta a 1894, quando o gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$) foi utilizado como possível substituto para ossos. Esse material apresenta uma resistência mecânica muito baixa e é completamente reabsorvido pelo organismo, resultando em uma rápida fragmentação e degradação. Tais propriedades pouco atrativas excluíram a utilização do gesso como biocerâmica implantável (Kawachi *et al.*, 2000).

Tradicionalmente, a cerâmica tem estado limitada em aplicações devida, principalmente, à sua fragilidade, baixa resistência mecânica à tração e à flexão e baixa resistência ao impacto. A partir do final dos anos setenta, foram desenvolvidas novas cerâmicas com propriedades melhoradas e seu uso tem sido ampliado consideravelmente.

2.2.1. Classificação das Biocerâmicas

As biocerâmicas podem ser classificadas de diferentes maneiras (Hench, 1991):

2.2.1.1. Segundo o tipo de resposta do tecido:

- **Bioinertes:** são biocerâmicas estáveis que não reagem com o meio, ou em quantidade mínima, ao ser implantadas. Como exemplo, podem ser apresentadas a alumina (Al_2O_3) e zircônia (ZrO_2).

- **Bioativas:** materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre material e tecido ósseo (osteointegração), permitindo a osteocondução por meio do recobrimento por células ósseas. Os principais materiais desta classe são os biovidros e as vitrocerâmicas a base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - HA) e os compostos de fosfato de cálcio (Santos, 2002).

- **Reabsorvível:** biocerâmicas que, ao ser implantadas, se dissolvem com o tempo e são substituídas gradualmente pelo tecido natural. Esse tipo de material permanece no corpo enquanto é necessária sua função, e desaparecem à medida que o tecido se regenera. Como exemplo, há o fosfato tricálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - TCP).

2.2.1.2. Segundo sua aplicação (Hench, 1975):

- **Estruturais:** São biocerâmicas de elevada resistência mecânica, pois terá que suportar grandes cargas, e geralmente bioinertes. Exemplos típicos são a alumina e zircônia.
- **Não estruturais:** São geralmente biocerâmicas bioativas ou reabsorvíveis, densas ou porosas, com baixa resistência mecânica, pois não terá que suportar grandes esforços. Exemplos típicos, a hidroxiapatita e fosfato tricálcio.

2.2.1.3. Segundo as características do material (De Groot, 1991):

- **Biocerâmicas densas inertes:** São materiais sem porosidade. Sua união ao osso é morfológica e se realiza de três maneiras: pelo crescimento do tecido nas irregularidades da superfície do implante, pela união por meio de um cimento acrílico ou por acoplamento do implante no defeito mediante pressão. Exemplo desse tipo de biocerâmica é a alumina monocristalina e policristalina.
- **Biocerâmica porosa inerte:** A união com o osso é mecânica, pois ocorre o crescimento do osso pelos poros do implante. A alumina policristalina porosa é um exemplo típico.
- **Biocerâmica densa ou porosa bioativa:** A união ao tecido ósseo é química e a fixação bioativa. Exemplos: HA, biovidro e vitrocerâmicas bioativas.
- **Biocerâmica densa reabsorvível:** O implante é substituído lentamente pelo osso. A esse grupo pertencem o fosfato tricálcio e outros fosfatos.

2.3. Apatitas Biológicas

As apatitas biológicas são aquelas constituintes de compostos que formam parte do esmalte e dentina dos dentes assim como dos ossos humanos e de algumas calcificações patológicas (cálculos dentais, salivares e renais). Essas apatitas biológicas diferem da HA pura em estequiometria, composição, cristalinidade e outras propriedades físicas e mecânicas, mas em termos gerais pode comparar à hidroxiapatita deficiente de cálcio (CDHA) e mais

apropriadamente a uma carbonohidroxiapatita, em que o grupo $(\text{CO}_3)^{-2}$ substitui o grupo $(\text{PO}_4)^{-3}$ e o Ca^{+2} é substituído por Na^+ para balancear as cargas.

As apatitas da dentina e do osso são similares quanto à matéria orgânica e espectros de difração de Raios X e infravermelho, diferenciando-se apreciavelmente do esmalte em cristalinidade, no tamanho dos cristais e na concentração dos elementos minoritários, como podemos observar na tabela 2.2 (Spector, 1975; Robinson, 1952).

Tabela 2.2. – Composição dos tecidos duros do corpo humano, morfologia e tamanho dos cristais (Spector, 1975; Robinson, 1952).

	Esmalte	Dentina	Osso
Componente Inorgânico (% em peso)	97	70	65
Componente Orgânico (% em peso)	1,5	20	25
% em peso de H_2O	1,5	10	10
Citrato (% em peso)	0,1	0,9	0,7
Morfologia	Prismas	Agulhas	Agulhas/Lâminas
Tamanho (nm)	60x100x35	20x4	10-60x2-6
Produtos após calcinação a 950°C	HA + β -TCP	HA + β -TCP	HA + CaO

Além das apatitas, vários outros fosfatos de cálcio também ocorrem em calcificações normais e patológicas, o que vem despertando interesse significativo nas possibilidades de uso destes materiais como biocerâmicas, como podemos observar na tabela 2.3 (Le Geros, 1991).

Tabela 2.3. Ocorrências de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos (Le Geros, 1991).

Fosfato de Cálcio	Fórmula Química	Relação Ca/P	Ocorrências
Apatita	$(Ca,Z)_{10}(PO_4,Y)_6(OH,X)_2$ (Z = Mg ²⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺ ; Y = HPO ₄ ²⁻ , CO ₃ ²⁻ ; X = Cl ¹⁻ , F ¹⁻)	Varia com Z e Y	Esmalte, dentina, osso, cálculo dentário, pedras, cálculo urinário, calcificação de tecido mole.
Fosfato Octacálcio (OCP)	$(Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O)$	1,33	Cálculos dentários e urinários.
Hidrogeno Fosfato de Cálcio Dihidratado (DCPD)	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	1,0	Cálculo dentário, ossos decompostos.
Fosfato Tricálcio	$Ca_3(PO_4)_2$	1,5	Cálculos dentários e urinários, pedras salivares, cáries dentárias, calcificação de tecido mole.
Pirofosfato de Cálcio Dihidratado	$Ca_2P_2O_7 \cdot 2H_2O$	1,0	Depósitos de pseudo-gotas em fluidos.

2.4. Estrutura Óssea

O esqueleto é composto de ossos e cartilagem. O osso pode ser definido como um tecido vivo que forma a maior parte do esqueleto e é o principal tecido de apoio do corpo. O osso proporciona:

- Proteção para estruturas vitais;
- Apoio para o corpo;
- Base mecânica para o movimento;

- Armazenamento de sais (ex. cálcio);
- Suprimento contínuo de células sanguíneas novas

O esqueleto é composto por dois tipos de ossos: o compacto (cortical) e o esponjoso (trabecular).

Tipos de ossos encontrados no corpo humano: ossos longos são tubulares, típicos dos membros, como braços e pernas; os ossos curtos são cubóides e são encontrados no pulso e tornozelo; ossos sesamóides ocorrem em tendões; ossos planos são encontrados no crânio, possuem função protetora e são formados de uma camada de osso esponjoso revestidos por duas camadas de osso compacto (figura 2.1.) (Thibodeau & Patton, 2002).

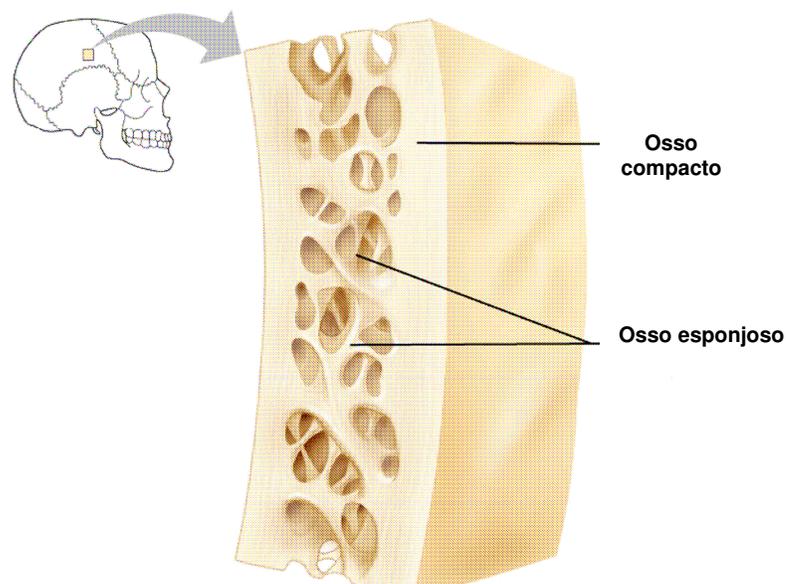


Figura 2.1. Ilustração de osso do crânio mostrando osso compacto e osso esponjoso.

O osso é um tecido extremamente complexo, com três componentes principais: matriz orgânica, componente mineral e componente celular (osteoblastos, osteoclastos e osteócitos).

O osso compacto é responsável por 80% da massa esquelética, está presente nas epífises dos ossos longos e é encontrado como revestimento de todos os ossos do organismo. É formado

por séries de estruturas que estão muito próximas, chamadas osteons. O arranjo desse tipo de osso torna-o efetivamente resistente a curvaturas.

O osso esponjoso constitui cerca de 20% da massa esquelética e é encontrado nos corpos vertebrais, nas epífises dos ossos longos e nos ossos chatos. Na sua superfície o número de células por unidade de volume é maior do que no osso compacto, o que determina sua maior atividade metabólica. É formado por uma rede de trabéculas interconectadas que lhe confere menor resistência à compressão, como podemos observar na figura 2.2 e na tabela 2.4.

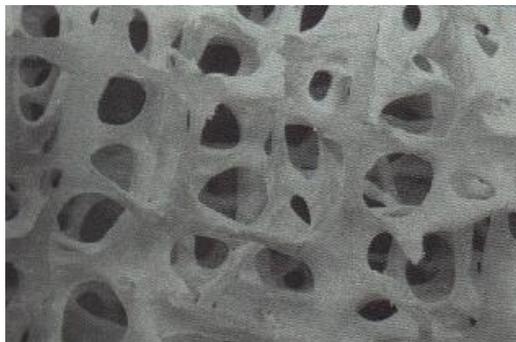


Figura 2.2. Ilustração do osso esponjoso mostrando rede de trabéculas.

Tabela 2.4. Valores de resistência à compressão do osso (Hench & Wilson, 1993).

PROPRIEDADE	OSSO COMPACTO	OSSO ESPONJOSO
Resistência à Compressão (MPa)	100-230	2-12

O osso esponjoso possui relação superfície/volume consideravelmente maior do que a do osso compacto, e mesmo que contribua com apenas 20% na formação do esqueleto, possui cerca de 80% da superfície disponível - local onde ocorre a remodelação. O processo metabólico varia bastante entre sítios compostos por esse mesmo tipo de osso. Assim, o osso esponjoso do corpo vertebral tem maior índice de remodelação do que o fêmur ou o rádio.

Microscopicamente, os ossos são formados por cristais de hidroxiapatita e fibras de colágeno, as quais estão embebidas em uma substância amorfa que contém mucopolissacarídeos.

Este tecido de sustentação está em constante remodelação - através do qual o "osso velho" é substituído por "osso novo", numa espécie de programa de manutenção preventiva - através de um mecanismo mediado basicamente por dois tipos de células: osteoblastos e os osteoclastos.

A atividade anabólica do osso (formação) é mediada pelos osteoblastos, que derivam das células-tronco do tecido conjuntivo, as quais são responsáveis pela síntese dos constituintes orgânicos do osso (fibras colágenas e mucopolissacarídeos) e, conseqüentemente, pela calcificação da matriz osteóide. A atividade catabólica (reabsorção) é mediada pelos osteoclastos, que são células gigantes multinucleadas da linhagem dos macrófagos - derivadas de monócitos circulantes - e que possuem grande número de enzimas. Os osteócitos são conhecidos como moduladores da atividade celular, já que determinam reativação óssea da transmissão de impulsos mecânicos e elétricos (Saúde em Movimento, 2005).

2.5. Biocerâmicas de Fosfatos de Cálcio

Compostos de fosfatos de cálcio têm sido estudados como materiais para remodelação óssea nos últimos 80 anos. O primeiro uso *in vivo* de fosfato tricálcio foi feito por Albee & Morrison em 1920 (Albee & Morrison, 1920). Nos anos seguintes várias partículas de fosfato de cálcio foram injetadas em animais para testar seus efeitos em cicatrização de ossos (Haldeman & Moore, 1934). Apesar desses experimentos adiantados, foi somente nos anos 60 que um fosfato de cálcio, principalmente HA, foi sintetizada, caracterizada e aplicada (Getter *et. al.*, 1972; Denissen, 1979).

O procedimento padrão para a preparação de implantes de biocerâmicas inclui moldar um pó de fosfato de cálcio, seguido pela sinterização (consolidação térmica) em altas temperaturas. Prensagem (uniaxial ou isostática) é um método utilizado para a moldagem do pó. Porém, esse método limita a confecção dos moldes em partes pequenas e com formas simples (discos, cilindros ou prismas). Entretanto, implantes com formas não usuais, assimétricas e personalizadas são freqüentemente requeridas em reparos crânio-maxilo-faciais. Em meados dos anos 80, Brow e Chow desenvolveram o primeiro cimento hidráulico de fosfato de cálcio, isto é, uma mistura de pós de fosfatos de cálcio e água que endurece com o tempo à temperatura ambiente (Brow & Chow, 1985). Essa descoberta abriu novas perspectivas para uso de fosfatos de cálcio em

tratamento de defeitos ósseos, pois os cimentos ósseos podem ser moldados na forma e tamanho desejados, podendo ser utilizados em cirurgias reparadoras faciais (Carrodéguas, 2000).

A composição da biocerâmica de fosfato de cálcio resultante será determinada pela relação molar Ca/P, pela temperatura, tempo e atmosfera utilizada no processo.

A forma mais utilizada de classificação destes materiais é de acordo com sua relação Ca/P que pode variar de 0,50 a 2,00, como podemos observar nas tabela 2.5 e 2.6 (Bohner, 2000).

Tabela 2.5 – Compostos de fosfato de cálcio que podem ser precipitados a temperatura ambiente ou em sistemas aquosos (Bohner, 2000).

Nome	Fórmula	Relação Ca/P	Mineral	Símbolo
Diidrogeno fosfato monocálcio monohidratado	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,50	-	MCPM
Hidrogeno fosfato de cálcio	CaHPO_4	1,00	Monetita	DCP
Hidrogeno fosfato de cálcio dihidratado	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00	Brushita	DCPD
Fosfato octacálcio	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	-	OCP
Hidroxiapatia deficiente de cálcio	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	1,50-1,67	-	CDHA
Fosfato de cálcio amorfo n=3-4,5; 15-20% H_2O	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,50	-	ACP

Tabela 2.6. Compostos de fosfato de cálcio obtidos por decomposição térmica ou síntese térmica (Bohner, 2000).

Nome	Fórmula	Relação Ca/P	Mineral	Símbolo
Diidrogeno fosfato monocálcio	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,50	-	MCP
α -Fosfato tricálcio	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	-	α -TCP
β -TCP	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	-	β -TCP
Hidroxiapatita Sinterizada	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	Hidroxiapatita	HA
Oxiapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	1,67	-	OXA
Fosfato Tetracálcio	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,00	Hilgenstockita	TetCP

As biocerâmicas de fosfato de cálcio têm merecido lugar de destaque por apresentarem ausência de toxicidade local ou sistêmica, ausência de respostas a corpos estranhos e inflamações, e aparente habilidade em se ligar ao tecido hospedeiro. Tais características positivas podem ser explicadas pela natureza química destes materiais que por serem formados basicamente de íons cálcio e fosfato, participam ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica (Kawachi *et al.*, 2000).

2.6. Fosfatos de Cálcio

Com exceção do pirofosfato de cálcio ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$), a maioria dos fosfatos de cálcio anteriormente usados *in vivo* têm sido ortofosfatos de cálcio, isto é, eles contêm o grupo ortofosfato PO_4^{3-} . Devido à sua importância em medicina, agricultura (fertilizante), farmácia (pasta de dente), cromatografia (colunas), e indústria de alimentos (aditivos), por exemplo, fosfato de cálcio tem sido extensivamente utilizado (Bohner, 2000).

Duas categorias diferentes de fosfatos de cálcio podem ser distinguidas:

- Fosfato de cálcio obtido pela precipitação de uma solução aquosa em ou por volta da temperatura ambiente (tabela 2.5);
- Fosfato de cálcio obtido por uma reação térmica (tabela 2.6).

A propriedade mais importante dos fosfatos de cálcio é provavelmente sua solubilidade em água, pois o comportamento *in vivo* dos fosfatos de cálcio pode ser baseado em suas solubilidades (Driessens & Verbeeck, 1988). Se a solubilidade de um fosfato de cálcio é menor que a parte mineral do osso, ela degrada mais devagar, se a solubilidade de um fosfato de cálcio é maior que a parte mineral do osso, ele é degradado mais rapidamente, podendo ser um problema, pois o ideal é que o fosfato se degrade à medida que ocorre a formação do novo osso.

Conseqüentemente, utilizando isotermas de solubilidade dos fosfatos de cálcio (Vereecke & Lemaitre, 1990) (figura 2.3), a taxa de degradação *in vivo* dos fosfatos de cálcio pode ser na seguinte ordem:

MCPM>TetCP= α -TCP>DCPD>DCP>OCP>&math\beta-TCP>CDHA>HA

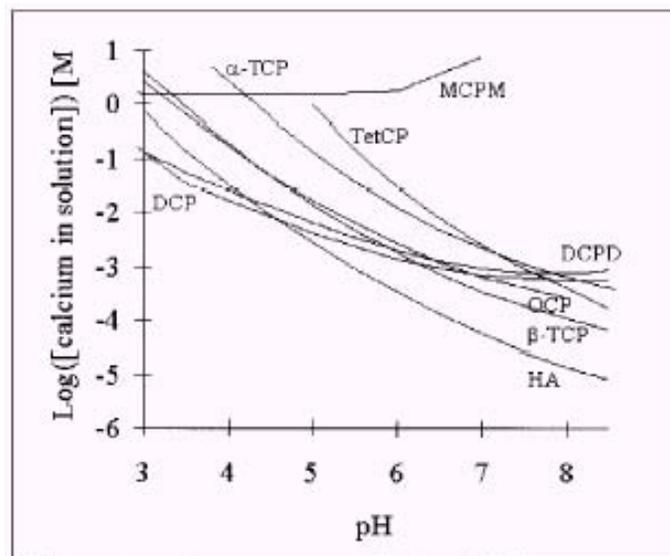


Figura 2.3. Isotermas de solubilidade de vários fosfatos de cálcio em água. A solubilidade é expressa na quantidade total de íons cálcio na solução (Vereecke & Lemaitre, 1990).

A ordem crescente de relação Ca/P mostrada nas tabelas 2.5 e 2.6 coincide com o aumento da basicidade destes compostos.

