

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE A REDAÇÃO FINAL DA  
TESE DEFENDIDA POR *Hugo Ananias*  
*Inacio Cardoso* ..... E APROVADA  
PELA COMISSÃO JULGADORA EM *26.10.2010*  
*Lucilia Alvares*  
ORIENTADOR

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

Hugo Ananias Inacio Cardoso

**Cimento de Alfa-TCP com Diferentes Aditivos:  
Cinética da Reação de Cura, Propriedades  
Mecânicas e Avaliação da Citotoxicidade**

Campinas, 2010.

Hugo Ananias Inacio Cardoso

# **Cimento de Alfa-TCP com Diferentes Aditivos: Cinética da Reação de Cura, Propriedades Mecânicas e Avaliação da Citotoxicidade**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado da faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Estadual de Campinas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Mecânica.

Área de Concentração: Materiais e Processos de Fabricação

Orientador: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Cecilia Amelia de Carvalho Zavaglia

Campinas  
2010

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

C179c Cardoso, Hugo Ananias Inacio  
Cimento de Alfa-TCP com diferentes aditivos:  
cinética da reação de cura, propriedades mecânicas e  
avaliação da citotoxicidade / Hugo Ananias Inacio  
Cardoso. --Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientador: Cecilia Amelia de Carvalho Zavaglia.  
Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de  
Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica.

1. Biomateriais. 2. Cerâmicas em medicina. 3.  
Fosfato de cálcio. 4. Cinética química. 5.  
Biocompatibilidade. I. Zavaglia, Cecilia Amelia de  
Carvalho. II. Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Engenharia Mecânica. III. Título.

Título em Inglês: Alpha-TCP cement with different additives: kinetics of curing  
reaction, mechanical properties and evaluation of cytotoxicity

Palavras-chave em Inglês: Biomaterials, medical ceramics, Calcium Phosphate,  
Chemical kinetics, Biocompatibility

Área de concentração: Materiais e Processos de Fabricação

Titulação: Mestre em Engenharia Mecânica

Banca examinadora: Célia Marina de Alvarenga Freire, Eliana Cristina da Silva Rigo

Data da defesa: 26/02/2010

Programa de Pós Graduação: Engenharia Mecânica

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

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO**

**Cimento de Alfa-TCP com Diferentes Aditivos:  
Cinética da Reação de Cura, Propriedades  
Mecânicas e Avaliação da Citotoxicidade**

**Autor: Hugo Ananias Inacio Cardoso**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Cecilia Amelia Carvalho Zavaglia**

**A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Dissertação:**



**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cecilia Amelia Carvalho Zavaglia, Orientador  
Faculdade de Engenharia Mecânica, UNICAMP, SP**



**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Célia Marina de Alvarenga Freire  
Faculdade de Engenharia Mecânica, UNICAMP, SP**



**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eliana Cristina da Silva Rigo  
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP, SP**

**Campinas, 26 de fevereiro de 2010**

Dedico àqueles que foram e sempre serão essenciais na minha vida, meus pais, Adão e Sandra, e minha irmã, Lorena.

## Agradecimentos

Agradeço a Deus, o verdadeiro Pai, que nos meus momentos de maiores dificuldades esteve ao meu lado me amparando nas minhas orações, nos meus sonhos e através de amigos.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cecília Amelia de Carvalho Zavaglia, que tem me acompanhado, me orientado e confiado em mim desde o meu segundo ano de graduação. Fundamental no meu desenvolvimento e na minha capacitação.

À Dr<sup>a</sup>. Mariana Motisuke, por todo o suporte nas mais diversas áreas durante todo o trabalho. Sem ela, definitivamente, este trabalho não teria sido concluído. A grande responsável por me fazer admirar o material com o qual hoje trabalho.

À Guinea Brasil Camargo Cardoso pelo apoio, conselhos e paciência durante a pesquisa.

À Aline Pereira pela preparação dos reagentes em laboratório e obtenção do pó utilizado neste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Olga Higa e à Dr<sup>a</sup>. Andrea Rodas, pela realização dos testes de citotoxicidade.

À todos os técnicos da Faculdade de Engenharia Mecânica, fundamentais durante este trabalho: Claudenete, Rita, José Luis e Cláudio.

A todos os companheiros de laboratório.

À todos os professores da FEM que contribuíram para a minha formação.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro.

À rede CYTED-Biofab e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia BIOFABRIS pelo apoio durante o projeto.

A todos os meus amigos.

E à minha família, que sempre me apoiou e me deu suporte em todos os momentos da minha vida.

*O importante não é o tamanho do obstáculo,  
mas sim o tamanho de quem o enfrenta.*

Hugo Cardoso

## Resumo

Os cimentos ósseos à base de fosfato de cálcio são biomateriais cerâmicos biorreabsorvíveis utilizados na substituição e no reparo de tecido ósseo danificado. Apresentam uma série de atrativos, como excelente biocompatibilidade e capacidade de serem moldados em cavidades pequenas e complexas. Porém, sua aplicação é restringida pela sua baixa resistência mecânica e sua cinética da reação lenta. O objetivo principal deste trabalho foi desenvolver cimentos de fosfato de cálcio, baseado no sistema do alfa-fosfato tricálcico, com melhores propriedades mecânicas e cinética da reação acelerada. Para isso, obteve-se o pó de alfa-fosfato tricálcico a partir de reagentes sintetizados em laboratório a fim de se obter pureza elevada; utilizou-se hidrogeno fosfato de sódio, ácido cítrico e ácido tânico como aditivos na solução de pega a fim de melhorar suas propriedades. O método de obtenção dos reagentes mostrou-se eficaz, obtendo-se pó de alfa-fosfato tricálcico com pureza elevada. Todas as combinações de aditivos utilizadas aceleraram a cinética da reação e aumentaram a resistência mecânica do cimento de fosfato de cálcio, obtendo-se valores superiores aos reportados na literatura.

*Palavras-chave:* Biomateriais, Biocerâmicas, Cimento de Fosfato de Cálcio, Aditivos.

## **Abstract**

The calcium phosphate bone cements are resorbable bioceramics used for replacement and repair of damaged bone tissue. Such material has many benefits, such as excellent biocompatibility and ability to be molded into complex and small cavities. However, its application is restricted by their low mechanical strength and slow reaction kinetics. The main objective of this study was to develop calcium phosphate bone cements, based on alpha-tricalcium phosphate system, with better mechanical properties and faster reaction kinetics. Hence, the powder of alpha-tricalcium phosphate was obtained from reagents synthesized in the laboratory to get high purity powder; disodium hydrogen phosphate, citric acid and tannic acid are used as additive on setting liquid to improve the cement properties. The method to obtain the reagents was effective, resulting in a powder of alpha-tricalcium phosphate with high purity. All combinations of additives accelerated the reaction kinetics and increased the mechanical strength of the calcium phosphate cement, resulting in higher values than those reported in the literature.

*Key words:* Biomaterials, Bioceramics, Calcium Phosphate Cement, Additives.

## Lista de Ilustrações

Figura 2.1: Taxa de reabsorção de diferentes fosfatos de cálcio (Yuan, et al., 2005). .....	18
Figura 3.1: Organograma das Atividades Desenvolvidas durante o Projeto. ....	39
Figura 3.2: Retas de Calibração para a DRX Quantitativa.....	42
Figura 3.3: Exemplo de Corpo de Prova.....	45
Figura 4.1: Difratoograma de Raios-X do Pó de $\alpha$ -TCP. ....	52
Figura 4.2: Distribuição Granulométrica do Pó de $\alpha$ -TCP. ....	53
Figura 4.3: MEV do Pó de $\alpha$ -TCP. ....	55
Figura 4.4: Evolução da Reação de Transformação do $\alpha$ -TCP em CDHA nos quatro cimentos. ....	57
Figura 4.5: Difratoogramas de Raios-X dos Cimentos após 4h e 8h de reação. ....	59
Figura 4.6: MEV da Superfície de Fratura após 8h de Reação: CS2, CS3 e CS4. ....	61
Figura 4.7: MEV da Superfície de Fratura após 8h de Reação: CS3.....	62
Figura 4.8: Difratoograma de Raios-X dos Cimentos após 16h e 24h de Reação.....	63
Figura 4.9: MEV da Superfície de Fratura após 24h de Reação: CS2, CS3 e CS4. ....	64
Figura 4.10: MEV da Superfície de Fratura após 24h: CS2, CS3 e CS4.....	65
Figura 4.11: Difratoograma de Raios-X dos Cimentos após 72h e 168h de Reação.....	67
Figura 4.12: MEV da Superfície de Fratura de Todos os Cimentos após 168h de Reação. .	69
Figura 4.13: Evolução do pH durante as 168h de Reação para Todos os Cimentos. ....	71

Figura 4.14: Evolução do pH durante as Primeiras 24h de Reação para Todos os Cimentos. .....	72
Figura 4.15: Evolução do Limite de Resistência Mecânica à Compressão Axial. ....	74
Figura 4.16: Boxplot de cada Cimento em Tempos Variados. ....	77
Figura 4.17: Boxplot de Vários Instantes Comparando os 4 Cimentos. ....	79
Figura 4.18: Coloração do Meio de Cultura após 48h de Extração com as Respektivas Fitas Indicadoras de pH.....	80
Figura 4.19: Coloração dos Corpos de Prova do CS4 após 4h, 8h e 16h de Imersão em Solução de Ringer. ....	82
Figura 4.20: Viabilidade Celular dos Quatro Cimentos em Diferentes Concentrações dos Extratos.....	83

## Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Exemplos de materiais médicos e odontológicos e suas aplicações (Davis, 2003).....	10
Tabela 2.2: Tipos de Implante e Respostas Teciduais (Ratner, 1996).....	12
Tabela 2.3: Tipos de biocerâmicas, fixação ao tecido e alguns exemplos (adaptada de Ratner, 1996).....	13
Tabela 2.4: Principais Fosfatos de Cálcio (Ratner, 1996). ....	17
Tabela 2.5: Principais vantagens e desvantagens de cimentos de fosfato de cálcio (Ginebra, et al., 2006; Ginebra, et al., 2006; Ambard, et al., 2006; Santos, 2002). ....	25
Tabela 2.6: Alguns fatores e suas características que influenciam nas propriedades dos cimentos, adaptado de Driessens, et al., 1997.....	28
Tabela 2.7: Lista de estratégias e possibilidades para modificação da reatividade de cimentos de fosfato de cálcio, adaptada de Bohner, 2007. ....	29
Tabela 2.8: Métodos Analíticos e suas Informações na Caracterização de Fosfatos de Cálcio (LeGeros, 1991). ....	35
Tabela 2.9: Técnicas de Caracterização Complementares de Fosfatos de Cálcio .....	36
Tabela 3.1: Soluções Utilizadas e seus Respektivos Cimentos. ....	43
Tabela 3.2: Lotes e Marcas dos Aditivos Utilizados. ....	44
Tabela 3.3: Composição da solução de Ringer.....	45
Tabela 4.1: Fluorescência de Raios-X dos Elementos Minoritários no Pó de $\alpha$ -TCP.....	51
Tabela 4.2: Parâmetros de Tamanho de Partícula.....	53

Tabela 4.3: pH das soluções. ....70

Tabela 4.4: Limite de Resistência Mecânica à Compressão Axial durante a Reação de Cura.  
.....73

Tabela 4.5: Valor do pH das Amostras obtido com Fita Indicadora após 48h de Extração. 81

## Lista de Abreviaturas e Siglas

### *Letras Latinas*

a.C. – antes de Cristo

°C – graus Celsius

cps – unidade de instensidade

g – gramas

h – horas

kGy – quilo Grays

kN – quilo Newton

kV – quilo Volts

L/P – relação líquido/pó

mA – mili Ampère

min – minutos

mL – mililitro

mm – milímetros

µm – micrômetro

MPa – mega Pascal

nm – nanômetro

ppm – partes por milhão

® – marca registrada

R<sup>2</sup> – desvio padrão

s – segundos

### ***Letras Gregas***

- $\alpha$  – fase alfa, do fosfato tricálcico
- $\alpha'$  – fase alfa linha, do fosfato tricálcico
- $\beta$  – fase beta, do fosfato tricálcico
- $\theta$  – ângulo, em graus

### ***Abreviaturas e Siglas***

- $\text{Al}_2\text{O}_3$  – alumina
- $\text{Ca}^{2+}$  – íons cálcio
- $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  – ácido cítrico
- $\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$  – ácido tânico
- Ca – cálcio
- $\text{CaCO}_3$  – carbonato de cálcio
- $\text{CaHPO}_4$  – monetita
- $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$  – gesso
- $\text{CaHPO}_4$  – fosfato bicálcico
- $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – fosfato bicálcico dihidratado
- $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – fosfato octacálcico
- $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$  – hidroxiapatita deficiente em cálcio
- $\text{Ca}_{10}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$  – whitlockite
- $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  – fosfato tricálcico
- $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  – hidroxiapatita
- $\text{CaMg}_2(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  – fosfato de cálcio substituído com magnésio
- $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$  – fosfato tetracálcico
- $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$  – silicato de cálcio
- $\text{CO}_2$  – dióxido de carbono
- $\text{CuK}\alpha$  – radiação
- Fe – ferro
- $\text{H}_2\text{O}$  – água
- Hg-Ag-Sn – liga mercúrio prata estanho
- $\text{Mg}^{2+}$  – íons magnésio

Mg – magnésio  
Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – hidrogeno fosfato de cálcio  
Ni – Níquel  
P – fósforo  
Pt-Ir – liga platina irídio  
Si – silício  
Sr – estrôncio  
Ti-13Nb-13Zr – liga titânio 13 nióbio 13 zircônia  
Ti-Al-Nb – liga titânio alumínio nióbio  
Ti-Al-V – liga titânio alumínio vanádio  
Ti-CP – titânio comercialmente puro  
Ti-Mo-Zr-Fe – liga titânio molibdênio zircônia ferro  
 $\alpha$ -TCP – alfa fosfato tricálcico  
 $\beta$ -TCP – beta fosfato tricálcico  
BCP – mistura de TCP e HA  
BIS-GMA – bisfenol glicidil metacrilato  
CDHA – hidroxiapatita deficiente em cálcio  
CFC – cimento de fosfato de cálcio  
CHO - k1 – Chinese Ovary Hamster cells  
CS1 – cimento obtido com a solução 1  
CS2 – cimento obtido com a solução 2  
CS3 – cimento obtido com a solução 3  
CS4 – cimento obtido com a solução 4  
CSD – sulfato de cálcio dihidratado  
CSH – sulfato de cálcio hemi-hidratado  
D(10) – diâmetro equivalente cujo 10% das partículas tem sua granulometria até o mesmo  
D(90) – diâmetro equivalente cujo 90% das partículas em sua granulometria até o mesmo  
DCP – fosfato bicálcico  
DCPD – fosfato bicálcico dihidratado  
DP – desvio-padrão  
DRX – difração de raios-X

EDL – espalhamento dinâmico de luz  
EDS – microsonda por Energia Dispersiva  
FRX – fluorescência de raios-X  
HA – hidroxiapatita  
IC<sub>50%</sub> – índice de citotoxicidade 50%  
IR – espectroscopia de infravermelho  
ISO – International Organization for Standardization  
JCPDS – Joint Committee on Powder Diffraction Standards  
MET – microscopia eletrônica de transmissão  
MEV – microscopia eletrônica de varredura  
MTS – composto tetrazólico  
OCP – fosfato octacálcico  
PEAD – polietileno de alta densidade  
PET – polietilenotereftalato  
PMMA – polimetilmetacrilato  
PMS – metassulfato de fenazida  
PTFE – politetrafluoretileno  
PVC – poli (cloreto de vinila)  
RMN – ressonância magnética nuclear  
S1 – solução 1  
S2 – solução 2  
S3 – solução 3  
S4 – solução 4  
TCP – fosfato tricálcico  
TGA – termogravimetria  
TTCP – fosfato tetracálcico

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	1
2	REVISÃO DA LITERATURA .....	3
2.1	Materiais de Engenharia .....	3
2.1.1	Tipos de Materiais.....	3
2.2	Materiais Cerâmicos .....	4
2.2.1	Tipos de Materiais Cerâmicos .....	5
2.3	Biomateriais.....	6
2.3.1	Definições .....	6
2.3.2	Classificações.....	7
2.4	Biocerâmicas .....	11
2.4.1	Classificações e Definições.....	11
2.4.2	Algumas biocerâmicas .....	14
2.5	Biocerâmicas de Fosfato de Cálcio .....	16
2.5.1	Tecido ósseo.....	18
2.6	Hidroxiapatita .....	19
2.7	Fosfato Tricálcico .....	20
2.7.1	Obtenção do TCP.....	21
2.7.2	Influência do Magnésio na Formação do $\alpha$ -TCP .....	21
2.8	Cimentos de Fosfato de Cálcio (CFCs) .....	22
2.8.1	Características .....	23
2.8.2	Propriedades.....	25
2.8.3	$\alpha$ -Fosfato Tricálcico.....	26
2.8.4	Aplicações.....	27

2.9	Cimentos de Fosfato de Cálcio Modificados.....	28
2.9.1	Fosfatos de Cálcio Substituídos.....	30
2.9.2	Adição de Fases Sólidas.....	31
2.9.3	Aditivos na Solução de Pega.....	32
2.9.4	Ácido Tânico.....	33
2.10	Caracterização de Fosfatos de Cálcio.....	34
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
3.1	Pré-Trabalho.....	39
3.2	Caracterização do Pó de $\alpha$ -TCP.....	40
3.2.1	Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL).....	40
3.2.2	Fluorescência de Raios-X (FRX).....	41
3.2.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	41
3.2.4	Difração de Raios-X (DRX).....	41
3.3	Obtenção dos Cimentos de $\alpha$ -Fosfato Tricálcico.....	43
3.3.1	Escolha dos Aditivos.....	43
3.3.2	Preparação dos Cimentos.....	44
3.4	Cinética da Reação de Cura.....	46
3.4.1	Difração de Raios-X (DRX).....	46
3.4.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	46
3.5	Evolução do pH.....	47
3.6	Propriedades Mecânicas.....	48
3.6.1	Análise Estatística.....	48
3.7	Métodos de Caracterização.....	48
3.8	Citotoxicidade.....	49
3.8.1	Preparação das Amostras.....	50

3.8.2	Análise Quantitativa.....	50
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	51
4.1	Caracterização do Pó de $\alpha$ -TCP.....	51
4.1.1	Elementos Traços.....	51
4.1.2	Pureza de Fase do $\alpha$ -TCP.....	51
4.1.3	Distribuição Granulométrica.....	53
4.1.4	Morfologia do Pó de $\alpha$ -TCP.....	54
4.2	Preparação dos Cimentos.....	55
4.3	Cinética da Reação de Hidrólise do $\alpha$ -TCP e Formação da CDHA .....	56
4.3.1	Hidrólise do $\alpha$ -TCP e Formação da CDHA .....	56
4.3.2	Primeiras Instantes de Reação: 4h e 8h.....	58
4.3.3	Instantes Intermediários da Reação: 16h e 24h.....	62
4.3.4	Instantes Finais da Reação: 72h e 168h.....	66
4.4	Evolução do pH .....	70
4.5	Limite de Resistência Mecânica à Compressão .....	73
4.5.1	Análise Estatística: Diferentes Tempos e um mesmo Cimento .....	76
4.5.2	Análise Estatística: Diferentes Cimentos e um mesmo Tempo .....	78
4.6	Teste de Citotoxicidade .....	80
5	CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA PRÓXIMOS TRABALHOS.....	85
	Referências.....	89
	Anexo A.....	100
	Apêndice A .....	101

# 1 INTRODUÇÃO

Desde épocas remotas o homem tem estudado diversas alternativas para o reparo ou substituição de tecidos ósseos no corpo humano. Relatos de cerca de 600 anos a.C. comprovam a utilização de conchas marítimas na substituição de dentes na civilização Maia (Ratner, 1996). Atualmente, diversos materiais tem sido estudados e/ou desenvolvidos para aplicação como substituto ósseo, desde tecidos ósseos retirados do próprio indivíduo (auto-enxertos) a materiais naturais ou sintéticos desenvolvidos em laboratório que sejam suportados pelo corpo humano durante o período para o qual foi projetado, os biomateriais.

Dentre os biomateriais aplicados como substitutos ósseos, os baseados nos fosfatos de cálcio tem revolucionado tanto a ortopedia quanto a odontologia no reparo das partes danificadas. Podem ser aplicados na forma de blocos, mas uma das principais aplicações dos fosfatos de cálcio se dá na forma de cimentos. Os cimentos de fosfato de cálcio tem despertado grande interesse em função de sua excelente biocompatibilidade e bioatividade, além de seu endurecimento “*in situ*”, adequando-se a pequenas cavidades sem a necessidade de dar forma às mesmas. Os cimentos de fosfato de cálcio são materiais constituídos de uma fase sólida, na forma de pó, e de uma fase líquida, que quando misturadas formam uma pasta que endurece espontaneamente à temperatura ambiente ou corporal como resultado da precipitação de um ou vários fosfatos de cálcio (Driessens, et al., 1993).

Dos cimentos de fosfato de cálcio, o baseado no sistema alfa-fosfato tricálcico ( $\alpha$ -TCP) reúne diversas características interessantes, dentre as quais se destaca a biorreabsorbilidade. O produto final do cimento de  $\alpha$ -TCP é a hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA), material com estrutura muito similar à fase mineral óssea, utilizado pelo organismo na formação de tecido ósseo. Porém, a dificuldade na obtenção de  $\alpha$ -TCP com pureza elevada tem sido reportada em literatura, devido a fatores como a presença de magnésio nos reagentes precursores, conhecido estabilizador da fase de beta-fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP) (Motisuke, et al., 2008; Enderle, et al., 2005; Carrodeguas, et al., 2008).

Apesar de várias características atrativas, os cimentos de fosfato de cálcio tem seus usos limitados a aplicações de baixa carga, devido principalmente à sua baixa resistência mecânica,

além da cinética lenta da reação de cura. O desenvolvimento de cimentos mais resistentes expandiria o uso desses materiais (Bohner, 2000).

Diversos tem sido os esforços a fim de se melhorar a resistência mecânica e acelerar a cinética desses materiais. Os cimentos de fosfato de cálcio tem sido modificados constantemente na busca de propriedades mais atrativas, tais como: adição de fases sólidas nos reagentes precursores do cimento, substituições iônicas de um ou mais íons de fosfato de cálcio dos reagentes e utilização de diferentes aditivos no líquido da solução de pega. Ou ainda, uma combinação destes ou outros métodos .

A utilização de aditivos no líquido da solução de pega tem se mostrado um método interessante na melhoria das propriedades dos cimentos de fosfato de cálcio, pela simplicidade e pelos bons resultados conseguidos. Alguns aditivos tem seu uso mais difundido, como o hidrogeno fosfato de sódio e o ácido cítrico. O hidrogeno fosfato de sódio, por exemplo, acelera a hidrólise do  $\alpha$ -TCP e a formação da CDHA (Ginebra, et al., 1998), com um contínuo aumento da resistência mecânica durante toda a reação. O ácido cítrico tem efeito fluidificante, diminuindo a relação líquido/pó necessária e aumentando a resistência mecânica final do cimento (Sarda, et al., 2002). Outros aditivos na fase líquida tem sido estudados, como o ácido tânico, que tem se mostrado como um aditivo promissor nos cimentos de fosfato de cálcio (Yoshikawa, et al., 2000).

O objetivo principal deste trabalho é obter cimentos de fosfato de cálcio baseados no sistema  $\alpha$ -TCP com características otimizadas. Para isso, uma série de objetivos específicos é traçada. Por exemplo, o pó de  $\alpha$ -TCP será obtido com reagentes desenvolvidos em laboratório a fim de se ter a menor quantidade de  $\beta$ -TCP como fase indesejada e um pó de  $\alpha$ -TCP com pureza de elevada. Serão utilizados aditivos combinados na fase líquida a fim de aumentar a resistência mecânica e acelerar a cinética da reação. São eles: hidrogeno fosfato de sódio, ácido cítrico e ácido tânico. A evolução do pH durante a reação e a biocompatibilidade dos materiais desenvolvidos também foram analisadas.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Materiais de Engenharia**

Entende-se como engenharia de materiais o projeto ou a engenharia da estrutura de um material para obter-se um predeterminado conjunto de propriedades, através do entendimento da relação entre estrutura e propriedade (Ratner, 1996). A engenharia de materiais constitui os princípios da tecnologia, seja esta tecnologia referente às aplicações estruturais, eletrônicas, térmicas, eletroquímicas, ambientais, biomédicas, ou outras aplicações (Chung, 2001).

#### **2.1.1 Tipos de Materiais**

Metais, polímeros, cerâmicas, semicondutores e compósitos constituem as principais classes de materiais empregados na engenharia.

Metais, incluindo suas ligas, são materiais caracterizados pelas ligações metálicas entre seus elementos. A maioria dos elementos da Tabela Periódica são metais (Chung, 2001). Geralmente são ótimos condutores de eletricidade e de calor e não são transparentes à luz visível. Além disso, são materiais resistentes e dúcteis, o que possibilita seu extensivo uso em aplicações estruturais (Callister, 1991).

Materiais cerâmicos são usualmente compostos sólidos inorgânicos formados pela combinação de ligações iônicas e covalentes (Ratner, 1996). Alguns exemplos de cerâmicas típicas são óxidos, nitretos e carbetos. São materiais tipicamente isolantes à passagem de eletricidade e calor, além de serem mais resistentes a altas temperaturas e ambientes mais agressivos. Quanto ao comportamento mecânico, as cerâmicas são geralmente duras, porém muito frágeis (Callister, 1991).

Polímeros típicos são plásticos e borrachas. Eles se dividem em termoplásticos e termofixos. Polímeros termoplásticos consistem em moléculas que tem ligações covalentes umas com as outras e forças de van der Waals entre as cadeias. Polímeros termofixos consistem numa rede de ligações covalentes (Chung, 2001). Geralmente são materiais de baixa densidade e bastante flexíveis (Callister, 1991).

Os compósitos são materiais multifásicos obtidos pela combinação de diferentes materiais para atingir propriedades que os componentes individuais não são capazes de atingir. Esses materiais geralmente são classificados de acordo com sua matriz (Chung, 2001). Combinações comuns são entre materiais poliméricos e cerâmicos, a fim de se unir a resistência mecânica dos cerâmicos com a flexibilidade dos polímeros (Callister, 1991).

Materiais semicondutores tem propriedades elétricas intermediárias entre os condutores elétricos e os isolantes. São materiais sensíveis à presença de ínfimas quantidades de impurezas, que devem ser rigidamente controladas. Encontram diversas aplicações nas áreas eletrônicas e de comunicação (Callister, 1991).

## **2.2 Materiais Cerâmicos**

São várias as definições encontradas para os materiais cerâmicos. Uma definição mais voltada para as propriedades químicas seria: materiais formados por elementos metálicos e não-metálicos, nos quais as ligações interatômicas são ou totalmente iônicas ou predominantemente iônicas com algum caráter covalente (Callister, 1991). Ou ainda, uma definição mais voltada para a forma de obtenção: materiais geralmente obtidos pela sinterização a altas temperaturas de um pó, podendo ser compacto e com forma definida, quando há a aplicação de pressão simultaneamente; ou com forma livre, sem aplicação de pressão. Desta última definição, tem origem a palavra cerâmica, vem do grego *keramikos*, que significa material queimado.

## 2.2.1 Tipos de Materiais Cerâmicos

Podem-se dividir os materiais cerâmicos quanto à sua aplicação em três categorias principais: cerâmicas tradicionais, cerâmicas estruturais e cerâmicas funcionais.

Algumas cerâmicas tradicionais são utilizadas desde a pré-história. São cerâmicas facilmente encontradas no nosso dia a dia cuja matéria-prima básica é a argila, tais como louça, porcelana, tijolos, telhas, ladrilhos e azulejos, além de vidros e cerâmicas de alta temperatura. Até cerca de 60 anos atrás, esses eram os materiais cerâmicos conhecidos (Callister, 1991). Porém, com os avanços, houve o desenvolvimento de novos tipos de cerâmicas: as cerâmicas avançadas, aqui subdivididas em cerâmicas estruturais e funcionais.

As cerâmicas estruturais podem ser subdivididas em três grupos principais (Boch, et al., 2007):

- Cerâmicas com alto desempenho mecânico, que incluem os abrasivos, ferramentas de corte e aplicações tribológicas: resistência ao atrito e ao desgaste;
- Cerâmicas usadas em altas temperaturas, alguns mercados estabelecidos incluem materiais refratários, essenciais para equipamentos de ferro, aço, vidro, cimento ou indústrias de incineração;
- Cerâmicas que combinam alto desempenho mecânico e altas temperaturas, também chamadas de cerâmicas termoestruturais, principalmente na forma de materiais compósitos.

As cerâmicas funcionais são caracterizadas por suas, ou seus (Boch, et al., 2007):

- Propriedades elétricas;
- Propriedades magnéticas;
- Propriedades ópticas;
- Propriedades químicas;
- Propriedades “nucleares”;
- Propriedades biológicas;
- Monocristais.

