

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

VALÉRIA PEREIRA FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAIS COMPÓSITOS POLI-ÉTER-
ÉTER CETONA (PEEK)/HIDROXIAPATITA(HA)**

CAMPINA GRANDE – PB

2017

Valéria Pereira Ferreira

**DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAIS COMPÓSITOS POLI-ÉTER-
ÉTER CETONA (PEEK)/HIDROXIAPATITA(HA)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito final à obtenção do título de **Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais**.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook

Agência Financiadora: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES

CAMPINA GRANDE – PB

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

F383d Ferreira, Valéria Pereira.
Desenvolvimento de biomateriais compósitos Poli-Éter-Éter Cetona (PEEK)/ Hidroxiapatita (HA) / Valéria Pereira Ferreira. – Campina Grande, 2017.
79 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2017.

"Orientação: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook".
Referências.

1. Poli (-éter-éter-cetona). 2. Hidroxiapatita. 3. Compósitos. 4. Modelagem por Compressão. I. Fook, Marcus Vinicius Lia. II. Título.

CDU 678.7(043)

VITAE DO CANDIDATO

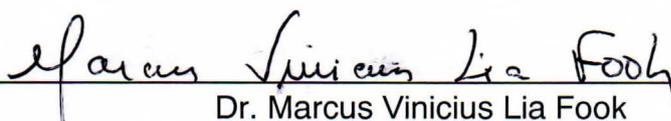
- Bióloga URCA (2010);
- Especialista em Análises Clínicas FLS (2011);
- Especialista em Docência Do Ensino Superior FIJ (2014);
- Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais pela UFCG (2017).

VALÉRIA PEREIRA FERREIRA

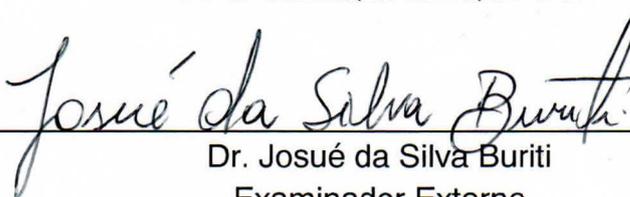
DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAIS COMPÓSITOS POLI-ÉTER-ÉTER
CETONA (PEEK)/HIDROXIAPATITA (HA)

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência e
Engenharia de Materiais como requisito
parcial à obtenção do título de **Mestre
em Ciência e Engenharia de
Materiais.**

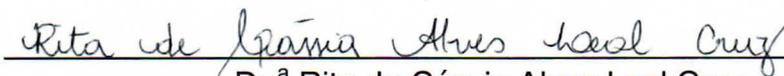
Aprovado em: 25/04/2017



Dr. Marcus Vinicius Lia Fook
Orientador
PPG-CEMat/UAEMa/UFCG



Dr. Josué da Silva Buriti
Examinador Externo
CERTBIO/UFCG



Dr.ª Rita de Cássia Alves Leal Cruz
Examinadora Externa
CERTBIO

*Dedico este trabalho a minha filha Maria
Luiza, fonte de toda a minha inspiraço.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela presença constante em minha vida e por todas as oportunidades de evolução. Aos meus irmãos espíritos de luz, que sempre me ajudaram a manter a minha caminhada iluminada.

A minha eterna gratidão a minha mãe Magna por todo amor dedicado incondicionalmente e por todo apoio em todas as minhas decisões. Ao meu pai Rogério Lopes Ferreira (*In Memoriam*) por todos os ensinamentos passados e por ser o meu exemplo de pessoa. A minha filha Maria Luiza, meu melhor presente e por me fazer uma pessoa melhor. Aos meus irmãos Amanda, Lívio e Lívia por todo amor, companheirismo, incentivo e cumplicidade. Ao meu marido Breno Arrais por todo amor e por todo apoio sempre. Agradeço a Francini minha segunda mãe por todo cuidado, amor e amizade prestada. Ao meu “Paidrasto” Tarcísio por sempre acreditar na minha capacidade, por todo incentivo e apoio. Agradeço as minhas famílias Aquino e Ferreira, por todo amor e carinho.

Ao meu orientador, Professor Dr. Marcus Vinicius Lia Fook, por toda e confiança a mim dedicada nesse período de CERTBIO, por todo o empenho em sempre me ajudar e também por todo carinho e compreensão.

A Rita de Cássia, Imara, Flavia e Milena meu agradecimento por todo apoio, amizade, e por toda contribuição científica e pelas correções e sugestões.

A minha amiga Flavia por toda amizade e por dividir comigo todos os prazeres e desprazeres dessa caminhada.

A Paulinha e Val pelos conselhos, amizade, confiança e por todo o acolhimento maternal a mim dedicado.

Aos meus amigos do CERTBIO, Baú, Mayelli, Ana Paula, Keyt, Hugo, Klaidson, Marcio, Otto, Gloria, Thiago, Willian, Glauber, Kleilton, Evelle, Gislaine, Daniel, Silvia, Lívia, Cris, Samuel, Day, Franci, Keyla, Josué, Rosseberg, Wladymyr, Alecssandra, por toda a amizade construída e por todo o apoio.

A todo o pessoal no NGI, em especial a, Toninho, Pedro, Tânia, Dailma e Suyana. Meus agradecimentos também a Sr. Sérgio que está sempre a disposição para ajudar a todos sem medir esforços.

A todos do Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO).

A todos os Docentes do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande.

Ao coordenador da pós-graduação professor Dr. Romualdo, e aos funcionários da coordenação de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, a André e Márcia por toda ajuda.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo suporte financeiro.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

Os estudos voltados para o desenvolvimento de biomateriais compósitos é crescente, esses materiais possuem a vantagem de associar as propriedades de cada material utilizado e atender melhor as exigências para cada aplicação. Nesta pesquisa foram utilizados o Poli (-eter-eter-cetona) (PEEK), polímero termoplástico com resistência às altas temperaturas, resistência química e elevada resistência ao desgaste e a Hidroxiapatita (HA), uma cerâmica biocompatível com principal característica é a semelhança química com a fase mineral do osso. O objetivo deste trabalho foi desenvolver compósitos PEEK/HA em diferentes proporções (60, 70 e 80%*m/v* de HA), e avaliar suas propriedades físico-químicas, e biológicas. Neste sentido foram desenvolvidas amostras dos compósitos nas diferentes proporções, onde foram compactados pelo método moldagem por compressão, seguido de tratamento térmico em mufla a aproximadamente 390 °C, por um período de 30 minutos. As amostras foram caracterizadas por Espectroscopia Vibracional de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios X (DRX), Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Bioatividade *in vitro*, Citotoxicidade e Adesão Celular. Nas caracterizações físico-químicas de FTIR e DRX não foi possível identificar alterações significativas. Os espectros FTIR de A1, A2 e A3, não apresentam formação de novas ligações químicas identificáveis. Nos difratogramas de DRX das amostras A1, A2 e A3 foi observado um perfil semelhante ao da fase cerâmica, com picos que aumentam de intensidade proporcional ao aumento da concentração de hidroxiapatita nos compósitos. Nas avaliações morfológicas dos compósitos observam-se superfícies rugosas com sinais de aspereza e com presença de cavidades, como também foi constatada a deposição de Apatita nas superfícies dos compósitos A1, A2 e A3 após imersão em SBF, demonstrando capacidade bioativa, apresentaram toxicidade média maior que 80%, e com isto biocompatibilidade, adesão e desenvolvimento celular satisfatória. Desta forma, pode-se concluir que a técnica utilizada se mostrou eficiente para o desenvolvimento dos compósitos PEEK/HA, sugerindo a aplicação vantajosa desses dispositivos para aplicação como biomaterial.