A biodegradação ou reabsorção dos fosfatos de cálcio é causada por três fatores (Aza & Aza, 2004):

- Dissolução físico-química, que depende do produto de solubilidade do material e do pH em sua volta; podem formar novas fases na superfície, tais como fosfatos de cálcio amorfo, fosfatos de cálcio dihidratado, fosfato octacálcio e HA substituída anionicamente.
- Desintegração física em pequenas partículas como resultado de um ataque preferencial às bordas do grão.
- Fatores biológicos, tal como fagocitose, que provoca uma diminuição local de pH.

2.6.1. Fosfatos de Cálcio de Baixa Temperatura

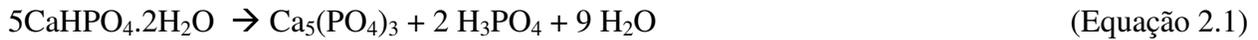
Fosfatos de cálcio de baixa temperatura têm sido utilizados tradicionalmente não como substitutos do osso, mas para sintetizar fosfatos de cálcio de alta temperatura. Por exemplo, β -TCP pode ser obtido pela calcinação em $T > 800^\circ\text{C}$ de mistura equimolar de DCPD e CDHA.

Os fosfatos de cálcio de baixa temperatura mais comuns são DCPD, OCP e CDHA. Entretanto, outros fosfatos de cálcio podem ser obtidos. A maioria dos fosfatos de cálcio de baixa temperatura está presente nos tecidos humanos (Le Geros & Le Geros, 1984).

2.6.1.1. Hidrogeno Fosfato de Cálcio Dihidratado (DCPD)

Hidrogeno fosfato de cálcio dihidratado é o fosfato de cálcio que pode ser mais facilmente sintetizado. DCPD é biocompatível, biodegradável e osteocondutor. DCPD é metaestável e pode ser convertido em DCP ($\text{pH} < 6$), OCP ($\text{pH} \approx 6$) ou CDHA ($\text{pH} > \sim 7$) (Bohner, 2000). Estudos *in vivo* de DCPD demonstraram que ele pode ser convertido em CDHA ou biodegradado e substituído pelo osso (Constantz *et al*, 1998; Munting *et al*, 1993).

Porém, segundo Bohner, reações inflamatórias podem ocorrer quando uma quantidade grande de DCPD é transformada *in vivo* em CDHA. Durante essa reação uma grande quantidade de ácido é liberada (equação 2.1) (Bohner, 2000):



Uma maneira de converter DCPD em apatita é pela hidrólise em soluções aquosas. Fulmer & Brown estudaram a transformação de cimento de DCPD em apatita pela hidrólise em solução de Na_2HPO_4 e em água em temperaturas variadas. Concluíram que em água, de 25 a 60°C, a taxa de transformação é muito lenta e ocorre parcialmente, havendo transformação do DCPD em DCP e apatita. Em solução de Na_2HPO_4 , a transformação é total, devido à dissolução do DCPD, que ocorre de forma congruente e, também, à capacidade tamponante do Na_2HPO_4 (Fulmer & Brown, 1998).

Carrodéguas *et al.*, estudou também a hidrólise de um cimento de DCPD em solução de Na_2HPO_4 a 60°C, e concluiu que após 112h de hidrólise, ocorre transformação total de DCPD em CDHA e OCP (Carrodéguas, 2003).

2.6.1.2. Fosfato Octacálcio (OCP)

Fosfato octacálcio é um dos mais importantes fosfatos de cálcio no corpo humano. Embora esse composto seja termodinamicamente metaestável, é útil como um precursor de fosfato de cálcio apatítico em dentes e ossos (Elliot, 1994; Brown *et al.*, 1962). OCP é também biocompatível, biodegradável e osteocondutor.

Alguns autores têm proposto que o OCP pode formar CDHA por dois mecanismos: hidrólise *in situ* do OCP e /ou dissolução de OCP seguida pela precipitação de CDHA (Bigi *et al.*, 2002; Graham & Brown, 1996).

A transformação do OCP em apatita é influenciada pelos seguintes fatores: pH, temperatura, solução, concentração e composição, como a presença de outros íons (F^- , CO_3^{2-} , $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$, Mg^{2+} entre outros) (Le Geros, 1991).

2.6.1.3 Hidroxiapatita Deficiente de Cálcio (CDHA)

Quimicamente é muito complexa, pois a hidroxiapatita deficiente de cálcio ou precipitada pode ter uma relação Ca/P de 1,50 a 1,67 (Brown & Martin, 1999). CDHA com uma relação Ca/P de 1,50 é freqüentemente chamada de hidroxiapatita deficiente de cálcio (CDHA) ou fosfato tricálcio (TCP). O último tem apresentado confusão em relação ao β -TCP, que possui quase a mesma composição química, mas uma estrutura cristalina diferente. CDHA é obtida pela precipitação em solução aquosa acima de pH 7. Cristais de CDHA possuem geralmente baixa cristalinidade e dimensões em submícrons (Bohner, 2000). CDHA é muito similar à apatita presente no osso, porém, devido à sua baixa resistência mecânica, seu uso se restringe às aplicações que não requerem grandes esforços mecânicos.

A principal diferença é a ausência de impurezas na estrutura, principalmente íons magnésio e carbonato. A solubilidade da CDHA estequiométrica (Ca/P 1,67) tem sido investigada por muitos autores. Dependendo do método de preparação, pode haver até diferença de 20% na solubilidade (Driessens & Verbeeck, 1990). Essas diferenças podem ser devidas a vários graus de estequiometria, cristalinidade e tamanho. A solubilidade da CDHA aumenta com a diminuição da relação Ca/P, da cristalinidade e do tamanho do cristal. Separadamente do cimento de fosfato de cálcio (CFC) de brushita, todos os CFCs comerciais possuem CDHA ou CDHA carbonatada como produto final da reação (Bohner, 2000).

2.6.1.4. Diidrogeno Fosfato Monocálcio Monohidratado (MCPM)

É o fosfato de cálcio mais ácido e mais solúvel, como podemos observar na figura 2.4. Devido a essas características de acidez e solubilidade, esse fosfato de cálcio não é biocompatível e não pode ser utilizado sozinho como um substituto do osso (Bohner, 2000).

2.6.1.5. Hidrogeno Fosfato de Cálcio (DCP)

Possui características biocompatíveis e biodegradáveis, sendo o fosfato de cálcio mais estável em baixo pH. Normalmente resulta da recristalização do DCPD, que precipita mais rápido que o DCP (Martin & Brown, 1997).

2.6.2. Fosfatos de Cálcio de Alta Temperatura

Fosfatos de cálcio de alta temperatura são utilizados como matérias-primas para cimentos ósseos de fosfatos de cálcio, exemplos são HA, β -TCP, α -TCP.

2.6.2.1. Hidroxiapatita (HA)

É definida como a forma em alta temperatura da CDHA estequiométrica (pelo menos 700°C). HA possui alta cristalinidade, é o fosfato de cálcio mais estável em uma solução aquosa e o mais biocompatível (Bohner, 2000).

2.6.2.2. Fosfato Tricálcio (TCP)

Os fosfatos tricálcio (TCP) são biodegradáveis, sua fórmula química ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) possui relação Ca/P de 1,5. O TCP é um composto neutro no qual as 6 cargas negativas dos ânions PO_4^{3-} são compensadas pelas 6 cargas positivas do cátions Ca^{2+} . Eles pertencem à família das Whitlockitas que respondem a fórmula geral $(\text{Ca}, \text{Mg})_3 (\text{PO}_4)_2$, ou seja, o cálcio pode ser substituído parcialmente ou totalmente pelo Mg.

O fosfato tricálcio é um composto que apresenta polimorfismo, a mesma composição pode apresentar diferentes estruturas. Existem três polimorfos deste composto que se conhecem como as fases β , α , α' . A fase β cristaliza no sistema hexagonal, a fase α apresenta sistema cristalino ortorrômbico e a fase α' cristaliza no sistema monoclinico (Aza & Aza, 2004).

O β -TCP pode ser obtido por um tratamento térmico acima de pelo menos 650°C, e tem sido utilizado no mercado como substituto do osso, na forma de grânulos ou blocos. O α -TCP é normalmente obtido pelo aquecimento do β -TCP acima de 1125°C, além de ser mais biocompatível e mais biodegradável que o β -TCP (Bohner, 2000).

2.6.2.3. Diidrogeno Fosfato Monocálcio (MCP)

Não é biocompatível devido à sua acidez, mas pode ser usado em combinação com fosfato de cálcio básico (Bohner, 2000).

2.6.2.4. Fosfato Tetracálcio (TetCP)

É obtido por uma reação no estado sólido em altas temperaturas (aproximadamente 1400°C), geralmente por uma reação equimolar entre DCP e CaCO₃ (Sargin *et al.*, 1997). É o fosfato de cálcio mais solúvel em pH por volta de cinco, além de ser o mais básico.

2.7. Cimentos Ósseos de Fosfato de Cálcio (CFC)

Os cimentos de fosfato de cálcio foram descobertos por Brown e Chow nos anos 80 (Brown & Chow, 1985). Os cimentos de fosfato de cálcio são feitos de uma solução aquosa de um ou vários fosfatos de cálcio. Após a mistura, os fosfatos de cálcio dissolvem e formam uma pasta plástica que perde plasticidade após um tempo que varia de alguns minutos a horas, precipitando na forma de um fosfato de cálcio menos solúvel.

Durante a reação de precipitação, os cristais de fosfato de cálcio crescem e formam um emaranhado, que fornecem resistência mecânica ao cimento (Bohner, 2000). Na figura 2.4 podemos observar um fluxograma da formação de um cimento ósseo de fosfato de cálcio (Carrodéguas, 2000):

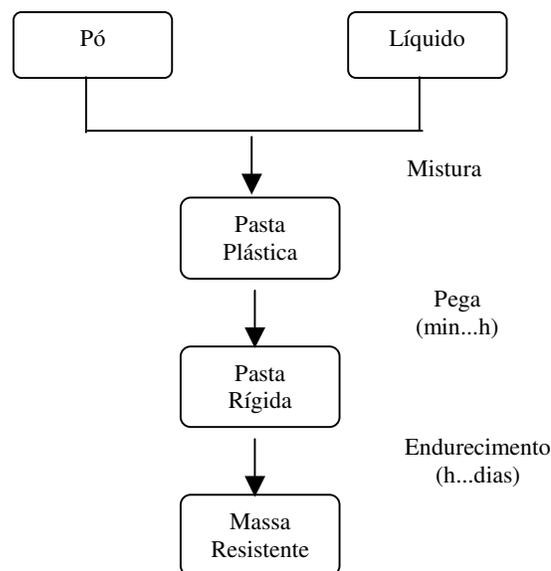


Figura 2.4. Fluxograma geral de preparação de um CFC (Carrodéguas, 2000).

Após a mistura do pó e do líquido, ocorre a formação de uma pasta plástica que perde plasticidade ao fim de um período de tempo de vários minutos a algumas horas (tempo de pega), sua resistência mecânica então aumenta progressivamente (endurecimento), alcançando seu valor máximo depois de transcorrido um tempo que pode ser de várias horas a dias (Driessens *et al.*, 1997).

As propriedades de um cimento de fosfato de cálcio, tais como plasticidade inicial, tempo de endurecimento e resistência final podem ser controlados por meio de fatores inerentes aos componentes do pó e do líquido, a mistura de ambos e as condições de maturação da pasta, como podemos observar na tabela 2.7. (Carrodéguas, 2000).

Tabela 2.7. Fatores que afetam as propriedades das pastas de cimento (Driessens *et al.*, 1997).

Pó	Natureza e pureza dos constituintes sólidos. Proporção de mistura dos constituintes sólido. Aditivos (aceleradores, retardadores). Tamanho de partícula.
Líquido	Aditivos (aceleradores, retardadores) pH
Mistura	Relação líquido/sólido (L/P)
Maturação	Temperatura Umidade pH do meio

Para que um cimento de fosfato de cálcio possa ter aplicação clínica são necessárias algumas propriedades importantes, tais como: ausência de toxicidade, perfeita adesão ao tecido duro, ausência de propriedades alergênicas ou carcinogênicas, fácil manipulação, dar pega e endurecer *in vivo* dentro de um tempo razoável para manipular, resistência mecânica apropriada e permanente, reabsorbilidade, condutor e estimulador da formação de novo tecido ósseo, tempos de pega e endurecimento controláveis.

Têm-se desenvolvido diferentes tipos de fosfatos de cálcio (Driessens, *et al.*, 1993), porém podem se agrupar em três grandes categorias (Carrodéguas, 2000):

- Baseados em β -fosfato tricálcio (β -TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) e ácido fosfórico (H_3PO_4) ou fosfato de cálcio (DCP, CaHPO_4) que ao reagir originam uma fase de fosfato dicálcio dihidratado (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);
- Baseados em α -fosfato tricálcio (α -TCP) que formam uma fase de hidroxiapatita deficiente de cálcio (CDHA, $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$) com excelente biocompatibilidade, bioatividade e osteointegrabilidade;
- Baseados em fosfato tetracálcio (TetCP, $\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$) e fosfato dicálcio, que também originam uma fase apatítica.

Dois tipos de reações de pega são possíveis. Primeiro pode ocorrer uma reação do tipo ácido-base, isto é, um fosfato de cálcio relativamente ácido reage com um fosfato de cálcio relativamente básico para produzir um fosfato de cálcio relativamente neutro. Um exemplo típico é o cimento de Brown e Chow (Brown & Chow, 1985), onde TetCP (básico) reage com DCP (neutro) para formar CDHA (levemente básico) (equação 2.2):



O segundo tipo de reação de pega ocorre quando o fosfato de cálcio inicial e o final possui a mesma relação Ca/P. Exemplo típico é ACP e α -TCP que formam CDHA em contato com uma solução aquosa.

Como os cimentos de fosfato de cálcio não endurecem por meio de uma reação de polimerização, somente uma pequena quantidade de calor é liberada. O volume de cimento de fosfato de cálcio permanece praticamente constante durante a reação de pega. Os cimentos de fosfato de cálcio são materiais frágeis. A resistência à tração é de 5 a 20 vezes menor que a resistência à compressão. A maioria dos cimentos de fosfato de cálcio possui uma resistência à

compressão de 01 a 10MPa. Conseqüentemente, cimentos de fosfato de cálcio somente podem ser aplicados em combinações com implantes metálicos ou em aplicações que não exija muita carga (Bohner, 2000).

2.7.1. Cimento de DCPD

O cimento de DCPD está entre os mais solúveis em condições fisiológicas e, conseqüentemente, mais reabsorvível *in vivo* (Bohner, 2000). Cimentos de DCPD são sistemas de três componentes nos quais íons fosfatos e água reagem com um fosfato de cálcio para formar brushita (DCPD). Segundo Bohner, o componente fosfato de cálcio é o β -fosfato tricálcio que reage com ácido fosfórico (equação 2.3), ou fosfato monocálcio monohidratado (equação 2.4), formando DCPD (Bohner, 1997).



β -TCP

DCPD



β -TCP

MCPM

DCPD

Formulações baseadas na reação β -TCP/ H_3PO_4 possuem vantagens em relação a formulações baseadas em β -TCP/MCPM, tais como, preparação mais fácil e rápida, melhor controle da composição química e reatividade, propriedades físico-químicas melhores, como maior tempo de endurecimento e maior resistência mecânica devido à melhor homogeneidade, sendo que a formulação β -TCP/MCPM é composta apenas por pós, dificultando a homogeneização dos reagentes (Bohner *et al.*, 1997).

Segundo Arifuzzaman e Rohani (Arifuzzaman & Rohani, 2004), se a reação da formação do DCPD ocorrer abaixo de pH 6.5, a fase de DCPD é predominante, e acima de 6.5, há a formação de OCP e ACP. Por outro lado, em condições fisiológicas DCPD e OCP são termodinamicamente metaestáveis e, por isso, são precursores da HA.

2.8. Aplicação de CFC como Substituto Ósseo em Prototipagem Rápida em Medicina

O projeto Promed (Prototipagem Rápida na Medicina) foi criado pela Divisão de Desenvolvimento de Produtos do CenPRA (Centro de Pesquisa Renato Archer) em agosto de 2001 com o objetivo de empregar a computação gráfica e a Prototipagem Rápida no planejamento de cirurgias complexas. A metodologia é utilizada em casos não urgentes de ortopedia, reconstrução bucomaxilofacial e cranial.

Com um protótipo em mãos, o médico tem uma clara visão da situação clínica, pode planejar e simular intervenções cirúrgicas e modelar implantes exclusivos para cada caso. Tais procedimentos reduzem o tempo e os custos da operação, minimizam o desconforto e aceleram a recuperação do paciente.

Os protótipos são feitos com base nos dados obtidos em exames de tomografia computadorizada e ressonância magnética nuclear. As imagens médicas são trabalhadas em um software, que constrói um modelo tridimensional computadorizado da estrutura de interesse, como podemos observar na figura 2.5. Este volume é então transformado em um modelo físico preciso e detalhado através da Prototipagem Rápida (Promed, 2000).



Figura 2.5. Imagem computadorizada mostrando estrutura tridimensional de crânio.

Embora seja uma técnica relativamente nova na Medicina, a Prototipagem Rápida vem demonstrando ótimos resultados no planejamento de cirurgias complexas, principalmente bucomaxilofaciais e de reconstrução craniofacial. Com os protótipos tornou-se possível tocar e manusear cópias idênticas a elas, feitas nas mesmas proporções das estruturas originais – os protótipos de crânios são únicos e exclusivos para cada paciente.

Estas réplicas tão fiéis à realidade, como podemos observar na figura 2.6, que permitem aos médicos decidir com antecedência quais os procedimentos mais adequados ao caso, simular incisões ou ensaiar a colocação de uma prótese. Dentro da sala de cirurgia os protótipos funcionam como guias para orientar os procedimentos. Cirurgias bem planejadas duram menos tempo e, conseqüentemente, são mais baratas, menos traumáticas para o paciente e não requerem tantos tratamentos pós-operatórios.



Figura 2.6. Modelo de réplica de crânio.

No que diz respeito à comunicação os protótipos facilitam bastante o diálogo com o paciente e entre os próprios médicos. Fazer um diagnóstico, discutir possibilidades de tratamento ou descrever uma patologia para a família tornam-se tarefas muito mais simples quando há um modelo físico idêntico à estrutura afetada para ilustrar a situação (Promed, 2000).

Para fabricar uma prótese é preciso primeiro utilizar a biomodelagem para construir um modelo virtual da estrutura na qual será feito o implante. Este modelo é então exportado para o ambiente tridimensional do CAD, onde são feitas operações de espelhamento e subtração de imagem, até que se chegue à forma precisa da prótese e de seu respectivo molde. As informações são enviadas para a máquina de prototipagem, que confecciona as peças em poliamida.

A prótese prototipada não pode ser colocada no paciente, pois a poliamida não é biocompatível, no entanto é muito útil na fase de planejamento para simular a cirurgia em um protótipo e escolher a melhor maneira de se fazer o implante. Já os moldes prototipados servem

como fôrmas para as próteses definitivas, feitas em materiais como o cimento ósseo desenvolvido nesse trabalho (figuras 2.7a e 2.7b).