## **2.3 Biomateriais**

Atualmente, os biomateriais são amplamente utilizados nas mais diversas áreas da medicina, odontologia e biotecnologia. Porém, apenas há 50 anos, os biomateriais como nós os conhecemos hoje não existiam, nem mesmo a palavra biomaterial era utilizada. Não havia fabricantes de dispositivos médicos (exceto para certas próteses externas), nenhum processo aprovado de regulamentação normalizada, nenhum conhecimento de biocompatibilidade e nem mesmo nenhum curso acadêmico em biomateriais. No entanto, biomateriais grosseiros tem sido utilizados ao longo de toda história apresentando resultados insatisfatórios (Ratner, 1996).

É da metade do século XX em diante que os biomateriais começam a ser utilizados com maior sucesso, devido aos avanços nesta área, tais como seleção adequada de materiais, melhoria nos procedimentos cirúrgicos, avanços nas técnicas de anestesia e esterilização. Com esses avanços, a qualidade de vida do paciente é mantida (Monteiro, et al., 2004).

Além de tais características, o sucesso dos biomateriais no corpo depende também de fatores como projeto do biomaterial, biocompatibilidade do material usado, bem como outros fatores independentes do controle do engenheiro, incluindo a técnica utilizada pelo cirurgião, as condições de saúde do paciente e as atividades desenvolvidas pelo mesmo (Park, et al., 2003).

### **2.3.1 Definições**

Os biomateriais podem ser definidos como substâncias de origens naturais ou sintéticas que são tolerados de forma transitória ou permanente pelos diversos tecidos que constituem os órgãos dos seres vivos. Eles são utilizados como um todo ou parte de um sistema que trata, restaura ou substitui algum tecido, órgão ou função do corpo, ou ainda como um material não viável utilizado em um dispositivo médico, com intenção de interagir com sistemas biológicos, ou ainda, toda substância (com exceção de drogas) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo indeterminado é empregado como um todo

ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais (Willians, 1987).

Para que um material possa ser classificado como biomaterial ele deve ser biocompatível e biofuncional. A biocompatibilidade é a capacidade que um material implantado possui de seus produtos de degradação serem tolerados pelos tecidos envoltórios e não causarem disfunções no organismo ao longo do tempo. Já a biofuncionalidade é a capacidade que um material implantado possui em atender às características mecânicas necessárias para cumprir a função desejada pelo tempo que for necessário (Willians, 1987). Complementar a essas características, está o fato de que para ser aplicado como biomaterial, o mesmo deve ser esterilizável.

### **2.3.2 Classificações**

Os biomateriais podem ser classificados de acordo com seu comportamento fisiológico em (Hench, et al., 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.
- **Bioinertes:** 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 quantidades 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, como os fosfatos tricálcicos.
- 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.

Quanto ao tipo, os biomateriais podem ser divididos em biomateriais sintéticos e naturais. Sendo os sintéticos subdivididos em outras quatro classes: metais, polímeros, cerâmicas e compósitos (Davis, 2003).

- Metais: são os materiais mais utilizados em implantes que suportam altas cargas. Por exemplo, muitas das mais comuns cirurgias ortopédicas envolvem a colocação de implantes metálicos, que vão desde simples placas e parafusos para fixação de fraturas a próteses totais (articulações artificiais) de quadris, joelhos, ombros, tornozelos, entre outros. São utilizados ainda em cirurgias maxilofaciais, cardiovasculares e como materiais ortodônticos. Os metais mais utilizados são os aços inoxidáveis, o titânio comercialmente puro e suas ligas e as ligas à base de cobalto cromo.
- Polímeros: uma ampla diversidade de polímeros é usada na medicina como biomateriais. Suas aplicações variam desde próteses faciais a tubos traqueais, de partes dos rins e do fígado a componentes cardíacos e de próteses dentais a articulações do quadril e joelho. Outras aplicações são como adesivos, selantes e revestimentos.
- Cerâmicas: tradicionalmente, tem sido utilizadas em larga escala como materiais restauradores em odontologia, incluindo materiais para coroa, cimentos e dentaduras. No entanto, a sua utilização em outras áreas da biomedicina não tem sido tão extensa, em comparação com os metais e polímeros. Por exemplo, sua baixa tenacidade à fratura limita severamente sua aplicação em aplicações onde existem grandes esforços. Apenas

alguns materiais cerâmicos são usados para substituição de articulações e aumento e reparo ósseo.

- **Compósitos:** os biomateriais compósitos de mais sucesso são usados no campo da odontologia como materiais restauradores ou cimentos odontológicos. Apesar de compósitos carbono-carbono e polímeros reforçados por carbono terem despertado bastante interesse no reparo ósseo e na substituição de articulações devido aos seus baixos valores de módulo de elasticidade, estes materiais não tem apresentado uma combinação de propriedades mecânicas e biológicas apropriada para estas aplicações. Os materiais compósitos, entretanto, tem sido usados extensivamente como partes de próteses, em que sua combinação de baixa densidade e alta resistência mecânica tornam-nos ideais para tais aplicações.
- **Biomateriais Naturais:** são biomateriais derivados de animais ou vegetais. Uma das vantagens na utilização de biomateriais naturais é a sua similaridade com os tecidos do corpo humano, eles não costumam oferecer problemas de toxicidade ao organismo. O maior exemplo de biomateriais poliméricos é o biopolímero colágeno, que possui uma ampla gama de aplicações.

Na Tabela 2.1 podem-se observar alguns dos principais biomateriais sintéticos classificados de acordo com seu tipo e algumas de suas principais aplicações (Davis, 2003):

**Tabela 2.1: Exemplos de materiais médicos e odontológicos e suas aplicações (Davis, 2003).**

<b>Classificação</b>	<b>Material</b>	<b>Principais Aplicações</b>
<b>Metais e Ligas</b>	Aço Inoxidável 316L	Fixação de fraturas, <i>stents</i> e instrumentos cirúrgicos
	Ti-CP, Ti-Al-V, Ti-Al-Nb, Ti-13Nb-13Zr, Ti-Mo-Zr-Fe	Ossos e articulações, fixação de fraturas, implantes odontológicos e encapsulamento do marcapasso
	Ni-Ti	Placas ósseas, <i>stents</i> e fios ortodônticos
	Ligas de ouro	Restaurações odontológicas
	Produtos de prata	Agentes antibacterianos
	Platina e Pt-Ir	Eletrodos
	Amálgama Hg-Ag-Sn	Restaurações odontológicas
	<b>Cerâmicas e Vidros</b>	Alumina
Zircônia		Acréscimo e reparo ósseo, revestimento superficial em metais
Fosfatos de cálcio		Substituição óssea
Vidros bioativos		Restaurações dentárias
Porcelana		Válvulas cardíacas, dispositivos percutâneos e implantes dentários
Carbono		
<b>Polímeros</b>	Polietileno	Substituição de articulações
	Polipropileno	Suturas
	PET	Suturas e próteses vasculares
	Poliâmidas	Suturas
	PTFE	Acréscimo de tecidos moles e próteses vasculares
	Poliésteres	Próteses vasculares e sistemas de liberação controlada de drogas
	Poliuretanos	Dispositivos que entram em contato com o sangue
	PVC	Tubos
	PMMA	Restaurações odontológicas, lentes intra-oculares e substituição articular (cimento ósseo)
	Silicone	Acréscimo de tecidos moles e aplicações oftalmológicas
Hidrogéis	Aplicações oftalmológicas e sistemas de liberação controlada de drogas	
<b>Compósitos</b>	Preenchimento BIS-GMA- quartzo/sílica	Restaurações dentárias
	Preenchimentos PMMA-vidros	Restaurações dentárias (cimentos dentais)

## **2.4 Biocerâmicas**

Utilizadas inicialmente como alternativa aos biomateriais metálicos a fim de aumentar a biocompatibilidade dos implantes, as biocerâmicas se tornaram uma classe diversificada de biomateriais (Dubok, 2000). Porém, o uso de materiais cerâmicos no corpo humano acontece desde tempos remotos.

A substituição de tecidos ou órgãos defeituosos sempre foi uma preocupação do homem. As primeiras tentativas de implantação provavelmente datam de períodos pré-históricos. São várias as evidências de substituição de dentes, em virtude de sua fácil acessibilidade, de sua função nutricional e de seu papel social. Encontram-se vestígios também de tentativas cirúrgicas em esqueletos, principalmente nas civilizações que tinham como tradição mumificar seus mortos (Boch, et al., 2007).

A utilização de cerâmicas como biomateriais, propriamente dita, 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).

Entretanto, o uso extensivo de biocerâmicas começou após a Segunda Guerra Mundial, quando o desenvolvimento de sistemas médicos mais seguros e o rápido progresso tecnológico levaram a avanços e melhorias nas intervenções cirúrgicas. Inicialmente, as cerâmicas utilizadas como biomateriais eram provenientes de outros campos de aplicação, porém, com o tempo e o surgimento de novas necessidades, começaram a ser estudados e desenvolvidos materiais cerâmicos para uso específico como biomateriais (Boch, et al., 2007).

### **2.4.1 Classificações e Definições**

É essencial reconhecer que nenhum material é adequado para todas as aplicações como biomaterial. Como uma classe de biomateriais, cerâmicas, vidros e vitrocerâmicas são geralmente

usadas para reparar ou substituir tecidos conjuntivos duros esqueléticos. Seu sucesso depende de uma ligação estável ao tecido conjuntivo. O mecanismo de fixação do tecido é diretamente relacionado ao tipo de resposta do tecido na interface implante-tecido. Nenhum material implantado em tecidos vivos é totalmente inerte, pois todos os materiais causam uma resposta dos tecidos vivos. Na Tabela 2.2, relaciona-se o tipo de implante com a resposta do tecido hospedeiro (Ratner, 1996; Callister, 1991).

**Tabela 2.2: Tipos de Implante e Respostas Teciduais (Ratner, 1996).**

<b>Tipo de Implante</b>	<b>Resposta Tecidual</b>
<b>Tóxico</b>	Morte do tecido
<b>Não-tóxico e biologicamente inativo (quase inerte)</b>	Forma-se um tecido fibroso de espessura variável
<b>Não tóxico e biologicamente ativo (bioativo)</b>	Presença de ligações interfaciais
<b>Não-tóxico e reabsorvível</b>	O tecido adjacente substitui o biomaterial

Já quanto ao tipo de fixação da prótese no sistema esquelético, existem quatro tipos básicos, como se pode ver na Tabela 2.3.

**Tabela 2.3: Tipos de biocerâmicas, fixação ao tecido e alguns exemplos (adaptada de Ratner, 1996).**

<b>Biocerâmica</b>	<b>Fixação</b>	<b>Exemplos</b>
<b>Quase inertes, densas e não porosas</b>	Crescimento ósseo nas irregularidades da superfície, cimentação das próteses no tecido ou ajustados por interferência no defeito (fixação morfológica)	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (monocristalina ou policristalina)
<b>Quase inertes e porosas</b>	Crescimento ósseo possibilitando travamento mecânico entre osso e material (fixação biológica)	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (policristalina) Hidroxiapatita para recobrimento de implantes metálicos porosos
<b>Densas, não porosas e bioativas; biovidros e vitrocerâmicas</b>	Ligação direta ao tecido por ligação química entre osso e material (fixação bioativa)	Vidros bioativos Vitrocerâmicas bioativas Hidroxiapatita
<b>Densas, não porosas (ou porosas) e reabsorvíveis</b>	Substituídas gradativamente pelo tecido ósseo	Fosfato tricálcico Sulfato de cálcio

A reatividade de um implante é a responsável pela formação da camada interfacial entre material e tecido. Quando os materiais são quase inertes, a interface não possui ligação nem química nem biológica com o tecido hospedeiro, havendo movimento relativo e desenvolvimento progressivo de uma cápsula fibrosa, seja de tecido duro ou mole. A espessura dessa cápsula varia de acordo com o material, seu tamanho e o movimento relativo do mesmo. Como exemplo, o tecido fibroso na interface de um implante de alumina densa é muito fina, resultado de um ajuste mecânico muito preciso e um carregamento mecânico em compressão, tornando o implante bem sucedido. Porém, se um implante fosse colocado de forma que houvesse um movimento relativo grande, a cápsula fibrosa poderia ser centenas de vezes mais espessa.

O mecanismo por trás do uso de materiais porosos quase inertes está no crescimento de tecido nos poros superficiais ou através de todo o implante. Uma área interfacial maior entre implante e tecido resulta numa maior resistência ao movimento entre implante e tecido. A interface é estabilizada pelo tecido vivo presente nos poros, por isso, chamado de “fixação biológica”. A limitação deste tipo de fixação está na faixa de tamanho ideais dos poros entre 50 e

150µm, para que haja suporte para fornecimento de sangue para o tecido conectivo em crescimento.

Já os materiais reabsorvíveis são projetados para degradarem-se gradualmente num período de tempo determinado, sendo então substituído pelo tecido hospedeiro natural. Estes implantes geralmente não formam camadas interfaciais, ou quando formam são muito finas. Esta é a solução ótima para biomateriais, caso os requisitos de resistência mecânica e performance em curto espaço de tempo sejam satisfeitos, uma vez que tecidos naturais podem reparar e substituir os implantes ao longo do tempo. Entretanto, existem complicações no desenvolvimento de biomateriais reabsorvíveis, tais como manutenção da resistência e da estabilidade na interface durante o período de degradação e substituição pelo tecido natural, controle das taxas de reabsorção e limitações na composição dos materiais.

Outro modo de fixação é o proporcionado pelos materiais bioativos. Este método é intermediário entre os reabsorvíveis e os bioinertes. Trata-se de um material que provoca uma resposta biológica específica na interface implante e tecido, através de ligação química com o tecido adjacente. Entretanto, o tempo para que ocorra essa ligação, a resistência da ligação, o mecanismo da ligação e a espessura da zona de ligação diferem muito de um material para o outro, sendo fatores importantes e limitantes nas aplicações desses materiais.

#### **2.4.2 Algumas biocerâmicas**

A alumina é uma das cerâmicas multiuso com uso mais difundido. É essencialmente usada na ortopedia por suas boas propriedades tribológicas e sua inércia química proeminente. Uma das vantagens da alumina é que se trata de um substrato desfavorável para o crescimento cristalino de fosfatos de cálcio, que podem alterar as condições de atrito (Royer, 1993). É o material presente na cabeça das próteses femurais, além de ser utilizada no acetábulo (Boch, et al., 2007).

As próteses biocerâmicas de alumina devem ser polidas conjuntamente (esfera e acetábulo) para permitir um elevado grau de esfericidade e baixo coeficiente de atrito entre as duas superfícies, visando o perfeito funcionamento no conjunto. Outras aplicações menos frequentes para a alumina são em juntas de tornozelo, cotovelo, ombro, pulso e dedos; em cranioplastia e na

reconstrução de paredes orbitais; em implantes cocleares no caso de surdez profunda; em reconstruções buxomaxilofaciais e na substituição de ossículos do ouvido médio (Santos, 2002).

Os silicatos de alumínio são essencialmente usados em próteses dentais, na forma de cerâmica densa, cimento ou compósitos cerâmica-polímero. Polímeros, usualmente associados com silicatos de alumínio, são cada vez mais utilizados no preenchimento de cavidades substituindo amálgamas, suspeitos de provocarem efeitos tóxicos (Mjör, 1997; Boch, et al., 2007).

A zircônia estabilizada com óxido de ítrio também tem sido utilizada em substituição à alumina em cabeças de próteses osteoarticulares. As principais vantagens da zircônia quando comparada com a alumina estão na sua maior resistência mecânica à flexão, maior tenacidade à fratura, menor módulo de elasticidade, bem como maior resistência à fadiga (Boch, et al., 2007).

Mesmo com muitos avanços nesta área e com a comercialização da zircônia, sua utilização ainda é controversa para alguns especialistas, principalmente devido à radioatividade do material e seu desempenho inferior quando imerso em meio fisiológico (Santos, 2002).

O carbono vítreo tem muitas propriedades biológicas e físico-químicas interessantes: ele é leve, resistente ao desgaste e hemocompatível. Ele é usado essencialmente para fazer válvulas cardíacas, em substituição às retiradas de animais, que não apresentavam uma grande longevidade. Além disso, os carbonos vítreos tem essa denominação em virtude de sua aparência negra brilhante e de sua fratura concoidal, semelhantes às dos materiais vítreos. Entretanto, não se trata de um material vítreo, mas de um material cristalino com reduzido tamanho de grão (Boch, et al., 2007; Santos, 2002).

Quanto aos biovidros, desde o seu desenvolvimento na década de 70 (Hench, et al., 1971), eles apresentaram uma grande evolução. Uma gama de biovidros e vitrocerâmicas foi desenvolvida, mostrando certa capacidade de ligar-se ao osso. Algumas de suas principais aplicações são: recomposição de órbitas oculares; substituição dos ossículos do ouvido médio; preenchimento de cavidades; equipamentos percutâneos; tratamento de doença periodontal e recobrimento de próteses de quadril (Santos, 2002).

Finalmente temos as biocerâmicas de fosfato de cálcio. Pode-se destacar a hidroxiapatita estequiométrica e os fosfatos tricálcicos, nas suas fases polimórficas  $\alpha$ -TCP e  $\beta$ -TCP, melhor discutidos na próxima seção.

## 2.5 Biocerâmicas de Fosfato de Cálcio

Compostos de fosfatos de cálcio tem sido estudados como materiais para remodelação óssea nos últimos 100 anos. O primeiro uso *in vivo* de um fosfato tricálcico foi em 1920 (Albee, et al., 1920). Nos anos seguintes, várias partículas de fosfato de cálcio foram injetadas em animais para testar seus efeitos em cicatrização de ossos (Haldeman, et al., 1934). Apesar desses experimentos adiantados, foi somente nos anos 60 que um fosfato de cálcio, principalmente a hidroxiapatita, foi sintetizado, caracterizado e aplicado (Getter, et al., 1972; Denissen, 1979; Leal, 2005).

Fosfatos de cálcio são usados pelo nosso organismo na formação dos ossos, estimulando sua aplicação para a produção de biomateriais utilizados na reparação óssea. Sabe-se que fosfatos de cálcio guiam o tecido ósseo neoformado através de uma forte ligação química com o mesmo, propriedade conhecida como osteocondutividade (Yuan, et al., 2005).

A Tabela 2.4 traz a relação Ca/P, o nome e a composição de alguns dos principais fosfatos de cálcio. Apenas alguns compostos de fosfato de cálcio podem ser utilizados como biomateriais, porque a solubilidade e a velocidade de hidrólise da reação aumentam com o decréscimo da relação Ca/P (Driessens, et al., 1993; Ratner, 1996; Liu, et al., 2008). Portanto, relações Ca/P muito baixas levam a uma solubilidade muito elevada, fazendo com que o fosfato de cálcio degrade sem que haja a formação de tecido, impossibilitando seu uso como biomaterial.

**Tabela 2.4: Principais Fosfatos de Cálcio (Ratner, 1996).**

<b>Ca : P</b>	<b>Fórmula Química</b>	<b>Composto</b>
<b>1,0</b>	$\text{CaHPO}_4$	Fosfato Bicálcico (DCP)
<b>1,0</b>	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Fosfato Bicálcico Dihidratado (DCPD)
<b>1,33</b>	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Fosfato Octacálcico (OCP)
<b>1,43</b>	$\text{Ca}_{10}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$	Whitlockite
<b>1,5</b>	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Fosfato Tricálcico (TCP)
<b>1,67</b>	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita (HA)
<b>2,0</b>	$\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$	Fosfato Tetracálcico (TTCP)

Na Figura 2.1, podemos observar a diferença na dissolução do TCP, da HA e de um composto formado pela mistura de TCP e HA, chamado aqui de BCP, ou seja, compostos com diferentes relações Ca/P. Observa-se que a HA dissolve-se mais lentamente, enquanto o TCP dissolve-se mais rapidamente. Essa alta taxa de dissolução físico-química é que possibilita a reabsorção do TCP *in vivo* por osteoclastos e macrófagos. Entretanto, é importante saber que a taxa de reabsorção, isto é, a velocidade com que o cimento é fagocitado ou solubilizado pelo organismo dando origem ao tecido ósseo neoformado, de um TCP é dependente tanto da sua macroestrutura, quanto da sua microestrutura (Yuan, et al., 2005).

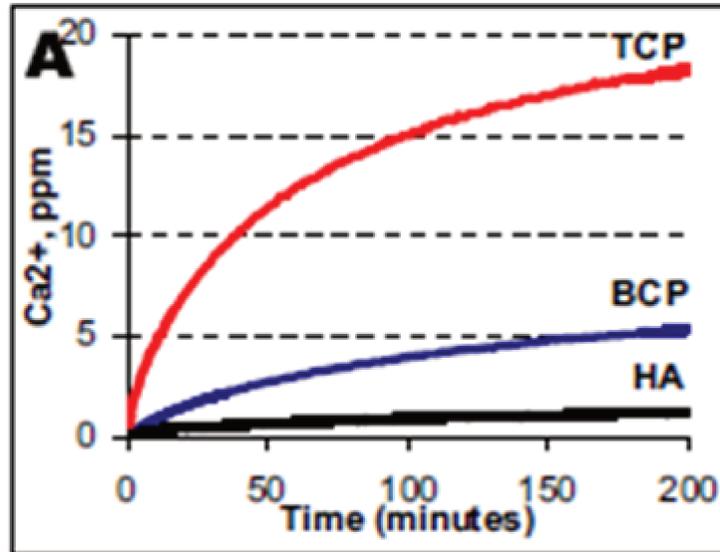


Figura 2.1: Taxa de reabsorção de diferentes fosfatos de cálcio (Yuan, et al., 2005).

### 2.5.1 Tecido ósseo

Bioquimicamente, o osso é definido como uma blenda especial de uma matriz orgânica (35%) e elementos inorgânicos (65%). A matéria inorgânica do osso consiste principalmente de fosfatos de cálcio, com quantidades significativas de íons citrato e carbonato e traços de fluoretos, magnésio e sódio. O fosfato de cálcio presente no osso é muito similar, mas não idêntico, à hidroxiapatita mineral, enquanto que a matéria orgânica é constituída principalmente de colágeno. Numa escala nanométrica, os fosfatos de cálcio depositam-se na matriz de colágeno (Bloom, et al., 1986; Rosenberg, 1999).

Um substituto ósseo ideal deveria suprir as seguintes características (Kutz, 2002):

- biocompatibilidade;
- osteocondutividade (propiciando uma fixação adequada, além de permitir a proliferação e o desempenho da função dos osteoblastos);
- habilidade de incorporar fatores osteoindutivos para direcionar e fortalecer a ligação com o novo tecido ósseo em crescimento;

- desenvolvimento de vascularização para garantir a sobrevivência das células transplantadas;
- suficiente integridade mecânica para suportar cargas no local do implante;
- capacidade de se degradar com uma taxa de degradação controlada e predeterminada, com reprodutibilidade;
- capacidade de se degradar em espécies moleculares não tóxicas, facilmente metabolizadas ou excretadas pelo organismo;
- facilmente processado em formas tridimensionais irregulares.

Particularmente, no caso dos fosfatos de cálcio, é difícil garantir a vascularização e a resistência mecânica simultaneamente, uma vez que a vascularização é tipicamente maximizada com o aumento da porosidade, já as propriedades mecânicas são frequentemente melhoradas com a minimização da porosidade.

## 2.6 Hidroxiapatita

A hidroxiapatita (HA) tem sido utilizada como biomaterial por ser a fase mineral dos ossos e devido às suas boas propriedades mecânicas e excelente biocompatibilidade, expressa através de ligações químicas com os tecidos rígidos (Billotte, 2003).

Dois aspectos devem ser levados em consideração quanto à hidroxiapatita natural e à sintética. Primeiro, a HA natural, óssea, tem composição não-estequiométrica e tem uma relação Ca/P menor que 1,67, e contém íons de carbonato, sódio, magnésio, entre outros. E também, grande parte das HA sintéticas contém substitutos no fosfato ou no grupo hidroxílico, variando a estequiometria ideal e da relação Ca/P (Kutz, 2002). A hidroxiapatita natural, encontrada na parte mineral dos ossos, é a hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA), com uma relação Ca/P de 1,5 e fórmula química  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$ .

A hidroxiapatita tem sido aplicada na forma de blocos densos ou porosos como substitutos ósseos, como reforço de matrizes poliméricas, recobrimento de implantes metálicos pra aumentar a sua bioatividade, entre outros.

O estudo de uso de hidroxiapatita densa e porosa tem sido reportado por vários autores (Kawachi, et al., 2000; Takeshita, et al., 1997; Kokubun, et al., 1994; Gauthier, et al., 1998), de uma forma geral, observa-se a formação de uma cápsula fibrosa em volta do material, isolando-o do tecido hospedeiro, que passa por uma regressão lenta até seu completo desaparecimento, geralmente num período de meses, verificando contato entre o osso formador e a cerâmica. Já a hidroxiapatita porosa permite o crescimento de tecido ósseo no seu interior, possibilitando um forte entrelaçamento entre tecido e hidroxiapatita.

A utilização de hidroxiapatita para recobrimento de implantes metálicos é um método utilizado há mais de 20 anos, bem difundido e consolidado. Sua bioatividade, por exemplo, garante uma ótima ligação entre implante e tecido ósseo em implante coxofemurais não cimentados, porém o sucesso deste implante é dependente também das características do paciente, como idade, atividades físicas praticadas e saúde.

## 2.7 Fosfato Tricálcico

O fosfato tricálcico ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , TCP) é um composto que apresenta polimorfismo, a mesma composição pode apresentar diferentes estruturas. Existem três polimorfos deste composto: as fases  $\beta$ ,  $\alpha$ ,  $\alpha'$ . A fase  $\beta$  cristaliza no sistema hexagonal, a fase  $\alpha$  apresenta sistema cristalino ortorrômbico e a fase  $\alpha'$  cristaliza no sistema monoclinico (Aza, et al., 2004). Destes compostos, o  $\beta$ -TCP é o mais conhecido e mais utilizado, já a fase  $\alpha'$  é meta-estável e só existe em temperaturas elevadas.

Não existe uma temperatura exata para a obtenção de cada uma dessas fases, porém, de uma forma geral, o  $\beta$ -TCP é obtido a partir de 650°C, temperaturas mais baixas que as de obtenção do  $\alpha$ -TCP, porém o  $\beta$ -TCP é menos biocompatível e menos bioreabsorvível que este último (Bohner, 2000). A transformação de  $\beta$ -TCP para  $\alpha$ -TCP tem início em temperaturas por volta de 1200°C.

As temperaturas de transformação entre as fases são muito influenciadas por diversos fatores, tais como o processo de obtenção do TCP e, conseqüentemente, a quantidade de impurezas neles contida. O que dificulta a padronização e a determinação de temperaturas

específicas para o TCP. Para cada nova forma de obtenção dos pós de TCP, podem-se encontrar variações nas temperaturas de transição de fases.

### 2.7.1 Obtenção do TCP

Uma das formas de se obter o TCP é por meio de reação no estado sólido, em que se utiliza o carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) e a monetita ( $\text{CaHPO}_4$ ) como reagentes precursores. É um método simples, em que se misturam os dois reagentes em proporções adequadas, levando posteriormente para sinterização em temperaturas pré-determinadas. Essa reação só ocorre com uma relação Ca/P dos reagentes de 1,5 e é um processo de alta complexidade (Jinlong, et al., 2001).

Pós nanométricos de  $\alpha$  e  $\beta$ -TCP também já são obtidos. Uma das formas é por pirólise, através do processo de aspersão térmica por chama a gás em altas temperaturas (Cho, et al., 2009). Os pós nanométricos de  $\alpha$ -TCP com formatos esféricos são preparados a partir de uma solução mista de água e álcool etílico, com um posterior tratamento térmico. O tamanho de partícula médio aumenta com o aumento da temperatura de tratamento, sendo que com temperaturas a partir de 800 a 900°C tem-se somente como fase de  $\beta$ -TCP presente.

### 2.7.2 Influência do Magnésio na Formação do $\alpha$ -TCP

Entre os fatores que influenciam a transformação  $\beta$ -TCP  $\rightarrow$   $\alpha$ -TCP, se pode destacar a presença de Mg, na forma de íons  $\text{Mg}^{2+}$  em substituição a íons de  $\text{Ca}^{2+}$ . São vários os trabalhos explorando o efeito da presença de magnésio nos compostos de TCP (Enderle, et al., 2005; Carrodegua, et al., 2008; Motisuke, et al., 2008; Marchi, et al., 2007), mas de uma forma geral, o magnésio atua como um estabilizador da fase de  $\beta$ -TCP.

Pequenas concentrações de Mg, como 1,5% mol, são suficientes para retardar a transformação  $\beta$ -TCP  $\rightarrow$   $\alpha$ -TCP (Marchi, et al., 2007). Já concentrações maiores, em torno de 8%

mol, são capazes de aumentar essa temperatura de transformação em quase 400°C (Enderle, et al., 2005). O controle rigoroso de todo o processo, bem como dos reagentes é de extrema importância na sintetização de  $\alpha$ -TCP com elevado grau de pureza.

## 2.8 Cimentos de Fosfato de Cálcio (CFCs)

O primeiro cimento ósseo foi desenvolvido na década de 60 por Charnley, utilizando o poli (metil metacrilato), que até hoje é muito utilizado na fixação de próteses articulares. Essa descoberta propiciou o aparecimento de novos cimentos, como aqueles que possibilitam uma ligação entre osso e implante, como os cimentos de fosfato de cálcio (Kenny, et al., 2003).