Palavras-chave: Poli(-éter-éter-cetona). Hidroxiapatita. Compósitos. Molsagem por Compressão.

ABSTRACT

The studies aimed at the development of composite biomaterials are increasing, these materials have the advantage of associating the properties of each material used and better meet the requirements for each application. In this research, Poly (ether-ether-ketone) (PEEK), thermoplastic polymer with resistance to high temperatures, chemical resistance and high resistance to wear and Hydroxyapatite (HA), a biocompatible ceramic with main characteristic is the chemical similarity with the mineral phase of the bone. The objective of this work was to develop PEEK / HA composites in different proportions (60, 70 and 80% m / v HA), and to evaluate their physicochemical and biological properties. In this sense, samples of the composites were developed in the different proportions, where they were compacted by the compression molding method, followed by heat treatment in a muffle at approximately 390 ° C, for a period of 30 minutes. The samples were characterized by Vibrational Absorption Spectroscopy in the Infrared Region with Fourier Transform (FTIR), X-ray Diffraction (XRD), Optical Microscopy (OM), Scanning Electron Microscopy (SEM), In Vitro Bioactivity, Cytotoxicity and Adhesion Cell phone. In the physical-chemical characterization of FTIR and XRD it was not possible to identify significant alterations. The FTIR spectra of A1, A2 and A3 do not show formation of new identifiable chemical bonds. In the XRD diffractograms of samples A1, A2 and A3 a profile similar to that of the ceramic phase was observed, with peaks increasing in intensity proportional to the increase of the hydroxyapatite concentration in the composites. In the morphological evaluations of the composites, rough surfaces with signs of roughness and presence of cavities were observed, as well as the deposition of Apatite on the surfaces of composites A1, A2 and A3 after immersion in SBF, demonstrating bioactive capacity, presented higher mean toxicity than 80%, and with it biocompatibility, adhesion and satisfactory cellular development. In this way, it can be concluded that the technique used was efficient for the development of PEEK / HA composites, suggesting the advantageous application of these devices for application as biomaterial.

Key words: Poly (ether-ether-ketone), hydroxyapatite, composites

PUBLICAÇÕES

Artigos aceitos

FERREIRA, V.P.; **SANTOS**, F.S.F.; DANTAS, M.Sá.; FOOK, M. V. L. Desenvolvimento e caracterização de compósitos poli (éter-éter-cetona)(PEEK)/Hidroxiapatita(HA). **REMAP**, 2017.

Artigos publicados em periódicos

SA, M. D.; SANTOS, F.S.F.; **FERREIRA**, V.P.; FOOK, M. V. L. Análise química, térmica e morfológica de compostos de PEEK/CaCO₃. **REMAP**, 2017.

SANTOS, F.S.F.; **FERREIRA**, V.P.; SA, M. D.; FOOK, M. V. L. Modificação da superfície do poli (éter-éter-cetona). **Matéria**, 2017.

Resumos publicados em anais de congressos

PIMENTEL, C.A.; REZENDE, R.A.; OLIVEIRA, M.F.; INFORCATTI N. P.; **SANTOS, F.S.F.**; SA, M. D.; **FERREIRA, V. P.**; SILVA, J. V. L.; FOOK, M. V. L. **3D structuring of PEEK by means of Additive Manufacturing SLS Process**. In: SBPMat, 2016, Campinas. XV Brazil MRS Meeting, 2016. São Paulo.

NASCIMENTO, I.V.S.R.; SOUZA, M.K.; FIDELES, T. B.; BARBOSA, W.T.; **FERREIRA, V.P.**; SANTOS, F.S.F.; FOOK, M.V.L. **Avaliação do efeito da reticulação em membranas de quitosana/piperina para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada**. In: 4ª Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais, 2015, Campina Grande. 4ª Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais, 2015. p. 68-68. Paraíba.

SA, M.D.; OLIVEIRA, H.M.L.; FIDELES, T.B.; SANTOS, F.S.F.; DANTAS, M.J.; **FERREIRA, V.P.**; FOOK, M.V.L. **Fio de sutura multifilamentado a base de quitosana: Uma revisão**. In: 4ª Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais, 2015, Campina Grande. 4ª Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais, 2015. Paraíba.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tipos de Ossos. (Junqueira e Carneiro, 2004).....	20
Figura 2 - a) Estrutura da hidroxiapatita – célula unitária; b) Estrutura da hidroxiapatita ao longo do eixo c. (Monte, 2003).	26
Figura 3 - Estrutura química do PEEK, (Lapa, 2008).....	32
Figura 4 - Molde cilíndrico de metal para produção das amostras.....	39
Figura 5 - Imagem das amostras A1, A2 e A3.....	39
Figura 6 - Fluxograma da Metodologia do Trabalho.....	40
Figura 7 - Imagens de Microscópio Ótico, referente às superfícies dos compósitos PEEK/HA A1, A2 e A3 com um aumento de 350x, respectivamente, 7(a), 7(b) e 7(c)	47
Figura 8 - Imagens de Microscópio Ótico, referente às seções transversais das fraturas dos compósitos PEEK/HA A1, A2 e A3, com um aumento de 60x, respectivamente, 8 (a), 8(b) e 8(c).	49
Figura 9 - Imagens de microscopia Óptica da superfície(a) e da secção transversal(b) de PEEK puro.....	49
Figura 10 - Imagens de microscopia óptica da superfície e da secção transversal dos compósitos A1(a) e (b), A2(c) e (d) e A3(e) e (f).	50
Figura 11 - Imagens de Microscopia eletrônica de Varredura dos compósitos A1(a) e (b), A2(c) e (d) e A3(e) e (f) em aumento de 1000x.....	52
Figura 12 - Espectroscopia na região do Infravermelho de A, B, A1, A2 e A3.	54
Figura 13 - Difractogramas de raios X da Hidrixiapatita (A), do PEEK (B), e dos compósitos PEEK/HA (A1, A2 e A3).	56
Figura 14 - Imagens de Microscopia Eletrônica de varredura de PEEK puro antes de imersão em SBF (a) e após 21 de imersão em SBF(b).	57
Figura 15 - Imagens de Microscopia Eletrônica de varredura dos compósitos A1(a), A2(b) e A3(c) antes de imersão em SBF.....	58
Figura 16 - Micrografias de MEV obtidas das amostras dos compósitos após ensaio de bioatividade <i>in vitro</i> após 7 dias de avaliação.....	58
Figura 17 - Micrografias de MEV obtidas das amostras dos compósitos após ensaio de bioatividade <i>in vitro</i> após 14 dias de avaliação.....	59
Figura 18 - Micrografias de MEV obtidas das amostras dos compósitos após ensaio de bioatividade <i>in vitro</i> após 21 dias de avaliação.....	60
Figura 19 - Histograma das amostras dos compósitos pesadas antes e após ensaio de bioatividade <i>in vitro</i> a 7, 14 e 21 dias de avaliação.....	61
Figura 20 - Micrografias de MEV da superfície da amostra A1 (a), (b), (c) e (d) depois do ensaio de adesão celular.	64
Figura 21 - Micrografias de MEV da superfície da amostra A2 (a), (b), (c) e (d) depois do ensaio de adesão celular.	64