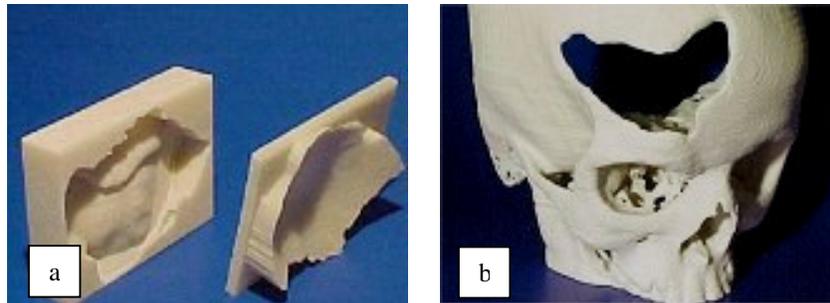


Figura 2.7 a) Molde em poliamida para fabricação da prótese; b) defeito em que será colocado a prótese.

Estão sendo estudados biomateriais que podem ser utilizados em equipamentos de prototipagem rápida. Dessa forma, seriam construídos implantes personalizados no equipamento de prototipagem rápida.

Exemplos de materiais estudados: polímeros bioreabsorvíveis como o poli (ácido lático), o poli (hidroxi butirato) e os cimentos de fosfato de cálcio, esses últimos para implantes de pequeno volume.

Capítulo 3

Materiais e Métodos

Este capítulo descreve a metodologia utilizada para o desenvolvimento desse trabalho, que está dividido em duas partes.

- **Primeira Parte: Preparo do Cimento de DCPD/ β -TCP e Hidrólise**

Síntese do β -TCP em pó: Primeiramente foi sintetizado o β -TCP em pó para utilização na formulação do cimento.

Obtenção cimento de fosfato de cálcio: Pela reação do β -TCP com H_3PO_4 foi obtido o cimento composto por DCPD e β -TCP.

Hidrólise do cimento de DCPD: Nessa etapa foram testados diferentes tempos de hidrólise do cimento, na forma de cilindros e na forma de pó, em solução de NaOH para convertê-lo em fase de apatita.

Caracterização físico-química: Após a hidrólise, os cimentos foram caracterizados para comparação de resultados entre os tempos de hidrólise realizados.

- **Segunda Parte: Estudo em Fluido Corpóreo Simulado (FCS)**

Escolha do cimento: Foi escolhido o cimento com hidrólise realizada por 48 horas para o estudo *in vitro*.

Imersão em FCS: Amostras de cimento, após hidrólise por 48 horas, foram imersas em solução de FCS por períodos de tempo variados.

Caracterização Físico-Química: Depois de retiradas da solução de FCS, as amostras foram caracterizadas.

A seguir, apresenta-se o fluxograma descrevendo as etapas do trabalho:

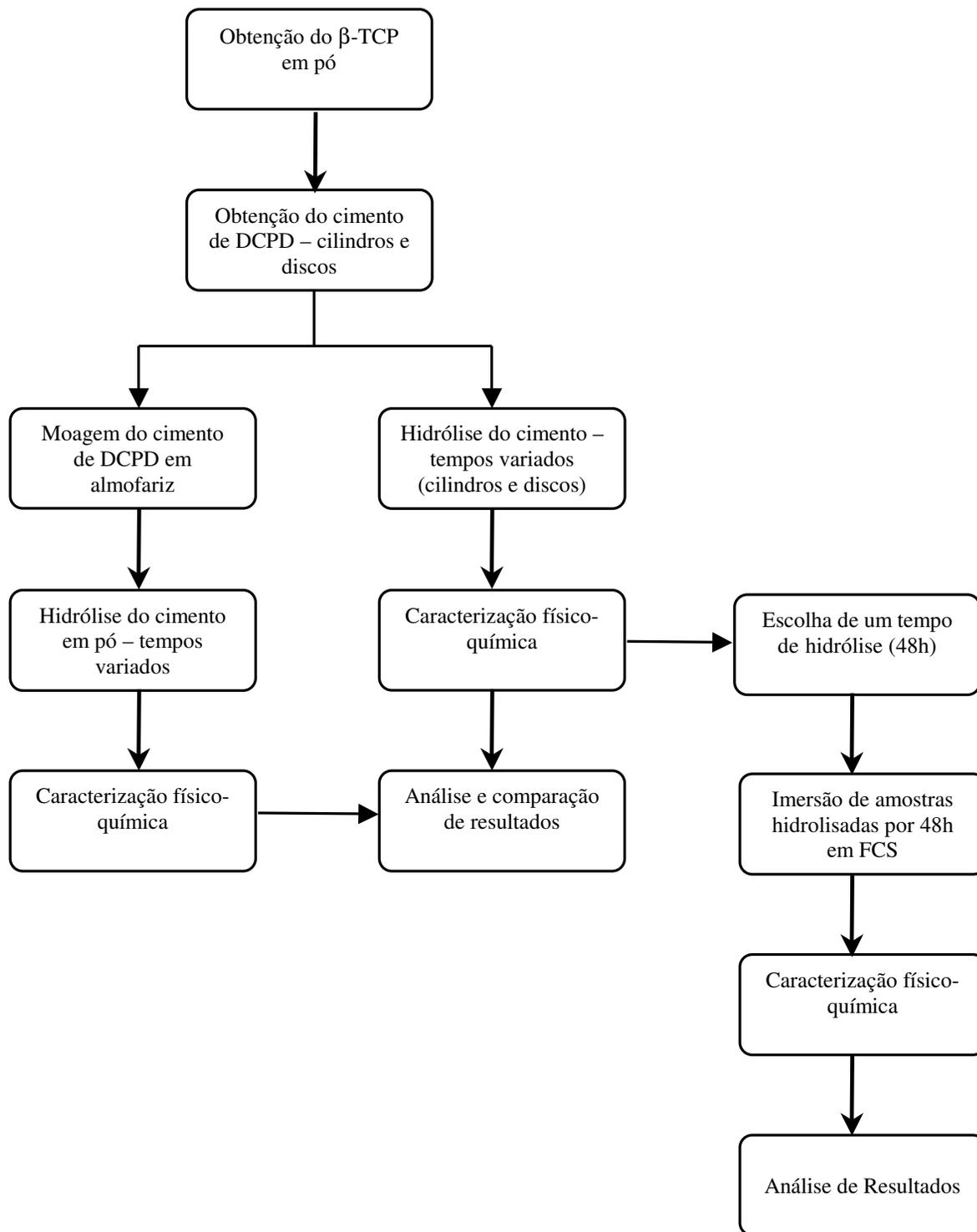


Figura 3.1. Fluxograma com as etapas do trabalho.

3.1. Materiais Utilizados

Material	Fabricante	Lote
Ácido Cítrico Monohidratado - C ₆ H ₈ O ₇ .H ₂ O	Nuclear	0202101763
Ácido Fosfórico - H ₃ PO ₄	Nuclear	03030321
Bicarbonato de Sódio - NaHCO ₃	Nuclear	03030322
Cloreto de Cálcio Dihidratado - CaCl ₂ .2H ₂ O	Nuclear	0303010051
Cloreto de Magnésio hexahidratado - MgCl ₂ .6H ₂ O	Nuclear	03050738
Cloreto de Potássio - KCl	Nuclear	0202122070
Cloreto de Sódio - NaCl	Nuclear	0303020267
Hidrogeno fosfato de potássio - K ₂ HPO ₄	Vetec	024641
Hidróxido de Sódio – NaOH	Merck	501024
Óxido de Cálcio – CaO	Vetec	97153
Sulfato de Sódio - Na ₂ SO ₄	Nuclear	0202122153
Tris(Hidroximetil)Amino metano – C ₄ H ₁₁ NO ₃	Nuclear	02010116

3.2. Síntese de β-Fosfato Tricálcio (β-TCP) (Slosarczyk *et al.*, 1996)

O β-TCP em pó foi sintetizado da seguinte forma:

▪ Foram misturados 33,7g de CaO em 01L água destilada em balão de vidro com agitação magnética constante (cerca de 900 rotações por minuto) por 30 minutos para obtenção de hidróxido de cálcio, Ca(OH)₂ (figura 3.2):



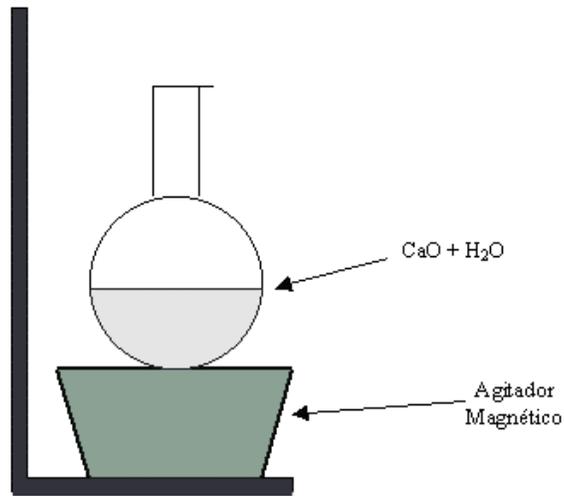


Figura 3.2. Ilustração de esquema utilizado para a síntese de β-TCP (1).

▪ À solução obtida de Ca(OH)₂, após 30 minutos, foi adicionada solução de ácido fosfórico, H₃PO₄ (figura 3.3):



CDHA

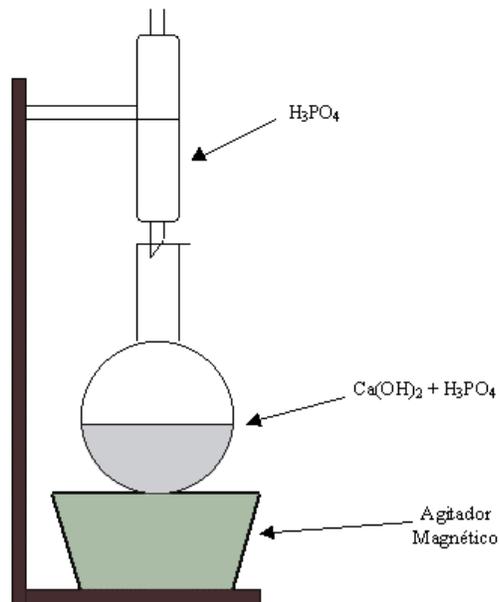
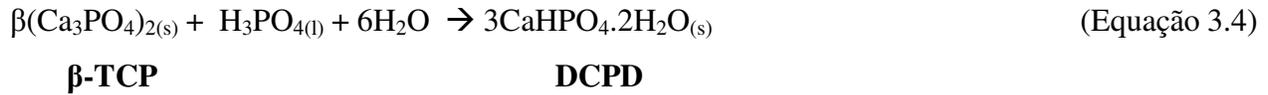


Figura 3.3. Ilustração de esquema utilizado para a síntese de β-TCP (2).



A pasta formada, após mistura por 30 segundos em béquer de vidro, foi adicionada em moldes de polímero Teflon[®] em formato de cilindros (12mm de altura e 6mm de diâmetro) para teste de compressão e pastilhas (6mm de altura e 12mm de diâmetro) para ensaios de compressão diametral (figura 3.4) (Driessens *et al.*, 2002). Os moldes foram deixados em atmosfera de 100% de umidade por 1 hora e depois permaneceram em temperatura ambiente por 24 horas para secagem. Após esse período os materiais foram retirados dos moldes e deixados em temperatura ambiente (figura 3.5).

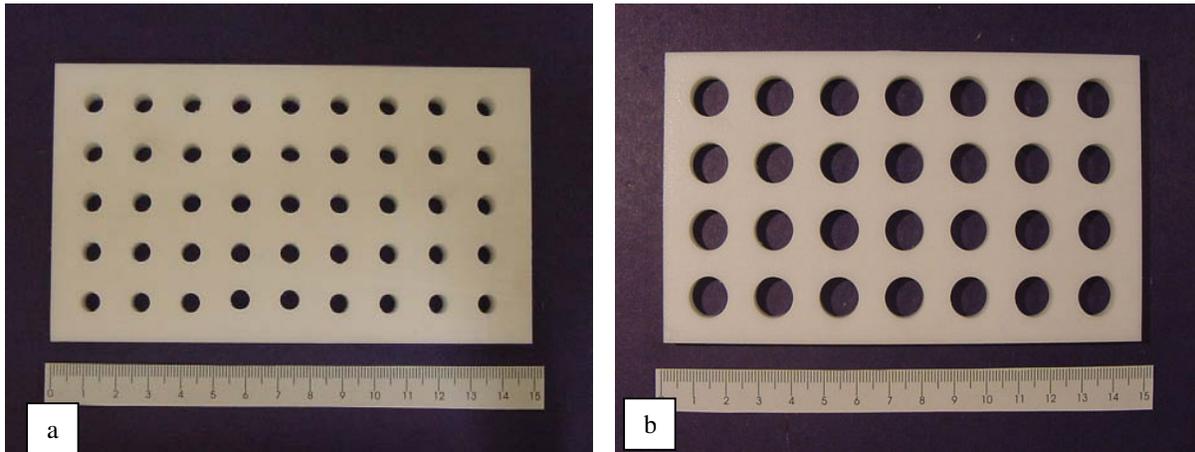


Figura 3.4. Moldes de Teflon[®] - a) cilindros para análise de compressão e b) discos para ensaio de compressão diametral.

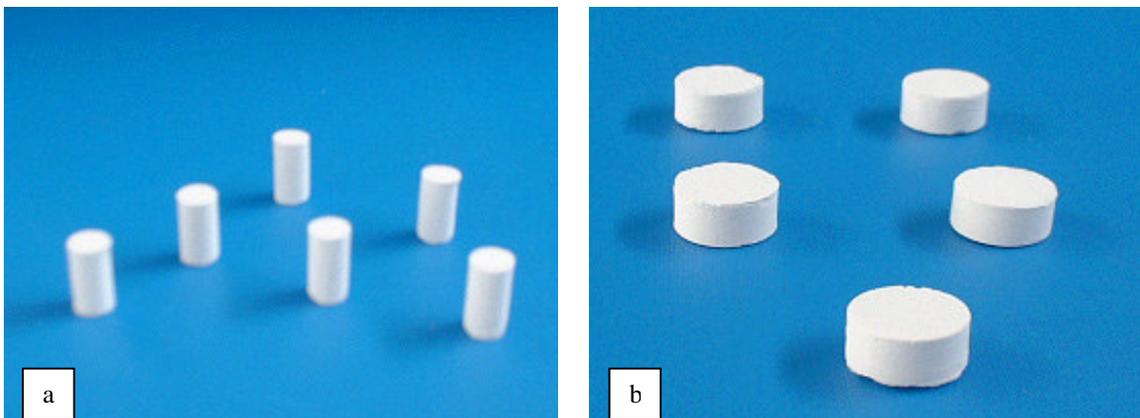


Figura 3.5. Corpos de prova – a) cilindros e b) discos.

3.4. Hidrólise do cimento de DCPD/ β -TCP

3.4.1. Hidrólise do cimento de DCPD/ β -TCP em formato de cilindros e discos

Os cilindros e pastilhas de cimento, depois de retirados dos moldes e secos em temperatura ambiente, foram colocados em frascos de vidro tipo erlenmeyer com solução de NaOH 0,36 Mol.L⁻¹ com proporção de 10mL/g, seguindo a relação estequiométrica da reação (CaHPO₄.2H₂O + NaOH), acrescido de um excesso de solução de NaOH para garantir a transformação total. Os frascos foram fechados e colocados em banho termostático em 60±1°C por períodos de tempo diferentes – 6 horas, 24 horas, 48 horas e 72 horas. Após esse período, as amostras foram retiradas e lavadas com água destilada até que o pH do sobrenadante estivesse entre 7 e 8, sendo que posteriormente foram secas em temperatura ambiente por pelo menos 24 horas.

A imersão de amostras de cimento de DCPD em solução de NaOH 0,36 Mol.L⁻¹ foi realizada com o propósito de ocorrer a transformação deste em fase mais estável e menos solúvel como CDHA e OCP.

3.4.2. Hidrólise do cimento de DCPD/ β -TCP em pó

Amostras de cimento de DCPD foram trituradas em almofariz de ágata formando um pó. O DCPD em pó foi colocado em solução de NaOH 0,36 Mol.L⁻¹ para realização de hidrólise nas mesmas condições que o cimento na forma de cilindro. Após os períodos de hidrólise, o material em pó foi filtrado a vácuo, lavado três vezes em água destilada e seco em temperatura ambiente.

3.5. Estudo *In Vitro* do Cimento

Para realização do estudo *in vitro*, os corpos de prova dos cimentos de fosfatos de cálcio foram colocados em solução de FCS (Fluído Corpóreo Simulado), líquido preparado em laboratório que simula os fluídos corpóreos (Kokubo *et al.*, 1990; Ohtuski *et al.*, 1991). A solução de FCS foi preparada para que apresentasse uma composição próxima de íons presentes no plasma sanguíneo humano. O FCS foi preparado em solução tampão de Tris/HCl (pH 7,8) adicionando-se NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂, NaHCO₃, K₂HPO₄ e Na₂SO₄ conforme as composições da tabela 3.1.

Tabela 3.1. Concentração de íons nas soluções calcificantes e no plasma sanguíneo.

	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ²⁻	HPO ₄ ⁻	SO ₄ ²⁻
Plasma (mMol.L ⁻¹)	142,0	5,0	2,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
FCS (mMol.L ⁻¹)	142,5	5,0	2,5	2,5	178,0	4,5	1,0	0,5

Para realizar o estudo *in vitro* do cimento foi escolhido o tempo de 48 horas de hidrólise do cimento. As amostras foram colocadas em frascos de polietileno na proporção de 50mL/g. Os frascos foram selados e permaneceram em banho termostático na temperatura de 37±1°C nos seguintes períodos de tempo: 01 dia, 02 dias, 07 dias, 14 dias e 21 dias, sendo que a solução de FCS foi trocada a cada 48 horas. A cada período determinado, as amostras foram retiradas, lavadas em água destilada e secas em temperatura ambiente por pelo menos 24 horas.

3.6. Métodos de Caracterização

3.6.1. Tempo de pega

Os tempos de pega inicial e final foram determinados pelo método das agulhas de Gilmore, com base na norma ASTM: C 266-99 (ASTM C 266, 1999).

O método tradicional para caracterizar a reação de pega do cimento, utiliza um caráter mecânico: o cimento é considerado curado quando ele pode resistir a uma carga mecânica aplicada sobre a sua superfície. Esse método é excelente quando a carga aplicada é baixa (10-20%) comparada à resistência à compressão máxima do cimento e quando a resistência à compressão do cimento aumenta durante a pega. Esse método não é adequado para comparar cimentos com grandes diferenças de resistência mecânica. Entretanto, tem sido relatado que os cimentos podem ter às vezes duas reações de endurecimento. As duas medidas correspondem ao conhecido tempos de pega inicial e final, mas a informação é ainda superficial e pode ser

inadequada se as cargas aplicadas não forem apropriadas às propriedades de endurecimento do cimento. (Bohner *et al.*, 2005).

Porém, mesmo com essas considerações, vários estudos têm utilizado esse método para avaliar os tempos de pega de cimentos, sendo que, a variação de propriedades e parâmetros durante a reação de cimentos podem afetar o tempo de pega dos mesmos. Segundo Grover e colaboradores, diminuindo a relação L/P, ocorre uma redução nos tempos de pega inicial e final do cimento de β -TCP + H₃PO₄, e contribui também para a mudança em propriedades como resistência mecânica e porosidade. Diminuindo a relação L/P do mesmo cimento, foi verificado um aumento na resistência mecânica do cimento e uma diminuição na porosidade do mesmo. Essas mudanças têm limites de relação L/P para ocorrerem, ou seja, a partir de um certa quantidade, essas propriedades, geralmente, estabilizam (Grover *et al.*, 2006).