Foi no início da década de 80 que pesquisadores descobriram os cimentos de fosfato de cálcio, materiais bioativos e biodegradáveis aplicáveis como enxerto ósseo através da mistura de uma fase sólida na forma de pó com um líquido. Após misturadas, essas fases formam uma pasta viscosa a ser implantada, que tem sua reação de pega e endurece dentro do corpo na forma de CDHA (hidroxiapatita deficiente em cálcio) ou brushita, podendo ser posteriormente reabsorvidos pelo organismo. Apresentando então grande potencial para aplicação em fraturas que não tenham que suportar cargas elevadas (Bohner, 2000).

Após a descoberta e desenvolvimento de vários tipos de cimento, observa-se que os de fosfato de cálcio apresentam respostas citológica e histológica superiores ao cimento de PMMA, que tem seu desempenho, no que diz respeito à resposta do tecido hospedeiro, considerado como insatisfatório por muitos pesquisadores (Driessens, et al., 1997).

O termo “cimento de fosfato de cálcio” foi introduzido por Gruninger e colaboradores. Segundo eles, após a mistura de um sal de fosfato de cálcio com água ou com uma solução aquosa, a pasta reage à temperatura ambiente ou corporal, originando um precipitado que contém um ou mais fosfatos de cálcio, que tem sua pega (endurecimento) através do intercruzamento entre os cristais destes precipitados (Driessens, et al., 1993). O tempo de pega é definido como o intervalo de tempo entre a adição de água no cimento e o início do seu endurecimento.

São poucos os cimentos de fosfato de cálcio disponíveis atualmente. Novos CFCs estão chegando ao mercado, e ainda mais devem chegar em breve, oferecendo um leque maior na

velocidade de biodegradação, facilidade de mistura e viscosidades diversas. Entretanto, a chegada de novos CFCs no mercado marca apenas o início e a difusão de seu uso. No futuro, espera-se que esses materiais: sejam injetáveis e possuam macroporosidades, ainda assim com resistência mecânica, a fim de otimizar a sua osteocondução; hajam em conjunto com a entrega controlada de drogas para o tratamento de doenças ósseas; tenham macroporosidades para uso na engenharia de tecidos (Bohner, 2000).

É válido ressaltar que existe ainda uma grande diferença entre o interesse dos engenheiros desenvolvedores desse tipo de cimento e as necessidades clínicas. Enquanto os engenheiros têm o interesse de desenvolver cimentos com performances melhoradas através do entendimento dos processos físicos e químicos envolvidos na reação do cimento, a área médica está interessada em um cimento que “funcione”, com características como baixo preço, fácil mistura entre líquido e pó e boa visualização durante a injeção (Bohner, et al., 2005).

### 2.8.1 Características

Os CFCs devem preencher alguns requisitos para sua aplicação clínica, tais como (Lemaitre, et al., 1987): ausência de toxicidade local ou sistêmica, perfeita adesão ao tecido ósseo, ausência de propriedades alogênicas ou carcinogênicas, fácil manipulação, dar pega e endurecer *in vivo* dentro de um período pré-determinado, resistência mecânica apropriada, ser reabsorvível, ser condutor na formação de tecido ósseo e ter tempo de pega e endurecimento controláveis.

As características ideais de um CFC para aplicação no reparo ósseo são (Driessens, et al., 1997):

- tempo para a mistura curto: 1 minuto ou menos;
- tempo de pega que propicie a manipulação, porém não muito longo, variando entre 5 e 20min;
- tempo de preparo do cimento (tempo em que se pode moldar o cimento sem afetar suas propriedades mecânicas finais) deve ser próximo ao tempo de pega inicial;

- tempo de coesão (tempo a partir do qual o cimento não se incha e nem se desintegra em contato com os fluidos corporais) deve ser mais curto que o tempo de preparo e o tempo de pega inicial;
- a resistência mecânica final deve ser igual ou superior à do tecido ósseo substituído;
- não deve liberar calor durante a pega;
- o pH deve ser neutro (entre 6,5 e 8,5) durante e depois da pega para evitar a morte do tecido adjacente.

Em resumo, algumas das principais vantagens e desvantagens dos CFCs estão listadas na Tabela 2.5:

**Tabela 2.5: Principais vantagens e desvantagens de cimentos de fosfato de cálcio (Ginebra, et al., 2006; Ginebra, et al., 2006; Ambard, et al., 2006; Santos, 2002).**

Vantagens	Desvantagens
Capacidade de ocorrer a reação de pega <i>in vivo</i> , à temperatura corpórea	É um material frágil: o que limita muito sua aplicação
Boa injetabilidade do cimento no local de implantação com técnicas cirúrgicas minimamente invasivas, com menos riscos que técnicas tradicionais	Pode se desgastar devido a qualquer tipo de falha durante a cirurgia
Boa osteocondutividade	Pouca macroporosidade (principalmente poros interconectados), que inibe o rápido crescimento ósseo e a biodegradação acontece gradualmente apenas, camada por camada, de fora para dentro
É substituído por tecido ósseo neoformado depois de certo período de tempo (osteotransdutividade)	A biodegradabilidade <i>in vivo</i> da maioria das formulações é mais lenta que a taxa de crescimento ósseo
Apresenta ótima moldabilidade, adequando-se perfeitamente ao local do implante, assegurando ótimo contato entre osso e implante	
Excelente biocompatibilidade e bioatividade	
Não tóxico	
Baixo custo	
Facilidade de preparação e manuseio	
Forma ligações químicas com o osso hospedeiro	
Preparação durante o ato cirúrgico	
Não há a necessidade de dar forma à cavidade	
Aplicável mesmo em pequenas cavidades	
Aplicável mesmo em defeitos com grande complexidade geométrica	

### 2.8.2 Propriedades

São vários os fatores que podem influenciar nas propriedades e no desempenho desses cimentos, tais como:

- porosidade (Barralet, et al., 2002);

- tamanho de partícula (Ginebra, et al., 2004; Ginebra, et al., 1999; Bohner, et al., 2006);
- biocompatibilidade (Hao, et al., 2004; Theiss, et al., 2005; Grover, et al., 2003);
- cristalinidade (Bohner, 2007; Bohner, et al., 2008);
- área superficial específica (Ratner, 1996).

O volume de poros é inversamente proporcional à resistência mecânica do material e diretamente proporcional ao crescimento de tecido ósseo através do implante. Pressões de compactação entre 18 e 106MPa levam a um decréscimo na porosidade de 31 a 50%, levando a um aumento na resistência mecânica de 4 para 37MPa (Barralet, et al., 2002), deixando clara a relação entre essas propriedades. Porém, se o volume de poros for reduzido, assim como a interconexão entre os mesmos, existe a dificuldade do tecido ósseo crescer através do implante, dificultando o crescimento ósseo, bem como a biodegradação do implante.

O tamanho de partícula também influencia diretamente nas propriedades do cimento, bem como a área superficial específica (quanto maior o tamanho de partícula, menor a área superficial específica). Um tamanho de partícula menor leva a uma ampla redução no tamanho dos cristais precipitados, diminui o tempo de pega do CFC e aumenta sua taxa de endurecimento (Ginebra, et al., 1997).

### 2.8.3 $\alpha$ -Fosfato Tricálcico

O sistema  $\alpha$ -TCP apresenta algumas características consideradas ideais, que viabilizam sua aplicação como cimento ósseo. Algumas delas são a não alteração do seu volume e nem a liberação de calor durante a reação de pega, ausência de citotoxicidade, integridade estrutural quando em contato com os fluidos corpóreos e ótima biocompatibilidade.

Uma das características que influenciam nas propriedades do cimento de TCP é a pureza do pó de  $\alpha$ -TCP precursor. Não existe um pó de  $\alpha$ -TCP com 100% de pureza, é comum encontrar quantidades variadas de  $\beta$ -TCP como impureza, o que influencia diretamente nas propriedades do cimento: o  $\beta$ -TCP é menos solúvel, tornando o pó menos reativo. Além disso, o produto da reação do  $\beta$ -TCP é a *brushita*, enquanto que a do  $\alpha$ -TCP é a CDHA, que é mais similar a fase mineral óssea.

Outra propriedade que influencia diretamente nas propriedades do cimento é a relação líquido/pó. Quanto menor a relação líquido/pó, maior a resistência mecânica e menor a porosidade. Além dessa, a composição da solução de pega (com ou sem aditivos), a temperatura em que ocorre a pega (bem como a sua velocidade) e o tempo de mistura, entre outros, influenciam diretamente no desempenho do cimento.

Quanto à cinética da reação de hidrólise do  $\alpha$ -TCP, alguns estudos tem sido apresentados (Ginebra, et al., 1999; Ginebra, et al., 2004; Bohner, et al., 2006). De uma forma geral, é consenso que a reação é controlada pela área superficial específica dos reagentes. Porém, alguns autores defendem a idéia que após algumas horas de reação, quando há um volume considerável de placas de CDHA formadas na superfície das partículas de pó, o mecanismo de controle passa a ser a taxa de difusão da solução de pega através dessas partículas, rumo ao interior da partícula de pó, justificando uma cinética mais lenta da reação nessa etapa.

#### **2.8.4 Aplicações**

CFCs tem encontrado diversas aplicações no tratamento de certos tipos de fraturas. Diferentes estudos tem mostrado que eles são materiais altamente biocompatíveis e osteocondutivos, estimulando a regeneração tecidual (Schmitz, et al., 1999; Claes, et al., 1997). O objetivo principal na utilização dos CFCs é no preenchimento de fraturas ósseas e vazios ósseos, diminuindo a necessidade de utilização de enxertos ósseos, mas também tem sido utilizados para provocar uma ligação química e biológica entre implante metálico e osso (Dorozhkin, 2009).

Eles podem ser usados facilmente por células de remodelação óssea para reconstruir partes de tecido ósseo traumatizadas (Kurashina, et al., 1997; Friedman, et al., 1998; Apelt, et al., 2004; Ooms, et al., 2003; Jansen, et al., 1995; Larsson, et al., 2002). Por outro lado, algumas formulações tem mostrado que os CFCs possuem ação antimicrobiana (Serraj, et al., 2002; Michalesco, et al., 2005; Briak, et al., 2008; Huan, et al., 2007; Gbureck, et al., 2007).

Algumas aplicações ortopédicas incluem redução e estabilização de fraturas radiais intra-articulares instáveis (Kopylov, et al., 1999; Yetkinler, et al., 1999); fraturas complexas no

calcanhar (Schildhauer, et al., 2000); fraturas de compressão vertebral (Bai, et al., 1999); melhor fixação de parafusos de fixação em próteses de quadril (Elder, et al., 2000).

## 2.9 Cimentos de Fosfato de Cálcio Modificados

As propriedades de um cimento de fosfato de cálcio, tais como plasticidade inicial, tempo de endurecimento e resistência mecânica final, entre outros, são dependentes de características do pó e do líquido precursores, bem como das condições em que ocorre a reação do cimento. Alguns desses fatores estão na Tabela 2.6.

**Tabela 2.6: Alguns fatores e suas características que influenciam nas propriedades dos cimentos, adaptado de Driessens, et al., 1997.**

<b>Fator</b>	<b>Característica</b>
<b>Pó</b>	Natureza e pureza dos constituintes sólidos
	Proporção de mistura dos constituintes sólidos
	Aditivos
	Tamanho de partícula
<b>Líquido</b>	Aditivos
	pH
	Relação líquido/pó (L/P)
<b>Reação</b>	Temperatura
	Umidade
	Evolução do pH do meio

Sendo assim, vários métodos experimentais baseiam-se na modificação de alguns dos fatores acima, buscando alcançar as propriedades almejadas. O entendimento da relação entre essas características é fundamental no estudo e desenvolvimento de novos CFCs, com

propriedades melhoradas. As principais estratégias adotadas no desenvolvimento de novos CFCs estão na Tabela 2.7.

**Tabela 2.7: Lista de estratégias e possibilidades para modificação da reatividade de cimentos de fosfato de cálcio, adaptada de Bohner, 2007.**

<b>Estratégia</b>	<b>Possibilidades</b>
<b>Taxa de dissolução</b>	Mudança da área de contato entre o reagente e o líquido
	Mudança no tempo de moagem
	Alteração da solubilidade da solução de pega
	Alteração na saturação da solução de pega
	Utilização de inibidores de dissolução na solução de pega
	Modificação da superfície dos reagentes
<b>Taxa de nucleação</b>	Utilização de fatores de nucleação
	Mudança na saturação do produto da reação de pega
	Mudança na solubilidade do produto final
	Utilização de inibidores de nucleação
<b>Taxa de crescimento</b>	Mudança na saturação do produto da reação de pega
	Mudança na solubilidade do produto final
	Utilização de inibidores de crescimento do cristal

Na seção 2.9 serão discutidos alguns dos métodos mais utilizados na otimização de CFCs utilizando as propriedades e estratégias listadas na Tabela 2.6 e na Tabela 2.7. São eles: adição de fases sólidas nos reagentes precursores do cimento, substituições iônicas de um ou mais íons de fosfato de cálcio dos reagentes e utilização de diferentes aditivos no líquido da solução de pega.

É importante ressaltar que qualquer alteração provocada buscando-se otimizar certa propriedade, irá influenciar outras propriedades direta ou indiretamente. Existe um compromisso entre as propriedades de um material. O objetivo, então, é encontrar uma formulação que tenha a melhor correlação entre todas as propriedades e suas funções, otimizando o material para a aplicação desejada.

### 2.9.1 Fosfatos de Cálcio Substituídos

Uma das possibilidades de substituições iônicas, e também uma das mais comuns é a do magnésio. Uma das possíveis substituições é a de composição  $\text{CaMg}_2(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , onde dois íons de magnésio substituem dois íons de cálcio. O que de fato acontece, após análises do cimento (Ginebra, et al., 1994), é a formação de fosfatos de magnésio precipitados numa mistura com fosfatos de cálcio. E apesar do cimento obedecer a vários dos pré-requisitos para sua aplicação, seu pH pode chegar a valores tão altos quanto 10 durante a reação de pega e mesmo permanecer neste valor após algum tempo. Efeitos proveniente da utilização de fosfatos de cálcio substituído com magnésio aplicados juntamente com líquidos de diferentes concentrações e composições na solução de pega também tem sido estudados (Pina, et al., 2009). Além de todas as outras modificações propiciadas pelo magnésio já explicadas na Seção 1.7.2.

Novos cimentos tem sido preparados com a substituição de íons de estrôncio, tendo  $\alpha$ -TCP como seu produto final (Pina, et al., 2009). As pastas apresentaram reações exotérmicas nos primeiros 15 minutos após a mistura das fases sólida e líquida, e continuaram a liberação de calor até cerca de uma hora. O cimento substituído, no caso deste trabalho, apresentou resistência mecânica superior ao cimento de  $\alpha$ -TCP sem substituições.

Efeitos biológicos em cimentos de  $\alpha$ -TCP substituídos com silício também tem sido testados (Camiré, et al., 2006). Várias quantidades de silício tem sido testadas. O composto resultante é o  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$ . Os resultados mostram um decréscimo na resistência mecânica com o aumento da quantidade de silício, além de mudanças na velocidade da reação. Porém, a biocompatibilidade é melhorada. Testes *in vitro* mostraram a deposição de uma camada de apatita sobre o material, com teor de silício de 1% mol, enquanto testes *in vivo* demonstraram uma melhora na diferenciação de células mesenquimais e um aumento na atividade dos osteoblastos, quando comparado com o  $\alpha$ -TCP sem adição de silício.

### 2.9.2 Adição de Fases Sólidas

Aditivos na fase sólida com os mais diversos objetivos são ainda uma classe mais ampla e com mais possibilidades e aplicações do que CFCs substituídos.

A utilização de fibras é uma das técnicas adotadas (Gorst, et al., 2006; Santos, et al., 2000). As propriedades mecânicas (ocasionadas pelo reforço do material) são totalmente dependentes do formato das fibras e da sua distribuição. Uma distribuição não homogênea das fibras pode ocasionar uma variabilidade significativa nas propriedades finais do material, como módulo de elasticidade e resistência mecânica. Em conjunto com as fibras, podem ser utilizados também aditivos na fase líquida ou compactação mecânica para otimizar as propriedades mecânicas.

Sulfato de cálcio hemi-hidratado (CSH) e dihidratado (CSD) são utilizados com finalidades diferentes (Bohner, 2004; Nilsson, et al., 2002; Nilsson, et al., 2002). O CSH é utilizado como agente porogênico, assegurando o crescimento do tecido ósseo também entre os poros do implante. Porém, o CSH diminui a resistência mecânica quando comparado com o  $\alpha$ -TCP puro. Já a utilização de CSD, combinado com fosfato de hidrogênio dihidratado como aditivo na fase líquida, diminui o tempo de pega do cimento. Porém, simultaneamente, a quantidade de pó de  $\alpha$ -TCP não reagido após 24 horas de reação aumentou, indicando uma inibição na hidrólise do  $\alpha$ -TCP, porém sem alterar as propriedades mecânicas finais do cimento.

Aditivos com ação antimicrobiana também são utilizados, por exemplo, no tratamento da dentina cariada (Akashi, et al., 2001). Esses aditivos alteram a reação de pega do cimento e a liberação das drogas com agentes anticariogênicos depende da estrutura e da composição da matriz do cimento.

Aditivos poliméricos como amido, alginato de sódio, quitosana, gelatina e poliacrilato de sódio também tem sido utilizados, principalmente proporcionando mudanças com suas propriedades reológicas (dos Santos, et al., 1999; Yu, et al., 2009). Uma das principais alterações é a maior resistência mecânica obtida nos tempos iniciais da reação quando comparado com os cimentos não modificados.

Cimentos dopados com partículas cerâmicas policristalinas de zircônia tetragonal dopada com ítrio, alumina policristalina e sílica amorfa são estudados com o objetivo de aumentar a resistência mecânica final do cimento (Takahashi, et al., 2004). O aumento da resistência

mecânica pode superar até 50% do valor do  $\alpha$ -TCP sem aditivos. A resistência mecânica depende da afinidade da matriz cerâmica com as partículas dispersas.

Compósitos bifásicos são obtidos através da adição de fluorapatita (Bousslama, et al., 2009). As propriedades mecânicas aumentam com a temperatura de sinterização e com a adição de fluorapatita, além de proporcionar uma maior densificação do cimento da matriz de fosfato tricálcico.

### 2.9.3 Aditivos na Solução de Pega

Utilizar aditivos na solução de pega é um dos métodos mais adotados, além de mais simples, para alterar propriedades dos cimentos de fosfato de cálcio. Alguns aditivos tem seu uso disseminado e difundido, além de bem caracterizado, como o  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e o ácido cítrico, enquanto vários outros tem sido testados, isoladamente ou em combinação, para avaliar as mudanças proporcionadas.

A reação de pega de CFCs sem aditivos é muito lenta, não atendendo aos requisitos mínimos para aplicação clínica. Uma forma de acelerar a reação é através da adição de hidrogeno fosfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) na fase líquida do cimento. A utilização do fosfato proporciona um contínuo aumento na aquisição de resistência desde a mistura do cimento. Além disso, pode ser observada uma correlação entre a resistência mecânica e a taxa de transformação do  $\alpha$ -TCP em CDHA. Finalmente, o  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  influencia fortemente na cinética da hidrólise do  $\alpha$ -TCP, eliminando o período de indução de reação (Ginebra, et al., 1998). Além disso, esta composição deixa o cimento livre de alterações volumétricas e não promove liberação de calor, não é uma reação exotérmica. Além de ter uma ótima biocompatibilidade (Komath, et al., 2000).

Outro aditivo com uso difundido é o ácido cítrico. Ele tem efeito fluidificante durante os primeiros estágios de mistura do cimento. As reações de precipitação e dissolução do  $\alpha$ -TCP são retardadas com a adição do ácido cítrico e a resistência mecânica final é aumentada. Resumindo, o ácido cítrico comporta-se como um redutor da quantidade de líquido necessária para a obtenção do cimento, influenciando diretamente nas suas propriedades finais (Sarda, et al., 2002).

Outros aditivos utilizados são o poliacrilato de amônio e a acrilamida. A adição desses compostos em quantidades específicas numa matriz de  $\alpha$ -TCP com 0,01% em massa de persulfato de amônio (utilizado como agente iniciante da polimerização) aumenta a resistência mecânica à compressão em até quase 150% do valor inicial, provavelmente devido ao decréscimo da porosidade e o efeito de reforço promovido pelo emaranhamento entre a rede de poliacrilamida coexistente com os cristais de CDHA (Santos, et al., 2003).

A utilização de sistemas poliméricos acrílicos derivados do grupo ácido aminosalísico também melhora as propriedades mecânicas do CFC, além de atuar com suas conhecidas propriedades antiinflamatória e analgésica. Porém, ela retarda a reação de hidrólise do  $\alpha$ -TCP (Ginebra, et al., 2001).

A utilização de bifosfonatos utilizados no tratamento de patologias relacionadas com a perda óssea também tem sido observada, como no caso do alendronato dissódico e do pamidronato dissódico (Panzavolta, et al., 2009). Sua adição provoca um aumento do tempo de pega inicial e final e diminuiu a resistência mecânica do material, porém esses aditivos promoveram proliferação e diferenciação das células osteoblásticas.

Vários outros aditivos tem sido testados, tais como: promotores de coesão (Khairoun, et al., 1999), compósitos com matrizes poliméricas (Xu, et al., 2002), vários outros aditivos isoladamente ou em combinação (Bohner, et al., 2000; Ginebra, et al., 1995) e o ácido tânico.

#### **2.9.4 Ácido Tânico**

São poucos os trabalhos na literatura que exploram a utilização do ácido tânico como aditivo na fase líquida dos CFCs (Yoshikawa, et al., 1998; Yoshikawa, et al., 2000). Porém, nos trabalhos apresentados, ele tem revelado um desempenho satisfatório.

Em ambos os trabalhos, o objetivo para aplicação era como cimento endodôntico ou para aplicação em defeitos de ossos alveolares. Como cimento endodôntico (Yoshikawa, et al., 1998), a fase sólida era composta de uma mistura de 70% em massa de  $\alpha$ -TCP e 30% de óxido de titânio, utilizado a fim de controlar o tempo de pega e o endurecimento da pasta. Já a fase líquida era composta de 37% em massa de ácido cítrico e 5% de ácido tânico. O cimento mostrou ótimos

resultados de citotoxicidade *in vitro* e histocompatibilidade *in vivo*, além de apresentar tempos de pega satisfatórios para sua aplicação como cimento.

Para reparação de osso alveolar foram testados dois tipos de cimentos já comercializados, uma composição com apenas  $\alpha$ -fosfato tricálcico e outra com uma mistura de fosfato dicálcico dihidratado com fosfato tetracálcico (Yoshikawa, et al., 2000). A fase líquida é a mesma utilizada no outro trabalho. Os estudos biológicos comprovaram que a composição contendo apenas  $\alpha$ -TCP foi a que apresentou os melhores resultados.

Apesar de todos os estudos apresentados, a cinética da reação e as propriedades mecânicas do cimento com ácido tânico não foram avaliadas. Apenas estudos biológicos e de tempo de pega.

## **2.10 Caracterização de Fosfatos de Cálcio**

Alguns dos métodos físicos mais utilizados no estudo de fosfatos de cálcio minerais, biológicos ou sintéticos podem ser vistos na Tabela 2.8.

Tabela 2.8: Métodos Analíticos e suas Informações na Caracterização de Fosfatos de Cálcio (LeGeros, 1991).

<b>Técnica de Caracterização</b>	<b>Informação</b>
<b>Difração de Raios-X (DRX)</b>	Identificação
	Pureza
	Presença de mistura de fases
	Cristalinidade (tamanho do cristalito)
	Parâmetros de rede
<b>Espectroscopia de Infravermelho (IR)</b>	Presença de grupos funcionais
	Determinação de $\text{CO}_3^{2-}$
	Pureza
<b>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</b>	Cristalinidade (grau de perfeição)
	Morfologia do cristal (forma e tamanho)
<b>Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)</b>	Propriedades ultraestruturais
	Defeitos de rede
<b>Microsonda por Energia Dispersiva (EDS)</b>	Morfologia, orientação e tamanho de cristalito
	Distribuição qualitativa dos elementos
<b>Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</b>	Frações molares de Ca/P e Ca/Mg
	Ligações de Hidrogênio
<b>Termogravimetria (TGA)</b>	Efeitos do Flúor
	Estabilidade térmica dos componentes
<b>Microscopia de Luz Polarizada</b>	Grau de mineralização
	Porosidade
<b>Calorimetria</b>	Zonas em uma cárie
	Determinação da quantidade de fosfatos
<b>Absorção atômica</b>	Análises elementares de cátions

A Difração de Raios-X é um dos métodos mais utilizados na caracterização de fosfatos de cálcio. É um método prático e muito conveniente para análises preliminares, bem como para análises mais minuciosas. Essa técnica permite a identificação do fosfato de cálcio, através da leitura dos picos de difração. Cada fosfato de cálcio tem um espectômetro específico, permitindo sua caracterização. Além disso, é possível verificar a pureza do material ou a presença de mistura de fases, bem como sua cristalinidade e o tamanho de cristalito (LeGeros, 1991).

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é útil, pois demonstra a morfologia do cristal, em forma e tamanho (LeGeros, 1991). Esta técnica possibilita visualizar como os cristais estão interligados e como ocorreu seu crescimento, através da análise da superfície de fratura, ou a deposição de material na superfície do fosfato de cálcio.

Além das técnicas citadas por LeGeros, existem outras técnicas usuais para a caracterização de fosfatos de cálcio, como se pode ver na Tabela 2.9.

**Tabela 2.9: Técnicas de Caracterização Complementares de Fosfatos de Cálcio**

<b>Técnica de Caracterização</b>	<b>Informação</b>
<b>Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL)</b>	Distribuição do tamanho de partículas
<b>Fluorescência de Raios-X (FRX)</b>	Análise Elementar
<b>Método BET</b>	Área Superficial
<b>Compressão Axial</b>	Resistência mecânica à compressão axial
<b>Compressão Radial</b>	Resistência mecânica à compressão radial
<b>Medição de pH</b>	pH

O espalhamento dinâmico de luz (EDL) é uma técnica que permite analisar a distribuição do tamanho de partículas dos pós reagentes, que é uma das propriedades que influencia diretamente nas propriedades finais do cimento. O tamanho de partícula influencia diretamente na relação líquido-pó e na resistência mecânica dos cimentos.

O método BET (Brunauer, Emmett and Teller, 1938) é uma técnica que permite determinar a área superficial dos fosfatos de cálcio através da adsorção física de gases. O método BET, juntamente com o EDL, ainda pode dar informações como a reatividade do cimento.

A fluorescência de raios-X é uma técnica de análise elementar não destrutiva. Através dela é possível analisar as proporções dos elementos majoritários, ou mesmo a presença de elementos minoritários e suas quantidades.

A resistência mecânica à compressão, tanto axial, quanto radial são propriedades importantes dos CFCs, que inclusive limitam seu uso. Essa caracterização é feita em equipamento específico, com controle de carga e velocidade de avanço. A propriedade de interesse é o limite de resistência mecânica à compressão.

Finalmente, medições de pH são úteis, principalmente durante a dissolução do  $\alpha$ -TCP, onde as alterações de pH podem influenciar diretamente na biocompatibilidade do material. pH muito ácido ou muito básico pode tornar o material citotóxico.

Porém, existem técnicas específicas para se avaliar a biocompatibilidade de um material, como a citotoxicidade *in vitro*, método que analisa a viabilidade celular através do número de células que permaneceram vivas após a caracterização.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho baseou-se no desenvolvimento das seguintes etapas e atividades:

- Pó de  $\alpha$ -TCP: caracterizado por FRX, DRX, EDL e MEV;
- Escolha dos aditivos: revisão da literatura;
- Preparação dos cimentos: determinação da relação líquido/pó ideal;
- Cinética da reação de cura: avaliada através de DRX e MEV;
- Evolução do pH: medidas de pH;
- Propriedades Mecânicas: testes de compressão axial;
- Citotoxicidade: avaliada através da coloração do meio extrator, medidas de pH e quantificação da viabilidade celular, pelo método *in vitro*.

Estas etapas podem ser observadas através do organograma na Figura 3.1.