Figura 22 - Micrografias de MEV da superfície da amostra A3(a), (b), (c) e (d) depois do ensaio de adesão celular. 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Biomateriais poliméricos e suas aplicações.	30
Tabela 2 - Principais propriedades do poli-éter-éter-cetona (PEEK).	32
Tabela 3 - Descrição das variações dos parâmetros na primeira fase da investigação exploratória.	37
Tabela 4 - Descrição das variações dos parâmetros na segunda fase da investigação exploratória.	37
Tabela 5- Parâmetros utilizados no método de processamento.	38
Tabela 6 - Identificação dos biocompósitos obtidos.	39
Tabela 7 - Concentração iônica do fluido corpóreo simulado e do plasma sanguíneo humano (10^{-3} mol/L) (Ramirez, 2010).....	42
Tabela 8 -Reagentes utilizados para preparação do SBF.	43
Tabela 9 - Bandas e tipos de vibrações características dos grupamentos do PEEK.	53
Tabela 10 - Resultado do cálculo do índice de cristalinidades das amostras A, A1, A2 e A3.	56
Tabela 11 - Média da viabilidade celular para amostras dos compósitos A1, A2 e A3.	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

ASTM - American Society for Testing and Materials

ATG - Análise termogravimétrica

DRX - Difração de raios X

DSC - Calorimetria Exploratória Diferencial

FTIR - Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier

HA - Hidroxiapatita

ISO - International Organization for Standardization

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

MO - Microscopia Óptica

PEEK – Polyetheretherketone (poli(éter- éter-cetona))

PED – *Precision extrusion deposition*

SBF – Simulated body fluid

Tg – Temperatura de transição vítrea

Tf – Temperatura de fusão

SUMÁRIO

VITAE DO CANDIDATO	3
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Tecido Ósseo	19
2.1.1 Composição, Estrutura e Propriedades do Osso	21
2.2 Engenharia de Tecidos	22
2.3 Biomateriais	23
2.3.1 Biomateriais Cerâmicos	25
2.3.2 Hidroxiapatita (HA)	25
2.3.3 Biomateriais Poliméricos	27
2.3.4 Poli(-éter-éter-cetona) (PEEK)	31
2.3.5 Biomateriais Compósitos	33
2.4 Moldagem por Compressão	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS	36
3.1 Materiais	36
3.2 Metodologia	36
3.2.1 Preparação das Amostras	36
3.2.2 Estudos Preliminares	37
3.2.3 Fluxograma Experimental	40
3.3 Caracterizações dos Compósitos	40
3.3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	40
3.3.2 Difração de Raios X (DRX)	41
3.3.3 Microscopia Ótica (MO)	41
3.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	41
3.3.5 Ensaio de Bioatividade in vitro	42
3.3.6 Citotoxicidade	44
3.3.7 Adesão Celular	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
4.1 Microscopia Ótica (MO)	47
4.1.1 (Primeira Etapa/ Segunda Fase)	47
4.2 Microscopias Ótica (MO)	49
4.2.1 Segunda Etapa	49

4.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	51
4.4	Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) 53	
4.5	Difratometria de Raios x (DRX).....	55
4.6	Bioatividade In Vitro	57
4.7	Citotoxicidade	62
4.8	Adesão Celular	63
5	CONCLUSÕES.....	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
	ANEXOS.....	79

1 INTRODUÇÃO

A Engenharia de Tecidos consiste em uma área de investigação voltada para o auxílio de indivíduos cujos tecidos do corpo apresentem consequências traumáticas de doenças ou lesões, reparando e/ou regenerando suas respectivas partes e funções. Como também, têm impulsionado varias pesquisas na busca e no desenvolvimento de materiais que possam se adaptar às especificidades do ambiente biológico, sejam eles polímeros, cerâmicas, metais ou compósitos (Amini; Laurencin; Nukavarapu, 2012; Raghavendra; Varaprasad; Jayaramudu, 2015; Wang *et al.*, 2015; Moreno *et al.*, 2016).

Um material para atuar como substituinte ósseo deve conjugar fatores como: biocompatibilidade, previsibilidade, aplicação clínica, ausência de riscos transoperatórios e sequelas pós-operatórias mínimas. Apesar de ainda não existir um material que preencha todos esses requisitos, uma ampla variedade de materiais tem sido desenvolvidos a partir dos avanços científicos e tecnológicos (Oliveira, 2003).

O desenvolvimento de materiais compósitos vem sendo bastante pesquisado no intuito de associar estrutura e processamento para mimetizar os materiais biológicos. E dentre esses vários materiais, nesta pesquisa foram utilizados uma cerâmica (hidroxiapatita (HA)) e uma polímero (poli-(éter-éter-cetona)(PEEK)).

A HA que é uma cerâmica biocompatível que apresenta semelhanças com a componente mineral dos ossos e dentes naturais, tendo a capacidade de interagir quimicamente com e tem cerca de 70% em peso do osso é composto de HA - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (Bertazzo, 2004, Lima, 2012).

O (PEEK) polímero termoplástico semicristalino pertencente à classe dos polímeros de engenharia de alto desempenho apresenta excelente desempenho como: boas propriedades mecânicas, com estabilidade a temperaturas elevadas (superiores a 300°C), resistência a danos por radiação, e compatibilidade química com agentes de reforço tais como o vidro, fibras de carbono e hidroxiapatita. Esses materiais apresentam propriedades que associadas proporcionam uma opção para tratamento cirúrgico de falhas nos tecidos ósseos (Kurtz, 2012).

Em pesquisas desenvolvidas associando esses materiais, Wang *et al.* (2010) estudaram as propriedades mecânicas de nanocompósitos de PEEK/HA

processados em moldagem por injeção. Hahn *et al.* (2013) desenvolveram um material composto de PEEK, com deposição de HA na superfície. Em outro trabalho, (Santana, 2010) realizaram o processamento de compósitos a partir de PEEK/fibra de carbono por moldagem por compressão a quente.

O desenvolvimento de materiais bioativos na ortopedia constitui-se num desafio permanente, neste contexto, o objetivo deste trabalho consiste no desenvolvimento de compósitos HA/PEEK pelo método de moldagem por compressão, e avaliar as propriedades físico-químicas, morfológicas e o estudo do comportamento biológico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tecido Ósseo

O sistema esquelético é formado por ossos, tendões, ligamentos e cartilagem. O osso é um tecido vivo complexo e dinâmico, principal tecido do corpo humano, e compõe a maior parte do esqueleto (Roberts; Garetto, 2000). É constituído de tecido ósseo, cartilagem, tecido conjuntivo denso, tecido epitelial, tecido hematopoiético (tecido formador do sangue), tecido adiposo e tecido nervoso. O tecido ósseo é responsável por várias funções básicas, tais como: suporte, proteção dos órgãos vitais (cérebro e os pulmões), armazenamento de minerais e produção de células sanguíneas (Lúcio, 2008).

O tecido ósseo formado por células (Osteócitos, Osteoblastos e Osteoclastos), material extracelular calcificado, e matriz óssea (Junqueira; Carneiro, 2008). As células são os osteócitos, que se situam em cavidades ou lacunas no interior da matriz; os osteoblastos, que sintetizam a parte orgânica da matriz e localizam-se na sua periferia; e os osteoclastos, que são células gigantes, móveis e multinucleadas que reabsorvem o tecido ósseo, participando dos processos de remodelação dos ossos. As células ósseas se localizam dentro do próprio tecido ósseo ou no estroma conjuntivo da medula óssea (Fernández; Tresguerres; Hernández; Gil *et al.*, 2006).