Além de parâmetros como relação L/P, o tamanho das partículas e a adição de aditivos podem acelerar ou retardar os tempos de pega inicial e final de um cimento.

3.6.2. Tamanho de Partículas

Para determinar o tamanho das partículas, foi utilizado o método de difração por laser. Essa técnica tem como princípio a utilização do espalhamento de luz (laser, $\lambda = 488\text{nm}$) para determinar o tamanho das partículas, pelo seu volume. Por exemplo, se 11% da distribuição está no tamanho entre 6,9-7,75 μm , significa que o volume total de todas as partículas com diâmetro nessa variação representa 11% do volume total de todas as partículas na distribuição. Esse método é utilizado para partículas com diâmetros entre 0,5 μm até 350 μm . Foram realizadas três leituras para a mesma amostra.

Para determinar o tamanho de partículas do β -TCP, foi utilizado o equipamento Mastersizer da Malvern, modelo S-MAM 5005, utilizando álcool isopropílico como meio de dispersante. Para que as partículas permanecessem dispersas em solução, foi utilizado ultra-som por 01 minuto antes da realização da análise.

3.6.3. Difração de Raios X

A análise de difração de Raios X permite obter informações detalhadas sobre dimensões, presença de defeitos e orientação da rede cristalina. Quando um feixe de Raios X monocromático (frequência única) incide sobre um átomo isolado, elétrons do mesmo são excitados e vibram com a mesma frequência do feixe incidente.

Tais elétrons em vibração emitirão Raios X em todas direções com a mesma frequência do feixe incidente. Assim, o átomo isolado espalha o feixe incidente em todas as direções. Entretanto, quando o mesmo feixe incide sobre um conjunto de átomos ordenados, como é o caso da estrutura cristalina e se este feixe monocromático tiver comprimento de onda com valor semelhante aos espaçamentos entre tais átomos, então ocorrerá interferência construtiva em algumas direções e destrutiva em outras. A figura 3.6 ilustra um caso onde ondas em fase provocam interferência construtiva.

Nessa ilustração nota-se que a interferência construtiva de dois raios monocromáticos ocorrerá quando os mesmos permanecerem em fase. Isto acontecerá quando o segundo raio percorrer uma distância extra representada pelos segmentos \overline{BC} e \overline{CD} igual a um número inteiro de comprimentos de ondas (λ) (Caram, 2001). Então:

$$n\lambda = \overline{BC} + \overline{CD} \quad (\text{Equação 3.5})$$

onde $n=1,2,3,\dots$ e é chamado ordem de difração. Como \overline{BC} e \overline{CD} são iguais a $d_{hkl}\sin\theta$, onde d_{hkl} é a distância entre dois planos com índices (hkl), a condição necessária para ocorrer interferência construtiva deverá ser:

$$n\lambda = 2 d_{hkl} \sin\theta \quad (\text{Equação 3.6})$$

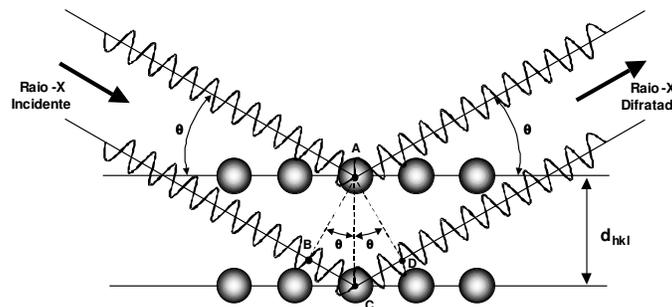


Figura 3.6. Reflexão de raios X de natureza monocromática por planos de um cristal.

Esta equação é conhecida como lei de Bragg e relaciona o comprimento de onda (λ), o ângulo do feixe (θ) de raios X incidentes e distância interplanar d_{hkl} . Como na maioria dos casos a ordem de difração é 1, a lei de Bragg torna-se igual a:

$$\lambda = 2d_{hkl} \sin\theta \quad (\text{Equação 3.7})$$

Nesse trabalho, a difração de raios X foi utilizada para caracterizar qualitativamente os fosfatos de cálcio. Para a realização das análises qualitativas de difração de raios X, foi utilizado o equipamento da marca Rigaku, modelo DMAX 2200, com radiação de $\text{CuK}\alpha$, filtro de Ni, 20kV, 40mA. O intervalo angular utilizado (2θ) foi de 4 a 40°, com velocidade de 3°.min⁻¹.

3.6.4. Microscopia Eletrônica de Varredura

O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) é um equipamento que permite a obtenção de informações sobre morfologia de amostras diversas. A grande vantagem do microscópio eletrônico de varredura em relação ao microscópio ótico é sua alta resolução, da ordem de 2 a 5nm, enquanto que no microscópio ótico é de 0,5 μm .

Os elétrons são acelerados na coluna através de duas ou três lentes eletromagnéticas com tensões de 1 a 30kV. Estas lentes obrigam um feixe de elétrons colimado (5 a 200 Å) a atingir a superfície da amostra.

A área ou o volume a ser analisada é irradiada por um fino feixe de elétrons. A interação do feixe de elétrons com a amostra causa a geração de sinais que podem ser utilizados para produzir uma imagem ou realizar análise de composição química. Para o aproveitamento desses sinais, há vários detectores localizados na câmara da amostra (Goldstein *et al.*, 1994).

O equipamento utilizado para caracterização dos materiais foi o Microscópio Eletrônico de Varredura marca JEOL, modelo JXA-840A. Para serem observadas no microscópio, as amostras foram metalizadas com ouro, foi utilizado o equipamento Sputter Coater, marca BAL-TEC, modelo SCD 050.

3.6.5. Resistência Mecânica

A resistência mecânica do cimento de fosfato de cálcio foi determinada pelos ensaios de resistência à compressão e resistência à compressão diametral. Esses ensaios têm sido empregados por diversos autores na caracterização da resistência mecânica dos cimentos de fosfatos de cálcio. O ensaio de resistência à compressão utiliza fundamentalmente esforços de cisalhamento, enquanto os ensaio de resistência à compressão diametral é utilizado para determinar resistência mecânica à tração nos materiais frágeis, sendo que é gerado um esforço de tração em relação ao comprimento do diâmetro da amostra, paralelo ao eixo de compressão (Carrodéguas, 2000).

Para os testes de resistência à compressão foram utilizados cilindros de 6mm de diâmetro e 12mm de altura, para resistência à compressão diametral, as amostras estavam no formato de discos, medindo 12mm de diâmetro e 6mm de altura.

Os testes foram realizados em um equipamento servohidráulico, marca MTS, modelo TestStarII, com célula de carga de 10kN. Os ensaios de resistência à compressão e compressão diametral foram realizados com velocidade de 1mm/min, utilizando no mínimo 06 amostras para o cimento antes de hidrolisar, após cada tempo de hidrólise e após cada tempo de imersão em FCS.

A resistência à compressão, σ_c , em MPa, foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\sigma_c = \frac{4p}{\pi \cdot \phi_{cp}^2} \quad \text{(Equação 3.8)}$$

e a resistência à compressão diametral, σ_{CD} :

$$\sigma_{CD} = \frac{2p}{\pi \cdot \phi_{cp} \cdot h_{cp}} \quad \text{(Equação 3.9)}$$

onde:

p = carga máxima de ruptura (N);

ϕ_{cp} = diâmetro do corpo de prova (mm)

h_{cp} = altura do corpo de prova (mm).

3.6.6. Porosimetria de Mercúrio

A porosidade de um material afeta suas propriedades físicas e conseqüentemente seu comportamento no ambiente próximo a ele. O termo porosimetria é freqüentemente usado para compreender as determinações de tamanho de poro, distribuição, volume, densidade e outras características relacionadas à porosidade de um material. A adsorção e permeabilidade, energia, densidade e outros fatores influenciados pela porosidade de uma substância determinam a maneira e a condição nas quais esta pode ser usada apropriadamente.

Porosimetria de mercúrio caracteriza a porosidade de um material através da aplicação de várias pressões em uma amostra imersa em mercúrio. A pressão necessária para introduzir mercúrio dentro da amostra é inversamente proporcional ao tamanho dos poros. Isto é chamado mais freqüentemente de intrusão de mercúrio (ASTM D4404, 1998).

A técnica de análise de porosimetria de mercúrio é baseada na intrusão de mercúrio em uma estrutura porosa sob pressões rigorosamente controladas. Dos dados de pressão versus intrusão, o instrumento gera distribuição de volume e tamanho dos poros usando a equação de Washburn (ASTM, D4404, 1998):

$$\phi_p = \frac{-4\gamma(\cos \theta)}{P_a} \quad \text{(Equação 3.10)}$$

onde:

γ = tensão superficial do mercúrio;

θ = ângulo de contato entre o mercúrio e a parede do poro;

ϕ_p = diâmetro aparente do poro;

P_a = pressão absoluta externa exercida.

Como o mercúrio não molha a maioria das substâncias e não penetra nos poros espontaneamente por ação capilar, ele deve ser forçado para dentro dos poros através da

aplicação de pressão externa. A pressão necessária é inversamente proporcional ao tamanho dos poros, sendo exigidas apenas pequenas pressões para introduzir mercúrio nos poros grandes (macroporos) enquanto pressões muito maiores são necessárias para forçar mercúrio para dentro dos poros pequenos (ASTM D 4404, 1998).

Para muitos materiais, a porosidade é composta de uma rede de poros interconectados de vários tamanhos. Pequenos poros de uma superfície podem conectar poros grandes dentro de um material.

Um poro pode ter acesso à superfície (poros abertos), ou pode ser isolado da superfície (poros fechados). A porosidade total está relacionada com a densidade total e calculada como a soma dos volumes relativos de poros abertos e fechados de uma amostra, e a porosidade aparente está relacionada com a densidade aparente e se refere ao volume relativo de poros abertos (Webb, 2001).

As análises de porosimetria de mercúrio foram realizadas em um equipamento da marca Micromeritics, modelo Pore Sizer 9310.

3.6.7. Picnometria de Hélio (Webb, 2001)

O picnômetro de hélio determina rapidamente o volume de objetos sólidos de formato regular ou irregular, ou ainda, em pó ou em pedaços. O aparelho possui uma câmara com volume conhecido ($V_{amostra}$) para uma pressão P_1 . Depois de introduzida a amostra na câmara, faz-se a expansão com gás hélio, obtendo-se P_2 e o volume de expansão ($V_{expansão}$), que depende da amostra. Após dez medidas, obtém-se o volume médio da amostra e, como a massa é conhecida, tem-se a densidade da amostra. O volume da amostra ($V_{amostra}$) é calculado de acordo com a equação 3.11:

$$V_{amostra} = \frac{V_{porta-amostra} - V_{expansão}}{\left(\frac{P_1}{P_2}\right) - 1} \quad (\text{Equação 3.11})$$

E a densidade (ρ) é obtida pela equação 3.12:

$$\rho = \frac{m}{v} \quad (\text{Equação 3.12})$$

onde:

m = massa da amostra

v = volume da amostra

A determinação da densidade por esse método foi realizada em um equipamento Micromeritics, modelo AccuPyc 1330.

3.6.8. Análise de Infravermelho

Técnica espectroscópica que permite a análise qualitativa e quantitativa e a identificação de uma substância orgânica ou mineral pelos grupos funcionais presentes na molécula em consideração ou na substância em análise.

A radiação infravermelha é uma espécie de radiação eletromagnética cujo espectro começa num dos limites do espectro da luz (o vermelho) e se estende até à zona das ondas hertzianas (radar, televisão, rádio). É caracterizada por um comprimento de onda compreendido entre 0,01 e 7×10^{-5} cm.

Nas moléculas, os átomos e os grupos atômicos estão em contínuo movimento, uns em relação aos outros (vibrações moleculares). Quando elas são sujeitas a radiação com energia semelhante à correspondente a essas vibrações (radiação infravermelha), as moléculas podem alterar o seu estado de vibração (excitação), absorvendo a radiação correspondente à diferença de energia entre o estado inicial e o estado excitado. Como não é possível a uma molécula vibrar de qualquer modo, mas apenas de alguns modos, a absorção da radiação ocorre apenas para determinados valores da energia, valores estes que são característicos das moléculas. Assim, através da comparação dos valores de energia da radiação infravermelha para os quais há absorção, é possível identificar as moléculas ou os tipos de moléculas presentes nas amostras. As análises de infravermelho foram realizadas em equipamento Nicolet, modelo 60SX-B, utilizando pastilhas de brometo de potássio.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

4.1. Síntese e Caracterização do β -TCP

4.1.1. Difração de Raios X

O β -TCP foi sintetizado segundo o método apresentado no capítulo 3. A quantidade H_3PO_4 adicionada foi determinante na pureza do material obtido. Para obter resultados confiáveis, a solução de H_3PO_4 foi titulada pelo método potenciométrico, utilizando um medidor de pH, com solução NaOH 0,1M fatorada. Porém, mesmo assim, não foi possível a obtenção de β -TCP 100% puro. Pela difração de raios X (figura 4.1), podemos observar que houve formação de uma fase minoritária de β - $Ca_2P_2O_7$, porém o β -TCP formado foi majoritário.

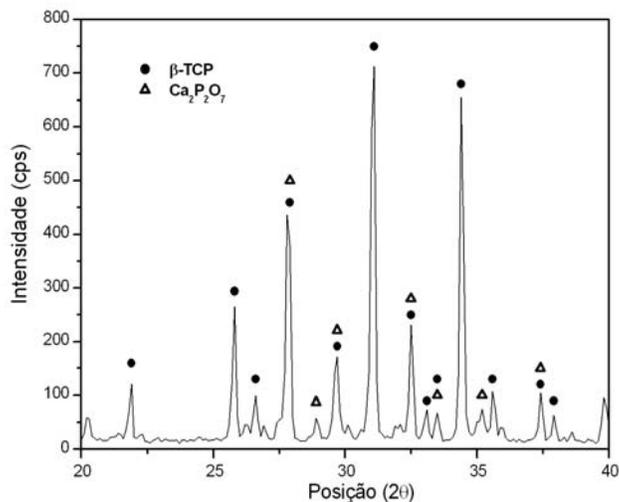


Figura 4.1. Difração de Raios X do β -TCP em pó.

A formação de $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ é devida a um excesso de H_3PO_4 durante a adição, na síntese do β -TCP. Quando o H_3PO_4 é adicionado em quantidade menor, ocorre a formação de uma fase de hidroxiapatita juntamente com o β -TCP, como podemos observar no diagrama de fases $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5$ (figura 4.2) (Aza & Aza, 2004). Esses problemas são devidos a erros durante a adição de CaO causados por desvio da estequiometria teórica devido a hidratação ou carbonatação do material.

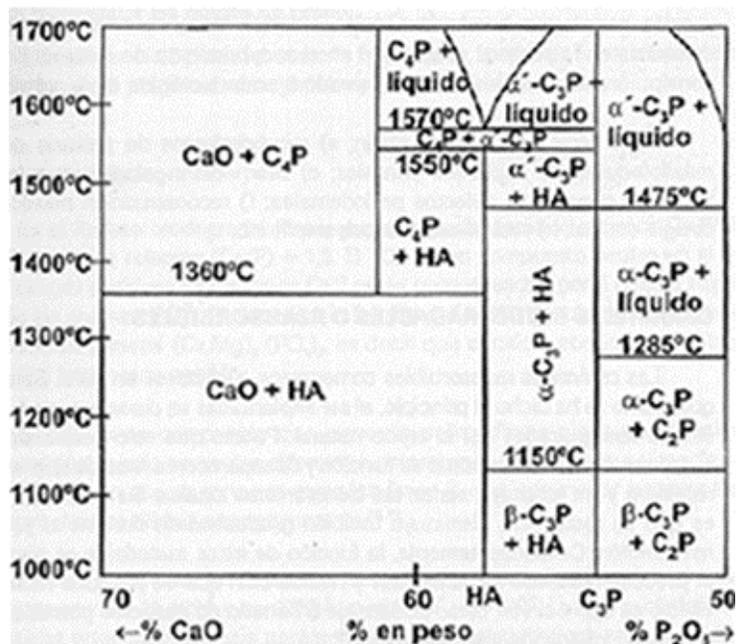


Figura 4.2. Diagrama de fases do sistema $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5$. $\text{C}_2\text{P} = \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$; $\text{C}_3\text{P} = \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; $\text{C}_4\text{P} = \text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$ (De Groot *et al.*, 1990).

4.1.2. Análise Granulométrica

Segundo Ginebra *et al.*, o tamanho de partícula é um fator chave, que modifica significativamente as propriedades finais do cimento, e que especialmente, afeta a cinética da reação química e a consolidação mecânica do cimento. Entretanto, é um parâmetro que pode ser muito útil para ajustar o comportamento do cimento de acordo com a aplicação clínica requerida. Propriedades de superfície como rugosidade, área específica e porosidade da interface entre o material e o ambiente biológico (*in vivo* ou *in vitro*) podem ser controladas pela modificação do tamanho de partícula no pó iniciante utilizado no cimento (Ginebra *et al.*, 2004). E, como tem sido mostrada em investigações recentes, essa propriedade, em nível micro e nanoestrutural podem ter uma forte influência na adsorção de proteínas e, conseqüentemente, na adesão de osteoblastos (Boyan *et al.*, 1999) (Webster *et al.*, 2000). Com isso, é de grande importância a verificação do tamanho dos grãos utilizados na preparação do cimento, pois como foi mencionado qualquer mudança nesse parâmetro pode alterar significativamente as propriedades finais do material.

A análise granulométrica por difração a laser do β -TCP após moagem em moinho de jarros com esferas de zircônia como meio de moagem durante 6 horas apresentou um diâmetro médio de 12,47 μm , sendo que 50% das partículas estão compreendidas abaixo de 5,87 μm , como podemos observar no gráfico da análise granulométrica (figura 4.3) e na tabela 4.1. A distribuição bimodal verificada no gráfico ocorre, provavelmente, devido a não homogeneidade durante a moagem em moinho de bolas.

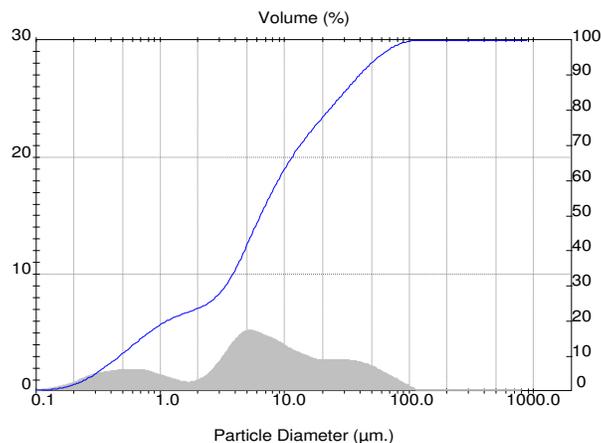


Figura 4.3- Distribuição Granulométrica do β -TCP.

Tabela 4.1. Parâmetros dos tamanhos das partículas do β -TCP.