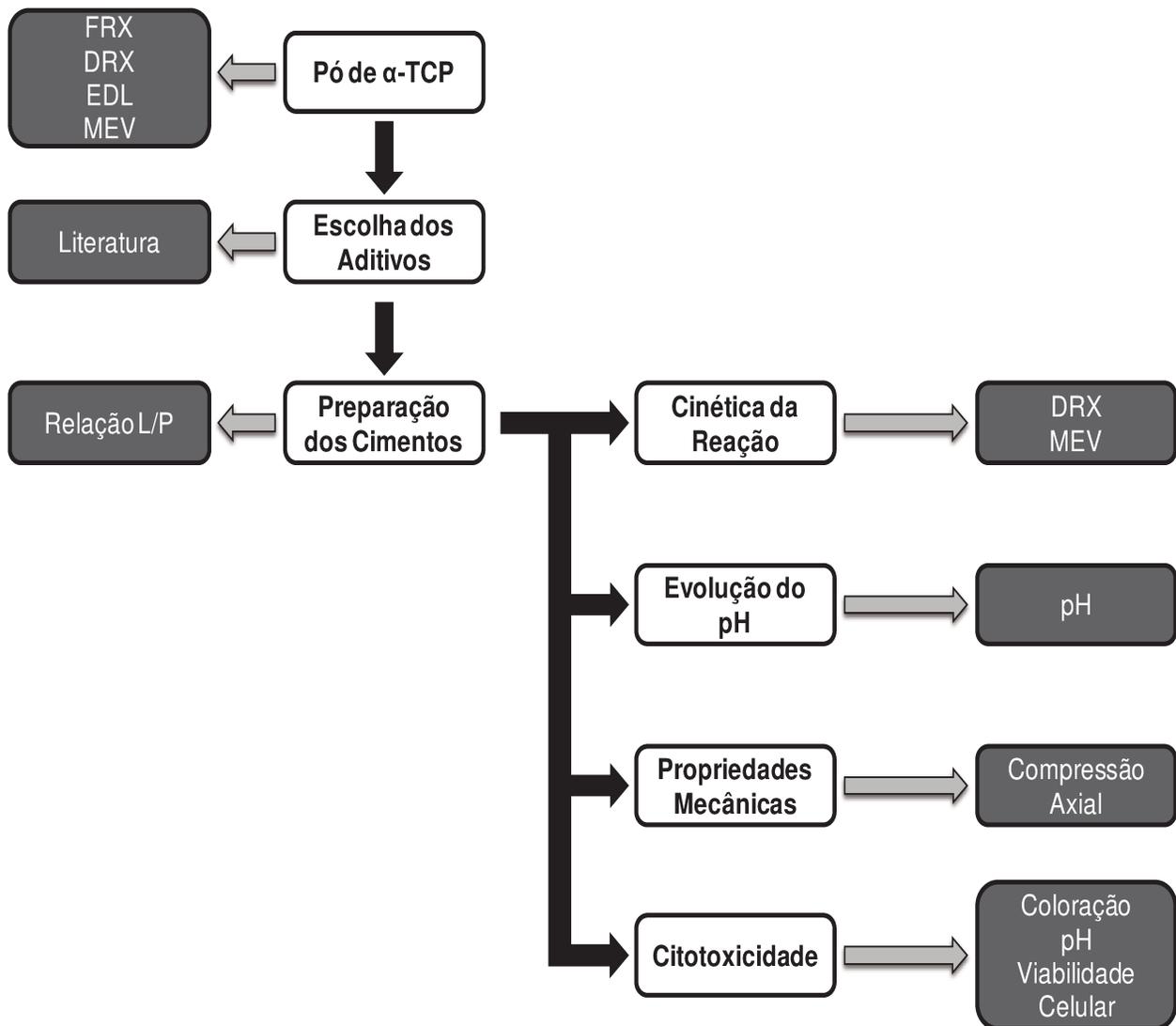
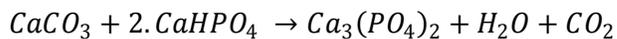


Figura 3.1: Organograma das Atividades Desenvolvidas durante o Projeto.

### 3.1 Pré-Trabalho

Os reagentes utilizados para a obtenção do  $\alpha$ -TCP, tanto a Monetita (Hidrogenofosfato de Cálcio,  $\text{CaHPO}_4$ , Apêndice A) quanto o Carbonato de Cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), foram sintetizados em laboratório com o objetivo principal de se obter reagentes livres de magnésio, elemento que estabiliza a fase de  $\beta$ -TCP, impossibilitando a obtenção de um  $\alpha$ -TCP de pureza elevada.

O  $\alpha$ -TCP foi obtido através de reação no estado sólido dos reagentes. Os reagentes foram misturados em proporções específicas, de acordo com a Equação 3.1. Sendo então aquecidos até 1300°C numa taxa de 5°C por minuto e mantidos nesta temperatura num período de seis horas. Ao final do aquecimento, foram resfriados gradativamente até a temperatura ambiente ainda dentro do forno de sinterização.



**Equação 3.1**

Posteriormente, o pó de  $\alpha$ -TCP obtido foi moído em moinho de bolas a seco durante dois dias, a fim de se chegar a uma distribuição granulométrica apropriada.

As etapas até aqui descritas não foram efetuadas pelo autor deste trabalho. A parte prática desenvolvida pelo autor inicia-se na Seção 3.2.

## **3.2 Caracterização do Pó de $\alpha$ -TCP**

O pó de  $\alpha$ -TCP foi caracterizado pelas seguintes técnicas: espalhamento dinâmico de luz (EDL), fluorescência de raios-X (FRX), difração de raios-X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

### **3.2.1 Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL)**

O espalhamento dinâmico de luz permite avaliar a distribuição granulométrica do pó. Essa caracterização é importante porque o tamanho das partículas precursoras do cimento influencia diretamente na relação líquido/pó e na resistência mecânica final do cimento.

### 3.2.2 Fluorescência de Raios-X (FRX)

A fluorescência de raios-X foi utilizada para determinar a presença de elementos traços, principalmente do magnésio, e de elementos possivelmente tóxicos no pó de  $\alpha$ -TCP.

### 3.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite avaliar a morfologia e a homogeneidade do pó precursor através da análise de imagens aumentadas do pó.

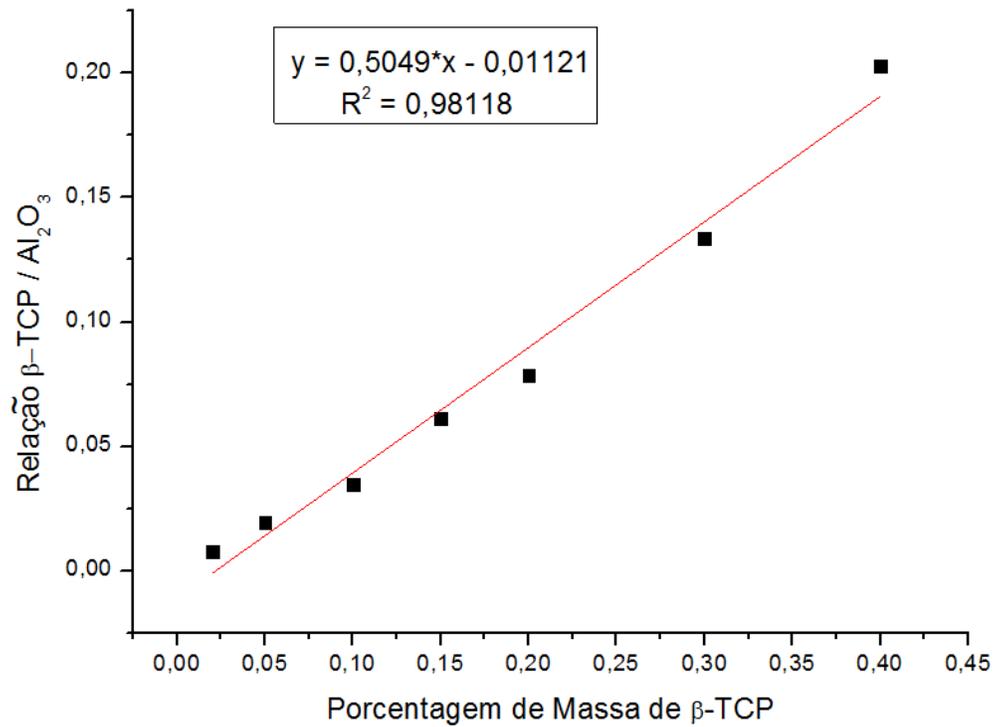
### 3.2.4 Difração de Raios-X (DRX)

A difração de raios-X (DRX) foi utilizada tanto na forma qualitativa como na forma quantitativa.

No método qualitativo, foi feita uma análise comparativa entre o difratograma obtido para o pó de  $\alpha$ -TCP e os padrões JCPDS (*Joint Committee on Powder Diffraction Standards*) do  $\alpha$ -TCP (09-0348), do  $\beta$ -TCP (09-0169) e da CDHA, com mesmo padrão da HA, (09-0432). A fim de se verificar a pureza do  $\alpha$ -TCP obtido, bem como nenhuma transformação prematura do pó em CDHA antes da preparação do cimento.

No método quantitativo, foi utilizado o método do padrão interno, com a utilização de alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) para quantificação da porcentagem de  $\beta$ -TCP presente como impureza. Foram preparadas amostras com quantidades conhecidas de alumina e  $\beta$ -TCP, através da mistura dos pós em almofariz de ágata. Para cada uma das amostras preparada, foram feitas medidas de difração em picos característicos de  $\beta$ -TCP e CDHA, evitando interferência entre si e com o  $\alpha$ -TCP. Para cada uma das difrações, foi feita uma aproximação pelo método de Lorentz e calculada a área de cada um desses picos. Com a relação entre as áreas, através de uma aproximação linear, foi

levantada a reta de calibração em função da fração mássica de  $\beta$ -TCP em cada uma das amostras (Figura 3.2).



**Figura 3.2: Reta de Calibração para a DRX Quantitativa.**

Após o ajuste da reta, foi preparada uma amostra com quantidades conhecidas de alumina e do pó de  $\alpha$ -TCP, sendo então medidos os mesmos picos utilizados no levantamento da reta. Com a relação entre a área dos mesmos, calculou-se a quantidade de  $\beta$ -TCP presente como impureza no pó de  $\alpha$ -TCP.

### 3.3 Obtenção dos Cimentos de $\alpha$ -Fosfato Tricálcico

#### 3.3.1 Escolha dos Aditivos

Os aditivos utilizados neste trabalho foram escolhidos através de uma análise dos aditivos já empregados na literatura. Decidiu-se pela utilização do Hidrogeno Fosfato de Sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), do Ácido Cítrico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ) e do Ácido Tânico (fórmula empírica  $\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$ ).

O  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e o ácido cítrico foram escolhidos por serem aditivos com características específicas que otimizam as propriedades dos CFCs, como a aceleração da reação de pega e o aumento da resistência mecânica, respectivamente. Foram utilizados a fim de provocar estas mesmas melhorias no  $\alpha$ -TCP obtido com reagentes produzidos no laboratório. Já o ácido tânico foi escolhido devido aos bons resultados de biocompatibilidade expressos na literatura, mas com o objetivo principal de verificar seus efeitos durante a reação de pega.

As soluções preparadas com as suas respectivas concentrações encontram-se na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Soluções Utilizadas e seus Respectivos Cimentos.

Solução	Aditivos (% de massa)	Cimento
S1	-	CS1
S2	2,5% $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ + 1,5% $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	CS2
S3	2,5% $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ + 5% $\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$	CS3
S4	2,5% $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ + 1,5% $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ + 5% $\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$	CS4

Foi utilizada uma solução sem aditivos (água deionizada, S1) a fim de se verificar os efeitos de cada combinação de aditivos nas propriedades do cimento, servindo como base para comparação. Além disso, o cimento sem aditivos é utilizado por alguns autores na literatura. As concentrações utilizadas de cada aditivo foram escolhidas de acordo com as quantidades mais utilizadas na literatura.

Os lotes e as marcas de cada aditivo podem ser vistos na Tabela 3.2.

**Tabela 3.2: Lotes e Marcas dos Aditivos Utilizados.**

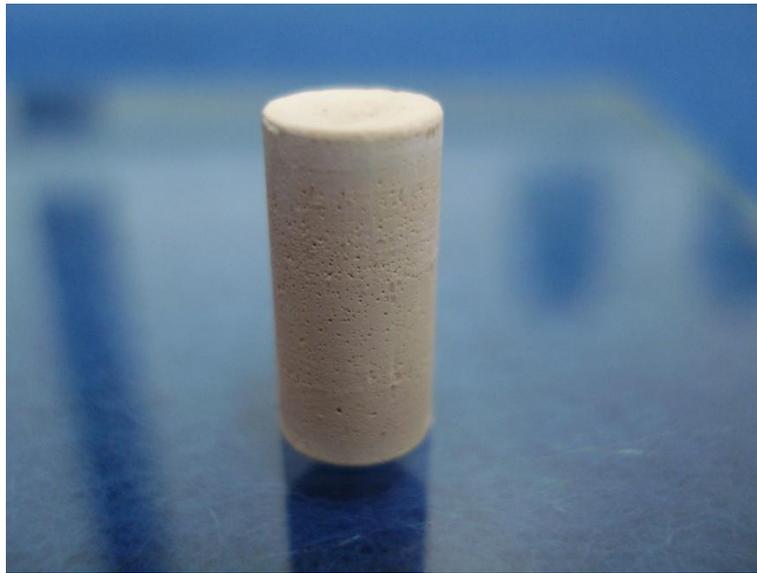
<b>Aditivo</b>	<b>Marca</b>	<b>Lote</b>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	Synth	117366
$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	Synth	101707
$\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$	Synth	93992

### 3.3.2 Preparação dos Cimentos

O principal desafio na preparação dos cimentos foi a determinação de uma relação líquido/pó que não comprometesse o comportamento de nenhum dos quatro cimentos. Os aditivos podem atuar reduzindo a quantidade de líquido necessária para a obtenção de uma pasta com viscosidade ideal para sua utilização como cimento. Os parâmetros utilizados foram manuais e visuais, procurando-se obter quatro pastas coesas, porém não líquidas, possibilitando a moldagem dos corpos de prova.

A preparação do cimento se deu pela mistura das fases líquida e sólida durante um minuto. Após esse período, as pastas foram moldadas em moldes vazados de Teflon<sup>®</sup> com o auxílio de uma espátula. Passados 15 minutos (tempo necessário para que as pastas tivessem coesão suficiente para não se dissolverem quando imersas num líquido), os moldes foram imersos em solução de Ringer a 37°C. Como o objetivo do estudo é observar a taxa de conversão de  $\alpha$ -TCP em CDHA e não a precipitação de hidroxiapatita, optou-se pelo uso da solução de Ringer, que é obtida facilmente através da imersão de uma pastilha em 500 mL de água.

Os moldes foram mantidos na horizontal durante todo o tempo de imersão em solução de Ringer, possibilitando que as duas faces dos corpos de prova estivessem em contato com a solução, permitindo um avanço simultâneo da reação pelas duas extremidades dos corpos de prova. Os corpos de prova obtidos foram cilindros de 6mm de diâmetro por 12mm de altura (Figura 3.3).



**Figura 3.3: Exemplo de Corpo de Prova.**

A solução de Ringer utilizada foi devidamente esterilizada em autoclave. As pastilhas utilizadas para a obtenção da solução de Ringer são da marca Oxoid, lote 15757201. A composição da solução de Ringer pode ser vista na .

**Tabela 3.3: Composição da solução de Ringer.**

<b>Composto</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
<b>NaCl</b>	2,25
<b>KCl</b>	0,105
<b>CaCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	0,12
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	0,05

### **3.4 Cinética da Reação de Cura**

Para o estudo da cinética da reação, os cimentos foram analisados em diversos tempos durante a reação. Os tempos utilizados foram: 4h, 8h, 16h, 24h, 72h, 120h e 168h. Depois desses respectivos períodos de imersão em solução de Ringer, os corpos de prova foram desmoldados e imersos em acetona durante duas horas a fim de pausar a reação de cura. O cimento de  $\alpha$ -TCP é insolúvel em acetona, pois a mesma penetra no corpo de prova, retirando a solução de dentro do mesmo e permitindo a secagem posterior com eficiência. Passadas às duas horas, os corpos de prova foram retirados da acetona e colocados na estufa a 100°C num período de 24h a fim de se retirar toda a umidade possivelmente remanescente nos corpos de prova. Foram posteriormente armazenados em dessecador até as respectivas análises de DRX e MEV.

#### **3.4.1 Difração de Raios-X (DRX)**

A difração de raios-X foi a principal técnica utilizada na cinética da reação. Através dos difratogramas obtidos, avaliou-se qualitativamente a dissolução do  $\alpha$ -TCP e a formação da CDHA, através da comparação com seus respectivos padrões JCPDS. Foi observada a diminuição gradativa dos picos de  $\alpha$ -TCP e o aparecimento e aumento dos picos de CDHA. Além disso, fez-se também uma análise qualitativa das diferentes cristalinidades obtidas pelas quatro composições diferentes dos cimentos.

#### **3.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Foram feitas imagens através do MEV da superfície de fratura (após o ensaio mecânico de compressão axial), a fim de se averiguar a morfologia, distribuição, quantidade e tamanho das placas de CDHA formadas.

### 3.5 Evolução do pH

Para a análise do pH, 2g de pó de  $\alpha$ -TCP foram imersos em 10mL de cada uma das quatro soluções (S1, S2, S3 e S4) e armazenados em estufa a 37°C, sendo agitados periodicamente. As variações no pH foram medidas em intervalos de 12h durante os sete dias de reação. Entretanto, como se sabe que as variações mais bruscas no pH dos CFCs se dão nos instantes iniciais, nas primeiras horas de reação o espaçamento entre as medições de pH foi mais curto, chegando a ser de 15 minutos na primeira hora de reação. Além disso, foi medido o pH das quatro soluções utilizadas.

Este método para avaliar a evolução do pH é um método que simula a evolução do pH dentro do corpo humano, entretanto, em uma condição mais acelerada que a habitual, pois em vez de se utilizar o corpo de prova para as medidas, utiliza-se o material na forma de pó. Isso acontece devido à impossibilidade de se medir o pH com os corpos de prova, pois o pHmetro faz medidas em meios líquidos e não em sólidos. Foi utilizada uma relação líquido/pó muito maior do que a comumente empregada na preparação do cimento, a fim de se evitar o endurecimento do corpo de prova, o que impossibilitaria a medição do pH durante a reação de cura.

No corpo humano, primeiro tem-se uma alteração provocada pela alteração do pH superficial, porém, como existem poros no material e o pó de  $\alpha$ -TCP tem uma boa molhabilidade, o líquido penetra continuamente nos poros e através do pó, até que seja atingida uma condição de equilíbrio e a mudança de pH aconteça de uma forma geral devido a todo o material, e não apenas superficial. Enquanto que no teste de evolução do pH, admite-se uma condição de equilíbrio desde o início do teste, não levando em consideração o período inicial da reação onde tem-se, na realidade, o pH superficial.

Logo, a condição adotada simula a transformação de  $\alpha$ -TCP em CDHA, porém de maneira mais acelerada, uma vez que a quantidade de água e a área superficial de pó disponível estão presentes em quantidades maiores. Porém, durante a cura *in vivo*, a quantidade de fluido presente é também maior que a empregada no preparo da amostra.

### **3.6 Propriedades Mecânicas**

A propriedade mecânica analisada foi o limite de resistência mecânica à compressão axial. Foram utilizados cinco corpos de prova nos respectivos tempos, que foram submetidos à compressão axial até a sua fratura. As propriedades analisadas foram a média do limite de resistência mecânica à compressão axial e o erro das medidas (através do desvio-padrão).

#### **3.6.1 Análise Estatística**

Foram feitas análises estatísticas a fim de verificar se existe ou não diferença estatística na resistência mecânica entre os diferentes tempos de imersão para um mesmo cimento e entre os diferentes cimentos para um mesmo tempo de imersão. Foi utilizado o método ANOVA para a realização da análise estatística.

### **3.7 Métodos de Caracterização**

A DRX é uma técnica poderosa usada para avaliar a cristalinidade das fases presentes bem como avaliar propriedades estruturais. Essa técnica produz uma gama de picos, que cada material possui um padrão único. Para a Difração de Raios-X foi utilizado um equipamento da marca Rigaku, modelo DMAX 2200, com radiação  $\text{CuK}\alpha$ , filtro de Ni, 20kV, 20mA. Foi utilizado passo de  $0,02^\circ$  e tempo de integração de 2s (para as análises qualitativas) ou 5s (para as análises quantitativas).

Na FRX, as amostras são feitas de pós compactados, que serão irradiadas com raios-X numa atmosfera com vácuo. Os átomos são excitados e retornam um espectro individual. A intensidade de cada linha do espectro é proporcional à quantidade de cada elemento na amostra.

O equipamento utilizado para as medidas de Fluorescência de Raios-X é da marca Rigaku, modelo RIX-3100. Foram realizadas análises semi-qualitativas.

Para o limite de resistência mecânica à compressão axial, foi utilizada uma máquina universal de ensaios mecânicos, marca MTS, modelo TestStarII, com célula de carga de 10kN. A velocidade de avanço da base compressão foi de 1mm/min.

O MEV é uma técnica de caracterização que permite visualizar a superfície do material com aumentos de até 300.000 vezes. Para a análise através de imagens o equipamento utilizado foi um Microscópio Eletrônico de Varredura da marca JEOL, modelo JXA-840A. Os corpos de prova foram previamente metalizadas com ouro através do equipamento Sputter Coater, marca BAL-TEC, modelo SCD 050.

As medidas de evolução do pH foram realizadas com um pHmetro microprocessado da marca Micronal, modelo B474.

### 3.8 Citotoxicidade

O teste de citotoxicidade foi realizado segundo a Norma ISO (10993-5, 1992): *Biological evaluation of medical devices – Part5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods*. O teste seguiu as seguintes especificações:

- Foi verificada a citotoxicidade dos cilindros de cimento  $\alpha$ -fosfato tricálcico e medido o pH dos extratos após 48 horas de extração, com fita indicadora;
- Linhagem celular: células CHO – k1 (Chinese Ovary Hamster cells), provenientes da ATCC;
- Meio de cultura: meio RPMI 1640, fornecido pela Gibco, número no catálogo: 23400-013;
- Metodologia empregada: CellTiter96<sup>®</sup> AQueous Non – Radioactive Cell Proliferation Assay – Promega Corporation.

O teste de proliferação celular não radioativo é um método colorimétrico para determinação do número de células viáveis em testes proliferativos ou quimiossensitivos. O teste CellTiter96<sup>®</sup> AQueous é composto de soluções de um composto tetrazólico (3-(dimetiltiazol-2-il)-5-(3-

carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolium, sal inerte; MTS) e um reagente acoplador de elétrons (metasulfato de fenazida); PMS). O MTS é bioreduzido pelas células a produto formazan que é solúvel no meio de cultura tecidual. A absorbância do formazan a 490 nm pode ser medida diretamente de placas de 96 poços sem adição de outros processos. A conversão do MTS em formazan solúvel aquoso, é executada pela enzima desidrogenase encontrada em células metabolicamente ativas. A quantidade do produto de *formazan* como medida da quantidade de absorbância a 490 nm é diretamente proporcional ao número de células viáveis em cultura.

### **3.8.1 Preparação das Amostras**

As amostras foram embaladas e irradiadas a 25kGy para esterilização. Foi adicionado meio de cultura (RPMI-1640) sem soro na preparação dos extratos para uma concentração final de 1 cm<sup>2</sup>/mL. Após 48 horas a 37°C, o extrato de meio de cultura foi filtrado em filtro de acetato de celulose para seringa estéril, com poro 0,45µm (Corning), preparando-se diluições seriadas de 100% a 6,25% do extrato em meio RPMI estéril.

### **3.8.2 Análise Quantitativa**

O controle positivo utilizado foi uma solução fenol a 0,5%. O controle negativo foi o extrato de PEAD (polietileno de alta densidade). O controle positivo é um material que, quando testado de acordo com a norma ISO 10993-5, promove resposta citotóxica. O controle negativo é um material que, quando testado de acordo com a norma ISO 10993-5, não promove resposta citotóxica. A propriedade avaliada foi o Índice de Citotoxicidade 50% (IC<sub>50(%)</sub>), valor referente à concentração do extrato que mata 50% da população de células viáveis.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Caracterização do Pó de $\alpha$ -TCP

#### 4.1.1 Elementos Traços

A Tabela 4.1 apresenta o resultado da fluorescência de raios-X para os elementos minoritários presentes no pó de  $\alpha$ -TCP. São poucos os elementos minoritários presentes no pó de  $\alpha$ -TCP utilizado, e nenhum deles em quantidade superior a 850ppm. E, ainda assim, os elementos em maiores quantidades não são prejudiciais à biocompatibilidade e biofuncionalidade do material.

**Tabela 4.1: Fluorescência de Raios-X dos Elementos Minoritários no Pó de  $\alpha$ -TCP.**

<b>Elemento</b>	<b>% em massa</b>
Si	0,0850
Fe	0,0598
Sr	0,0094

#### 4.1.2 Pureza de Fase do $\alpha$ -TCP

A Figura 4.1 apresenta o difratograma de raios-X do  $\alpha$ -TCP. Nota-se que o pó utilizado é constituído basicamente de  $\alpha$ -TCP como fase principal, apresentando a presença de uma pequena quantidade de  $\beta$ -TCP como fase indesejada, como se pode observar através do pico de  $\beta$ -TCP

próximo a  $27,5^\circ$ . No entanto, não se verifica a presença de nenhuma outra interferência nos picos do difratograma de raios X (sobreposição de picos de  $\beta$ -TCP e de  $\alpha$ -TCP), indicando que a quantidade de  $\beta$ -TCP presente é relativamente baixa e não irá influenciar de maneira significativa na reação de cura do cimento. Uma grande quantidade de  $\beta$ -TCP como contaminante não é desejável, uma vez que este não participa da reação de cura (é praticamente insolúvel em água ou solução aquosa) e levando assim a menores valores para a resistência mecânica e a uma cinética da reação possivelmente mais lenta.

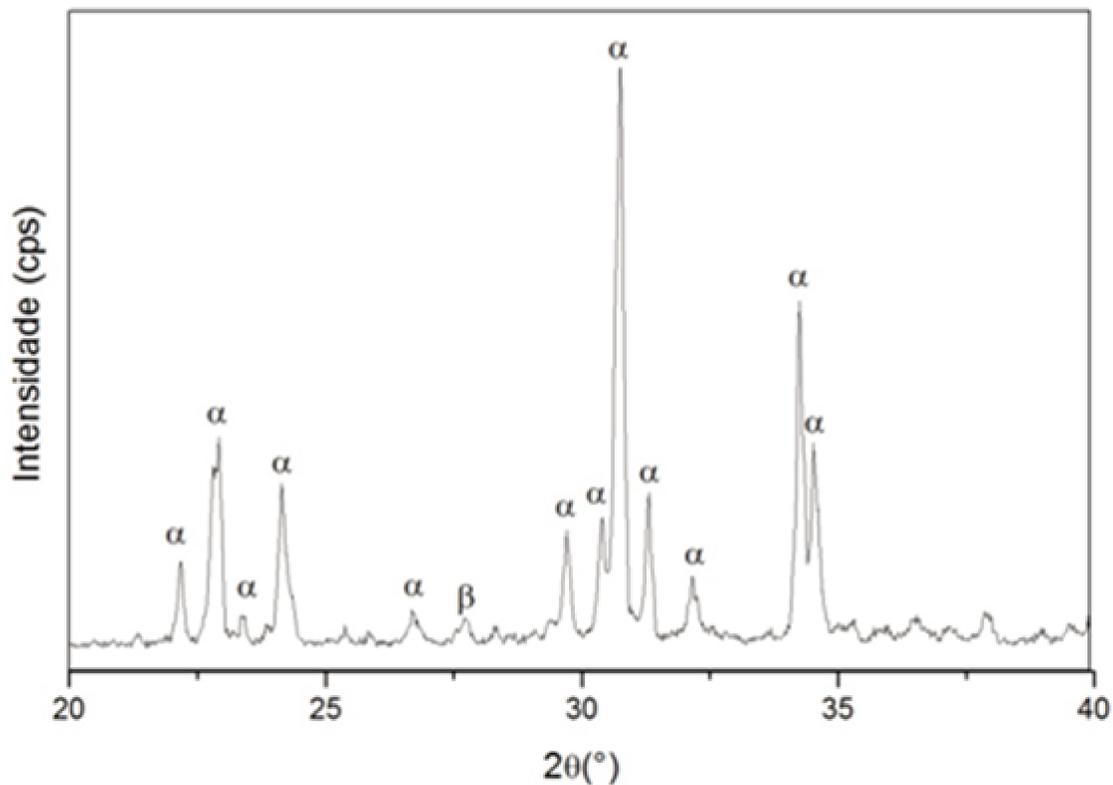


Figura 4.1: Difratograma de Raios-X do Pó de  $\alpha$ -TCP.

A análise da difração de raios-X quantitativa, porém, revelou uma quantidade de 11% de  $\beta$ -TCP como impureza no pó de  $\alpha$ -TCP, atendendo aos objetivos propostos e adequando-se ao trabalho.

### 4.1.3 Distribuição Granulométrica

Após dois dias de moagem a seco em moinho de bolas, a distribuição granulométrica obtida está mostrada na Figura 4.2. Os valores para tamanho médio e a faixa de distribuição podem ser observados na Tabela 4.2.