O esqueleto é de fundamental importância para o corpo tanto biomecanicamente como metabolicamente, os ossos constituem aproximadamente 20% do peso corporal, e diferem do tecido conjuntivo na rigidez e dureza. Estas características dos ossos são resultado da impregnação dos sais inorgânicos pela matriz, que consiste de fibras colágenas, e uma grande variedade de proteínas não colagenosas e minerais (Mota *et al.*, 2008).

A rigidez e dureza dos ossos do esqueleto permitem manter a forma do corpo; servem de suporte para as partes moles e protegem os órgãos vitais, como os contidos nas caixas craniana e torácica e no canal raquidiano; além de alojar e proteger a medula óssea, formadora das células do sangue (Junqueira; Carneiro, 2004).

De acordo com sua forma e outras características, os ossos podem ser: longos, nos quais o comprimento predomina sobre a largura e a espessura (ossos

do braço, antebraço, coxa e perna) e que apresentam um corpo, com canal central (cavidade que contém medula óssea) e duas extremidades, as epífises; o corpo e as partes adjacentes das extremidades são denominados diáfise, sendo que os ossos com características semelhantes, que, entretanto, não apresentam cavidade medular, como as costelas, são chamados alongados; curtos, em que as três dimensões se equivalem aproximadamente (ossos do tarso); planos ou laminares, nos quais o comprimento e a largura predominam acentuadamente sobre a espessura (ossos da calota craniana); e pneumáticos, que apresentam cavidades contendo ar (frontal, maxilas, esfenoide e temporais). Incluídas em tendões ou ligamentos, especialmente na mão e no pé, há ainda peças ósseas denominadas sesamóides. A rótula ou patela, situada na espessura do tendão do músculo quadríceps femoral, ao nível do joelho, está nessa categoria. No crânio há ainda peças ósseas acessórias, entre as quais as mais conhecidas são os ossos suturais ou fontanelares, ao longo de articulações ósseas da calota craniana. A Figura 1 ilustra os tipos de ossos (Junqueira e Carneiro, 2012).

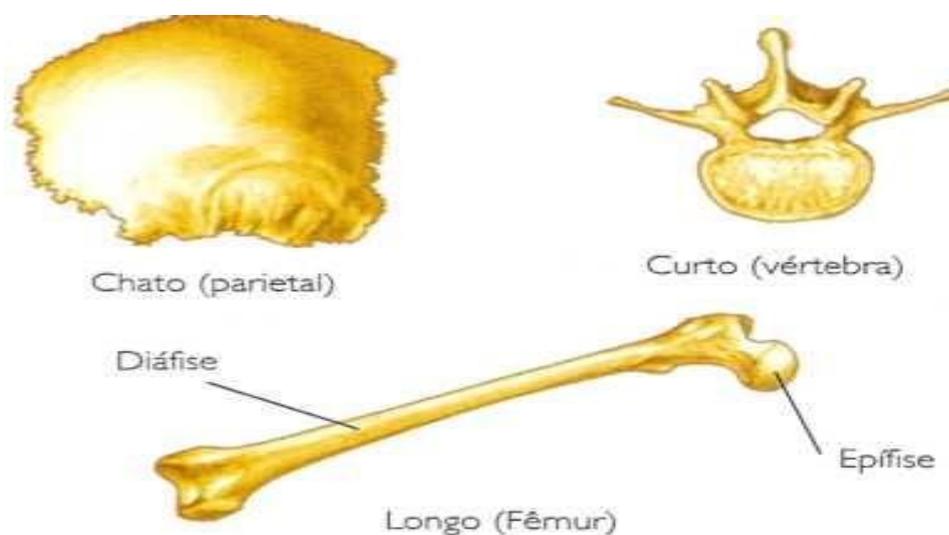


Figura 1 - Tipos de Ossos. (Junqueira e Carneiro, 2004).

O osso atua como um ponto de ancoragem para a maior parte dos músculos esqueléticos e ligamentos. Com a contração dos músculos, os ossos longos agem como alavancas, e as juntas funcionam como eixos, originando o movimento do corpo (Park; Llinás; Goel, 2006).

2.1.1 Composição, Estrutura e Propriedades do Osso

O osso humano é um material compósito constituído de fase orgânica e inorgânica. A fase orgânica é composta de matéria orgânica e água. O colágeno do tipo I constitui de 80% a 90% do componente orgânico do osso. Como se trata de uma proteína fibrosa estrutural, o colágeno oferece ao osso força e flexibilidade (Sinha *et al.*, 2001; Mota *et al.*, 2008).

Além de colágeno, a matriz orgânica apresenta outros componentes não colagenosos, tais como, a osteocalcina, osteonectina, osteopontina, entre outros, que estão presentes em pequenas quantidades, mas importantes na estrutura e metabolismo ósseo. Essas proteínas podem influenciar nos eventos associados à remodelação óssea, tais como o recrutamento, a adesão, a diferenciação e atividade das células ósseas (Ingram *et al.*, 1993; Machado Do Reis *et al.*, 2008).

A parte inorgânica é constituída por vários íons, sendo o fosforo e o cálcio os mais encontrados. O cálcio e o fósforo formam cristais que mostraram ter a estrutura próxima da hidroxiapatita, com a seguinte composição: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Há também traços de bicarbonato, magnésio, potássio, sódio e citrato (Turek, 1991; Junqueira; Carneiro, 2004). A água, juntamente com a fase mineral e o colágeno, desempenha um papel importante nas propriedades mecânicas do osso (Wang *et al.*, 2010).

O osso é constituído por duas partes sendo osso cortical e osso trabecular. O Cortical é uma massa densa e sólida, com apenas canais microscópicos. Segundo Jee (2001), aproximadamente 80% da massa óssea no esqueleto humano adulto é osso cortical, que constitui a parede exterior de todos os ossos e é o grande responsável pela função de apoio e proteção do esqueleto. O osso cortical se estrutura em condutos de Havers (vasos sanguíneos menores) recobertos por lâminas em disposição concêntrica onde estão situados os osteócitos e é caracterizado por pouca atividade metabólica e poucas células (Moraes Júnior, 2002, Fernández-Tresguerres-Hernández; Gil *et al.*, 2006).

Os 20% restantes da massa óssea é o osso trabecular (esponjoso), uma estrutura tridimensional interconectada conhecida como trabécula, cada uma apresentando aproximadamente 200 μm de espessura. O osso trabecular tem uma

porosidade entre 75%-95% com poros interligados e cheios de medula óssea, tendo a função de receber cargas e responder rapidamente às necessidades fisiológicas (Jee, 2001).

O osso não é dúctil nem frágil, e sim uma combinação de ambos, sendo a parte mineral mais frágil e a parte orgânica mais flexível. (Diniz; Dionísio, 2005).

A parte inorgânica do osso é mais rígida, com um módulo de 114 GPa em comparação com 18 GPa do osso. O colágeno ósseo, por outro lado, não oferece qualquer resistência à compressão, mas possui uma resistência à tração cinco vezes a do osso (Junqueira; Carneiro, 2004).

2.2 Engenharia de Tecidos

A Engenharia de Tecidos consiste em uma área de investigação voltada para o auxílio de indivíduos cujos tecidos do corpo apresentem consequências traumáticas de doenças ou lesões, reparando e/ou regenerando suas respectivas partes e funções (Moreno *et al.*, 2016).