Amostra	D (0.1) (μm) ^a	D (0.5) (μm) ^b	D (4.3) (μm) Tamanho médio	D (0.9) (μm) ^c
β -TCP	0,45 \pm 0,14	5,88 \pm 0,68	12,47 \pm 2,26	34,60 \pm 8,01

^aD (0.1) – 10% das partículas do pó estão abaixo desse valor

^bD (0.5) – 50% das partículas do pó estão abaixo desse valor

^cD (0.9) – 90% das partículas do pó estão abaixo desse valor

4.2. Caracterização do cimento de DCPD/ β -TCP

O cimento de DCPD/ β -TCP foi preparado de acordo com o item 3.3.

A determinação do tempo de pega inicial e final do cimento foi realizada pelo método das agulhas de Gillmore, e os resultados obtidos foram:

- Tempo de pega inicial: 6 minutos
- Tempo de pega final: 58 minutos

Esses resultados mostram que é possível trabalhar com esse cimento, misturando o líquido e o pó, com tempo suficiente para manuseá-lo antes do endurecimento. Estudos de Ginebra e colaboradores encontraram tempos de pega inicial e final próximos aos determinados nesse trabalho, utilizando o pó com o mesmo tamanho de grão médio (Ginebra *et al.* 2004).

A análise de difração de Raios X comprova a formação de DCPD e de uma fase minoritária de β -TCP, como podemos observar na figura 4.4:

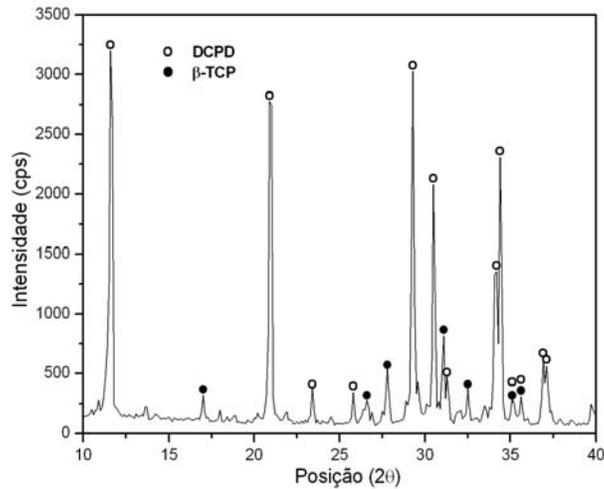


Figura 4.4. Difração de Raios X do cimento de DCPD.

A figura 4.5 mostra a micrografia da superfície de fratura do cimento, que apresenta estruturas em forma de agulhas, envolvidas, provavelmente, por grãos remanescentes de β -TCP, como foi verificado na análise de difração de raio X.

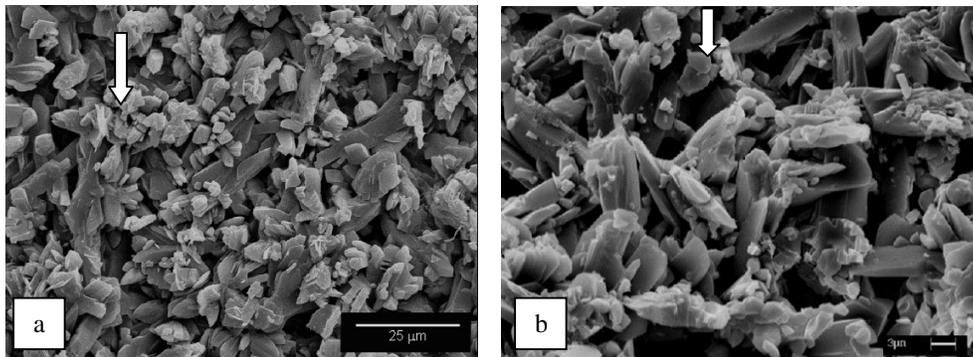
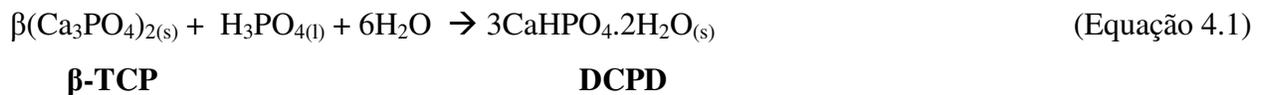


Figura 4.5. Micrografia do cimento de DCPD/ β -TCP, a) superfície do cimento, b) superfície de fratura do cimento – setas indicam a presença de grãos remanescentes de β -TCP.

A presença de grãos remanescentes de β -TCP é devida à relação estequiométrica utilizada na reação de formação do cimento. A reação do cimento pode ser representada pela seguinte equação:



Para um cimento feito de quantidades estequiométricas de reagentes, com solução de H_3PO_4 $2,7 \text{ Mol.L}^{-1}$, a relação líquido/sólido seria de $1,20 \text{ mL/g}$. Entretanto, a reação seria tão rápida que seria inviável trabalhar nessas condições. Por isso, a formulação utilizada geralmente é deficiente em ácido fosfórico, que é desejável para reduzir a quantidade de ácido não reagido no cimento, podendo causar uma diminuição no pH final do cimento (Bohner *et al*, 1997). A relação utilizada nesse trabalho foi de $0,8 \text{ mL/g}$ para uma concentração de líquido de $2,70 \text{ Mol.L}^{-1}$. Por essa razão, o β -TCP não foi totalmente reagido com o ácido, mantendo-se presente na composição do cimento.

De acordo com a concentração de H_3PO_4 e a relação líquido/pó utilizadas foi possível calcular que após a reação o pó de cimento seco deveria apresentar $77,2\%$ de DCPD e $22,8\%$ de β -TCP.

4.3. Transformação do DCPD em CDHA e OCP

4.3.1. Cimento de DCPD/ β -TCP após 48 horas de hidrólise

Amostras em forma de cilindro foram cortadas ao meio, embutidas em resina de poliéster, lixadas e polidas para observação em microscópio eletrônico de varredura. O aspecto visual observado na amostra mostrou a formação de uma capa ao redor da amostra, como pode ser observada na figura 4.6.

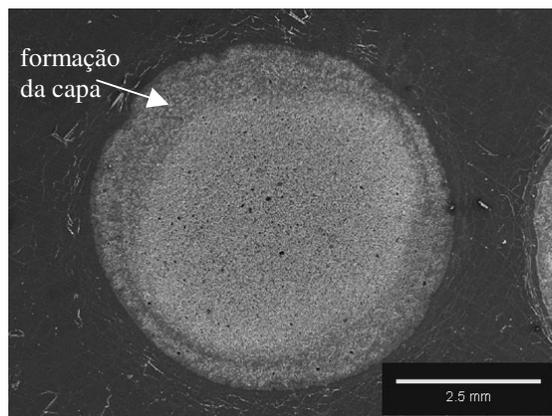
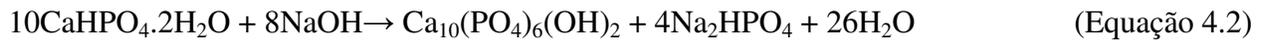


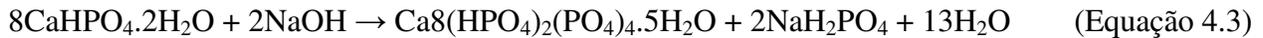
Figura 4.6. Micrografia do cimento após 48h de hidrólise em solução de NaOH.

Cilindros e discos foram triturados em almofariz de ágata para a realização de análise de difração de raios X. A análise da amostra hidrolisada (figura 4.7a) mostrou a transformação do DCPD em CDHA e OCP, resultados semelhantes obtidos por Graham & Brown (Graham & Brown, 1996). O β -TCP está presente pois é o material não reagido durante a reação de formação do DCPD. As fases de CDHA e OCP são formadas devido à transformação do DCPD em solução de NaOH, segundo as equações 4.2 e 4.3:



DCPD

CDHA



DCPD

OCP

Após essa verificação foi realizada novamente análise de difração de raios X, mas somente na camada externa do cilindro (figura 4.7b), e foi verificado somente a presença de fase de CDHA e β -TCP, sendo que podemos concluir que o OCP está presente na camada interna (centro) do cilindro.

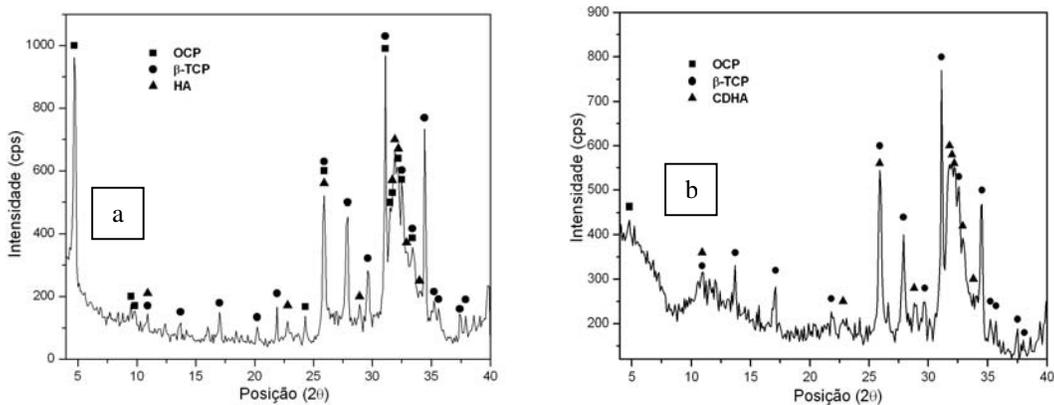


Figura 4.7. Difração de Raios X dos cimentos após 48h de hidrólise: a) cilindro total, b) camada externa do cilindro.

A microestrutura observada na camada externa da superfície e da superfície de fratura do cimento consiste de uma estrutura acicular de cristais envolvida por partículas remanescentes de β -TCP, como podemos observar nas figuras 4.8 e 4.9a e b:

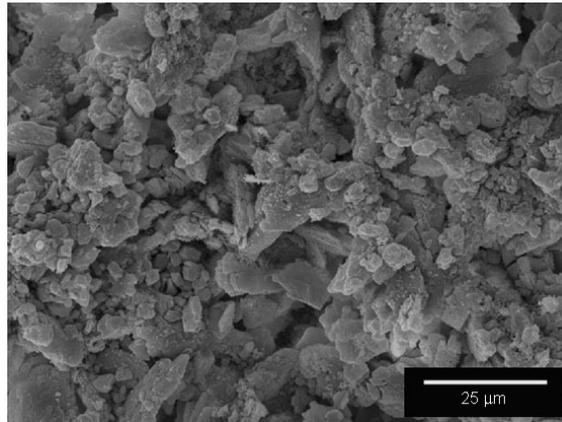


Figura 4.8. Micrografia da superfície do cimento após 48h de hidrólise.

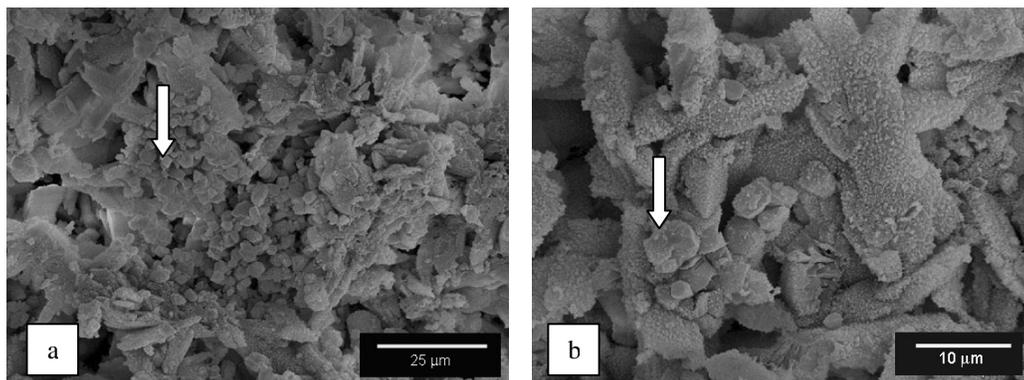


Figura 4.9. a) e b) Micrografias da camada externa da superfície de fratura do cilindro após 48 de hidrólise – setas indicam grãos de β -TCP.

No entanto, a camada interna do cilindro possui uma estrutura muito diferente, consistindo de cristais de OCP em forma de placas, descrito por Le Geros (Le Geros, 1991) como sendo característico da formação de OCP, sendo que podemos observar, ainda, a presença de grãos remanescentes de β -TCP, de acordo com as figuras 4.10a e 4.10b.

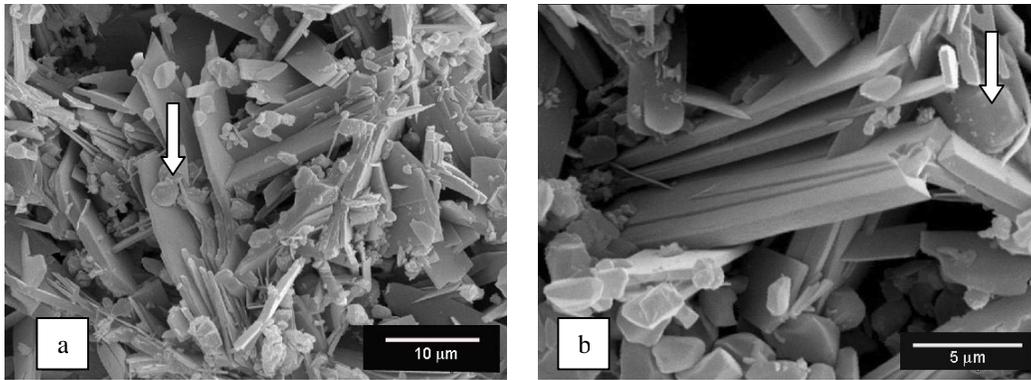


Figura 4.10. a) e b) Micrografias da superfície de fratura do centro do cilindro após 48h de hidrólise – setas indicam grãos remanescentes de β -TCP.

Como foi mencionado no capítulo 3, a reação de hidrólise foi realizada no cimento também na forma de pó, ou seja, a amostra foi triturada antes de ser hidrolisada. Os resultados obtidos nas análises de difração de raios X comprovam que a composição da amostra hidrolisada na forma de pó é semelhante à composição da camada externa do bloco de cimento, ou seja, é composta de β -TCP e CDHA, como podemos observar na análise de difração de Raios X (figura 4.11a e 4.11b). O aparecimento do pico de OCP de pequena intensidade na camada externa (Figura 4.11b) ocorre, pois devido a retirada da camada externa foi também retirada parte do interior da amostra, já que não é possível determinar visualmente o início da formação de OCP no cilindro, e, conseqüentemente, uma pequena quantidade de OCP apareceu na análise. Porém, como a intensidade do pico de OCP é muito maior na análise do cilindro inteiro, podemos concluir que o OCP está preferencialmente e com maior intensidade presente no interior da amostra.

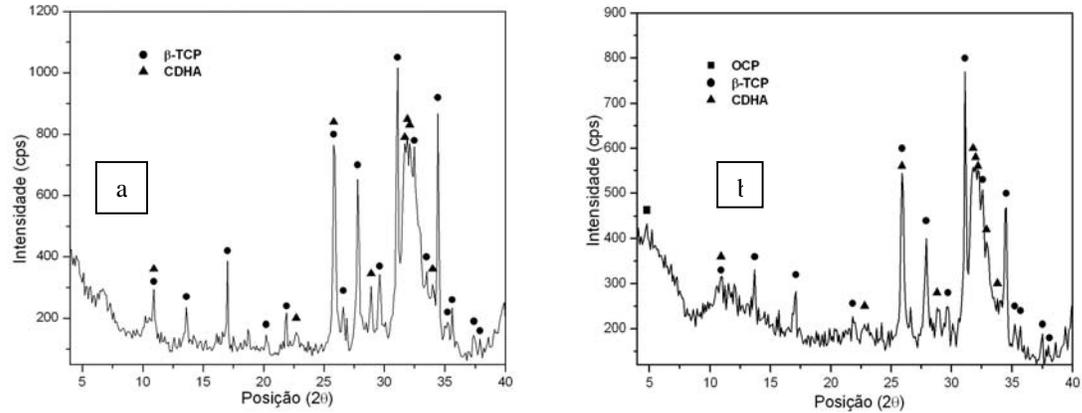


Figura 4.11. Difração de Raios X do cimento hidrolisado por 48 horas: a) na forma de pó, b) camada externa do cilindro.

As micrografias obtidas dos cimentos hidrolisados na forma de cilindro e pó também comprovam a semelhança entre as microestruturas (figuras 4.12a e 4.12b).

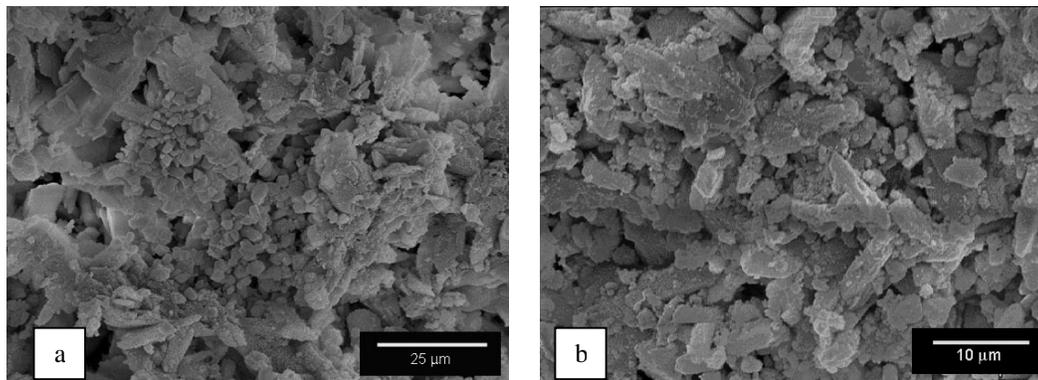


Figura 4.12. Micrografia do cimento após hidrólise por 48 horas: a) camada externa do cilindro, b) cimento hidrolisado na forma de pó.

A análise de porosimetria de mercúrio do cimento antes e após a hidrólise por 48 horas demonstrou que o tamanho médio e volume total dos poros do cimento aumentaram, como podemos observar na tabela 4.2.

Tabela 4.2. Dados obtidos na análise de porosimetria de mercúrio.

Amostra	Diâmetro Médio do Poro (nm)	Densidade Total (g/cm³)	Densidade Aparente (g/cm³)	Porosidade (%)
Cimento DCPD (antes hidrólise)	8,5	1,30	1,50	12,00
Cimento DCPD após 48h de hidrólise	31,4	1,00	1,30	22,80

Os resultados da porosimetria de mercúrio são também qualitativamente confirmados pelos resultados da microscopia eletrônica de varredura. As micrografias do material antes da hidrólise (figura 4.5) mostram uma estrutura muito mais compacta que a correspondente ao material hidrolisado por 48 h (figuras 4.8 a 4.10).

Pelas caracterizações realizadas, comprovamos que a camada externa do cilindro e o cimento hidrolisado na forma de pó são compostos por CDHA, segundo a equação 4.2, assumindo que a hidroxiapatita formada seja estequiométrica.

O gradiente microestrutural observado nas amostras em forma de cilindros é devido à diminuição de íons hidroxila (OH⁻) na parte interna do cilindro causado pela dificuldade da difusão da solução de hidrólise do exterior ao centro da amostra. O resultado é a diminuição do pH a níveis onde o OCP é a fase mais estável, pois como foi mencionado no capítulo 3, o OCP possui pH um pouco menor que o da CDHA. A equação da reação de formação do OCP pode ser descrita como a equação 4.3.