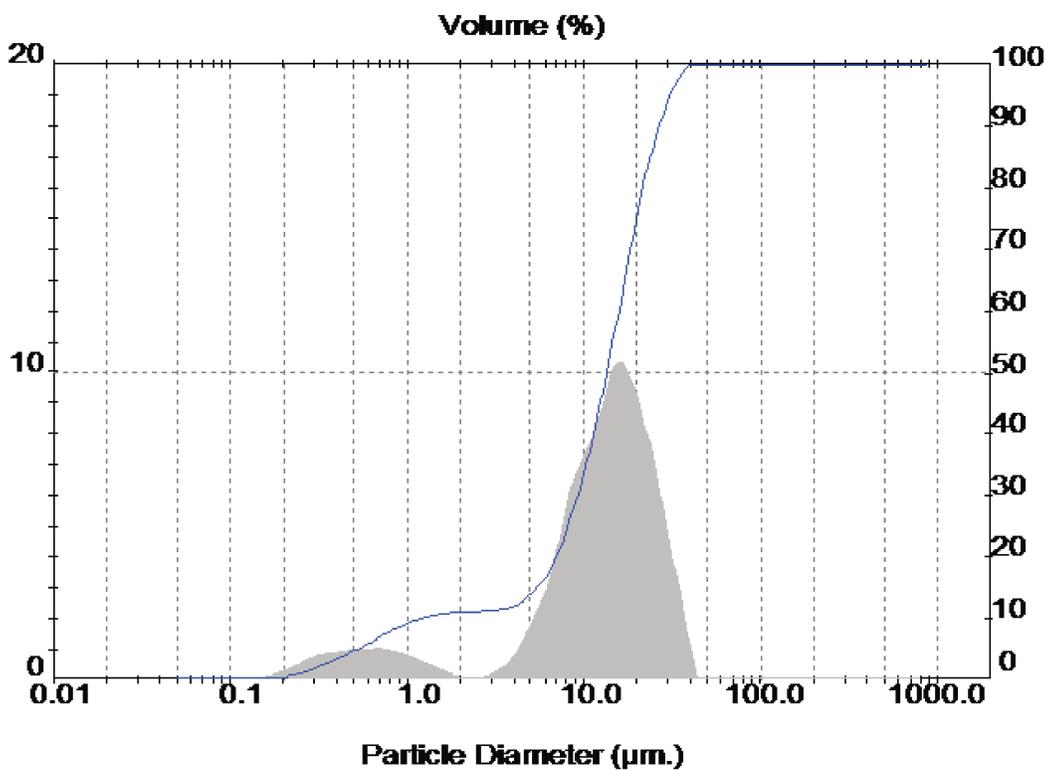


Figura 4.2: Distribuição Granulométrica do Pó de  $\alpha$ -TCP.

Tabela 4.2: Parâmetros de Tamanho de Partícula.

	D(10) $\mu\text{m}$	D(90) $\mu\text{m}$	Tamanho médio ( $\mu\text{m}$ )
$\alpha$ -TCP	1,19	26,41	14,25

Tanto o tamanho médio de partícula como a faixa de distribuição são maiores que os reportados em literatura (Ginebra, et al., 2004; Santos, 2002), o que pode influenciar diretamente na relação líquido/pó, na reatividade do cimento e na resistência mecânica através da alteração da área superficial. Pode-se observar uma distribuição bimodal do tamanho de partícula, com dois picos: um menor entre 0,2  $\mu\text{m}$  e 1,1  $\mu\text{m}$  (apenas cerca de 10% do total da amostra) e outro maior entre 1,2  $\mu\text{m}$  e 10,3  $\mu\text{m}$  aproximadamente. Na literatura, a distribuição geralmente é bimodal, porém o primeiro pico é mais expressivo que o segundo.

#### **4.1.4 Morfologia do Pó de $\alpha$ -TCP**

Na Figura 4.3, através da microscopia eletrônica de varredura, pode-se observar o formato das partículas do pó utilizado. As partículas não foram dispersas, a análise foi feita com o pó da forma que o mesmo será utilizado para a preparação do cimento.

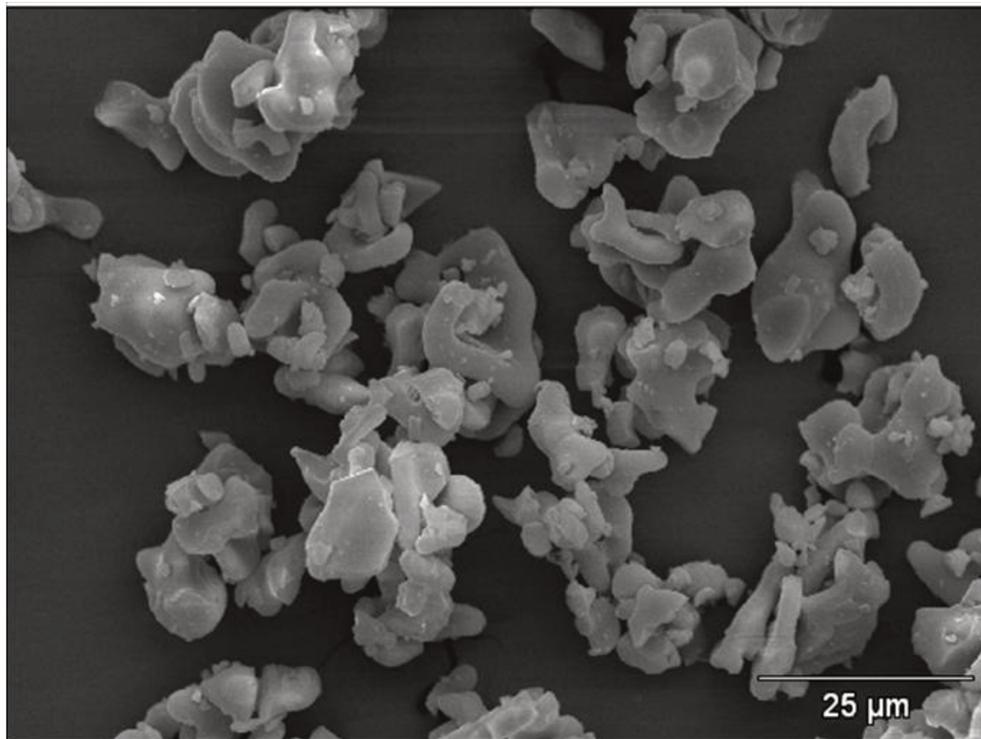


Figura 4.3: MEV do Pó de  $\alpha$ -TCP.

Observa-se que o formato das partículas não é homogêneo, como seria o ideal. Pode-se visualizar desde partículas com formato mais arredondado até partículas mais pontiagudas. Isso implica na coexistência de partículas com volumes próximos, porém com diferentes áreas superficiais, levando a uma distribuição ampla da área superficial, fator determinante na cinética da reação de cura dos cimentos. Nota-se também a aglomeração das partículas.

## 4.2 Preparação dos Cimentos

Como se trabalhou com quatro tipos de solução para a obtenção dos cimentos, foi necessário determinar uma relação líquido/pó que não comprometesse a pega de nenhum dos quatro cimentos. Sabe-se que o ácido cítrico atua como agente redutor da quantidade de líquido, logo para trabalhar com o cimento sem aditivos (CS1) seria necessária uma quantidade maior de

líquido, quando comparado com as soluções que apresentavam ácido cítrico na sua composição. Além do mais, a distribuição granulométrica maior que a encontrada em literatura, também pode influenciar no aumento dessa relação. A relação considerada ideal foi de 0,38 mL/g, dentro dos valores encontrados na literatura.

Valores menores que 0,38mL/g não possibilitavam o manuseio adequado do CS1, que ficava com uma consistência não pastosa. Valores maiores deixavam os outros cimentos, principalmente o CS2, com uma consistência muito líquida, o que inviabiliza também seu manuseio.

### **4.3 Cinética da Reação de Hidrólise do $\alpha$ -TCP e Formação da CDHA**

#### **4.3.1 Hidrólise do $\alpha$ -TCP e Formação da CDHA**

A evolução da reação de hidrólise do alfa-fosfato tricálcico e transformação em hidroxiapatita deficiente em cálcio dos quatro tipos de cimento pode ser observada na Figura 4.4.

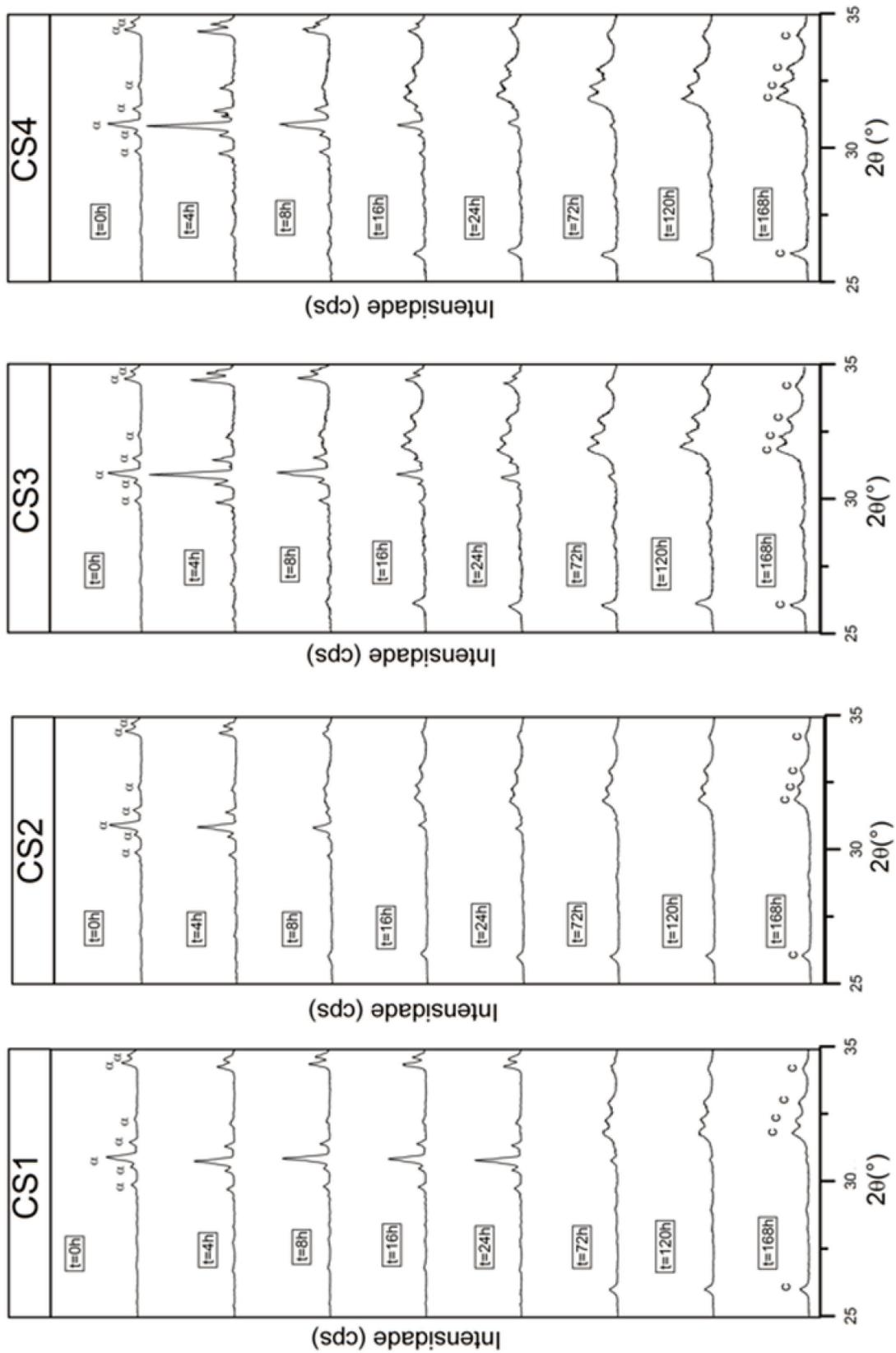


Figura 4.4: Evolução da Reação de Transformação do  $\alpha$ -TCP em CDHA nos quatro cimentos.

Uma primeira análise qualitativa da Figura 4.4 permite observar que os difratogramas de 4h a 24h do CS1 são semelhantes e praticamente idênticos ao difratograma do pó não reagido (0h) enquanto que nos difratogramas dos demais cimentos é possível observar alterações significativas nos picos do difratograma neste mesmo intervalo. Tal análise evidencia uma cinética da reação mais lenta. Praticamente não há dissolução do  $\alpha$ -TCP e formação de CDHA neste intervalo de tempo para o CS1, ou essas transformações acontecem em velocidades muito lentas. Logo, é possível concluir que todas as combinações de aditivos utilizadas agem como aceleradoras da reação.

Era esperado que todas as combinações de aditivos acelerassem a reação, pois todas elas tem  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  em sua composição, que age como acelerador da reação.

#### 4.3.2 Primeiras Instantes de Reação: 4h e 8h

Analisando as primeiras quatro horas de reação, percebe-se que o CS1 e o CS2 tem seus difratogramas praticamente inalterados depois de 4h de reação, enquanto que o CS3 e o CS4 tiveram um aumento considerável na intensidade de todos os seus picos, como pode-se observar na Figura 4.5. Através desta análise qualitativa, pode-se concluir que a interação do ácido tânico (juntamente com o  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) com o  $\alpha$ -TCP promove um aumento da cristalinidade desse material nas primeiras horas de reação. Esse comportamento jamais foi observado na literatura. O que normalmente se observa é uma diminuição gradual dos picos de  $\alpha$ -TCP e conseqüente surgimento dos picos característicos da CDHA.

Já após oito horas de reação (Figura 4.5), é perceptível uma diminuição dos picos de  $\alpha$ -TCP e o aparecimento dos picos de CDHA de forma mais discreta no CS3 e no CS4 e mais evidente no CS2, enquanto que no CS1 praticamente não se observa nenhuma alteração. Provavelmente os picos de CDHA são mais discretos nas amostras CS3 e CS4, porque durante as horas iniciais, mesmo que não perceptível através dos difratogramas de 4h, na amostra CS2 o  $\alpha$ -TCP começava a se dissolver numa velocidade maior. Enquanto que nas amostras CS3 e CS4 o  $\alpha$ -TCP tinha sua cristalinidade aumentada e se dissolvia numa velocidade menor.

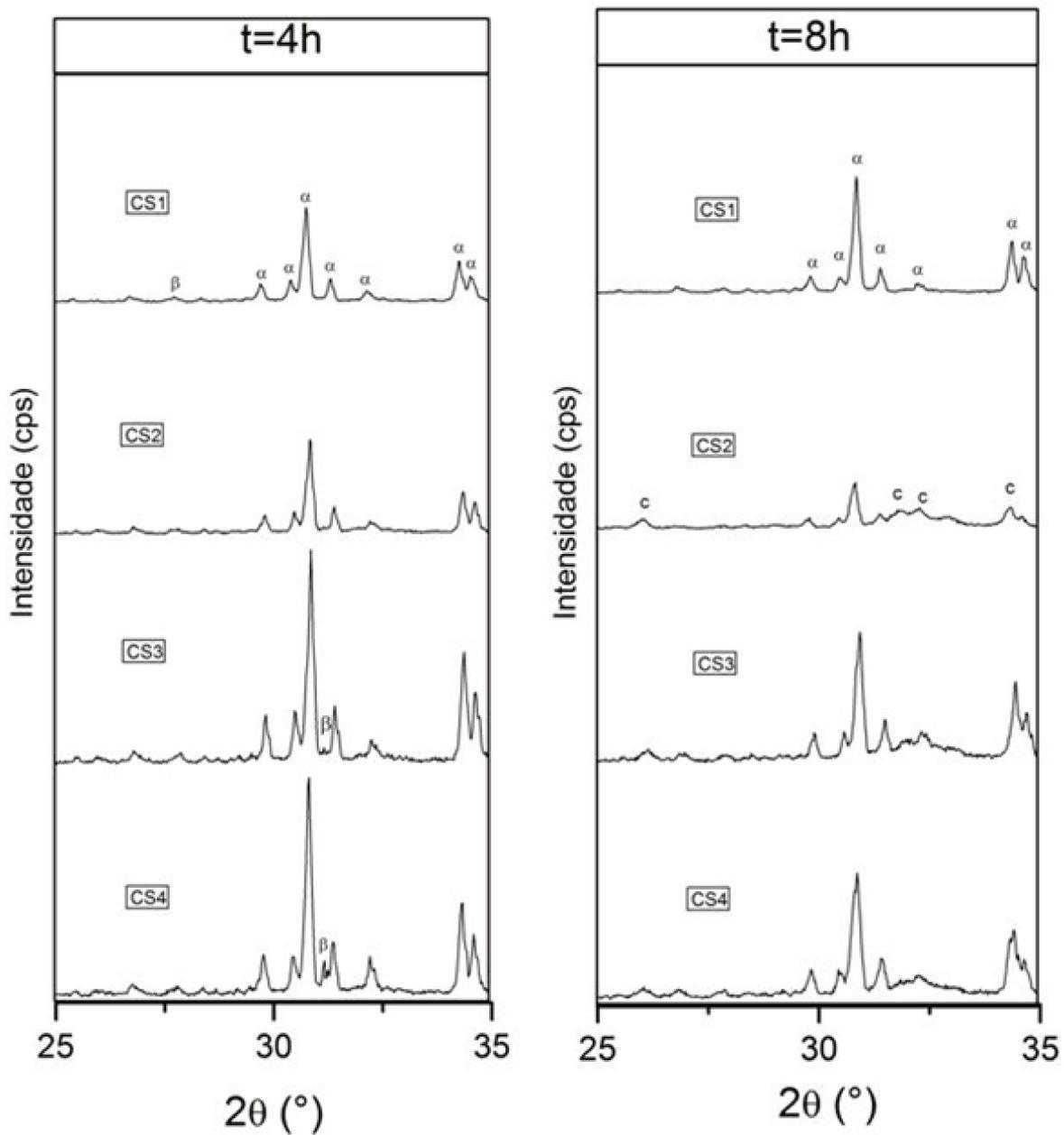


Figura 4.5: Difratomogramas de Raios-X dos Cimentos após 4h e 8h de reação.

Através da Figura 4.6, pode-se observar que a reação do CS2 é realmente mais acelerada nos primeiros instantes da reação, pois as placas de CDHA do mesmo são maiores que os demais cimentos. Inclusive, pode-se observar que as placas de CDHA encontram-se nos primeiros

estágios de sua formação no CS3 (Figura 4.7). O CS1 não teve resistência mecânica suficiente para suportar às 2 horas de imersão em acetona com o objetivo de parar a reação, devido a isto não foram feitas microscopias da superfície de fratura do CS1 para tempos inferiores ou igual a 24 horas.

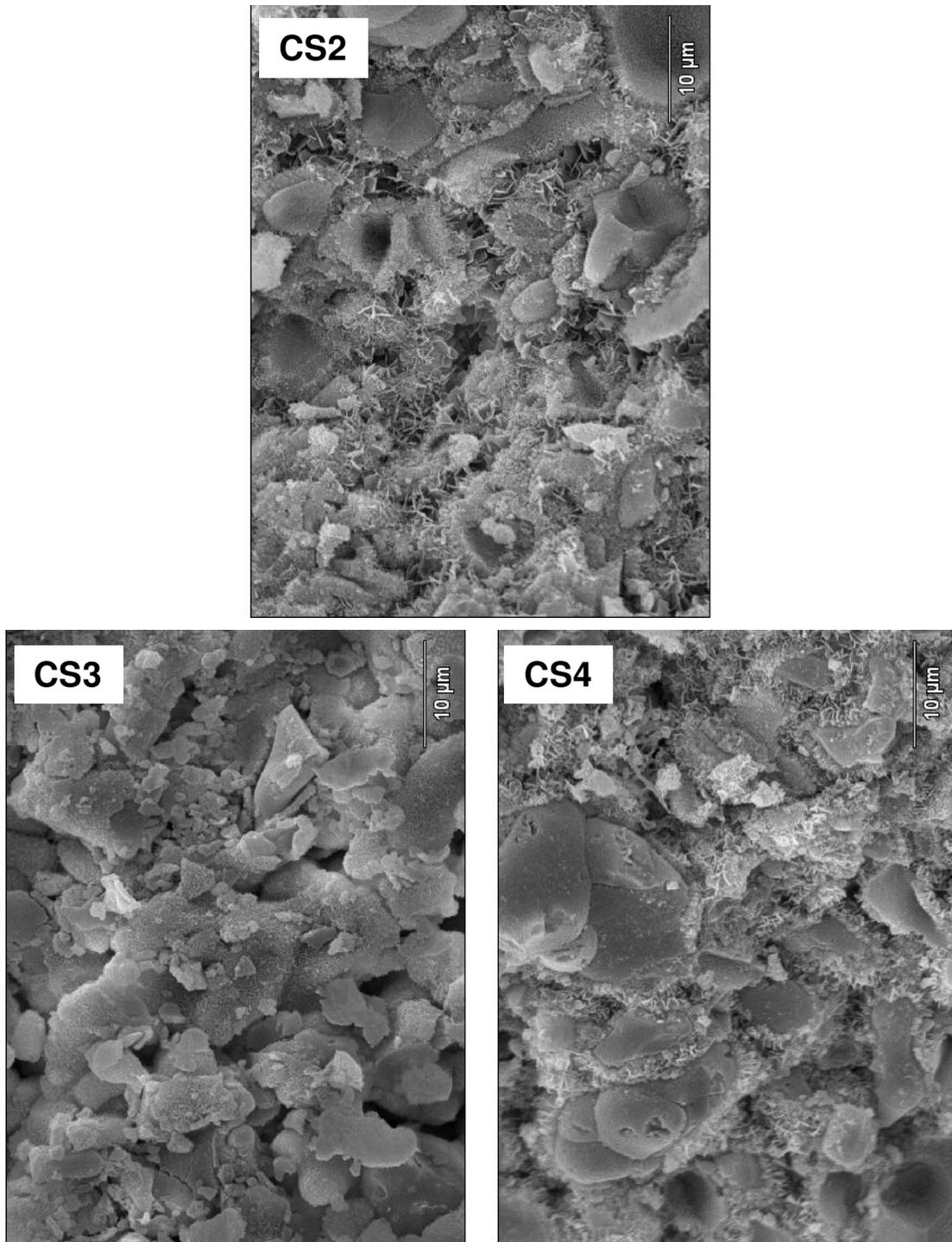


Figura 4.6: MEV da Superfície de Fratura após 8h de Reação: CS2, CS3 e CS4.

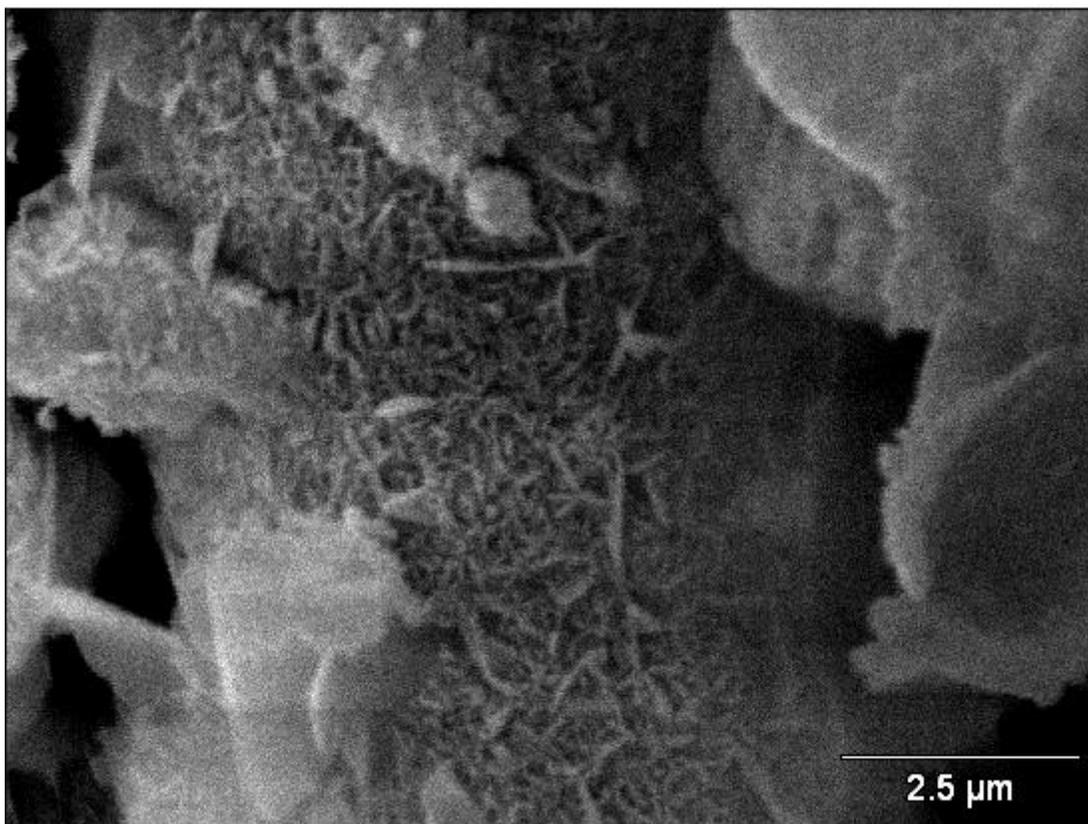


Figura 4.7: MEV da Superfície de Fratura após 8h de Reação: CS3.

#### 4.3.3 Instantes Intermediários da Reação: 16h e 24h

Após 16h e 24h de reação, o CS2 continua seu processo acentuado de dissolução do  $\alpha$ -TCP e formação da CDHA, observado pela menor intensidade dos picos de  $\alpha$ -TCP e maior intensidade dos picos de CDHA. Porém o CS3 e o CS4, diferentemente do estágio inicial em que estavam em um processo de dissolução mais lento, tem sua reação acelerada e uma nítida mudança de intensidade nos picos das fases presentes. Já o CS1 praticamente permanece sem sofrer alterações nos seus difratogramas, como pode-se observar na Figura 4.8.

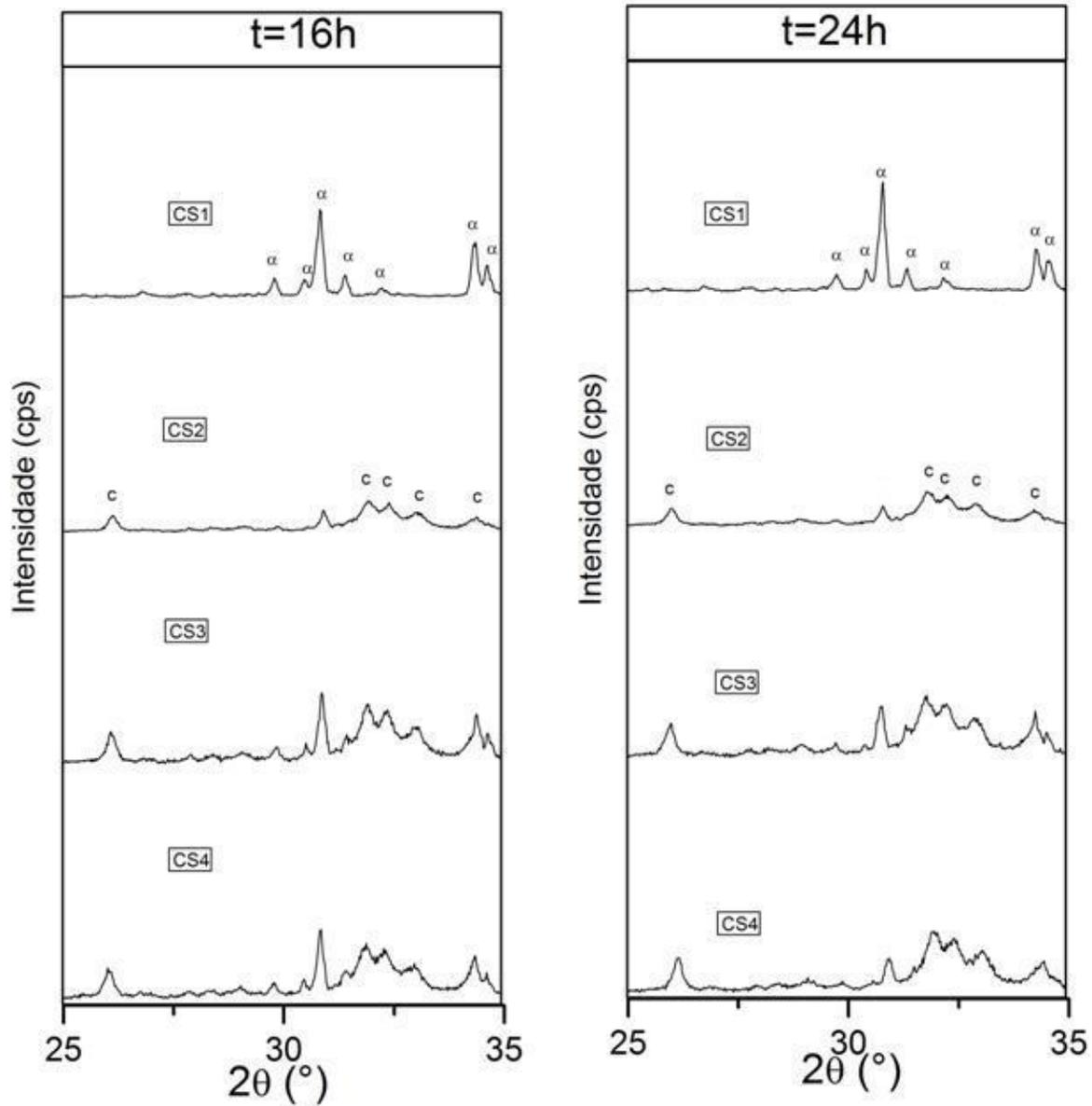
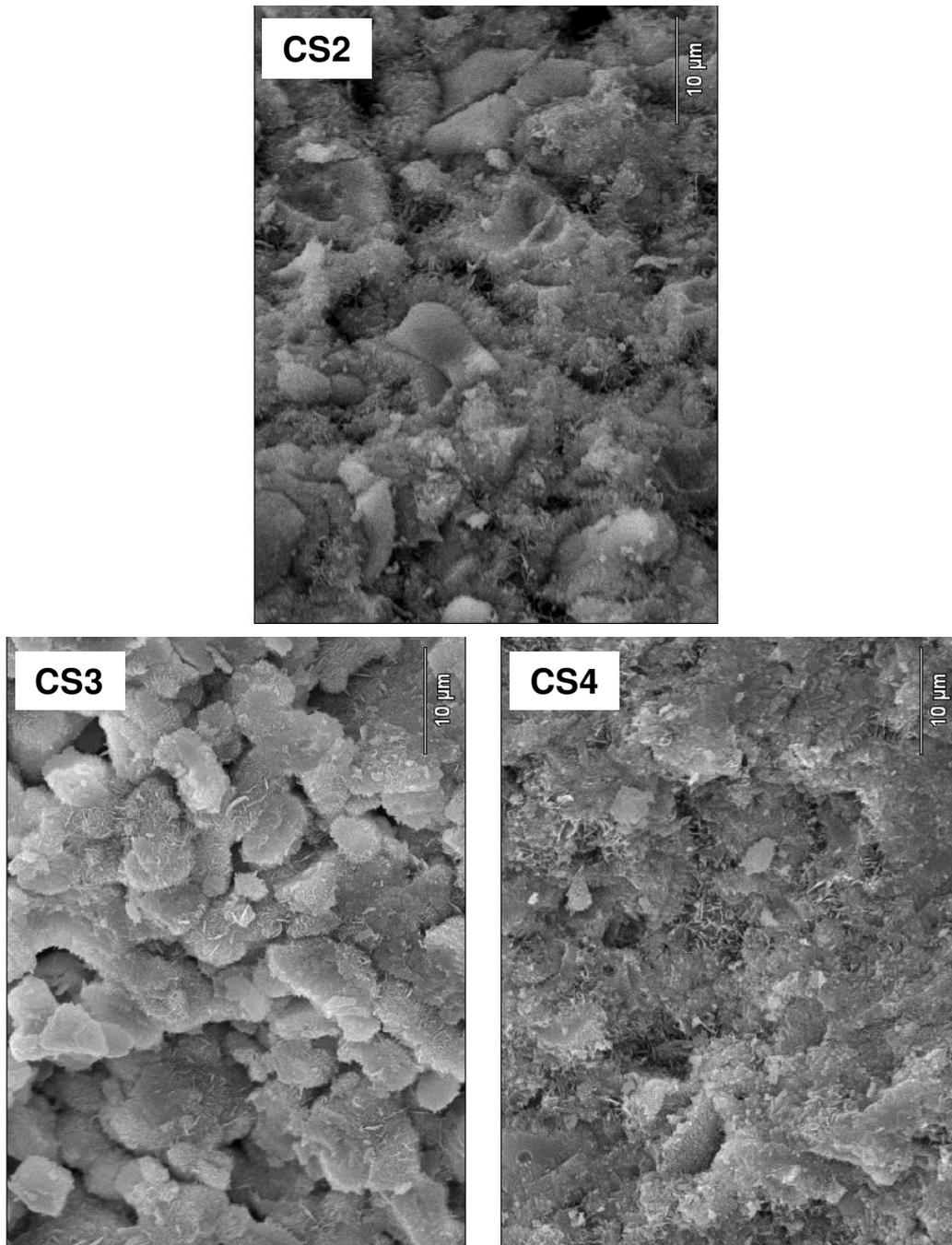


Figura 4.8: Difratoograma de Raios-X dos Cimentos após 16h e 24h de Reação.