Os desafios da engenharia de tecidos envolvem abordagens interdisciplinares e tecnologias que vão da biologia à engenharia. Muitos problemas ainda estão envolvidos na eficácia dos métodos de engenharia de tecidos como as fontes celulares, construção dos suportes (*scaffolds*), semeadura das células, ambiente de cultura, análise da produção de matriz extracelular, propriedades mecânicas da construção célula-suporte e modelos *in vivo* apropriados (Ikada, 2006)

O estudo das interações entre células e suporte na engenharia de tecidos é de grande importância para a determinação das propriedades biológicas dos implantes. A diversidade de respostas celulares a diferentes materiais evidencia a capacidade das células de discriminar quimicamente o suporte e de se adaptar a ele, e de aderir ou não à sua superfície (Anselme, 2000). Este evento é importante, pois a adesão das células ao suporte poderá influenciar em eventos celulares posteriores à adesão como a proliferação, viabilidade e migração celular.

Dessa forma, a Engenharia de Tecidos visa a criação ou formação induzida de um tecido específico, numa localização específica, por meio da seleção e manipulação de células, biomateriais, e estímulos biológicos. Os tecidos construídos, por sua vez, devem exibir histoquímica, propriedades químicas e biomecânicas

semelhantes às do tecido que se pretende substituir (Puppi *et al.*, 2010; Raghavendra; Varaprasad; Jayaramudu, 2015).

2.3 Biomateriais

Por séculos, quando tecidos tornavam-se doentes ou danificados, os médicos tinham poucos recursos e, portanto a remoção da parte afetada era a única alternativa. A remoção de juntas, vértebras, dentes ou órgãos conduziam a uma insignificante melhora na qualidade de vida. Contudo, a expectativa de vida humana raramente excedia a diminuição progressiva na qualidade dos tecidos, logo a necessidade de substituir as partes danificadas era pequena. Durante o último século a situação mudou acentuadamente. A descoberta de anti-sépticos, penicilina e outros antibióticos, tratamento químico da água fornecida, melhora na higiene, e vacinação contribuíram para o aumento da expectativa de vida do homem em países desenvolvidos, podendo atualmente alcançar uma faixa de mais de oitenta anos (Leal, 2012).

Um biomaterial é uma substância desenvolvida para ter uma forma que, sozinho ou como parte de um sistema complexo, é usado para direcionar, pelo controle de interações com os componentes de sistemas vivos, o curso de qualquer processo de diagnóstico ou terapêutico, em medicina humana ou veterinária (Williams, 2009). Essa definição está em constante evolução, agrupando as funções e os conceitos que os novos campos do conhecimento propõem (Lima, 2010).

Esse tipo de material tem como objetivo fundamental melhorar a saúde humana, restaurando a função dos tecidos vivos naturais e órgãos do corpo, para isto é importante o conhecimento das relações entre as propriedades, funções e estruturas dos materiais biológicos (Park; Lakes, 2007).

Estes materiais devem possuir características imprescindíveis como: biocompatibilidade, estabilidade química, estabilidade mecânica adequada, peso, densidade e forma adequadas, baixo custo, reproduzível, de fácil fabricação e ser biofuncional, ou seja, desempenhar a função para a qual foi projetado com eficiência (Park e Lakes, 2007).

Entende-se por biocompatibilidade a capacidade de um biomaterial de desempenhar a função desejada sem provocar efeitos indesejáveis ao organismo, mas gerar uma resposta adequada e otimizar o seu desempenho (Williams, 2008).

Biodegradável é um termo utilizado para polímeros e dispositivos sólidos que devido à degradação macromolecular sofrem dispersão *in vivo*, sem a eliminação dos produtos e subprodutos tóxicos (Vert *et al.*, 1992).

Estas definições destacam a importância de que um biomaterial não deverá produzir quaisquer efeitos adversos clinicamente significativos no hospedeiro. Como reflexo mais concreto, as diretrizes ISO 10993 representam uma série de normas para avaliar a biocompatibilidade de um dispositivo médico antes de um estudo clínico (Jiang *et al.*, 2014).

Essas características são desafiadoras e fundamentais para o desenvolvimento e para a escolha de um biomaterial. Dentre esses aspectos, a interação dos tecidos vivos com o biomaterial, associada com o tipo de resposta do organismo à presença deste material, é o ponto mais desafiador no desenvolvimento de biomateriais, pois se faz necessário entender os aspectos morfológicos e funcionais do organismo humano, incluindo a sua resposta imunológica (Pereira, 1999).

O critério de seleção de um biomaterial é baseado principalmente na aplicação a que se destinam. Por exemplo, em aplicações ortopédicas e odontológicas os materiais são componentes de implantes estruturais (próteses de articulações e implantes de raiz de dentes) ou são usados para reparar defeitos ósseos (parafusos, placas e pinos inseridos em osso) (Park; Lakes, 2007). Esta seleção do material a ser utilizado deve levar em consideração também as propriedades físicas, químicas e mecânicas do material.

A partir do entendimento de que a estrutura do corpo humano possui diferentes classes e apresentam várias características e propriedades, diferentes são os materiais aplicados como biomateriais: metálicos, poliméricos, cerâmicos e compósitos (O'Brien, 2011).

2.3.1 Biomateriais Cerâmicos

Os biomateriais cerâmicos têm sido bastante utilizados em virtude da sua semelhança estrutural, química e física com a matriz mineral óssea, não induzindo reação imunológica ou tóxica (Dalapiculate *et al.*, 2006).

Esses materiais são compostos inorgânicos, não metálicos, tipicamente duros, frágeis, apresentando altas temperaturas de fusão, baixa condutibilidade elétrica e térmica e boa estabilidade química. Possui uma ampla faixa de aplicações e por isso seu uso tem se intensificado na área médica e odontológica (Oréfice *et al.*, 2006).

Os biomateriais cerâmicos satisfazem necessidades tão diversas como: baixos coeficientes de atrito para a lubrificação de próteses articulares, superfícies de válvulas de coração que evitam coagulação do sangue, materiais que estimulem o crescimento ósseo e aqueles que podem prender espécies radioativas para tratamentos terapêuticos. Estes materiais podem ser encontrados na forma de microesferas, camadas ou coberturas finas em implantes metálicos, estruturas porosas, e também em compostos com componentes poliméricos, como os compósito). Materiais que podem ser classificados como biocerâmicas incluem alumina, zircônia, vidros ou, carbonos pirolíticos e fosfatos de cálcio. (Azevedo *et al.*, 2007). E dentre os fosfatos de cálcio que apresentam as propriedades estruturais acima citadas, podemos citar a hidroxiapatita (HA).

2.3.2 Hidroxiapatita (HA)

Os ossos e os dentes presentes em todos os vertebrados são materiais compósitos naturais, formados por aproximadamente 65 % de massa inorgânica, que apresenta uma fase apatítica com estrutura cristalográfica e composição química próxima à hidroxiapatita, cerâmica pertencente à família dos fosfatos de cálcio. Na composição restante é encontrada a matéria orgânica, em sua maioria colágeno, e água. Os cristais de hidroxiapatita presentes nesses tecidos estão dispersos na matriz orgânica, apresentam entre 4 % e 8 % de carbonato, e medem, em média, 20-50 nm de comprimento, 15-30 nm de largura, com espessura de 1,4 a 5 nm (Gómez-Morales *et al.*, 2013; Sadat-Shojai *et al.*, 2013).