A hidrólise do DCPD no bloco de cimento é um processo heterogêneo, e por essa razão, sua taxa depende da área da interface sólido/líquido e da taxa de difusão da solução de hidrólise pelos

poros e canais no interior do bloco de cimento, sendo que a concentração da solução de hidrólise também pode influenciar na taxa de reação (Carrodéguas *et. al.*, 2003).

No caso das amostras imersas em solução de NaOH, os processos de difusão em direção ao interior da amostra estão limitados, devido à dificuldade de difusão da solução de NaOH pelos caminhos tortuosos devido a estrutura de poros do cimento. As condições do pH local ligeiramente ácido se mantêm a partir de um grau de hidrólise determinado, sendo favorecida a precipitação de OCP. Na presença de difusão livre da solução de hidrólise, como ocorre no material em pó e na camada externa do cilindro, o único produto de hidrólise observado foi CDHA.

O aumento da porosidade observado após a hidrólise por 48 horas pode ser então explicado pelas transformações que ocorrem durante a hidrólise em solução de NaOH. De acordo as reações 4.2 e 4.3 e utilizando dados de densidade teórica (tabela 4.3) (JCPDS, 1997), os volumes e as massas molares dos compostos envolvidos são modificados, durante a transformação do DCPD a CDHA e OCP, ocorrendo uma contração volumétrica da fase sólida de 57,2 e 38,2%, respectivamente. Porém, no caso da massa, a perda calculada é de 41,6 e 28,6%, respectivamente.

O resultado é a densificação da fase sólida, que é maior no caso da transformação a CDHA, como se pode observar na camada externa da figura 4.9, do que quando transforma a OCP (figura 4.10). Tendo em conta que o processo global, no caso de peças monolíticas, transcorre a volume aparente (volume de fase sólida mais volume de poros) constante, a densificação da fase sólida é responsável pelo aumento da porosidade do material hidrolisado. A aparente contradição observada nos valores de densidade aparente da tabela 4.2, calculada por porosimetria de mercúrio em relação à densidade calculada por picnometria de hélio (tabela 4.4) pode ser causada pela obstrução de alguns poros durante a hidrólise com o conseqüente impedimento da penetração do mercúrio. Os dados de densidade medida no picnômetro de hélio (tabela 4.4), confirmam esta hipótese.

Tabela 4.3. Valores de densidade teórica utilizados para cálculo da contração de massa e volumétrica (JCPDS, 1997).

	Densidade Teórica (g/cm ³)
DCPD	2,314
HA	3,155
OCP	2,673

Tabela 4.4. Resultados obtidos na análise de picnometria de hélio.

	Densidade Média (g/cm ³)	Volume Médio (cm ³)
Cimento de DCPD	2,4804 ± 0,0175	0,4137 ± 0,0029
Hidrólise – 48h	3,2202 ± 0,0274	0,2171 ± 0,0018

A reação de hidrólise do cimento bifásico de DCPD/ β -TCP resultou na formação de um CFC trifásico, composto por CDHA/OCP/ β -TCP. A composição trifásica do CFC é caracterizada por diferentes taxas de degradação para CDHA, OCP e β -TCP. Essas cerâmicas, bifásicas ou trifásicas, apresentam um comportamento de degradação intermediário, por essa razão apresentam uma reabsorção progressiva (Gauthier *et al.*, 1999). CDHA, OCP e β -TCP são biodegradáveis, porém o OCP é mais solúvel que o β -TCP, que é muito mais solúvel que a CDHA, e, suas associações são bem aceitas como substituto ósseo (Vereecke & Lemaitre, 1990). Porém, segundo relatos de Kamakura e colaboradores, após ensaio *in vivo*, foi constatado que o OCP é mais reabsorvível que o β -TCP e a CDHA (Kamakura *et al.*, 2001).

Após o estudo da reação de hidrólise por 48 horas, foram realizadas hidrólises por 6, 24 e 72 horas e realizadas caracterizações para estudo mais aprofundado do mecanismo de reação.

4.3.2. Cimento DCPD/ β -TCP após 6 horas de hidrólise

Após 6 horas de reação, foi observado que a hidrólise ainda não foi completa, pois foi encontrada fase de DCPD na análise de difração de Raios X, conforme a figura 4.13a:

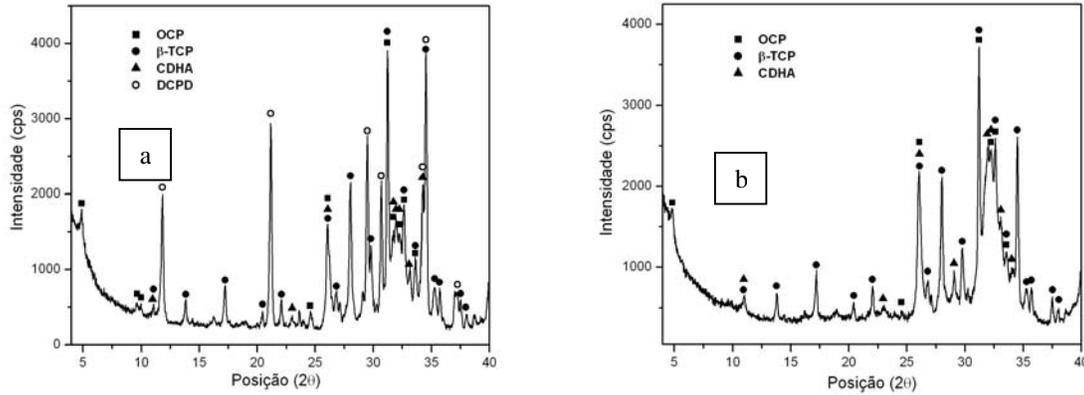


Figura 4.13. Difração de Raios X do cimento após 06 horas de hidrólise: a) cilindro total, b) camada externa do cilindro.

Como a reação se processa do exterior em direção ao centro da amostra, verificou-se que o DCPD está presente na camada central, de acordo com a análise de difração de raios X da camada externa do cilindro, que não apresentou a fase DCPD (figura 4.13b).

De acordo com as micrografias da figura 4.14a e 4.14b, podemos observar a heterogeneidade da morfologia encontrada na superfície de fratura dos cilindros da camada externa em direção ao centro. A figura 4.14b mostra a estrutura de DCPD similar à figura 4.4, antes da hidrólise.

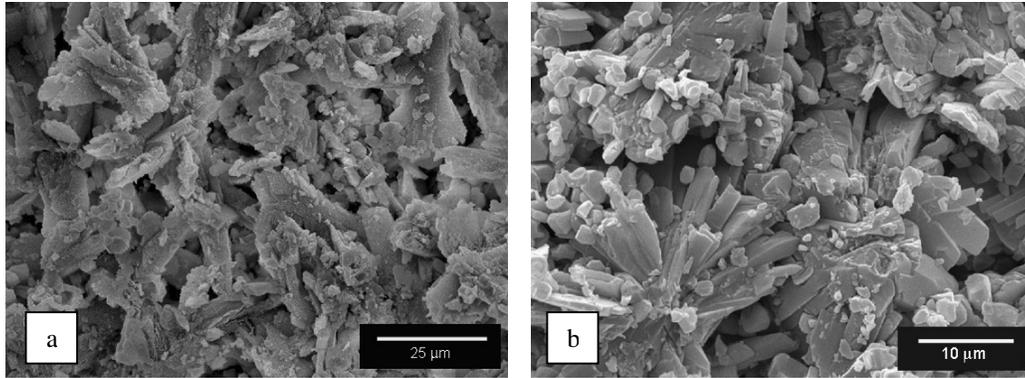


Figura 4.14. Micrografia do cimento após 6 horas de hidrólise: a) camada externa, b) centro do cilindro.

A hidrólise realizada na amostra em forma de pó também não foi completa, pois pela análise de difração de raios X, observou-se a presença de DCPD na amostra (figura 4.15). Podemos concluir, que mesmo na forma de pó, em que ocorre melhor difusão da solução de hidrólise, e 6 horas é um tempo curto para a conversão total do DCPD em CDHA.

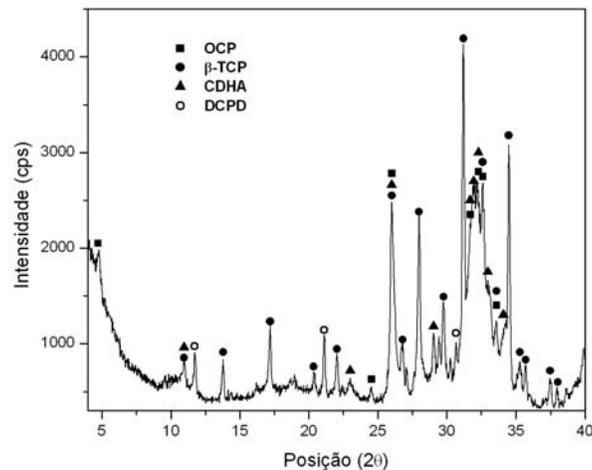


Figura 4.15. Difração de Raios X do cimento após 6 horas de hidrólise na forma de pó.

4.3.3. Cimento DCPD/ β -TCP após 24 horas de hidrólise

Após 24 horas de hidrólise (figuras 4.16a e 4.16b), foi observado que ainda há fase de DCPD presente na amostra, comprovando que após 24 horas a reação de hidrólise ainda não é completa.

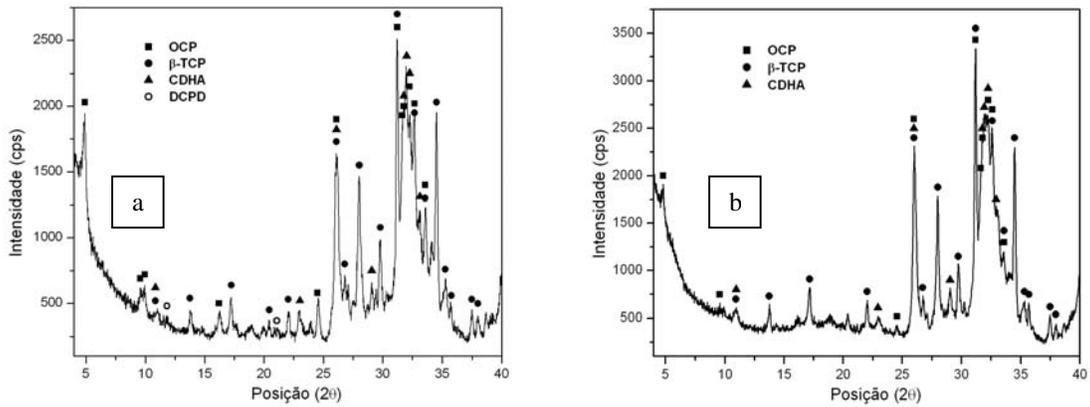


Figura 4.16. Difração de Raios X do cimento após 24 horas de hidrólise: a) cilindro total, b) camada externa do cilindro.

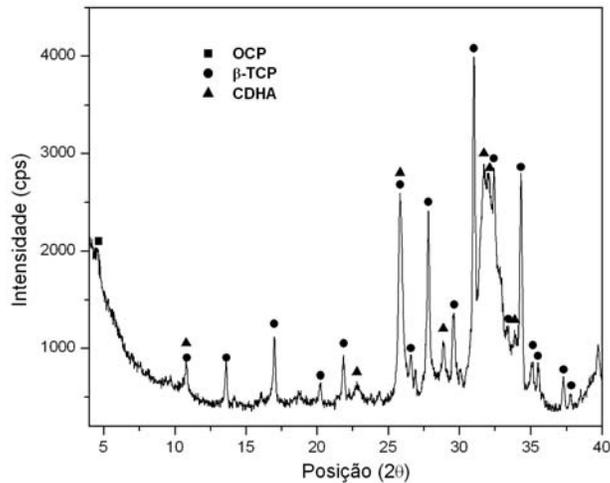


Figura 4.17. Difração de Raios X do cimento após 24 horas de hidrólise na forma de pó.

Porém, foi observado que os picos de difração de raios X correspondentes ao OCP são mais intensos e os de DCPD menos intensos (Figura 4.16a) quando comparados ao período de 6 horas de hidrólise (Figura 4.15). Isto confirma a transformação gradual do DCPD em OCP e CDHA. A análise de difração de Raios X do cimento hidrolisado na forma de pó por 24 horas não mostra mais a presença do DCPD, confirmando a melhor difusão da solução hidrolisante no material na forma de pó quando comparado na forma de cilindro (Figura 4.17).

A micrografia do cimento na forma de cilindro apresenta cristais de DCPD em seu interior (Figura 4.18), confirmando a presença desta fase após 24 horas de imersão em solução de NaOH.

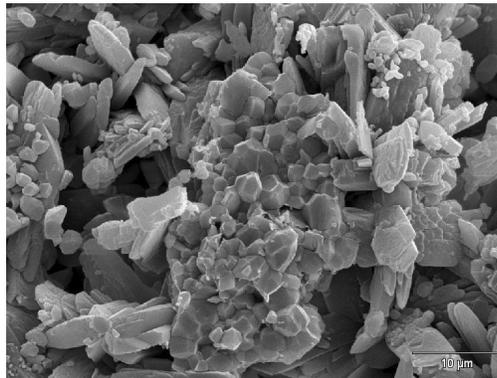


Figura 4.18. Micrografia do cimento após 24 horas de hidrólise - camada central.

O estudo da reação de hidrólise durante 48 horas está mencionada na página 51.

4.3.4. Cimento DCPD/ β -TCP após 72 horas de hidrólise

Foi realizada a reação de hidrólise por 72 horas, visando o estudo do mecanismo de reação e verificando a possibilidade de ocorrência de outra transformação após 48 horas de hidrólise. Porém, foi verificado pelas análises de difração de raios X e microscopia eletrônica de varredura, que não ocorre a formação de novas fases após decorrido 48 horas de reação, como podemos verificar nas figuras 4.19a e 4.19b.

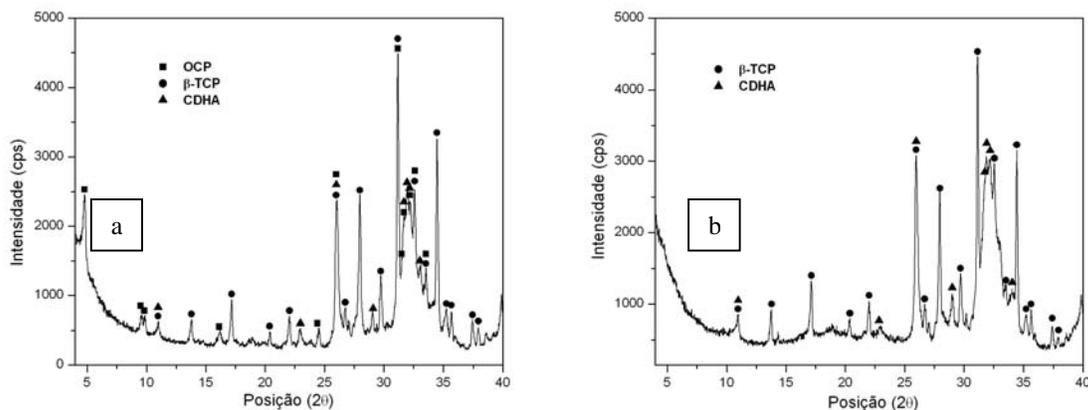


Figura 4.19. Difração de Raios X do cimento após 72 horas de hidrólise: a) cilindro total, b) na forma de pó.

A morfologia do cimento após 72 horas de hidrólise (Figuras 4.20a e 4.20b) apresenta as mesmas características do tempo de 48 horas (Figuras. 4.8 a 4.10).

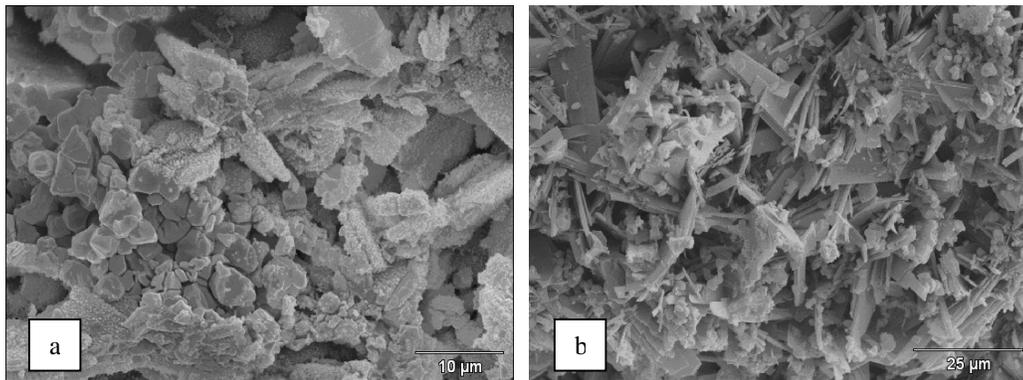


Figura 4.20. Micrografia do cimento após 72 horas de hidrólise: a) camada externa, b) centro do cilindro.

4.3.5. Análise de Infravermelho

A análise por espectroscopia no infravermelho possibilita a caracterização dos grupos funcionais presentes nos materiais. As figuras a seguir mostram os espectros na região do infravermelho médio obtidos dos cimentos hidrolisados em pó (figura 4.21) e da camada externa do cimento no formato de cilindro (figura 4.22). A tabela 4.5 mostra as deformações que ocorrem nos grupos funcionais e suas atribuições.

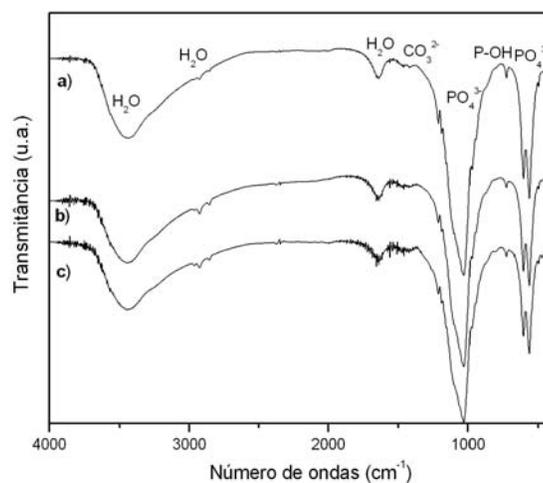


Figura 4.21. Espectros de Infravermelho do cimento hidrolisado na forma de pó: a) 6 horas de hidrólise, b) 24 horas de hidrólise e c) 48 horas de hidrólise.

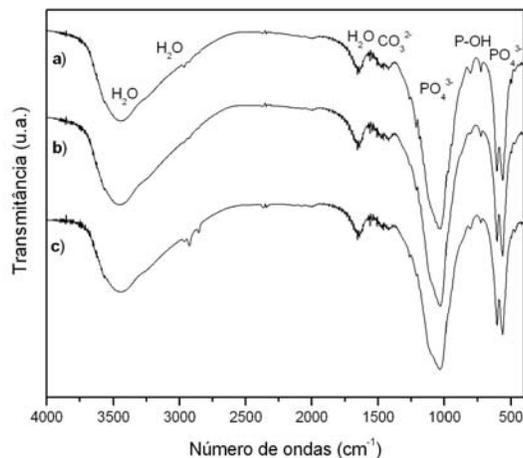


Figura 4.22. Espectros de Infravermelho da camada externa do cilindro hidrolisado: a) 6 horas de hidrólise, b) 24 horas de hidrólise e c) 48 horas de hidrólise.