Como esperado pelo resultado do difratograma de raios-X, as placas de CDHA aparecem distribuídas mais homogêneas após 24h de reação. Os três cimentos apresentam placas de CDHA formadas e bem definidas (Figura 4.9).



**Figura 4.9: MEV da Superfície de Fratura após 24h de Reação: CS2, CS3 e CS4.**

Pode-se observar também uma tendência de crescimento das placas de CDHA organizadamente sobre a superfície daquilo que era uma partícula de  $\alpha$ -TCP no CS3

(principalmente) e no CS2. Já no CS4 a distribuição e o crescimento das placas parece não ter uma direção tão definida, melhor observada com um aumento menor (Figura 4.10).

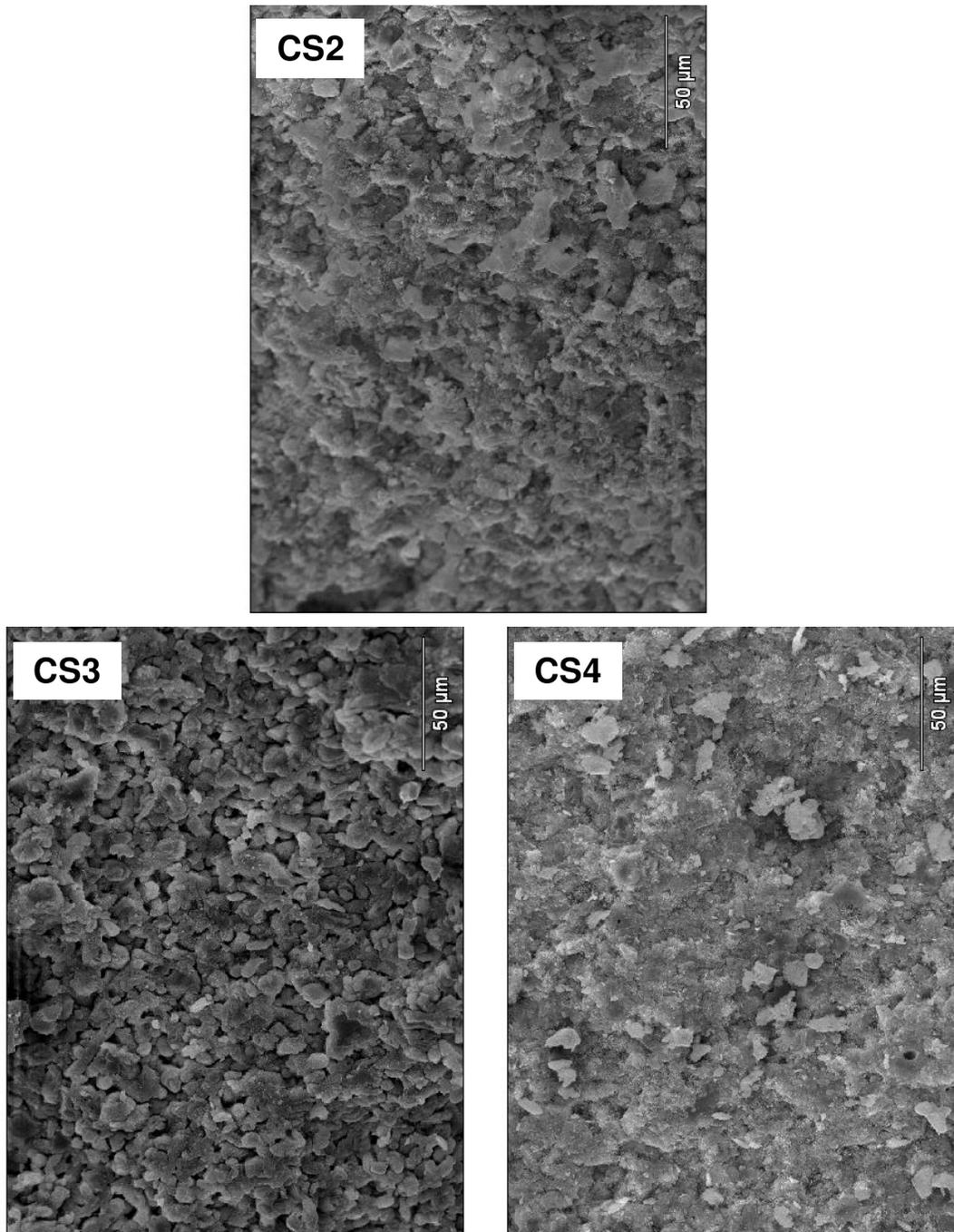


Figura 4.10: MEV da Superfície de Fratura após 24h: CS2, CS3 e CS4.

Uma das possibilidades do crescimento desordenado seria uma possível interação química entre os três aditivos (ácido tânico, ácido cítrico e hidrogeno-fosfato de sódio) ou mesmo devido a um possível efeito competitivo entre eles.

#### **4.3.4 Instantes Finais da Reação: 72h e 168h**

Na Figura 4.11, pode-se observar o difratograma de raios-X dos quatro cimentos após 72h e 168h de reação.

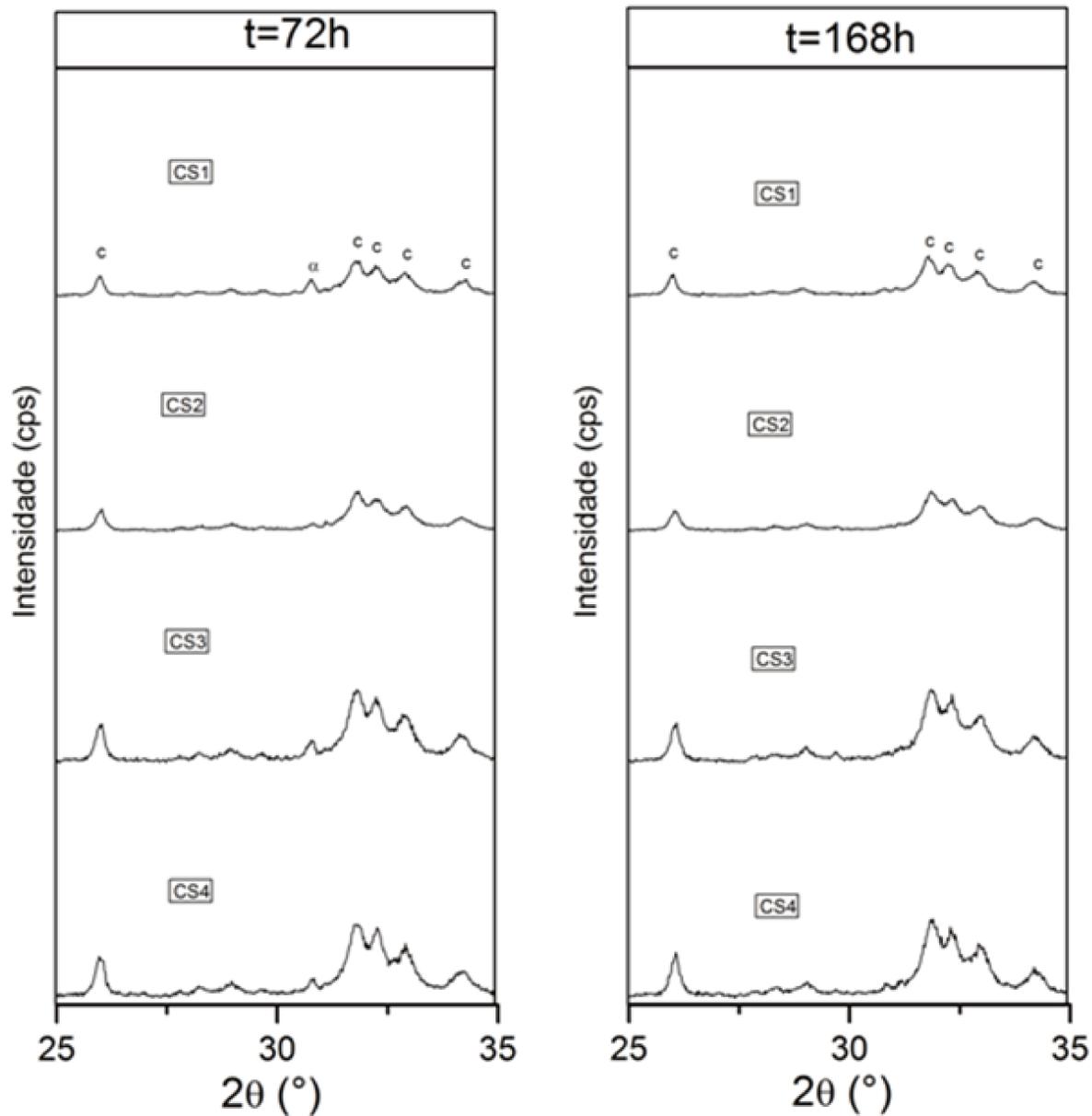


Figura 4.11: Difratoograma de Raios-X dos Cimentos após 72h e 168h de Reação.

Após 72h de reação, o  $\alpha$ -TCP encontra-se na fase final de dissolução e completa transformação em CDHA. Apenas o pico de 100% de  $\alpha$ -TCP ainda é perceptível no difratograma desse tempo, enquanto que os picos de CDHA são predominantes. Após 168h de reação, a conversão em CDHA foi completada para os quatro cimentos, quando já não se observa nenhum pico de  $\alpha$ -TCP.

Além disso, nota-se também na Figura 4.11 uma maior intensidade dos picos de CDHA do CS3 e do CS4, em relação ao CS1 e ao CS2, assim como nas primeiras horas de reação, em que estes cimentos que contém ácido tânico na composição do líquido aumentaram a intensidade dos picos de  $\alpha$ -TCP. Esta análise qualitativa indica que a CDHA formada pelo CS3 e CS4 é mais cristalina do que a formada pelos demais cimentos.

Após 168h de reação, as placas de CDHA formadas podem ser vistas distribuídas em toda a superfície de fratura dos quatro cimentos (Figura 4.12). As placas aparecem maiores e organizadas em torno das partículas precursoras de  $\alpha$ -TCP nos cimentos CS2 e CS3, enquanto que no CS1 elas também aparecem organizadas, porém com tamanhos menores. Já no CS4 as placas tem uma distribuição difusa em toda a superfície de fratura e apresentam tamanhos menores que o CS2 e o CS3.

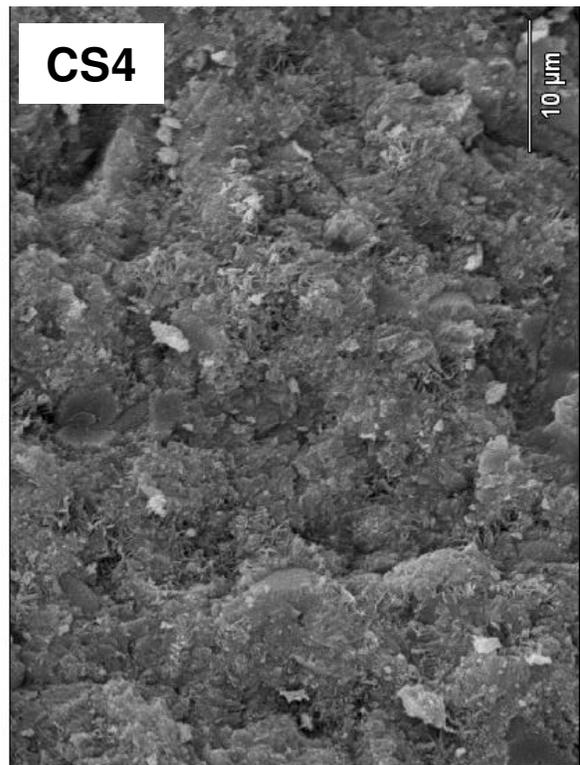
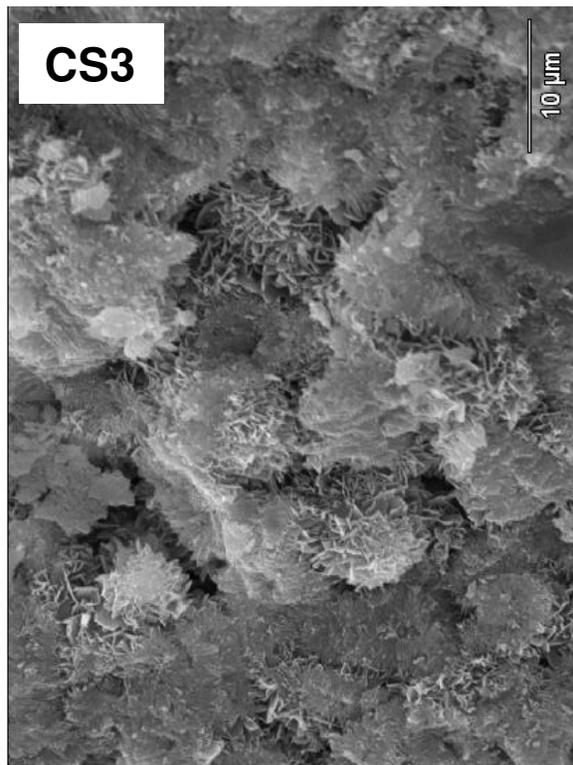
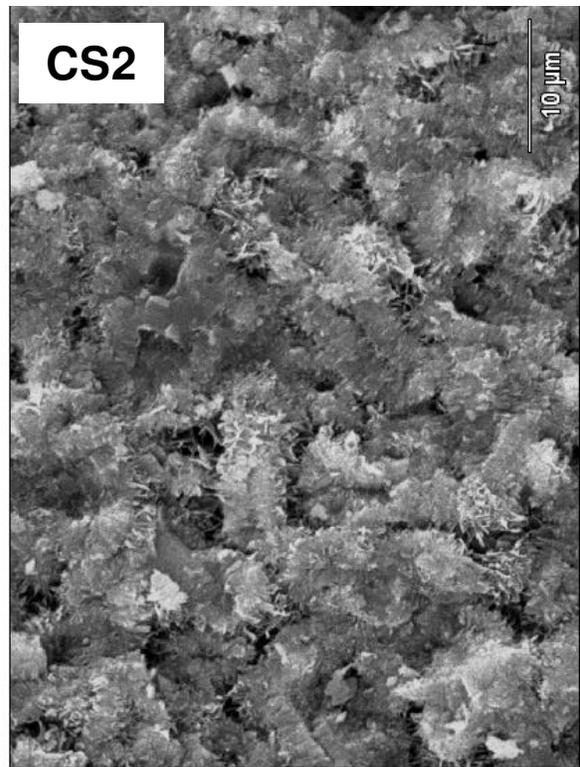
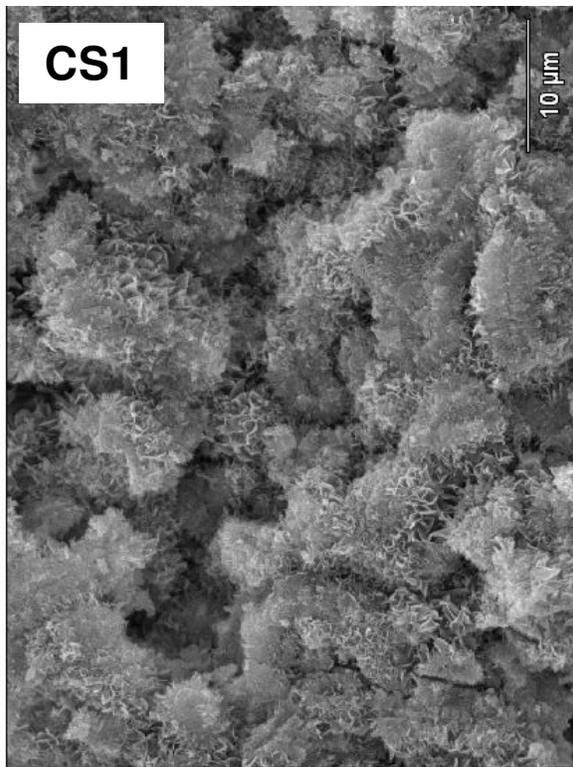


Figura 4.12: MEV da Superfície de Fratura de Todos os Cimentos após 168h de Reação.

#### 4.4 Evolução do pH

O pH inicial das soluções pode ser visto na Tabela 4.3.

**Tabela 4.3: pH das soluções.**

<b>Solução</b>	<b>pH</b>
S1	6,2
S2	5,7
S3	7,8
S4	5,2

Os resultados das medidas da evolução do pH durante a reação nos cimentos podem ser observados na Figura 4.13.

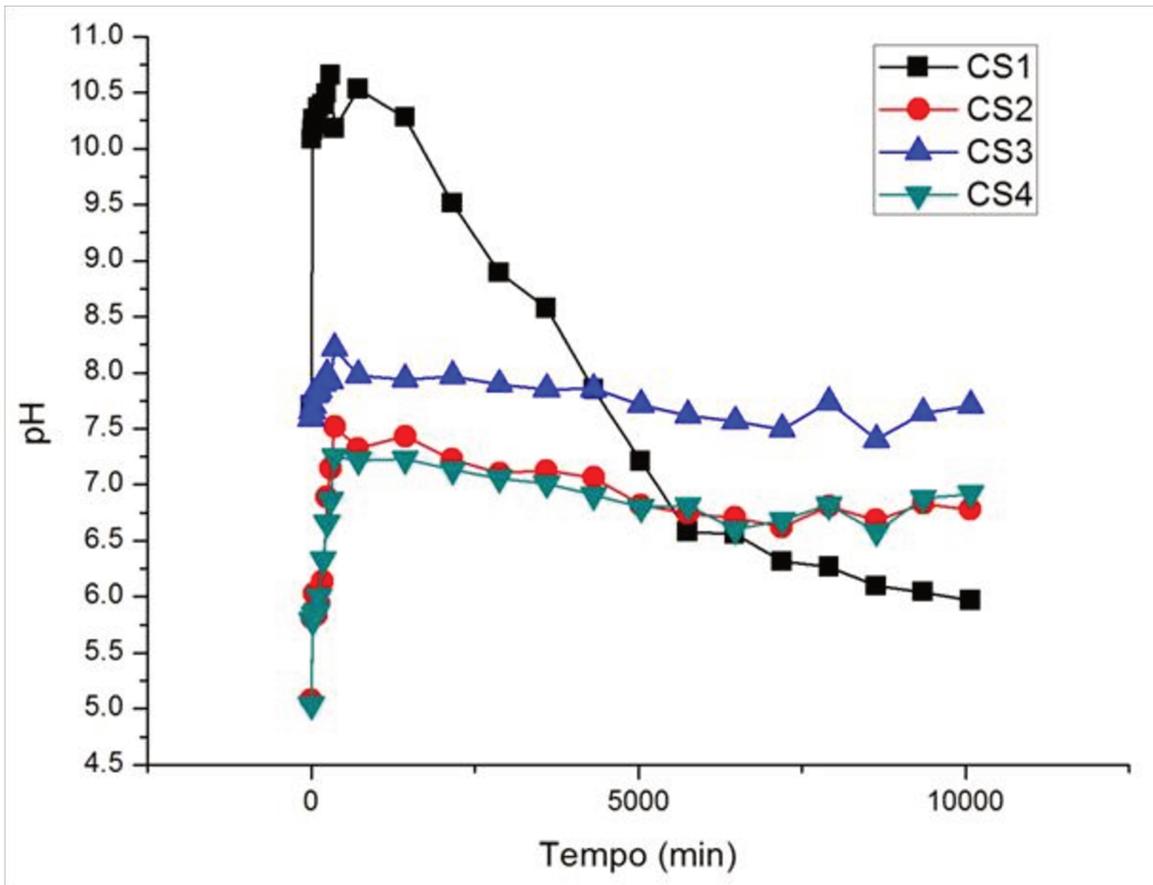


Figura 4.13: Evolução do pH durante as 168h de Reação para Todos os Cimentos.

Dos quatro cimentos analisados, apenas o CS3 não sofreu variações significativas no pH durante os sete dias de reação, período em que foi analisado, mantendo seu pH próximo a 7,5, valor ótimo para a aplicação como biomaterial. Todos os cimentos tiveram seu pH inicial próximo ao pH da solução ainda sem o pó. Os cimentos CS2 e CS4, que se diferem apenas pela presença de ácido tânico de uma composição para a outra, tiveram comportamentos similares durante toda a evolução. Após seis horas de reação, o pH da solução não subiu mais, iniciando sua estabilização. O CS1 também não apresentou nenhum aumento no pH após as primeiras seis horas de reação, porém o pH da solução continuou a cair mesmo após as 168h de reação. Seu pH não estabilizou-se.

As alterações mais bruscas no pH acontecem nos instantes iniciais da reação, como pode-se observar na Figura 4.14.

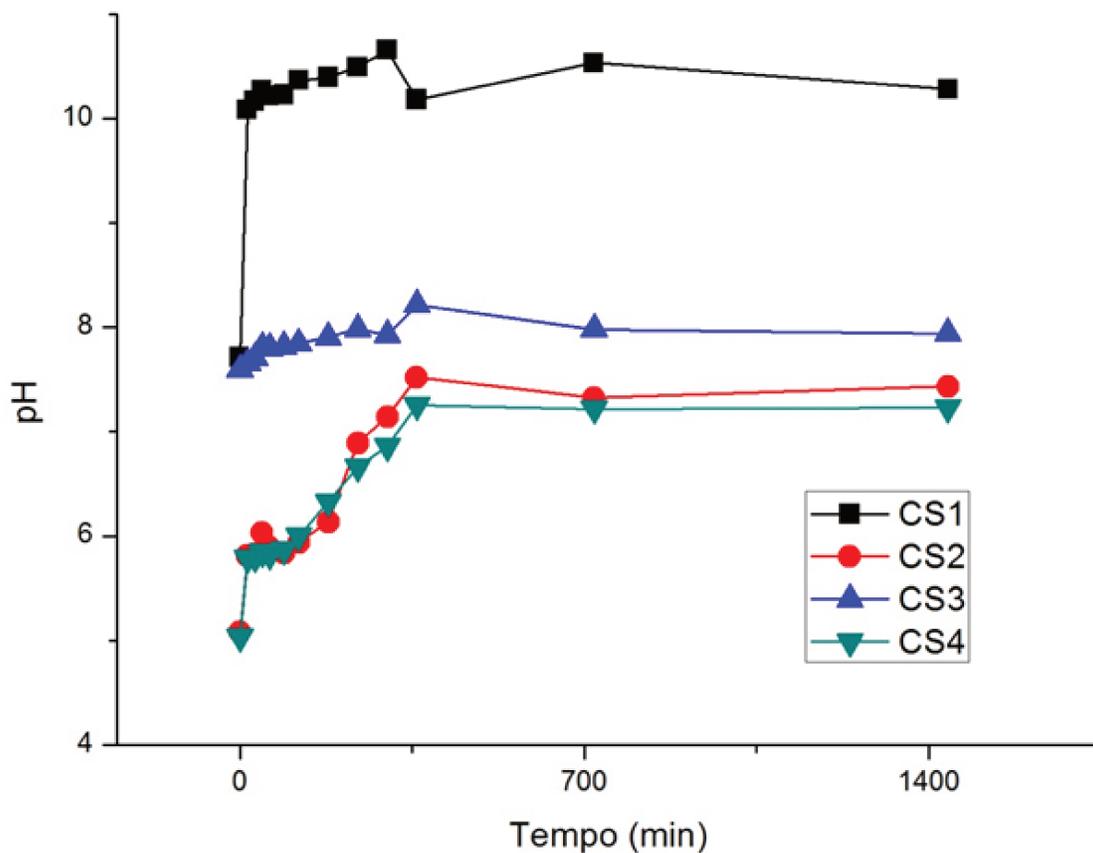


Figura 4.14: Evolução do pH durante as Primeiras 24h de Reação para Todos os Cimentos.

Utilizam-se aceleradores de reação, como o  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , na composição dos cimentos de fosfato de cálcio a fim de diminuir o tempo de pega. Eles atuam na solubilização dos cristais de fosfato de cálcio, permitindo uma saturação mais rápida do meio e conseqüente formação da CDHA. Na ausência de aceleradores, o meio demora a atingir os valores de saturação necessários para a formação da CDHA.

Pela Figura 4.14 observa-se que o CS2 e o CS4, cimentos que possuem ácido cítrico na sua composição, apresentaram os valores de pH mais baixos, enquanto que o CS3, mesmo tendo  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  na sua composição, não apresentou uma queda significativa do pH. Uma possível explicação seria a ocorrência de possíveis combinações entre o ácido tânico e o hidrogeno fosfato

de sódio, sem a presença de ácido cítrico, que alterassem o equilíbrio iônico do meio, alterando as constantes de solubilidade, levando a menores alterações no pH.

Quanto menor a variação do pH, melhor para a aplicação de um material como biomaterial. Variações bruscas no pH podem matar células próximas à aplicação do implante. Porém, a análise feita neste trabalho é feita sem a circulação de fluidos, o que não simula com veracidade o sítio de implantação dos cimentos.

#### 4.5 Limite de Resistência Mecânica à Compressão

Os valores médios e os desvios-padrões (DP) obtidos para o limite de resistência mecânica à compressão axial para os quatro tipos de cimento nos diversos tempos de reação encontram-se na Tabela 4.4.

**Tabela 4.4: Limite de Resistência Mecânica à Compressão Axial durante a Reação de Cura.**

<b>Tempo (h)</b>	<b>CS1 (MPa)</b>	<b>DP 1 (MPa)</b>	<b>CS2 (MPa)</b>	<b>DP 2 (MPa)</b>	<b>CS3 (MPa)</b>	<b>DP 3 (MPa)</b>	<b>CS4 (MPa)</b>	<b>DP 4 (MPa)</b>
<b>4</b>	-	-	4,2	0,3	1,6	0,5	3,8	0,8
<b>8</b>	-	-	23,2	2,8	6,0	0,8	10,0	2,9
<b>16</b>	-	-	31,2	5,1	28,4	3,5	32,4	7,8
<b>24</b>	-	-	37,5	6,1	41,7	7,7	32,6	3,0
<b>72</b>	20,4	2,3	45,2	10,3	45,2	5,0	31,3	5,1
<b>120</b>	20,6	3,5	40,8	6,3	46,7	11,7	31,9	3,4
<b>168</b>	20,6	4,2	47,1	6,4	39,0	5,2	32,2	8,3

Primeiro fato a ser observado na Tabela 4.4, já comentado na Seção 4.3.2, é que o CS1 não apresenta resistência mecânica suficiente nas primeiras 24h de reação. Ao colocar os corpos de prova desse cimento em acetona, a fim de parar a reação, ele se dissolve nos tempos até 24h de

reação. Não havia força de coesão suficiente entre as partículas de pó. Sua resistência mecânica insuficiente inviabiliza sua aplicação como cimento ósseo na grande maioria dos implantes, nos quais uma certa resistência mecânica é necessária nas primeiras horas. Além disso, a sua resistência mecânica é a menor entre todos os cimentos, não atingindo nem metade dos valores de CS2 após 168h de reação (Figura 4.15).