A hidroxiapatita (HA) é uma cerâmica biocompatível produzida por reações, que geralmente ocorrem em altas temperaturas e é uma forma de fosfato de cálcio altamente cristalina. A principal propriedade dessa cerâmica é sua semelhança química com a fase mineral do osso (Hak, 2007).

A hidroxiapatita sintética, que apresenta a fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, é um biomaterial do grupo dos fosfatos de cálcio (CaP), pertencente à família das apatitas ($\text{A}_{10}(\text{BO}_4)_6\text{X}_2$, com $\text{A}=\text{Ca}$, $\text{B}=\text{P}$ e $\text{X}=\text{OH}$).

A célula unitária desta cerâmica, representada na Figura 2 (a) e (b), pertence ao sistema hexagonal. A estrutura cristalina da HA consiste numa rede de dimensões nanométricas de íons hidroxila (OH^-) localizados no centro de triângulos de Ca^{2+} junto ao eixo c da célula unitária hexagonal, encontrando-se os íons OH^- alinhados em colunas paralelas ao eixo c, juntamente com os íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} (Gittings, 2009).

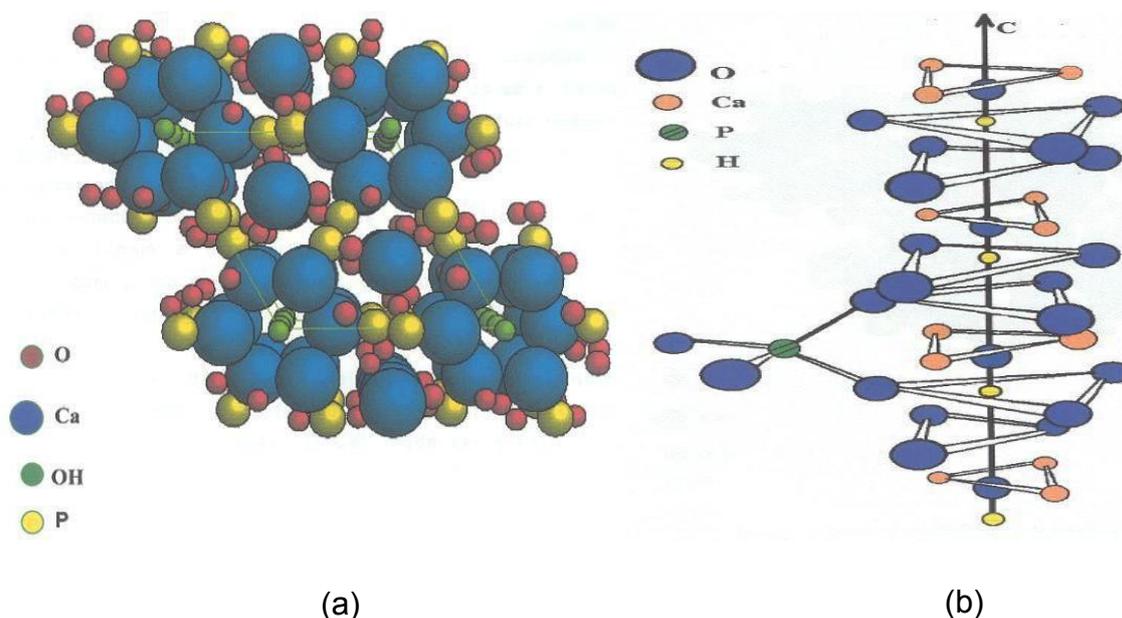


Figura 2 - a) Estrutura da hidroxiapatita – célula unitária; b) Estrutura da hidroxiapatita ao longo do eixo c. (Monte, 2003).

Além da similaridade que a hidroxiapatita sintética apresenta com a fase inorgânica encontrada no tecido ósseo, sua biocompatibilidade, biodegradabilidade,

osteocondução e, principalmente, bioatividade, tem levado à ampla utilização como biomaterial para fins de substituição e regeneração desse tecido (Hutmacher *et al.*, 2007; Zhou e Lee, 2011). Quando implantada em sistemas *in vivo*, a atividade celular provoca a dissolução parcial da HA, havendo liberação dos íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} e aumento da saturação nos fluidos biológicos, que conduz à precipitação de apatitas carbonatadas. Estas, por sua vez, localizadas na superfície do implante, facilitam a adesão de proteínas e contribuem para a adesão, proliferação e diferenciação de células osteogênicas (Gittings, 2009).

A biocompatibilidade da HA resulta numa resposta adequada que, efetivamente, melhora a força de ligação entre este biomaterial e o tecido ósseo. Por sua vez, bioatividade, é a capacidade que um material tem de formar, seletivamente, hidroxiapatita semelhante à existente no osso após imersão do mesmo numa solução simuladora de fluido corporal (Hench e Polak, 2002).

A osteocondução é a capacidade da HA para adsorver fatores de crescimento osteogênico e criar condições adequadas ao local, permitindo a fixação e proliferação de vários tipos de células, bem como a formação de novo osso à sua superfície, promovendo a adesão da matriz (Zhang, 2009).

A forma de degradação da HA é mais uma de suas vantagens ocorrendo de forma semelhante à degradação natural do tecido ósseo, por osteoclastos, sugerindo a possibilidade de completa degradação durante o remodelamento normal do osso, o que seria ideal (Borges *et al.*, 2000; Vaccaro *et al.*, 2003).

Dentre suas várias indicações de uso, destaca-se o reparo de defeitos ósseos em aplicações odontológicas, oftalmológicas e ortopédicas e a regeneração guiada de tecidos ósseos, a reconstrução bucomaxilofacial (Pinto *et al.*, 2007). Diversas pesquisas demonstraram a eficácia da HA na regeneração de defeitos ósseos (Borges *et al.*, 2000; Bansal *et al.*, 2009; Garrido *et al.*, 2010).

2.3.3 Biomateriais Poliméricos

Dentre os materiais utilizados como biomateriais, os polímeros apresentam grande potencial de utilização, pois são, geralmente, fáceis de produzir e manusear e geralmente apresentam propriedades mecânicas semelhantes às de determinados materiais biológicos.

Os polímeros podem ser de origem natural ou sintética, o uso destes como biomateriais é devido às várias características que apresentam e que os tornam muitas vezes essenciais para desempenhar funções específicas no organismo, dentre suas características importantes, podemos destacar as propriedades físico-químicas, sua versatilidade estrutural (que permite adequá-los a cada aplicação específica), diversidade e a relativa simplicidade de obtenção (Bispo, 2009).

A facilidade de fabricação e produção de formas variadas, facilidade de processamento e custo razoável. A característica principal requerida para ser um biomaterial polimérico é semelhante a outros biomateriais, isto é, a biocompatibilidade, estabilidade, propriedades mecânicas e físicas adequadas para uso em meio biológico (Wong; Bronzino, 2007).

Na Tabela 1 são apresentados vários dos mais importantes polímeros utilizados como biomateriais, bem como suas respectivas aplicações. Dentre os biomateriais que apresentam as características necessárias, destaca-se o poli(-éter-éter-cetona) (PEEK).

Tabela 1 - Biomateriais poliméricos e suas aplicações.