Tabela 4.5. Relação das bandas observadas nos espectros de infravermelho.

Banda (cm ⁻¹)	Atribuição
3400	Vibração de valência O-H em H ₂ O
1645	Vibração de deformação H-O-H de H ₂ O
1435	Vibração de valência - simétrica de CO ₃ ²⁻
1100, 1093, 1047	Vibração de valência - antisimétrico de PO ₄ ³⁻ ou vibração de valência PO ₃ ⁻ em HPO ₄ ²⁻
616, 581	Vibração de deformação O-P-O em PO ₄ ³⁻

Os espectros das amostras hidrolisadas em pó apresentaram os mesmos resultados, evidenciando que não há alterações nos grupos químicos funcionais durante o tempo de hidrólise. O que ressalta nessa análise é a presença do grupo carbonato (CO₃²⁻) em todas as análises.

De acordo com relatos de Merry *et al.*, as apatitas biológicas diferem quimicamente das estequiométricas nos elementos substituídos dentro da rede da HA. Um dos maiores substitutos é o carbonato (CO₃²⁻), que ocorre na parte mineral dos ossos em níveis de 5-8% (Merry *et al.*,

1998). As apatitas carbonatadas são classificadas como tipo A ou B, dependendo do modo de substituição do carbonato: CO_3^{2-} por OH^- (tipo A) ou CO_3^{2-} por PO_4^{3-} (tipo B), sendo que apatitas biológicas são principalmente tipo B (Le Geros, 1991). Em preparações por método úmidos, algumas frações de grupos PO_4^{2-} e OH^- são substituídos por grupos CO_3^{2-} , formando o tipo AB. As apatitas carbonatadas tipo B são obtidas quando são preparadas pela precipitação direta ou pela hidrólise de ACP, DCP, OCP ou DCPD em soluções contendo íons carbonato.

Nos resultados obtidos em infravermelho, ocorre o aparecimento de banda de absorção do CO_3^{2-} em 1435 cm^{-1} , e, segundo alguns autores, é atribuído a apatita tipo B, ou seja, o grupo CO_3^{2-} substituiu parte do grupo PO_4^{3-} (Merry *et al.*, 1998) (Slosarczyk *et al.*, 2004) (Carrodéguas, 2000). A presença de carbonato na estrutura da hidroxiapatita pode influenciar a decomposição, sinterabilidade, solubilidade e reatividade biológica após o implante (Slosarczyk *et al.*, 2004). No caso desse trabalho, o íon carbonato não foi adicionado propositalmente, mas ele pode ser oriundo de impurezas de reagentes, como o óxido de cálcio e também da água destilada utilizada na síntese do β -TCP e no preparo de soluções.

A presença de bandas de absorção de água são devidas, principalmente, à água adsorvida na superfície da CDHA, e água de cristalização, no caso de OCP e DCPD. Podemos observar, também, a baixa resolução nos espectros, isso reflete a baixa cristalinidade obtida no material, característicos de CDHA, sendo concordantes com as análises de DRX, que apresentaram alargamento dos picos e perda de resolução, que são característicos de materiais com baixa cristalinidade (Le Geros, 1991).

4.3.6. Resistência à Compressão

As amostras do cimento em forma de cilindros foram submetidas ao ensaio de resistência à compressão em corpos de prova no tamanho de 6mm de diâmetro e 12mm de altura. As resistências à compressão do cimento antes da hidrólise (tempo=0) e após 6 horas de hidrólise apresentaram valores maiores quando comparados com os tempos de 24, 48 e 72 horas, como podem ser observados na figura 4.23.

Esse fato ocorre, pois, durante a hidrólise, primeiramente ocorre a dissolução do DCPD e em seguida, a precipitação do OCP seguido da conversão deste em CDHA. O processo de dissolução do DCPD é mais rápido que o de precipitação de OCP e CDHA, ocorrendo uma diminuição do entrelaçamento dos cristais, que reflete na diminuição da resistência mecânica do cimento. Após 6 horas de hidrólise, o cimento ainda apresenta a fase de DCPD, por isso, a resistência mecânica é próxima ao cimento antes da hidrólise. Os valores de resistência nos tempos de 24, 48 e 72 horas são próximos, isso indica que não ocorre mais transformação que afete a resistência mecânica do material (Carrodéguas, 2003).

A queda da resistência mecânica do cimento ocorre, também, devido à maior porosidade apresentada após 48 horas de hidrólise, sendo que há um aumento do tamanho e das quantidades de poros do cimento, e, quanto maior o tamanho e a quantidade de poros, menor a resistência mecânica do material. Porém, segundo relatos, um implante ósseo requer biocompatibilidade, resistência mecânica e porosidade para promover as interações entre o biomaterial e o tecido sem reações indesejáveis. A criação de uma estrutura porosa relacionando o tamanho do poro, forma, distribuição e suas relativas orientações é um dos mais importantes problemas da engenharia de biomateriais (Vaz *et al.*, 1999).

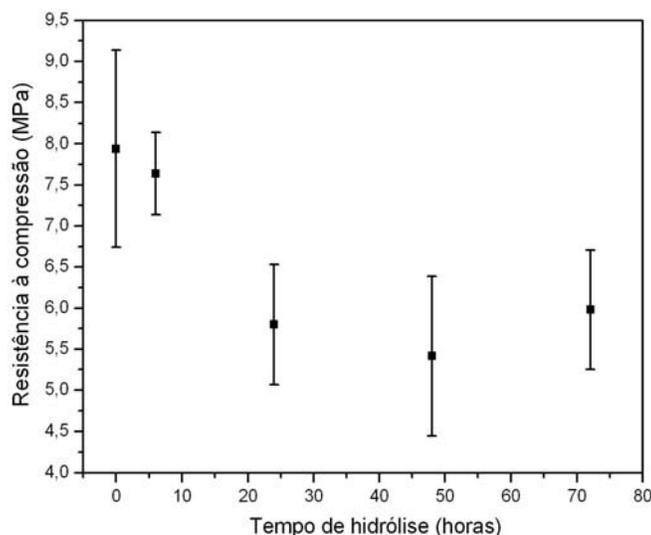


Figura 4.23. Resistência à compressão do cimento antes e após a reação de hidrólise.

4.4 Transformações em Fluido Corpóreo Simulado (FCS)

Como foi mencionado no capítulo 03, a solução de FCS simula o plasma sangüíneo humano, e é utilizada para uma avaliação preliminar do comportamento do implante em ambiente corpóreo. Segundo relatos de Santos, testes *in vitro* podem não representar a situação real de um implante, entretanto, podem fornecer resultados rápidos a respeito da interação do material com meios biológicos, contribuindo para minimizar testes em animais (Santos *et al.* 2002).

As amostras do cimento após 48 horas de hidrólise em forma de cilindros foram colocadas em solução de FCS nos seguintes períodos de tempo: 01 dia, 02 dias, 07 dias, 14 dias e 21 dias. Após cada período mencionado, as amostras foram retiradas da solução, lavadas cuidadosamente em água destilada, secas em temperatura ambiente e caracterizadas. A solução de FCS foi trocada a cada dois dias para preservar suas características químicas.

4.4.1. Caracterizações

As análises de difração de Raios X dos cimentos após a imersão em FCS mostraram que não ocorreram alterações na composição do cimento, como podemos observar nas figuras 4.24a, 4.24b e 4.25. Com esse resultado, podemos afirmar que o cimento ósseo composto por CDHA, OCP e β -TCP não sofre alterações quanto à sua composição quando em contato com a solução

que simula os fluídos corpóreos, sendo um bom indicativo da estabilidade do material em estudo e que após 21 dias não há solubilização total de nenhum componente do cimento trifásico.

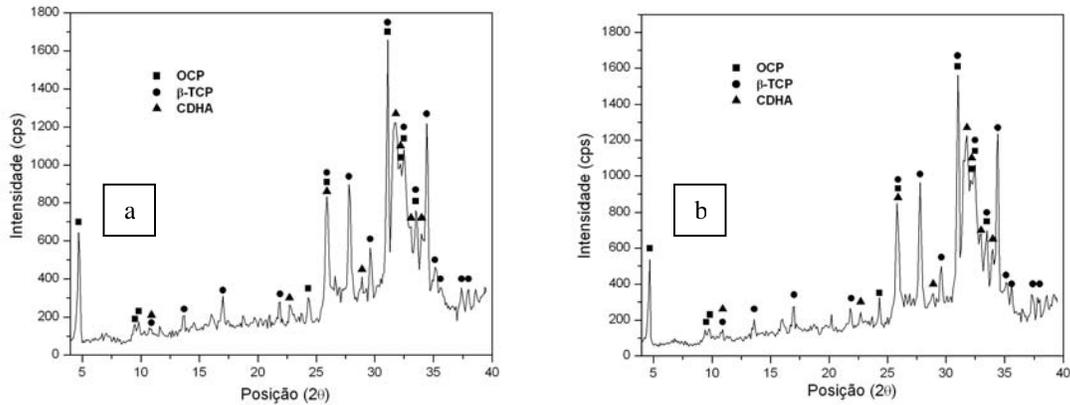


Figura 4.24. Difração de Raios X do cimento após imersão em FCS: a) 01 dia de imersão, b) 14 dias de imersão.

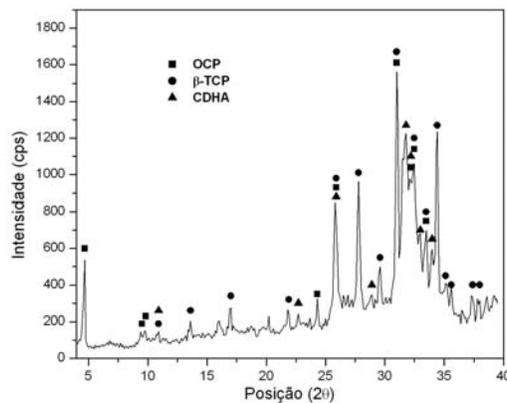


Figura 4.25. Difração de Raios X do cimento após 21 dias de imersão em FCS.

As micrografias 4.26a e 4.26b mostram a superfície do cimento após a hidrólise e antes da imersão em FCS. Podemos observar a estrutura irregular de CDHA com grãos de β-TCP. Porém, após a imersão em FCS, figuras 4.27a, 4.27b, 4.28a e 4.28b, ocorre a formação de uma capa de apatita, cobrindo a superfície, não permitindo mais a observação da grande quantidade de grãos de β-TCP que podemos observar antes da imersão.

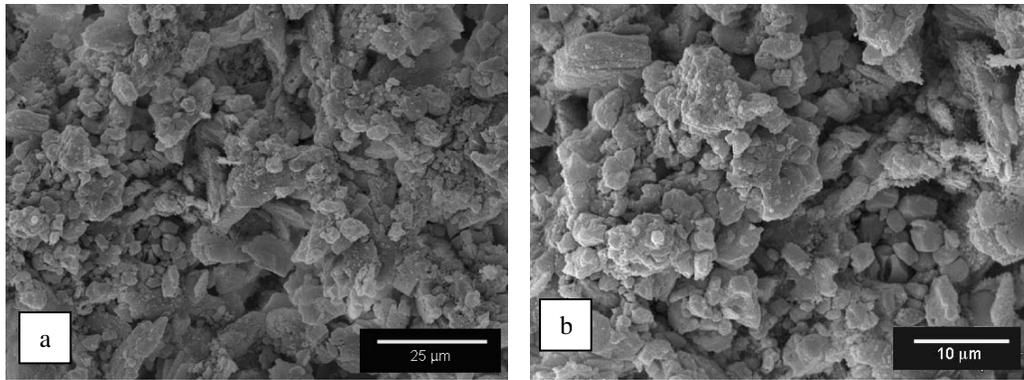


Figura 4.26. a) e b) Micrografias da superfície do cimento antes da imersão em FCS.

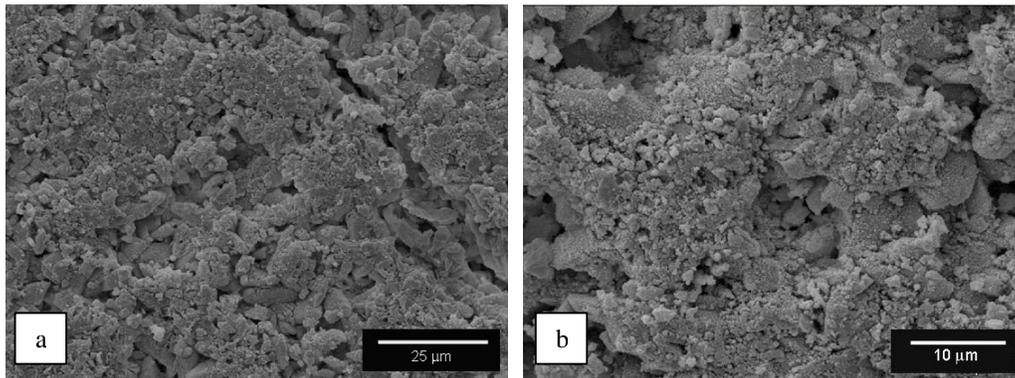


Figura 4.27. a) e b) Micrografias da superfície do cimento após 01 dia de imersão em FCS.

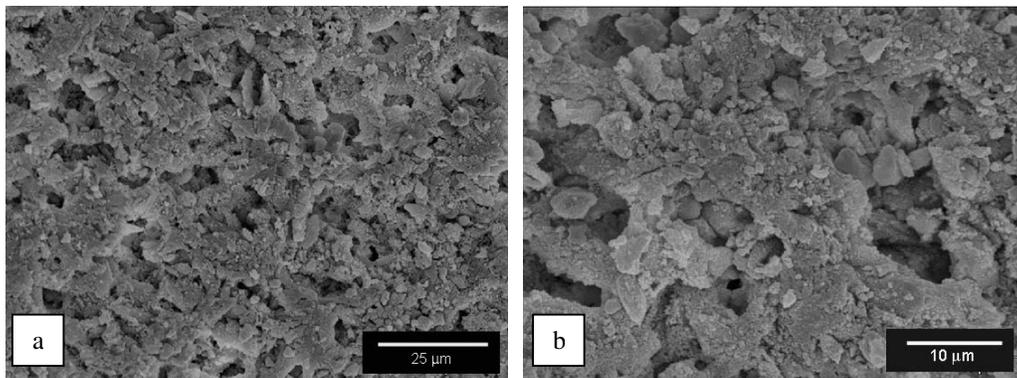


Figura 4.28. a) e b) Micrografias da superfície do cimento após 21 dias de imersão em FCS.

As micrografias obtidas na superfície de fratura do cimento em forma de cilindro após imersão em FCS, mostram que, morfologicamente, não há modificações na microestrutura, principalmente na camada interna, que mantém a estrutura de OCP em forma de placas e grãos irregulares de β -TCP (figuras 4.29a, b, c, d, e, f).

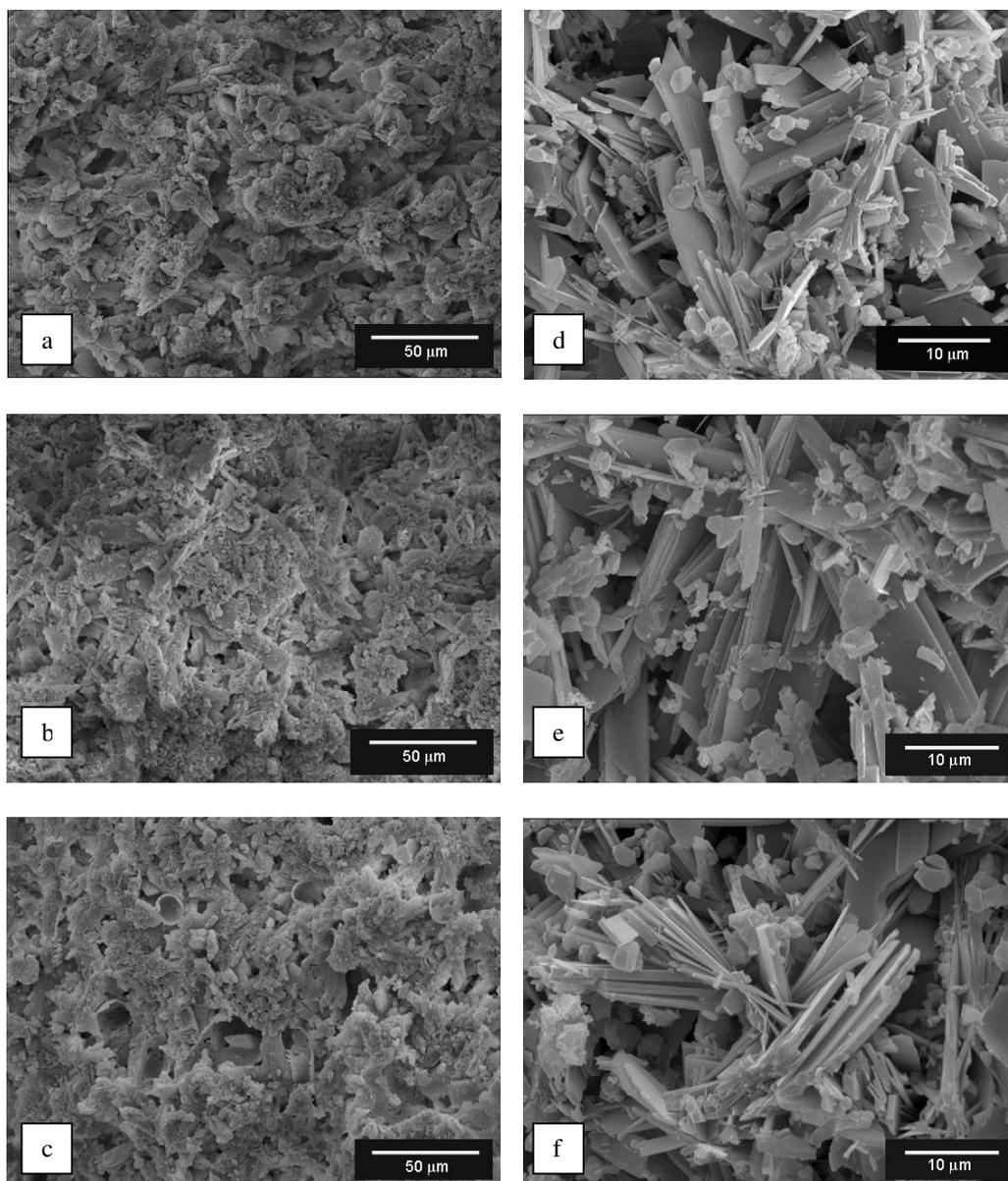


Figura 4.29. Micrografias da superfície de fratura antes e após imersão em FCS: a), b) e c) camada externa do cilindro antes da imersão, após 07 e após 21 dias respectivamente; d), e) e f) porção central do cilindro antes da imersão e após 07 e 21 dias respectivamente.

As amostras foram submetidas a ensaios de resistência à compressão e resistência à compressão diametral. Como podemos observar na figura 4.30, os valores de resistência se mantiveram dentro do limite de erro, sendo que podemos concluir que não ocorrem significativas dissoluções ou precipitações do cimento após a imersão em FCS que alterassem a resistência mecânica do material.