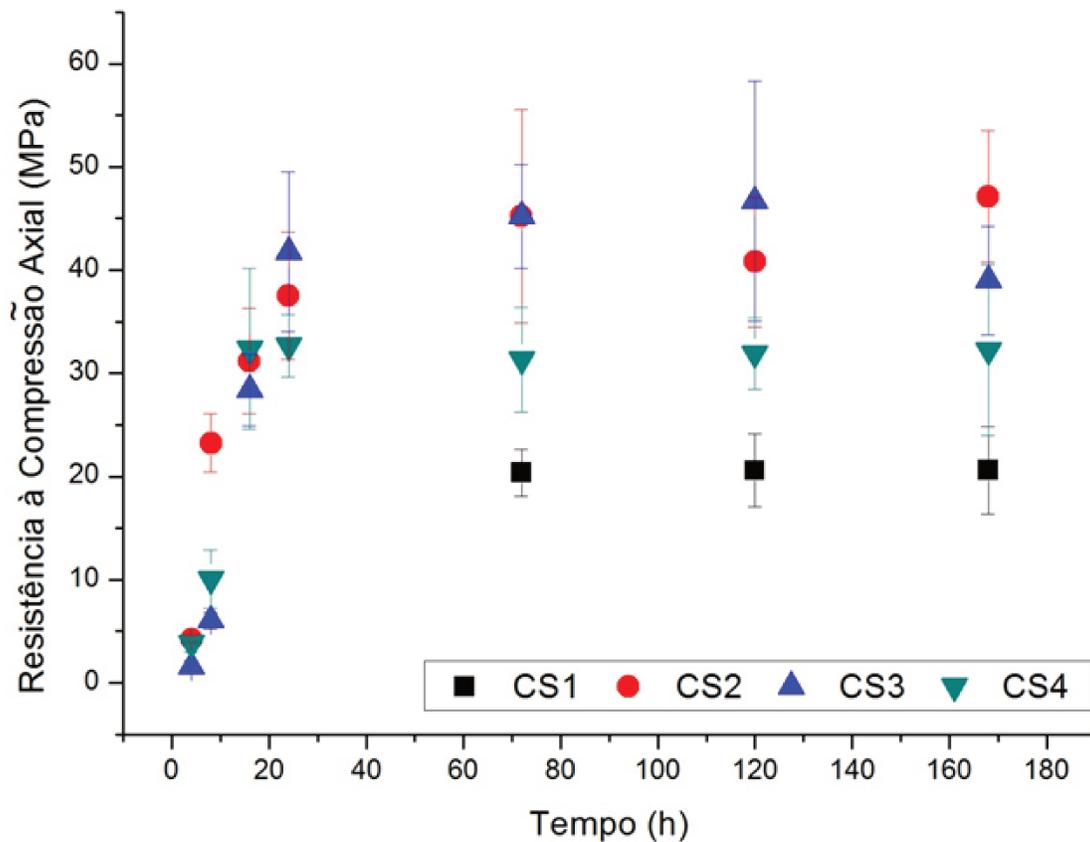


Figura 4.15: Evolução do Limite de Resistência Mecânica à Compressão Axial.

Observa-se que a resistência mecânica aumenta conforme o tempo de imersão em solução de Ringer para todos os cimentos, de acordo com o esperado. Com a dissolução do  $\alpha$ -TCP, ocorre a formação das placas de CDHA que são as responsáveis pela resistência mecânica nesses materiais, através do travamento mecânico entre as mesmas. Isto é, o aumento da resistência mecânica está diretamente relacionado com a cinética da reação.

Nota-se também que todos os cimentos atingiram praticamente a sua máxima resistência mecânica ao final do terceiro dia de reação (72h). A partir daí, o aumento na resistência é mínimo, ou mesmo, inexistente. Com exceção do CS4, que atinge o máximo de sua resistência mecânica já nas primeiras 16 horas de reação.

Porém, essa característica não é tida como vantajosa, uma vez que sua resistência mecânica após 16h de reação é próxima à resistência do CS2 e do CS3 nesse mesmo período, no entanto, estes últimos continuam a elevar sua resistência mecânica, alcançando valores mais expressivos do que o atingido pelo CS4.

Os cimentos CS2 e CS3 possuem resistência mecânica superior aos demais cimentos, como se pôde observar na Figura 4.15. Porém, nas primeiras horas de reação eles possuem comportamentos diferentes. Após 4h de reação a resistência mecânica do CS2 é quase três vezes o valor da resistência do CS3, chegando a quase quatro vezes nas primeiras 8h de reação (6,0 MPa para o CS3 e 23,2 MPa para o CS2), uma diferença muito expressiva.

Através da análise qualitativa da Figura 4.5 e da Figura 4.6, constata-se que o CS2 tem a cinética da reação mais acelerada nos primeiros instantes da reação, levando a uma formação prematura das placas de CDHA, quando comparado com o CS3. Além disso, essas placas são maiores para o CS2 no período analisado. E como são essas placas e o travamento mecânico proporcionado entre elas os responsáveis pela resistência mecânica nos cimentos de fosfato de cálcio, conseqüentemente o CS2 atinge valores consideráveis de resistência mecânica antes que o CS3.

Porém, após 16h de reação, a diferença de resistência mecânica entre esses cimentos é inexpressiva. Nesse período, o CS3 experimenta maior dissolução do  $\alpha$ -TCP e formação da CDHA (Figura 4.8 e Figura 4.9), alcançando valores próximos de resistência mecânica.

Outro fator relevante é o desvio nos valores do limite de resistência mecânica à compressão axial do CS2 a 120h de reação e do CS3 a 168h. O cimento de  $\alpha$ -TCP é muito sensível às condições climáticas, como umidade e temperatura. O ideal seria que todos os corpos de prova de todos os cimentos fossem preparados no mesmo dia, sob as mesmas condições. No caso do CS2, estima-se que esse desvio na resistência tenha se dado por algum fator climático, ou mesmo por diferenças no modo de preparação do cimento, causados durante a mistura e a moldagem. Este valor a 120h está entre outros dois valores imediatos (de 72h e 168h) que apresentam resistência

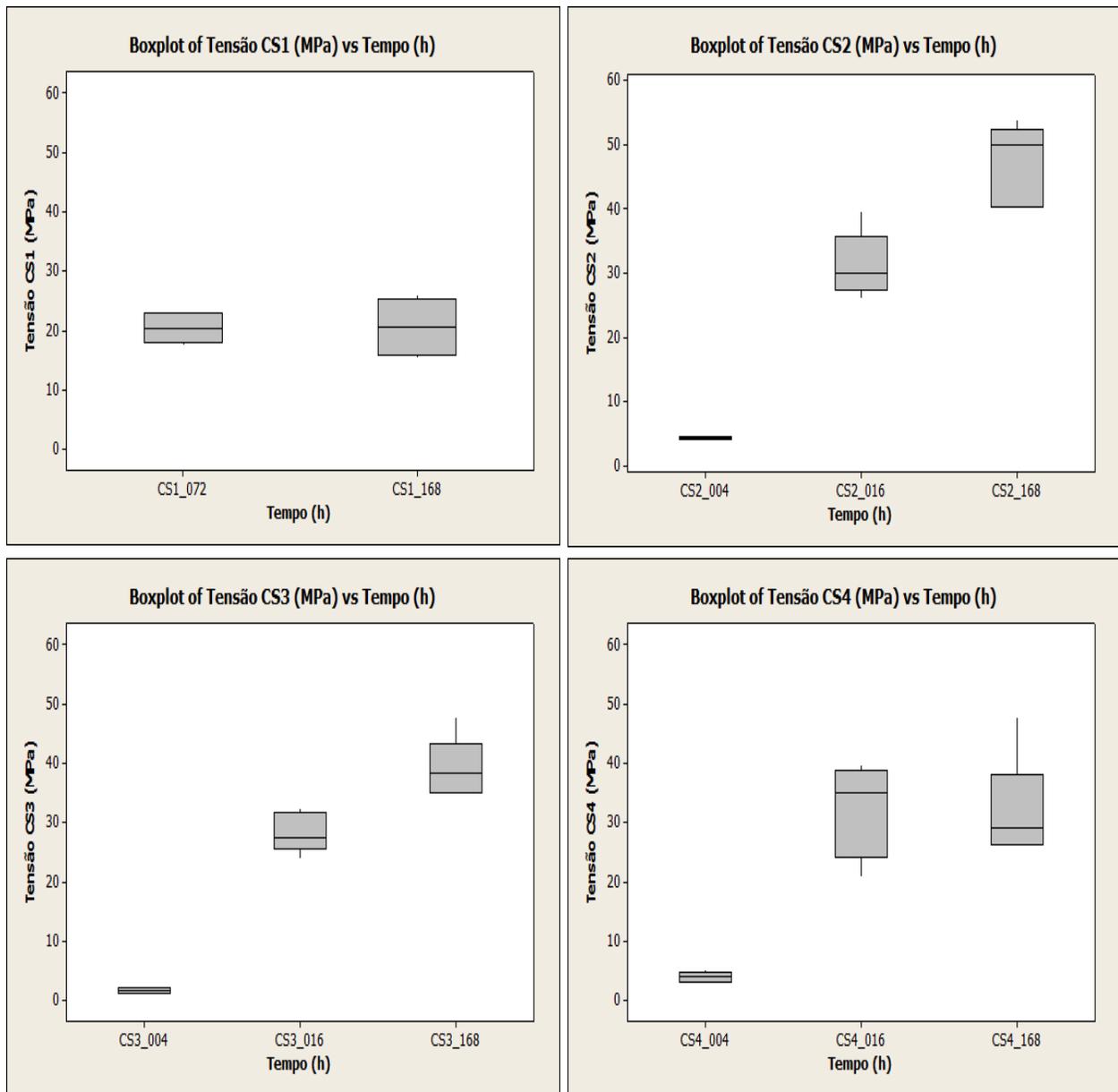
mecânica similares, indicando que houve realmente um desvio no valor de tendência da resistência mecânica do cimento.

Já no caso do CS3, além de todas as justificativas levantadas para o CS2, o cimento ainda pode estar perdendo sua resistência mecânica devido à dissolução do cimento. Entretanto, essa segunda hipótese não é confirmada pelas imagens da superfície de fratura após 168h de reação e pelo difratograma desse mesmo tempo (Figura 4.11 e Figura 4.12). Pelo difratograma percebe-se a integridade da CDHA formada, não existe nenhuma interferência de picos de outro tipo de material, e pelas imagens do MEV não pode-se visualizar nenhuma irregularidade na superfície de fratura do material. As placas de CDHA encontram-se íntegras.

Finalmente, os cimentos CS2 e CS3 apresentaram valores de resistência mecânica superiores aos reportados na literatura (Ginebra, et al., 2004; Santos, 2002), apesar do tamanho de partícula superior. Isso comprova que as composições utilizadas em conjunto com o método de obtenção dos reagentes são eficazes na otimização das propriedades mecânicas dos cimentos de fosfato de cálcio.

#### **4.5.1 Análise Estatística: Diferentes Tempos e um mesmo Cimento**

O *Boxplot* de cada um dos quatro cimentos nos mais diversos tempos pode ser observado na Figura 4.16. Os tempos analisados foram de 4h, 16h e 168h. Para o CS1 os tempos escolhidos foram diferentes dos demais cimentos, pois o CS1 não tinha resistência nos tempos de 4h e 16h, como os demais cimentos.



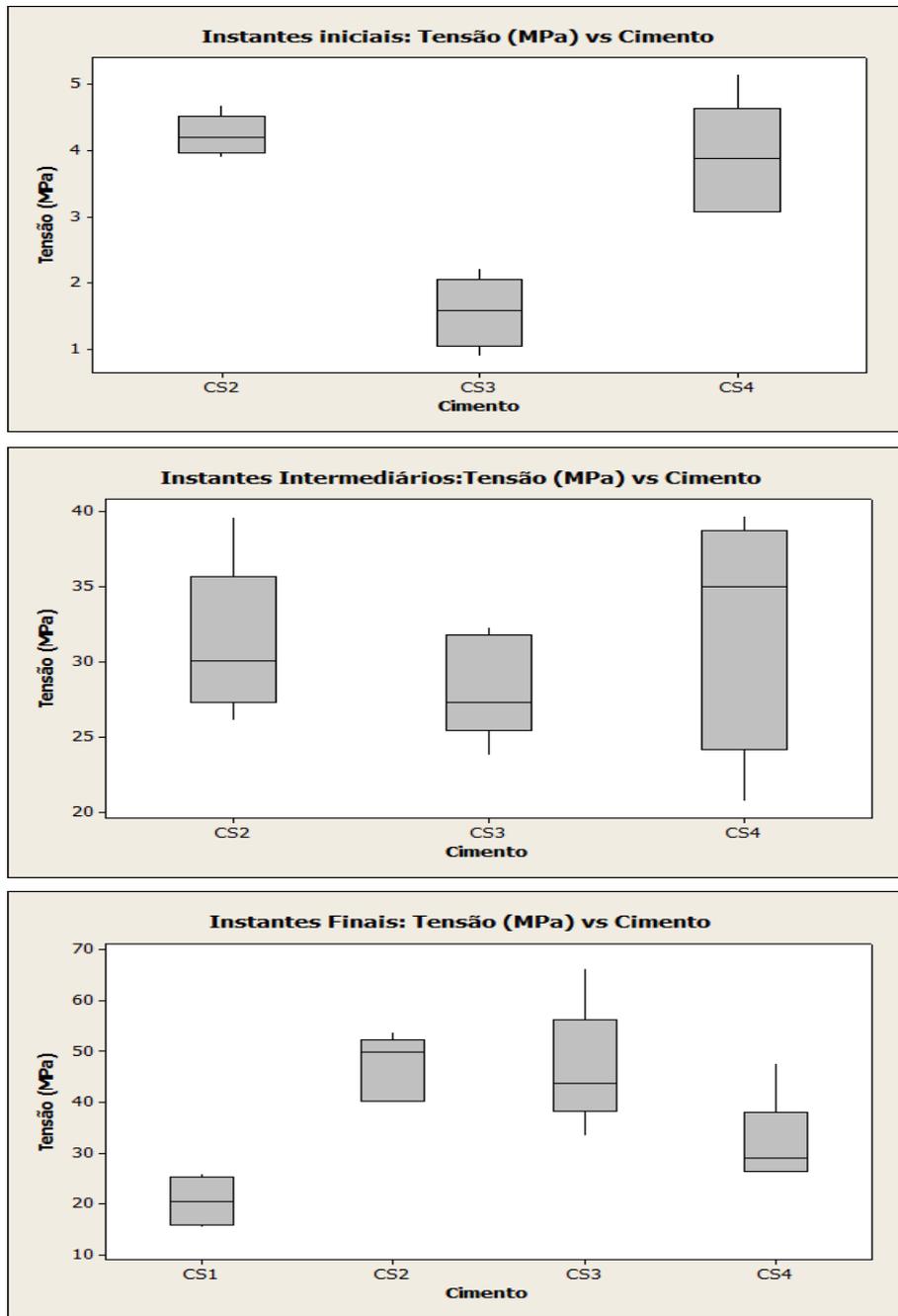
**Figura 4.16: Boxplot de cada Cimento em Tempos Variados.**

A análise comprova que as amostras de 16h e 168h do CS4 não são estatisticamente diferentes, confirmando a idéia de que não existe aumento significativo na resistência mecânica desse cimento a partir de 16h de reação. Claramente, o CS1 também não apresenta diferença estatística nos tempos analisados, já que são tempos avançados de reação. Já os cimentos CS2 e CS3 apresentam diferença estatística, comprovando o aumento e a diferença na resistência

mecânica para tempos iniciais, intermediários e finais da reação. De maneira geral, todos os cimentos aumentaram sua resistência mecânica com o tempo, conforme esperado.

#### **4.5.2 Análise Estatística: Diferentes Cimentos e um mesmo Tempo**

O Boxplot para instantes iniciais, intermediários e finais da reação entre os diversos cimentos pode ser visto na Figura 4.17.



**Figura 4.17: Boxplot de Vários Instantes Comparando os 4 Cimentos.**

Nos instantes iniciais foram utilizados os resultados de 4h, nos intermediários de 16h e nos finais de 168h, com exceção do CS3, que foi utilizado o resultado das amostras de 120h, devido aos valores fora da tendência para o tempo de 168h.

Nos instantes iniciais o CS3, que não apresenta ácido cítrico na sua composição, tem resistência mecânica inferior aos demais cimentos, provavelmente devido à não presença de ácido cítrico na sua composição, que age aumentando a resistência mecânica significativamente desde os instantes iniciais da reação.

Nos instantes intermediários, não existe diferença estatística entre a resistência mecânica dos três cimentos. Já nos instantes finais, todos os cimentos são diferentes estatisticamente, com exceção do CS2 e do CS3.

#### 4.6 Teste de Citotoxicidade

A alteração na coloração do meio de cultura após o ensaio de citotoxicidade está mostrado na Figura 4.18 com suas respectivas fitas indicadoras de pH.

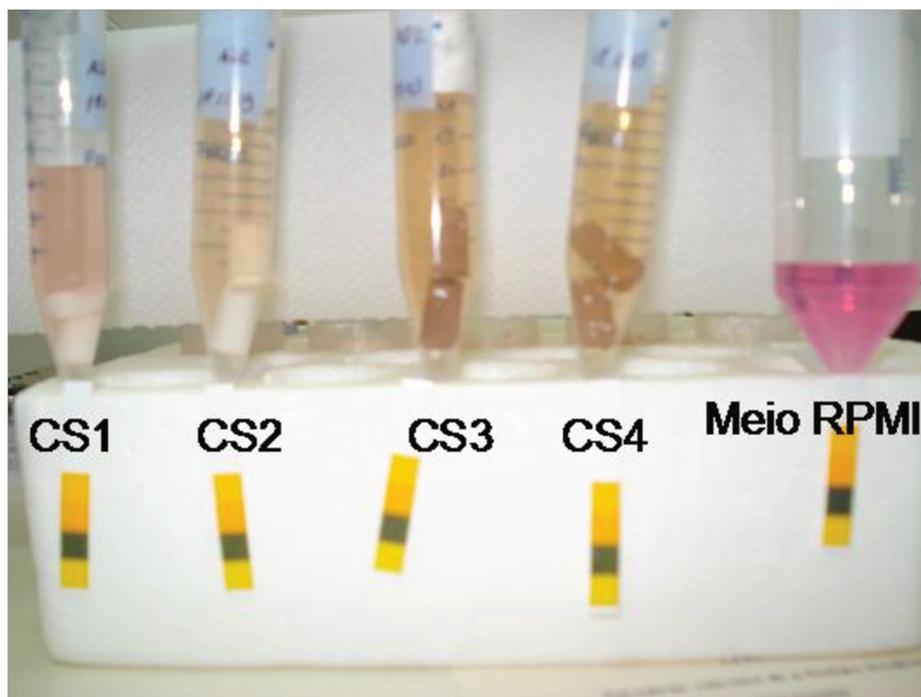


Figura 4.18: Coloração do Meio de Cultura após 48h de Extração com as Respectivas Fitas Indicadoras de pH.

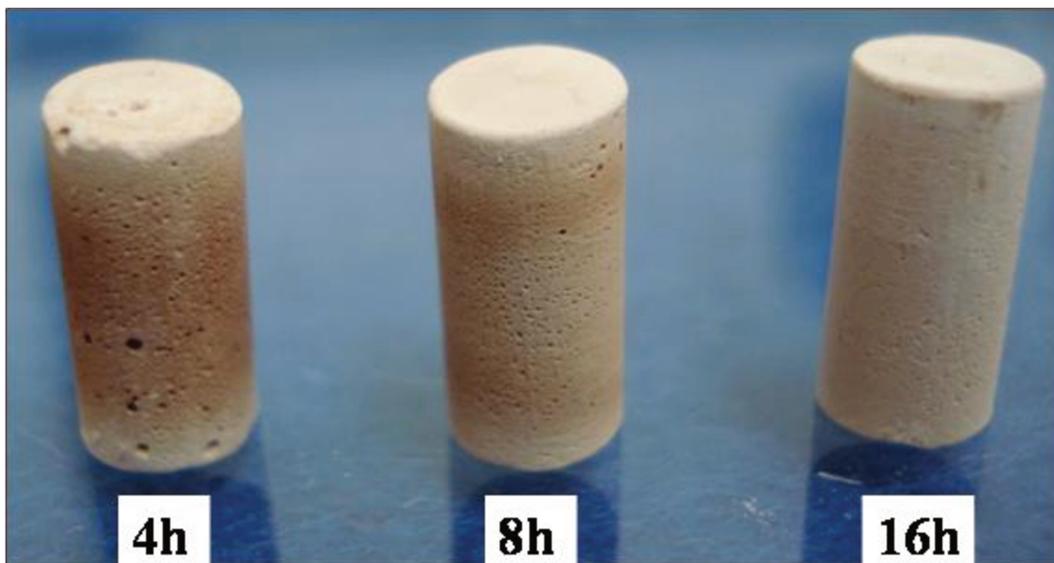
Os valores de pH indicados por cada uma das fitas estão na Tabela 4.5.

**Tabela 4.5: Valor do pH das Amostras obtido com Fita Indicadora após 48h de Extração.**

<b>Cimento</b>	<b>pH após 48h de extração</b>
<b>CS1</b>	Entre 7 e 8
<b>CS2</b>	Entre 7 e 8
<b>CS3</b>	Entre 7 e 8
<b>CS4</b>	Entre 7 e 8

As amostras de cimento de  $\alpha$ -TCP alteraram a coloração do meio de cultura, indicando teoricamente uma mudança de pH do meio. Como mostra a Figura 4.18, inicialmente o meio RPMI 1640 (líquido extrator) possui uma coloração vermelho róseo devido ao indicador fenol *red*, ajustado para um pH de 7,4. O esmaecimento da coloração do líquido extrator de todas as amostras indica que o meio ficou mais ácido, neste caso, a fita indicadora de pH teria se mostrado inadequada para a quantificação da variação de pH, já que todas as fitas indicaram um pH entre 7 e 8 após as 48h de extração.

No entanto, deve-se levar em consideração a coloração dos cimentos. O ácido tânico possui uma coloração de tom marrom, logo os cimentos que tem ácido tânico na composição do líquido, também apresentam essa coloração, como se pode observar na Figura 4.19. As soluções de Ringer nas quais esses cimentos, CS3 e CS4, estavam imersos também apresentavam colorações de tons marrons, devido às trocas ocorridas durante a reação entre o meio e o cimento.



**Figura 4.19: Coloração dos Corpos de Prova do CS4 após 4h, 8h e 16h de Imersão em Solução de Ringer.**

Além disso, com exceção do CS1, todos os outros cimentos retornavam valor de pH em torno de 7 após 7 dias de imersão em solução de Ringer, indicando que a fita indicadora tenha apresentado valores condizentes.

Pela Figura 4.19, também se pode observar o sentido da reação nos instantes iniciais, o que não pode ser observado nos cimentos que não possuem ácido tânico na sua composição. A solução de Ringer entra nos corpos de prova pelas extremidades que estão em contato direto com o meio. Após 4h de reação, apenas as extremidades dos corpos de prova apresentaram uma permeação da solução de Ringer através do cimento. Permeação está aumentada gradativamente com o tempo, quando se observa um esmaecimento por igual da tonalidade marrom de todo o corpo de prova.

Na avaliação da viabilidade celular dos extratos e suas diluições, comparou-se os valores do  $IC_{50(\%)}$  (Figura 4.20).

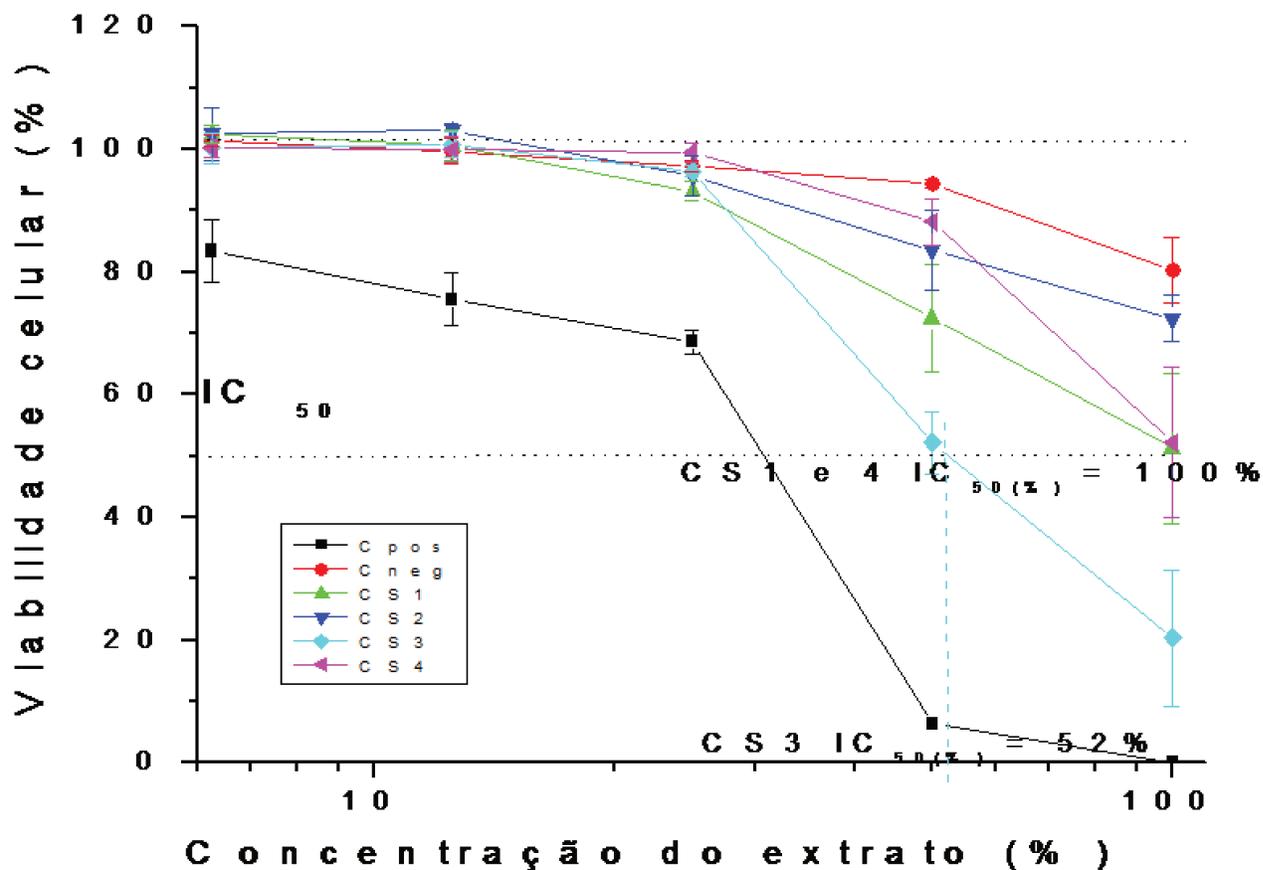


Figura 4.20: Viabilidade Celular dos Quatro Cimentos em Diferentes Concentrações dos Extratos.

Colocando as amostras por níveis crescentes de citotoxicidade, o CS2 apresentou um  $IC_{50(\%)} > 100$  (como o controle negativo), o CS1 e CS4 apresentaram  $IC_{50(\%)}=100$  e CS3 apresentou  $IC_{50(\%)} = 52$ . Destes, apenas o CS2 teve desempenho satisfatório, pois os valores considerados ideais são os que se aproximam do controle negativo, o que não promove resposta citotóxica. Porém, esse teste isoladamente não pode ser considerado conclusivo, uma vez que ele não simula com fidelidade o meio fisiológico humano, onde os fluidos estão em circulação constante.

Pela evolução do pH (Seção 4.4), esperava-se que o cimento CS3 apresentasse os melhores resultados em termo de citotoxicidade, uma vez que um dos fatores responsáveis pelo esmaecimento do meio de cultura está relacionado com alterações no pH. E o CS3, durante a evolução do pH, praticamente não apresentou alterações.

Uma possibilidade para o resultado insatisfatório no teste de citotoxicidade deste cimento é a concentração do aditivo ácido tânico. Este aditivo foi adicionado em uma concentração de 5% em porcentagem de massa, enquanto que o ácido cítrico em apenas 1,5% e o  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  em 2,5%. Concentrações menores do ácido tânico, talvez, apresentem um cimento com o mesmo desempenho, porém com sua biocompatibilidade melhorada, no que se diz respeito ao teste de citotoxicidade.