Polímeros	Aplicações
Poliétilenos	Suturas, cateteres, membranas, próteses ortopédicas e maxilofaciais
Polipropileno	Seringas, membranas, tubos, vasos artificiais, suturas, etc
Poliálcool vinílico	Produção de géis e membranas para a liberação controlada
Politetrafluoroetileno (Teflon)	Vasos artificiais, cliques e suturas e recobrimentos de drogas e imunisolamento de células
Poliâmida (Nylon)	Suturas, tecidos e membranas
Policloreto de vinila (PVC)	Recobrimentos, embalagens, tubos, etc
Poli(tereftalato de etileno)	Suturas, tecidos, vasos artificiais, válvulas, etc
Poliuretano	Prótese, vasos artificiais, cateteres e coração
Poli(metacrilato de metila) (PMMA)	Confecção de próteses odontológicas, lentes intraoculares e cimento ósseo
Poli(ácido glicólico) e Poli(ácido láctico)	Suturas biodegradáveis, matriz para liberação controlada de drogas, implantes ortopédicos biodegradáveis, suporte para crescimento de tecidos
Poli(óxido de etileno)	Regulador de viscosidade de fluidos, matriz para liberação controlada de drogas, etc
Poli(caprolactona)	Suturas, matriz para liberação controlada de drogas
Alginato	Matriz para imobilização de células e enzimas e liberação controlada de drogas
Quitosana	Matriz para liberação controlada de drogas
Ácido hialurônico	Lubrificante e agente terapêutico
Colágeno	Suturas, tecidos, matriz para liberação controlada

Fonte: (Oréfice, 2006).

2.3.4 Poli(-éter-éter-cetona) (PEEK)

O poli (éter-éter-cetona) pertencente a maior família dos polímeros poliariletercetona (PEAK), ele foi originalmente desenvolvido no final de 1970 pela indústria aeroespacial nos Estados Unidos da América (EUA). Historicamente, a disponibilidade do PEEK chegou num momento em que havia um interesse crescente no desenvolvimento de hastes e placas de fixação de fratura, com rigidez comparável a do osso. No final de 1990, o PEEK com grau de elevada pureza e implantável conhecido como PEEK-OPTIMA[®] Invibio, foi comercializado e, posteriormente aceito pela indústria de dispositivos médicos como o principal candidato termoplástico de alto desempenho para substituir os componentes de implantes de metal, especialmente em ortopedia e traumatologia (Kurtz e Devine, 2007; Kurtz, 2010; Kurtz, 2012).

Polímero termoplástico semicristalino, o PEEK pertencente à classe dos polímeros de engenharia de alta performance. O PEEK apresenta bom desempenho como: boas propriedades mecânicas (módulo elástico, dureza, fadiga, abrasão e resistência ao desgaste), químicas e resistência a altas temperaturas (superiores a 300°C), resistência a danos por radiação, e compatibilidade química com agentes de reforço tais como o vidro, fibras de carbono e hidroxiapatita sendo essas propriedades adequadas para uso como biomaterial (Kurtz; Devine, 2007, Chen *et al.*, 2012, Lima, 2012).

Além dessas propriedades, o PEEK trata-se de um polímero que apresenta certa flexibilidade quanto à escolha do processamento, podendo este, ser processado por moldagem por injeção, extrusão e compressão. O PEEK é utilizado em uma variedade de aplicações, atualmente é muito utilizado como material de base para vários dispositivos médicos, como em cirurgia da coluna, é um excelente candidato para substituir implantes metálicos tradicionais feitos de titânio (Chen *et al.*, 2012; Silva, 2011). Na Tabela 2 são apresentadas as principais propriedades do PEEK.

Tabela 2 - Principais propriedades do poli-éter-éter-cetona (PEEK).

Principais Propriedades do PEEK	
Densidade (ASTM D 792)	1320 kg/m ³
Modulo de Young (<i>E</i>)	3.6 GPa
Força de Tensão (σ_t)	90-100 Mpa
Elongação da Ruptura	50 %
Resistência a Compressão	130 Mpa
Temperatura de Transição Vítrea	143 °C
Temperatura de Fusão	340 °C
Temperatura de Deflexão (1.8 N/mm ²)	160 °C
Resistência Dielétrica	24 KV/mm
Reistividade Volumétrica (ASTM D257)	4.90 x 10 ¹⁶ . Ohm.cm
Condutividade Térmica (ASTM C177)	0.25 W/m.K
Absorção de água, 24 horas (ASTM D570)	0.50 %

Fonte: PEEK, 2014.

A molécula deste polímero é relativamente rígida, devido à presença do anel aromático (benzeno) ao longo da cadeia, no entanto, a molécula tem a liberdade para girar axialmente sobre o éter (Figura 3). O benzeno é volumoso e estável e esta estabilidade se da devido à insaturação não ser fixa, presente nas ligações duplas do anel aromático. A estabilidade do benzeno influencia também no elevado ponto de processamento do mesmo. Devido à presença do anel aromático a sua cadeia irá apresentar uma maior rigidez e menor mobilidade (Kurtz, 2012).

Essa rigidez da cadeia ocasionada pela presença do anel aromático ocasiona uma alta temperatura de transição vítrea (*T_g*) (Lima, 2012).

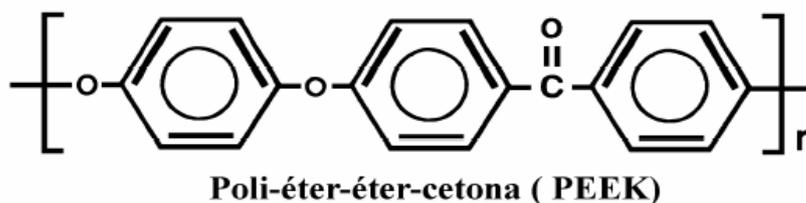


Figura 3 - Estrutura química do PEEK, (Lapa, 2008).

Experiências clínicas mostram que o uso da poli(éter-éter-cetona) em seres humanos não revelou até o momento nenhuma preocupação quanto à reação carcinogênicas. Além disso, na última década o PEEK teve um grande impacto clínico na área biomédica, principalmente devido às suas características radiolúcidas, ou seja, os implantes fabricados a partir do PEEK são compatíveis com os diagnósticos de imagem, ao contrário dos implantes metálicos (Toth, 2006).

Algumas pesquisas tem justificado o crescimento da aceitação do PEEK como biomaterial e sua aplicação no campo da cirurgia de coluna vertebral (Hahn et al., 2013)(Abode-Iyamah *et al.*, 2014). O PEEK vem sendo utilizado também como compósitos bioativos de PEEK/HA como material alternativo para aplicação ortopédica de suporte de carga, e tem apresentado melhor fixação do implante e interação com o hospedeiro. Tang et al.,(2013). O'Reilly et al., (2015) estudaram a reconstituição de cranioplastia com placa de PEEK, obtendo excelência na precisão anatômica, baixo custo e estética favorável.

Portanto, há cerca de duas décadas atrás se começou a investigar seu uso como biomaterial para implantes ortopédicos, traumatológicos e espinhais. No campo dos polímeros utilizados como biomateriais, uma das estratégias mais investigadas atualmente envolve a produção de compósitos e nanocómpositos poliméricos. Em aplicações ortopédicas, o uso de compósitos poliméricos tem se difundido devido basicamente a alto desempenho e propriedades mecânicas comparáveis às do tecido ósseo (Oréfice *et al.*, 2006).