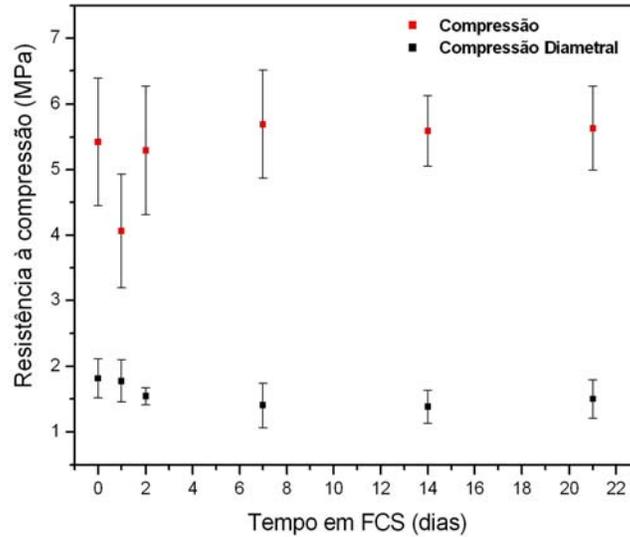


Figura 4.30. Resistência à compressão e compressão diametral do cimento antes após imersão em FCS.

Essa característica se deve ao fato de após a hidrólise formar uma camada de apatita em volta do cimento, com isso, a solução de FCS tem dificuldade para penetrar no cimento, e causar novas dissoluções e/ou cristalizações.

A deposição superficial de uma camada de apatita após imersão no FCS é característica de materiais bioativos e indicativo da formação de união direta entre o material e o osso em uma situação de implantação *in vivo* (Xin *et al.*, 2005). Segundo Kokubo & Takadama, materiais capazes de formar apatita sobre sua superfície em FCS podem unir ao osso *in vivo* pela camada de apatita formada, e, com isso, pode-se afirmar que a bioatividade de um material pode ser prevista pela formação da apatita em FCS (Kokubo & Takadama, 2006).

Capítulo 5

Conclusões e Sugestões para Próximos Trabalhos

Diante dos resultados obtidos, podemos concluir:

Primeira Parte: Preparo do Cimento de DCPD/ β -TCP e Hidrólise

- Foi obtido o β -TCP em pó em laboratório com sucesso;
- A síntese do cimento de DCPD/ β -TCP foi realizada de acordo com a literatura, obtendo-se os resultados esperados;
 - Cimento de fosfatos de cálcio compostos por β -TCP, OCP e CDHA foi obtido depois de hidrólise completa do cimento de DCPD/ β -TCP em solução 0,36M de NaOH a 60°C por 48 horas.
 - A resistência à compressão do cimento, após hidrólise, diminui levemente a partir de 24 horas de hidrólise, porém, os valores continuam próximos aos valores de resistência à compressão do osso esponjoso.
 - Foi obtida composição de cimento de fosfato de cálcio com potencial uso como substituto ósseo em aplicações de baixa carga.

Segunda Parte: Estudo em Fluido Corpóreo Simulado (FCS)

- Após a imersão em solução de FCS, o cimento ósseo apresentou a mesma composição, indicando que o material não sofre alterações quanto à sua composição e fases quando em contato com a solução;

- Os valores de resistência à compressão e compressão diametral não se alteraram, mostrando que não ocorre solubilizações e mudanças na estrutura do material que provoque tais mudanças;

- A morfologia do material também não sofreu alteração após imersão em FCS, indicando a estabilidade do material após esse teste preliminar *in vitro*.

Sugestões para próximos trabalhos

- Estudar modificações do cimento variando a granulometria, a relação líquido/pó e a adição de aditivos para verificar possíveis mudanças nas propriedades finais do cimento.

- Melhorar a resistência mecânica do cimento de β -TCP/OCP/CDHA;

- Avaliar com mais profundidade o efeito da porosidade nas propriedades finais do cimento;

- Realizar o estudo *in vitro* em cultura de células e o estudo *in vivo* do cimento.

Referências Bibliográficas

ALBEE F.; MORRISON, H. Studies in bone growth. *Annals of Surgery*, v. 71, p. 32-38, 1920.

ARIFUZZMAN, S.M.; ROHANI, S. Experimental study of brushite precipitation. *Journal of Crystal Growth*, v. 267, p. 624-634, 2004.

ASTM C266-99. Standard Test Method for Time of Setting of Hydraulic-Cement Paste by Gillmore Needles, p. 1-3, 1999.

ASTM D4404-98. Standard Test Method of Pore Volume and Pore Volume Distribution of Soil and Rock by Mercury Intrusion Porosimetry, p. 1-6, 1998.

AZA, PIEDAD N.; AZA, SALVADOR. Biocerámicas. *Biomateriales*, p. 41-63, 2004.

BARRALET, J.; LILLEY, K.J.; GROVER, L.M.; FARRAR, D.F.; ANSELL, C.; GBURECK, U. Cements from nanocrystalline hydroxyapatite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 15, p. 407-411, 2004.

BIGI, A.; BOANINI, R.; BOTTER, R.; PANZAVOLTA, S.; RUBINI, K. α -Tricalcium phosphate hydrolysis to octacalcium phosphate: effect of sodium polyacrylate. *Biomaterials*, v. 23, p. 1849-1854, 2002.

BOHNER, M.; LEMAITRE, J.; RING, T.A. Hydraulic properties of tricalcium phosphate – phosphoric acid – water mixtures. In: Duran, P.; Fernandez, J.F. eds Third Euro-Ceramic Conference, vol.3, p. 95-100, 1993.

BOHNER, M.; VAN LANDUYT, P.; MERKLE, H.P.; LEMAITRE, J. Composition effects on the pH of a hydraulic calcium phosphate cement. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 8, p. 675-681, 1997.

BOHNER, M. Calcium Orthophosphate in medicine: from ceramics to calcium phosphate cement. *Injury, Int. J. Care Injures*, v. 31, p. 37-47, 2000.

BOHNER, M.; MERKLE, H.P.; VAN LANDUYT, P.; TROPHARDY, G.; LEMAITRE, J. Effect of several additives and their admixtures on the physico-chemical properties of calcium phosphate cement. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 11, p. 111-116, 2000.

BOHNER, M.; GBURECK, U.; BARRALET, J.E. Technological issues for the development of more efficient calcium phosphate bone cements: A critical assessment. *Biomaterial*, v.26, p. 6423, 6429, 2005.

BOYAN, B.D.; SYLVIA, V.L.; SAGUN, R.; COCHRAN, D.L.; LOHMANN, C.H.; DEAN, D.D.; SCHWARTZ, Z. Surface roughness mediates its effects on osteoblasts via protein kinase A and phospholipase A₂. *Biomaterials*, v. 20, p. 2305-2310, 1999.

BROWN W., SMITH J., LEHR J., FRAZIER, A. Octacalcium phosphate and hydroxyapatite: crystallographic and chemical relations between octacalcium phosphate and hydroxyapatite. *Nature*, v. 196, p. 1050-1055, 1962.

BROWN, P., MARTIN, R. An analysis of hydroxyapatite surface layer formation. *J. Physical Chemistry B*, v. 103, p. 1671-1675, 1999.

BROWN, W. E.; CHOW, L. C. U. S. Patent 4, 518, 430, 1985.

CANO, J.J.M.; PERAIRE, C. Biocompatibilidad. Introducción y Desarrollo Histórico. Biomateriales, p. 197-218, 2004.

CARAM, R. Estrutura Cristalina. Curso de Pós-Graduação, Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 1999.

CARRODÉGUAS, R.G. Cementos Óseos de Fosfatos de Calcio. Tesis de Doctorado, Centro de Biomateriales-Universidad de la Habana. Habana, Cuba, 2000.

CARRODÉGUAS, R.G.; ALONSO, L.M.; GARCÍA-MENOCAL, J.A.D.; ALONSO, L.M.; MOLINS, M.P.G.; MANENT, S.M.; MUR, J.G.; PÉREZ, J.T.; ESTANY, J.A.P. Hydrothermal Method for Preparing Calcium Phosphate Monoliths, Materials Research, v. 6, p. 395-401, 2003.

CONSTANTZ, B.; BARR, B.M.; ISON, I.C.; FULMER, M.T.; BAKER, J.; MCKINNEY, L.; GOODMAN, S.; GUNASEKAREN, S.; DELANEY, D.C.; ROSS, J.; POSER, R. D. Histological, chemical, and crystallographic analysis of four calcium phosphate cements in different rabbit osseous sites. Journal of Biomedical Materials Research, v. 43, p. 451-461, 1998.

DE GROOT, K. Medical Applications of Calcium Phosphate Bioceramics, The Centennial Memorial Issue, v. 99, p. 943-953, 1991.

DE GROOT, K.; KLEIN, C.P.A.T.; WOLKE, J.G.C.; DE BLIEK-HOGERVORST, J. Chemistry of calcium phosphate bioceramic. En handbook of Bioactive Ceramics, vol II, Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, 1990.

DENISSEN, H. Dental root implants of apatite ceramic. Experimental investigations and clinical use of dental root implants made of apatite ceramic., Ph.D. Tesis, Vrije Universiteit te Amsterdam, 1979.

DRIESSENS, F. C. M.; BOLTONG, M. G.; BERMÚDEZ, 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.

DRIESSENS, F., VERBEECK, R. Relation between physico-chemical solubility and biodegradability of calcium phosphates. Amsterdam: Elsevier, p. 105-11, 1988.

DRIESSENS, F., VERBEECK, R. *Biomaterials*. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, 1990.

DRIESSENS, F.C.M.; PLANELL, J.A.; BOLTONG, M.G.; KHAIROUN, I.; GINEBRA, M.P. Osteotransductive bone cements *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, v. 212, p. 427-435, 1998.

DRIESSENS, F.C.M.; FERNÁNDEZ, E.; GINEBRA, M.P.; BOLTONG, M.G.; PLANELL, J.A. Calcium phosphates and ceramic bone cements vs. acrylic cements. *Anales de Química*, p. 38-43, 1997.

DRIESSENS, F.C.M.; BOLTONG, M.G.; MAEYER, E.A.P.; WENZ, R.; NIES, B.; PLANELL, J.A. The Ca/P range of nanoapatitic calcium phosphate cements. *Biomaterials*, v. 23, p. 4011-4017, 2002.

DUBOK, V.A. Bioceramics: Yesterday, today, tomorrow. *Powder Metall C+*, v. 39 (7-8), p. 381-394, 2000.

ELLIOT, J. *Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates*. Amsterdam:Elsevier, 1994.

FULMER, M.T.; BROWN, P.W. Hydrolysis of dicalcium phosphate dehydrate to hydroxyapatite *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 9, p. 197-202, 1998.

GAUTHIER, O.; BOULER, J.M.; AGUADO, E.; LE GEROS, R.Z.; PILET, P.; DACULSI, G. Elaboration conditions influence physicochemical properties and *in vivo* bioactivity of macroporous biphasic calcium phosphate ceramics. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 10, p. 199-204, 1999.

GETTER, L.; BHASKAR, S.; CUTRIGHT, D.; PEREZ, B.; BRADY, J.; DRISKELL, T.; O'HARA, M. Three biodegradable calcium phosphate slurry implants bone. *Journal of Oral Surgery*, v. 30, p. 263-268, 1972.

GINEBRA, M.P.; DRIESSENS, F.C.M.; PLANELL, J.A. Effect of the particle size on the micro and nanostructural features of a calcium phosphate cement: a kinetic analysis. *Biomaterials*, v. 25, p. 3453-3462, 2004.

GOLDSTEIN, J.I.; NEWBURY D.E.; ECHLIN, P.; JOY, D.C.; ROMIG, A.D.; LYMAN, C.; FIORI, C.; LIFSHIN, E. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. New York: Plenum Press, 1994, 820p.

GRAHAM, S.; BROWN, P.W. Reactions of octacalcium to form hydroxyapatite. *Journal of Crystal Growth*, v. 165, p. 106-115, 1998.

GROVER, L.M.; KNOWLES, J.C.; FLEMING, G.J.P., BARRALET, J.E. *In vitro* aging of brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials*, v. 24, p. 4133, 4141, 2003.

GROVER, L.M.; GBURECK, U.; WRIGHT, A.; TREMAYNE, M.; BARRALET, J.E. Biologically mediated resorption of brushite cement *in vitro*. *Biomaterials*, v. 27, p. 2178-2185, 2006.

HALDEMAN, K.; MOORE, J. Influence of a local excess of calcium and phosphorus on the healing of features. *Arch. Surg.*, v. 29, p. 385-396, 1934.

HENCH, L.L. Bioceramics: From Concepts to Clinic, Journal of America Ceramic Society, v. 74, p. 1487-1510, 1991.

HENCH, L.L. Prosthetic implant materials. Annual Review of Materials Science, v. 5, p. 279-300, 1975.

HENCH, L.L.; Wilson, J. An Introduction to Bioceramics. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore, 1993.

HISTORICAL HIGHLIGHTS IN BIONICS AND RELATED MEDICINE. Science, v. 295, n. 5557, p. 995, 2002.

IPEN. Home-page: www.ipen.br/cctm/nem-e.html. Acessado em 05/02/2006.

KAMAKURA, S.; SASANO, Y.; SHIMIZU, K.; HATORI, K.; SUZUKI, O.; KAGAYAMA, M. MOTEGI, K. Implanted octacalcium phosphate is more resorbable than β -tricalcium phosphate and hydroxiapatite. Journal of Biomedical Materials Research, v. 57, p.29-34, 2001.

KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C.A.; REIS, R.; ALVES, O.L. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. Química Nova, v. 23, p. 518-522, 2000.

KOKUBO, T.; KUSHITANI, H.; SAKKA, S.; KITSUGI, T.; YAMAMURO, T. Solutions able to reproduce in vivo surface-structure change in bioactive glass-ceramic A-W. Journal of Biomedical Materials Research, v.24, p. 721-734, 1990.

KOKUBO, T; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? Biomaterials, v. 27, p. 2907-2915, 2006.

JCPDS. International Centre for Diffractional Data. Versão 1.30, 1997

LE GEROS, R., LE GEROS, J. Phosphate minerals in human tissue. In: Nriagu J.O., Moore P.B. eds. Phosphate Minerals. Berlin: Springer, p. 351-384, 1984.

LE GEROS, R.Z. Calcium phosphates in oral biology and medicine. Meyers, São Francisco, 1991.

MARTIN, R.; BROWN, P. Phase equilibria among acid calcium phosphates. Journal of American Ceramic Society, v. 80, p. 1263-1266, 1997.

MERRY, J.C.; GIBSON, I.R.; BEST, S.M.; BONFIELD, W. Synthesis and Characterization of carbonate hydroxyapatite. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, v. 9, p. 779-783, 1998.

MONTEIRO, F.J., SAN ROMÁN, J. Biomateriales: Introducción y Desarrollo Histórico. Biomateriales, p. 17-26, 2004.

MUNTING, E.; MIRTCHI, A.A.; LEMAITRE. Bone repair of defects filled with a phosphocalcic hydraulic cement: an in vivo study. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, v. 4, p. 337-344, 1993.

OHTSUKI, C.; KUSHITANI, H.; KOKUBO, T.; KOTANI, S. YAMAMURO, T. Apatite formation on the surface of Ceravital-type glass ceramic in the body. Journal of Biomedical Materials Research, v. 25, p. 1363-1370, 1991.

PRADO DA SILVA, M.H.; LIMA, J.H.C.; SOARES, G.A.; ELIAS, C.N.; ANDRADE, M.C.; BEST, S.M.; GIBSON, I.R. Transformation of monetite to hydroxyapatite in bioactive coatings titanium. Surface and Coatings Technology, v.137, p. 270-276, 2001.

PRADO DA SILVA, M.H. Biocerâmicas porosas para preenchimento de defeitos ósseos. 48º Congresso Brasileiro de Cerâmica, 2004.

PROMED. Home –Page: www.promed.com.br. Acesso em 15 de Janeiro de 2006.

ROBINSON, R.A. An electron microscopy study of the crystalline inorganic component of bone and its relationship to organic matrix. *Journal of Bone and Joint Surgery American*, v. 34, p. 389-435, 1952.

SANTOS, L.A.; CARRODÉGUAS, R.G.; ROGERO, S.O.; HIGA, O.Z.; BOSCHI, A. O.; ARRUDA, A.C.F. α -Ttalcium phosphate cement: “in vitro” cytotoxicity. *Biomaterials*, v. 23, p. 2034-2042, 2002.

SAÚDE EM MOVIMENTO. Home-Page: www.saudemovimento.com.br. Acesso em 12/12/2005.

SHACKELFORD, JF. Bioceramics: Current Status and future trends. *Materials Science Forum*, 293, p. 99-106, 1999.

SARGIN, Y.; KIZILYALLI, M.; TELLI, C.; GÜLER, H.; A new method for the solid-state synthesis of tetracalcium phosphate, a dental cement: x-ray powder diffraction and studies. *Journal of the European Ceramic Society*, v. 17, p. 963-970, 1997.

SPECTOR, M. High resolution electron microscopy study of lattice image in biological apatites. *Journal of Microscopy*, v. 103, p. 55-62, 1975.

SLOSARCZYK, A.; STOBIERSKA, Z.; PASZKIEWICZ, Z.; GAWLICKI, M. Calcium phosphate materials prepared from precipitates with various calcium phosphorous ratios. *Journal of American ceramic Society*, v. 79, p. 2539-2544, 1996.

SLOSARCZYK, A.; PASZKIEWICZ, Z.; PALUSZKIEWICZ, C. FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders syntetisized by wet methods. *Journal of Molecular Structutre*, v. 744-747, p. 657-661, 2005.

THIBODEAU, G.A.; Patton, K. Estrutura e funções do corpo humano. São Paulo: Editora Manole, 2002.

VAZ, L.; LOPES, B. ALMEIDA, M. Porosity control of hydroxyapatite implants. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, v. 10, p. 239-242, 1999.

VEREECKE, G., LEMAITRE, J. Calculation of the solubility diagrams in the system $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-KOH-HNO}_3\text{-CO}_2\text{-H}_2\text{O}$. Journal of Crystal Growth, v. 104, p. 820-832, 1990.

XIN, R.; LENG, Y.; CHEN, J.; ZHANG, Q. A comparative study of calcium phosphate formation on bioceramics in vitro and in vivo. Biomaterials, v. 26, p. 6477-6486, 2005.

ZAVAGLIA, C.A.C. O uso de biocerâmicas em próteses orotópicas. Tese de Livre Docência, Universidade Estadual de Campinas, 1993.

WEBB, PAUL A. An Introduction to the Physical Characterization of Materials by Mercury Intrusion Porosimetry with Emphasis on Reduction and Presentation of Experimental Data. Micromeritics Instrument Corporation, p. 1-22, 2001.

WEBB, PAUL A. Volume and Density Determination for Particle Technologists. Micromeritics Instrument Corporation, p. 1-16, 2001.

WEBSTER, T.J.; ERGUN, C.; DOREMUS, R.H.; SIEGEL, R.W.; BIZIOS, R. Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion nanophase ceramics. Journal of Biomedical Material Research, v. 51, p. 475-483, 2000.

WILLIAMS, D.F. Definitions in biomaterials, Progress in Biomedical Engineering, v.4, 1987.