## 5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA PRÓXIMOS TRABALHOS

Quanto ao pó de  $\alpha$ -TCP utilizado para a obtenção do cimento de fosfato de cálcio, pôde-se constatar que:

- a síntese dos reagentes em laboratório se mostrou um método eficaz para a obtenção de  $\alpha$ -TCP;
- foram poucos os elementos traços encontrados no pó de  $\alpha$ -TCP e dentre eles não constava o magnésio, estabilizador da fase de  $\beta$ -TCP;
- na análise quantitativa, o  $\alpha$ -TCP obtido apresentou 11% de  $\beta$ -TCP como fase indesejada, alcançando o objetivo da síntese dos reagentes em laboratório;
- a distribuição do tamanho de partículas foi bimodal e numa faixa maior que as relacionadas na literatura;
- o formato das partículas do pó não é homogêneo.

Quanto à preparação dos cimentos, pôde-se constatar que:

- a relação líquido/pó considerada ideal para se trabalhar com os quatro tipos de cimento foi de 0,38mL/g, dentro da faixa de valores encontrada na literatura.

Quanto à cinética da reação de hidrólise do  $\alpha$ -TCP e formação da CDHA dos cimentos com e sem aditivos, pôde-se constatar que:

- o CS1 praticamente não apresenta dissolução de  $\alpha$ -TCP e formação de CDHA nas primeiras 24h de reação, diferentemente das outras três composições de cimento, confirmando que o cimento sem aditivos tem a cinética da reação lenta e que as 3 combinações de aditivos utilizadas aceleram a reação;
- o ácido tânico aumenta a cristalinidade do  $\alpha$ -TCP nas primeiras horas de reação, pois os cimentos CS3 e CS4 propiciaram um aumento da cristalinidade do  $\alpha$ -TCP nas primeiras horas de reação;
- o CS2 possui mais placas de CDHA em volume e maiores nos primeiros instantes da reação e, conseqüentemente, uma cinética mais acelerada nesse período;

- nos instantes intermediários da reação, o CS3 e o CS4 apresentam uma aceleração na reação, apresentando níveis de dissolução de  $\alpha$ -TCP e formação de CDHA comparáveis com o CS2;
- ao final dos 7 dias analisados, todos os cimentos apresentam conversão completa em CDHA;
- a CDHA dos cimentos CS3 e CS4 são mais cristalinas que os demais;
- os cimentos CS1, CS2 e CS3 apresentam crescimento ordenado das placas de CDHA na superfície das partículas precursoras de  $\alpha$ -TCP, enquanto que o CS4 apresenta crescimento desordenado das placas, possivelmente devido a um efeito competitivo entre os aditivos.

Quanto à evolução do pH durante a reação, pôde-se constatar que:

- as principais variações no pH ocorreram nas primeiras horas de reação;
- o CS3 foi o único cimento que não sofreu variações significativas durante o período analisado, mantendo seu pH próximo ao pH neutro;
- o valor de pH mais básico foi atingido após 6h de reação em todos os cimentos;
- com exceção do cimento sem aditivos que continuou se acidificando, todos os cimentos tiveram seu pH estabilizado ao final dos sete dias.

Quanto ao limite de resistência mecânica à compressão axial, pôde-se constatar que:

- o CS1 não apresenta resistência mecânica considerável nas primeiras 24h de reação;
- todas as combinações de aditivos aumentaram a resistência mecânica final dos cimentos quando comparado com o cimento sem aditivos;
- após 72h de reação praticamente não houve alteração na resistência mecânica dos cimentos;
- o CS2 adquire resistência mecânica mais rapidamente que os demais cimentos;
- os cimentos CS2 e CS3 apresentaram os maiores valores de resistência mecânica;
- mesmo com o tamanho de partícula superior, os cimentos CS2 e CS3 apresentaram valores de resistência mecânica maiores que os reportados em literatura, comprovando a eficiência dos aditivos e do método de obtenção dos reagentes na melhoria das propriedades mecânicas;

Quanto ao teste de citotoxicidade in vitro, pôde-se constatar que:

- a fita indicadora de pH não indicou alteração no pH, mesmo havendo alteração na coloração da solução;
- possíveis alterações na coloração da solução ocorreram devido à coloração do ácido tânico;
- o CS2 não promoveu resposta citotóxica, com desempenho próximo ao controle negativo;
- o CS3 foi o que apresentou resposta mais citotóxica já com 52% de concentração do extrato, resultado inesperado devido às mínimas alterações no pH dessa amostra. Este comportamento provavelmente ocorreu devido à concentração de ácido tânico ser maior que os demais aditivos.

Finalmente pode-se concluir que:

- o cimento sem aditivos não apresenta os requisitos necessários para sua aplicação como material de implante;
- o cimento com os três aditivos teve desempenho inferior do que os cimentos com apenas dois aditivos;
- o CS2 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  + ácido cítrico) e o CS3 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  + ácido tânico) tiveram desempenhos próximos quanto à cinética da reação e à resistência mecânica, entretanto, o CS2 apresentou melhores resultados de citotoxicidade *in vitro*, enquanto que o CS3 apresentou melhores resultados na variação de pH;
- o CS2 e o CS3 apresentaram as melhores propriedades para aplicação como cimento ósseo, entretanto, levando em consideração o teste biológico preliminar, porém não definitivo, de citotoxicidade, o CS2 tem seu uso mais indicado que o CS3;

Algumas sugestões para próximos trabalhos são:

- avaliação da influência de cada aditivo isoladamente no  $\alpha$ -TCP com os reagentes sintetizados em laboratório;
- quantificação do aumento da cristalinidade provocado pelo ácido tânico;
- desenvolvimento e validação de um modelo matemático para a cinética da reação que se adéque ao aumento de cristalinidade provocado pelo ácido tânico;
- testar outras concentrações do mesmo aditivo e seus efeitos nas propriedades analisadas;
- avaliar os efeitos desses aditivos *in vivo*.

## Referências

**10993-5, ISO. 1992.** *International Standard: Biological Evaluation of Medical Devices - Part 5: Tes for Citotoxicity: In Vitro Methods.* 1992.

**Akashi, A, et al. 2001.** Release profile of antimicrobial agents from [alpha]-tricalcium phosphate cement. *Biomaterials.* 1, 2001, Vol. 22, pp. 2713-2717.

**Albee, F. e Morrison, H. 1920.** Studies in bone growth. *Annals of Surgery.* 1, 1920, Vol. 71, pp. 32-38.

**Ambard, A. J. e Mueninghoff, L. 2006.** Calcium phosphate cement, review of mechanical and biological properties. *J. Prosthodont.* 1, 2006, Vol. 15, pp. 321-328.

**Apelt, D., et al. 2004.** In vivo behaviour of three diferent injectable hydraulic calcium phosphate cements. *Biomaterials.* 1, 2004, Vol. 25, pp. 1439-1451.

**Aza, P. e Aza, S. 2004.** Bioceramicas. *Biomateriales.* 2004, p. 41 a 54.

**Bai, B., Jazrawi, et al. 1999.** The use of an injectable, biodegradable calcium phosphate bone substitute for the prophylactic augmentation of osteoporotic vertebral and the management of vertebral compression fractures. *Spine.* 15, 1999, Vol. 24, pp. 1521-1526.

**Barralet, J. E., et al. 2002.** Effect of Porosity Reduction by Compaction on Compressive Strength and Microstructure of Calcium Phosphate Cement. *Journal of Biomedical Materials Research.* 2002, Vol. 63, pp. 1-9.

**Billotte, W. G. 2003.** Ceramic Biomaterials. [A. do livro] J. B. Park e J. D. Bronzino. *Biomaterials - Principles and Applications.* Boca Raton : CRC Press, 2003.

**Bloom, W. e Fawcett, D. W. 1986.** *A textbook of histology*. Philadelphia : WB Saunders, 1986.

**Boch, P. e Nièpce, J. C. 2007.** *Ceramic Materials: Processes, properties and Applications*. London : ISTE, 2007.

**Bohner, M. 2000.** Calcium Orthophosphates im Medicine: from Ceramics to Calcium Phosphate Cements. *Injury, Int. J. Care*. 2000, Vol. 31.

**Bohner, M. e Merkle, H. P. 2000.** Effect of Several Additives and Their Admixtures on the Physico-Chemical Properties of a Calcium Phosphate Cement. *Journal of Materials Science: materials in Medicine*. 2000, Vol. 11, pp. 111-116.

**Bohner, M. 2004.** New hydraulic cements based on [alpha]-tricalcium phosphate-calcium sulfate dihydrate mixtures. *Biomaterials*. 1, 2004, Vol. 25, pp. 741-749.

**Bohner, M.. 2007.** Reactivity of calcium phosphate cements. *J. mater. Chem.* 1, 2007, Vol. 38, pp. 3980-3986.

**Bohner, M., Brunner, T. J. e Stark, W. J. 2008.** Controlling the reactivity of calcium phosphate cements. *J. mater. Chem.* 1, 2008, Vol. 18, pp. 5669-5675.

**Bohner, M., et al. 2006.** Combining Particle Size Distribution and Isothermal Calorimetry Data to Determine the Reaction Kinetics of [alpha]-Tricalcium Phosphate-Water Mixtures. *Acta Biomaterialia*. 2006, Vol. 2, pp. 343-348.

**Bohner, M., Gbureck, U. e Barralet, J. E. 2005.** Technological Issues for the Development of More Efficient Calcium Phosphate Bone Cements: A Critical Assessment. *Biomaterials*. 2005, Vol. 26, pp. 6423-6429.

**Bousslama, N., Ayed, F. B. e Bouaziz, J. 2009.** Effect of Fluorapatite Additive on Densification and Mechanical Properties of Tricalcium Phosphate. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2009.

**Briak, H. E., Durand, D. e Boudeville, P. 2008.** Study of a hydraulic DCPA/CaO - based cement for dental applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1, 2008, Vol. 19, pp. 737-744.

**Callister, W. D. 1991.** *Materials Science and Engineering: An Introduction*. New York : John Wiley & Sons, 1991.

**Camiré, C. L., et al. 2006.** Material Characterization and In Vivo Behavior of Silicon Substituted [alpha]-Tricalcium Phosphate Cement. *Journal of the Biomedical Materials Research*. 2006, Vol. 76B, pp. 424-431.

**Carrodeguas, R. G., et al. 2008.** New Approach to the [alfa]-[beta] Polymorphic Transformation in Magnesium-Substituten Tricalcium Phosphate and its Practical Implications. *Journal of The American Ceramic Society*. 4, 2008, Vol. 91, pp. 1281-1286.

**Cho, J. S., et al. 2009.** Nano-sized [alpha] and [beta]-TCP powders prepared by high temperature flame spray pyrolysis. *Materials Science and Engineering*. C, 2009, Vol. 29, pp. 1288-1292.

**Chung, D. D. L. 2001.** *Applied Materials Science: Applications of Engineering Materials in Structural, Eletronics, Thermal, and Other Industries*. Boca Raton : CRC Press, 2001.

**Claes, L., Höllen, I. e Ignatius, A. 1997.** Resorbable bone cements. *Orthopäde*. 1, 1997, Vol. 26, pp. 459-462.

**Davis, J. R., [ed.]. 2003.** *Handbook of Materials for Medical Devices*. Ohio : ASM International, 2003.

**Denissen, H. 1979.** *Dental root implants of apatite ceramic: experimental investigations and clinical use of dental root implants made of apatite ceramic*. Ph.D. Tesis Amsterdam : Vrije Universiteit, 1979.

**Dorozhkin, S. V. 2009.** Calcium Orthophosphate Cements and Concretes. *Materials*. 1, 2009, Vol. 2, pp. 221-291.

**dos Santos, L. A., et al. 1999.** Influence of Polymeric Additives on the Mechanical Properties of [alpha]-Tricalcium Phosphate Cement. *Bone*. 2, 1999, Vol. 25, pp. 99S-102S.

**Driessens, F. C. M., et al. 1997.** Calcium phosphates and ceramic bone cements vs. acrylic cements. *Anales de Química Int.* 1, 1997, Vol. 93.

**Driessens, F. C. M., et al. 1993.** Formulation and setting times of some calcium orthophosphate cements: a pilot study. *Journal of Material Science: materials in Medicine*. 1, 1993, Vol. 4, pp. 503-508.

**Dubok, V. A. 2000.** Bioceramics - Yesterday, Today, Tomorrow. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*. 7-8, 2000, Vol. 39.

**Elder, S., Frankenburg, E., et al. 2000.** Biomechanical evaluation of calcium phosphate cement-augmented fixation of unstable intertrochanteric fractures. *Journal of Orthopaedic Trauma*. 6, 2000, Vol. 14, pp. 386-393.

**Enderle, R., et al. 2005.** Influence of Magnesium Doping on the Phase Transformation Temperature of [beta]-TCP ceramics examined by Rietveld Refinement. *Biomaterials*. 2005, Vol. 26, pp. 3379-3384.

**Friedman, C. D., et al. 1998.** BoneSource™ hydroxyapatite cement, a novel biomaterial for craniofacial skeletal tissue engineering and reconstruction. *Journal Biomedical Materials Research*. 1, 1998, Vol. 43, pp. 428-432.

**Gauthier, O., et al. 1998.** Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. *Biomaterials*. 19, 1998, Vols. 1-3, pp. 133-139.

**Gbureck, U., et al. 2007.** Antimicrobial properties of nanocrystalline tetracalcium phosphate cements. *Journal of Biomedical materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 1, 2007, Vol. 83, pp. 132-137.

**Getter, L., et al. 1972.** Three biodegradable calcium phosphate slurry implants bone. *Journal of Oral Surgery*. 1, 1972, Vol. 30, pp. 263-268.

**Ginebra, M. P., Driessens, F. C. M. e Planell, J. A. 2004.** Effect of the Particle Size on the Micro and Nanostructural Features of a Calcium Phosphate Cement: a Kinetic Analysis. *Biomaterials*. 2004, Vol. 25, pp. 3453-3462.

**Ginebra, M. P., et al. 1995.** Effect of various additives and temperature on some properties of an apatitic calcium phosphate cement. *Journal of Materials Science: materials in Medicine*. 1, 1995, Vol. 6, pp. 612-616.

**Ginebra, M. P., et al. 2001.** Improvement of the Mechanical properties of an [alpha]-TCP cement by the Addition of a Polymeric Drug Containing Salicylic Acid. *Key Engineering Materials*. 1, 2001, Vols. 192-195, pp. 781-784.

**Ginebra, M. P., et al. 1997.** Influence of the particle size of the powder phase in the setting and hardening behaviour of a calcium phosphate cement. *Bioceramics*. 1, 1997, Vol. 10.

**Ginebra, M. P., et al. 1999.** Modeling of the Hydrolysis of [alpha]-Tricalcium Phosphate. *Journal of the American Ceramic Society*. 10, 1999, Vol. 82, pp. 2808-2012.

**Ginebra, M. P., et al. 1994.** Preparation and properties of some magnesium-containing calcium phosphate cements. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1, 1994, Vol. 5, pp. 103-107.

**Ginebra, M. P., et al. 1998.** The Effect of Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> Addition on the Setting Reaction Kinetics of an [alpha]-TCP Cement. *Biomaterials*. 1, 1998, Vol. 11.

**Ginebra, M. P., Traykova, T. e Planell, J. A. 2006.** Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: a review. *J. Control. Rel.* 1, 2006, Vol. 113, pp. 102-110.

**Ginebra, M. P.. 2006.** Calcium phosphate cements: competitive drug carriers for the musculoskeletal system? *Biomaterials*. 1, 2006, Vol. 27, pp. 2171-2177.

**Gorst, N. J. S., et al. 2006.** Effects of fibre reinforcement on the mechanical properties of brushite cement. *Acta Biomaterialia*. 1, 2006, Vol. 2, pp. 95-102.

**Grover, L. M., et al. 2003.** In Vitro Ageing of Brushite Calcium Phosphate Cement. *Biomaterials*. 2003, Vol. 24, pp. 4133-4141.

**Haldeman, K. e Moore, J. 1934.** Influence of a local excess of calcium and phosphorus on the healing of features. *Arch Surg*. 1, 1934, Vol. 29, pp. 385-396.

**Hao, H., et al. 2004.** A Histological Evaluation on Self-Setting [alpha]-Tricalcium Phosphate Applied in the Rat Bone Cavity. *Biomaterials*. 2004, Vol. 25, pp. 431-442.

**Hench, L. L. e Wilson, J. 1993.** *An Introduction to Bioceramics*. Singapore : World Scientific Publishing, 1993.

**Hench, L. L., et al. 1971.** Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1, 1971, Vol. 2.

**Huan, Z. e Chang, J. 2007.** Novel tricalcium silicate/monocalcium phosphate monohydrate composite bone cement. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 1, 2007, Vol. 82B, pp. 352-359.

**Jansen, J. A., et al. 1995.** Evaluation of tricalcium phosphate/hydroxyapatite cement for tooth replacement, an experimental animal study. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1, 1995, Vol. 6, pp. 653-657.

**Jinlong, N., Zhenxi, Z. e Dazong, J. 2001.** Investigation of Phase Evolution During the Thermochemical Synthesis of Tricalcium Phosphate. *Journal of Materials Synthesis and Processing*. 5, 2001, Vol. 9.

**Kawachi, E. I., et al. 2000.** Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. *Química Nova*. 1, 2000, Vol. 23, pp. 518-522.

**Kenny, S. M. e Buggy, M. 2003.** Bone cements and fillers: a review. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1, 2003, Vol. 14, pp. 923-938.

**Khairoun, I., et al. 1999.** Addition of cohesion promoters to calcium phosphate cements. *Biomaterials*. 1, 1999, Vol. 20, pp. 393-398.

**Kokubun, S., Kashimoto, O. e Tanaka, Y. 1994.** Histological verification of bone bonding and ingrowth into porous hydroxyapatite spinous process spacer for cervical laminoplasty. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 173, 1994, Vol. 4, pp. 337-344.

**Komath, M., Varma, H. K. e Sivakumar, R. 2000.** On the development of an apatitic calcium phosphate bone cement. *Bulletin of material Science*. 2, 2000, Vol. 23, pp. 135-140.

**Kopylov, P., et al. 1999.** Norian SRS versus external fixation in redisplaced distal radial fractures: a randomized study in 40 patients. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1, 1999, Vol. 70, pp. 1-5.

**Kurashina, K., et al. 1997.** In vivo study of calcium phosphate cements, implantation of an [alpha]-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide cement paste. *Biomaterials*. 1, 1997, Vol. 18, pp. 539-543.

**Kutz, M. 2002.** *Standard Handbook of Biomedical Engineering and Design*. s.l. : McGraw-Hill Professional, 2002. 0071449337.

**Larsson, S. e Bauer, T. W. 2002.** Use of injectable calcium phosphate cement for fracture fixation: a review. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 1, 2002, Vol. 395, pp. 23-32.

**Leal, C. V. 2005.** *Desenvolvimento e Avaliação In Vitro de um Cimento de Fosfato de Cálcio*. Tese de mestrado; Campinas : FEM - UNICAMP, 2005.

**LeGeros, R. Z. 1991.** *Calcium Phosphates in oral Biology and Medicine*. Nova Iorque : Karger, 1991.

**Lemaitre, J., Mirtchi, A. e Mortier, A. 1987.** Calcium phosphate cement for medical use: state of the art and perspectives of development. *Sil. Ind. Ceram. Sci. Technol.* 1, 1987, Vol. 25, pp. 141-146.

**Liu, H., et al. 2008.** An in vitro evaluation of the Ca/P ratio for the cytocompatibility of nano-to-micron particulate calcium phosphates for bone regeneration. *Acta Biomaterialia.* 1, 2008, Vol. 4, pp. 1472-1479.

**Marchi, J., et al. 2007.** Influence of Mg-substitution on the physicochemical properties of calcium phosphate powders. *Materials Research Bulletin.* 1, 2007, Vol. 42, pp. 1040-1050.

**Michailescu, P., et al. 2005.** Antimicrobial activity and tightness of a DCPD - CaO - based hydraulic calcium phosphate cement for root canal filling. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials.* 1, 2005, Vol. 74, pp. 760-767.

**Mjör, I. A. 1997.** Selection os restorative materials in general dental practice in Sweden. *Acta Odontologica Scandinavica.* 1, 1997, Vol. 55.

**Monteiro, F. J. e San Román, J. 2004.** Biomateriales: Introducción y Desarrollo Histórico. R. Sastre, S. de Aza e J. S. Román. *Biomateriales*. Faenza : Faenza Editrice Iberica, 2004.

**Motisque, M., Carrodeguas, R. G. e Zavaglia, C. A. C. 2008.** Mg-Free Precursors for the Synthesis of Pure Phase Si-Doped [alfa]-Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. *Key Engineering Materials.* 2008, Vols. 361-363, pp. 199-202.

**Nilsson, M., et al. 2002.** Charcaterization of a novel calcium phosphate/sulphate bone cement. *Journal of Biomedical Materials Research Part A.* 4, 2002, Vol. 61, pp. 600-607.

**Nilsson, M., et al. 2002.** Microstructure Analysis of Novel Resorbable Calcium Phosphate/Sulphate Bone Cements. *Key Engineering Materials*. 1, 2002, Vols. 218-220, pp. 365-368.

**Ooms, E. M., et al. 2003.** Histological evaluation of the bone response to calcium phosphate cement implanted in cortical bone. *Biomaterials*. 1, 2003, Vol. 24, pp. 989-1000.

**Panzavolta, S., et al. 2009.** Alendronate and Pamidronate calcium phosphate bone cements: Setting properties and in vitro response of osteoblast and osteoclast cells. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 1, 2009, Vol. 103, pp. 101-106.

**Park, J. B. e Bronzino, J. D. 2003.** *Biomaterials: Principles and Applications*. Boca Raton : CRC Press, 2003.

**Pina, S, et al. 2009.** Influence of setting liquid composition and liquid-to-powder ratio on properties of a Mg-substituted calcium phosphate cement. *Acta Biomaterialia*. 1, 2009, Vol. 5, pp. 1233-1240.

**Pina, S., et al. 2009.** Newly developed Sr-substituted [alpha]-TCP bone cements. *Acta Biomaterialia*. 2009.

**Ratner, B. D. et al. 1996.** *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. San Diego : Academic Press, 1996.

**Rosenberg, A. 1999.** Bones, joints and soft tissues tumors. [A. do livro] R. S. Cotran, V. Kumar e T. Collins. *Robins pathological basis of disease*. Philadelphia : WB Saunders, 1999.

**Royer, P. 1993.** *Etude du recouvrement à basse température de matériaux orthopédiques par des phosphates de calcium*. Toulouse : Tese, INP Toulouse, 1993.

**Santos, L. A. 2002.** Desenvolvimento de Cimento de Fosfato de Cálcio Reforçado com Fibras para Uso na Área Médico-Odontológica. *Tese de Doutorado*. Campinas : FEM, UNICAMP, 2002.

**Santos, L. A., et al. 2003.** Dual-Setting Calcium Phosphate Cement Modified with Ammonium Polyacrylate. *Artificial Organs*. 5, 2003, Vol. 27, pp. 412-418.

**Santos, L. A., et al. 2000.** Fiber Reinforced Calcium Phosphate Cement. *Artificial Organs*. 3, 2000, Vol. 24, pp. 212-216.

**Sarda, S., et al. 2002.** Kinetic study of citric acid influence on calcium phosphate bone cements as water-reducing agent. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 4, 2002, Vol. 61, pp. 653-659.

**Schildhauer, T. A., et al. 2000.** Open reduction and augmentation of internal fixation with an injectable skeletal cement for the treatment of complex calcaneal fractures. *Journal of Orthopaedic Trauma*. 5, 2000, Vol. 14, pp. 309-317.

**Schmitz, J. P., Hollinger, J. O. e Milan, S. B. 1999.** Reconstruction of bone using calcium phosphate bone cements: a critical review. *Journal Oral Maxillofacial Surgery*. 1, 1999, Vol. 57, pp. 1122-1126.

**Serraj, S., et al. 2002.** Study of a hydraulic calcium phosphate cement for dental applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1, 2002, Vol. 13, pp. 125-131.

**Takahashi, K., et al. 2004.** Preparation and Compressive Strength of [alpha]-Tricalcium Phosphate Based Cement Dispersed with Ceramic Particles. *Ceramics International*. 2004, Vol. 30, pp. 199-203.

**Takeshita, F., et al. 1997.** Study of bone formation around dense hydroxyapatite implants using light microscopy, image processing and confocal laser scanning microscopy. *Biomaterials*. 18, 1997, Vol. 4, pp. 317-322.

**Theiss, F., et al. 2005.** Biocompatibility and Resorption of a Brushite Calcium Phosphate Cement. *Biomaterials*. 2005, Vol. 26, pp. 4383-4393.

**Willians, D.F. 1987.** Progress in Biomedical Engineering. *Definitions in Biomaterials*. 1987, Vol. 4.

**Xu, H. H. K., et al. 2002.** Processing and Properties of Strong and Non-Rigid calcium Phosphate Cement. *Research Reports: Biomaterials & Engineering*. 3, 2002, Vol. 81, pp. 219-224.

**Yetkinler, D. N., et al. 1999.** Biomechanical evaluation of fixation os intraarticular fractures of the distal part of the radius in cadavera: Krschner wires compared with calcium-phosphate bone cement. *Journal of Bone Joint Surgery*. 3, 1999, Vol. 81A, pp. 391-399.

**Yoshikawa, M. e Toda, T. 2000.** Reconstruction of Alveolar Bone Defect by Calcium Phosphate Compounds. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2000, Vol. 53, pp. 430-437.

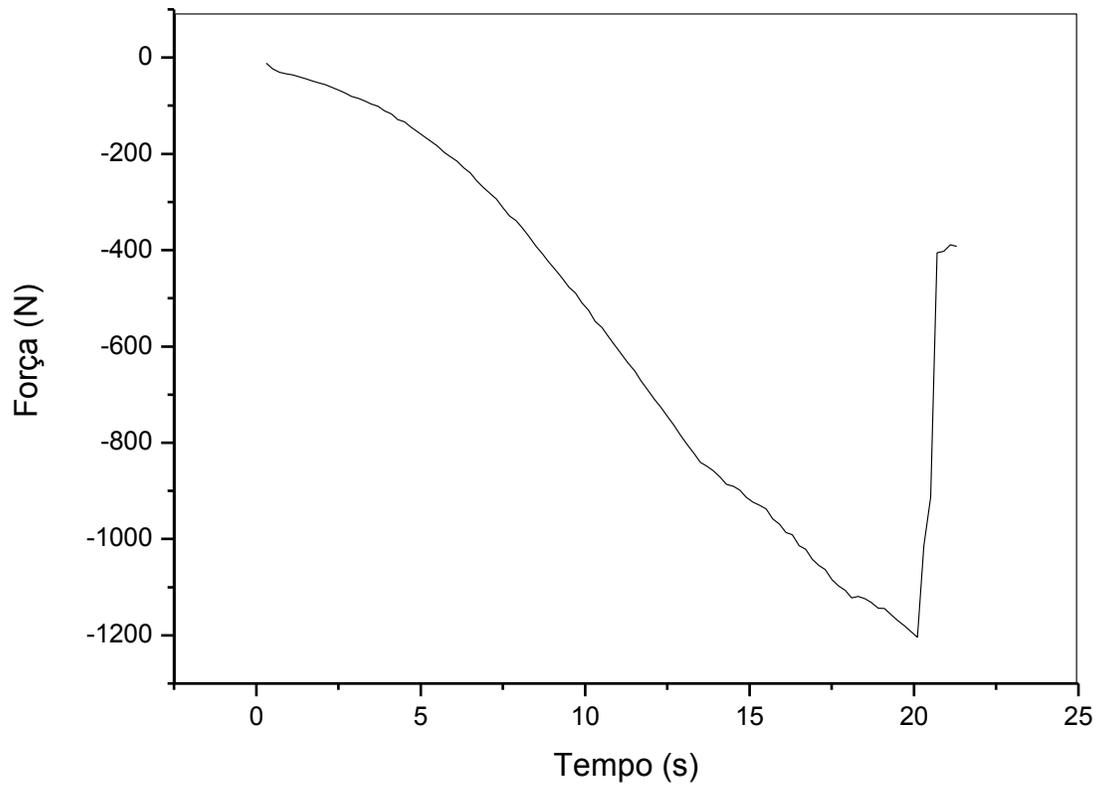
**Yoshikawa, M., Terada, Y. e Toda, T. 1998.** Setting Time and Sealing Ability of [alpha]-Tricalcium Phosphate Cement Containing Titanic Oxide. *Journal of Osaka Dental University*. 2, 1998, Vol. 32, pp. 67-70.

**Yu, T., et al. 2009.** Effect of biomedical prganic compounds on the setting reaction of calcium phosphates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009.

**Yuan, H. e De Groot, K. 2005.** Calcium Phosphate Biomaterials: an Overview. [ed.] R. L. Reis e S. Weiner. *Learning from Nature How to Design New Implantable Biomaterials: From Biomineralization Fundamentals to Biomimetic Materials and Processing Routes*. Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 2005.

## Anexo A

Gráfico típico do ensaio de compressão axial de um corpo de prova de cimento de fosfato de cálcio.



## Apêndice A

Difratograma de raios-X de monetita obtida em laboratório, demonstrando a pureza de fase.  
Todos os picos são de monetita.