2.3.5 Biomateriais Compósitos

Materiais compósitos podem ser definidos como materiais formados por dois ou mais componentes com distintas composições, estruturas e propriedades, e que estão separadas por uma interface ativa que permite a transferência de esforços mecânicos com desempenho satisfatório. O objetivo principal em se produzir

compósitos é de combinar diferentes materiais para produzir um único dispositivo com propriedades superiores às dos componentes unitários (Oréfice *et al.*, 2006).

Pesquisas têm sido conduzidas no sentido de combinar a resistência mecânica dos materiais bioinertes com a bioatividade dos materiais bioativos, onde uma das possibilidades consiste na preparação de materiais compósitos, nos quais o material bioativo está homogeneamente disperso em uma matriz resistente do material bioinerte, buscando sanar as dificuldades na obtenção de uma adequada união interfacial entre o componente bioativo e a matriz inerte, evitando a concentração de defeitos na interface que conduziria à falha do material. (Kawachi, 2000).

Outras razões para o desenvolvimento de compósitos poliméricos incluem ausência de corrosão e liberação de íons observados em biomateriais metálicos (Ramakrishna, 2001).

Em aplicações ortopédicas, o uso de compósitos poliméricos tem se difundido devido basicamente à capacidade de produção de materiais de baixa densidade, elevado desempenho e propriedades mecânicas comparáveis às do tecido ósseo (Oréfice *et al.*, 2006).

Os compósitos são desenvolvidos a partir da junção de materiais cerâmicos com os materiais poliméricos, tais como compósitos de PEEK/ HA. Estes compósitos têm demonstrado melhores propriedades biológicas e mecânicas quando comparados com os arcabouços fabricados apenas com cerâmica ou polímeros isoladamente (Hahn *et al.*, 2013).

A combinação HA/CS pode ser utilizada para preparar compostos com atividade biológica controlada (Biodegradabilidade) Em aplicações ortopédicas, o uso de compósitos poliméricos tem se difundido devido basicamente à capacidade de produção de materiais de baixa densidade, elevado desempenho e propriedades mecânicas comparáveis às do tecido ósseo (Oréfice *et al.*, 2006). Esses materiais podem ser obtidos por várias rotas de processamento, como moldagem por injeção, extrusão e moldagem por compressão.

2.4 Moldagem por Compressão

Os compósitos poliméricos termoplásticos obtidos via moldagem por compressão a quente podem ser processados a partir do empilhamento intercalado

de camadas de polímero e reforço (com orientação definida ou não), dentro de um molde metálico geralmente preparado com desmoldante. Em seguida, faz-se o fechamento do molde pelo abaixamento da parte superior da prensa resultando na consolidação do material pela pressão aplicada. A espessura do material resultante é previamente calculada, levando-se em consideração o número de camadas empilhadas (Nogueira, 2004).

O produto final do processamento dos compósitos termoplásticos depende de três etapas críticas: fusão-amolecimento/aquecimento, consolidação e solidificação/resfriamento. Cada etapa possui um papel essencial na fabricação do material prensado. Primeiramente, o polímero sólido precisa ser aquecido e fundido/amolecido para que ele impregne as fibras. A consolidação é a combinação do aquecimento com a pressão faz com que as moléculas do polímero deslizem pelas camadas do reforço. Nesta etapa, o reforço e a matriz ficam bem compactadas e o ar aprisionado no material é removido. Ao final do processo, o material é resfriado até uma temperatura abaixo da curva termogravimétrica (T_g), solidificando a matriz polimérica. O resfriamento pode ser realizado naturalmente ou controlado e sabe-se que a taxa de resfriamento, a qual o material é submetido durante o processamento, afeta a cristalinidade da matriz polimérica e, como consequência, as propriedades mecânicas finais do compósito (Quinlan, 2011).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Para a produção dos corpos de prova foram utilizados os seguintes materiais:

- Polímero Victrex® PEEK Vicote 702
- Hidroxiapatita SIGMA-ALDRICH.
- Acetona

3.2 Metodologia

A técnica utilizada para preparação das amostras foi a moldagem por compressão seguida de tratamento térmico. Todas as fases da pesquisa, abaixo relacionadas, para o desenvolvimento dos corpos de prova, as análises e caracterizações foram realizadas no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais – CERTBIO da UFCG (Universidade Federal de Campina Grande/PB – UAEMa (Unidade Acadêmica de Engenharia e Materiais).

3.2.1 Preparação das Amostras

O trabalho foi dividido em duas etapas descritas no fluxograma (Figura 5). Na primeira etapa foi realizado um estudo preliminar, o qual foi dividido em mais duas fases e, a segunda etapa consiste na otimização do desenvolvimento dos biocompósitos HA/PEEK.

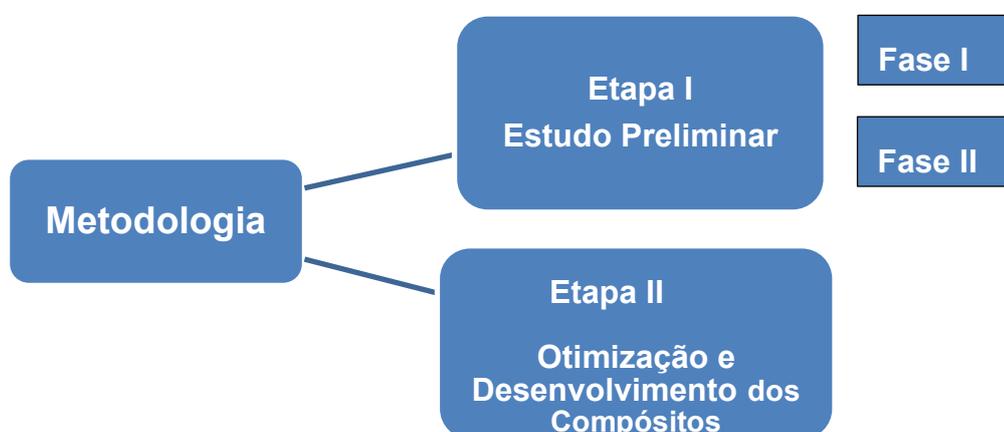


Figura 5 - Fluxograma das etapas de preparação das amostras.

3.2.2 Estudos Preliminares

3.2.2.1.1 Primeira Fase

Na primeira fase do estudo preliminar, foi estabelecido o método de moldagem por compressão para o desenvolvimento dos compósitos, foi utilizado um molde cilíndrico de metal com uma resistência acoplada em volta, e com um display de temperatura que marcava uma temperatura máxima de 330 °C. A cavidade do molde foi preenchida pelo material para que posteriormente fosse submetido a diferentes cargas e temperaturas. Nesta fase, foi avaliada, carga exercida sobre o molde, tempo e temperatura. Esses parâmetros estão descritos na Tabela 3

Tabela 3 - Descrição das variações dos parâmetros na primeira fase da investigação exploratória.

Carga (Ton)	2 a 2,5	2 a 3	2 a 4	2 a 4	5
Temperatura (°C)	280	280	280	150 a 340	150 a 340
Tempo (min)	30	45	60	90	120

3.2.2.1.2 Segunda Fase

Na segunda fase da investigação, o método de moldagem por compressão foi mantido, porém, o molde foi utilizado sem a resistência acoplada a ele e logo após a prensagem junto da amostra crua foi submetida a tratamento em mufla. Nesta segunda fase, foi avaliada, a carga exercida sobre o molde, tempo de permanência no forno e temperatura. Esses parâmetros estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Descrição das variações dos parâmetros na segunda fase da investigação exploratória.

Carga (ton)	2, 8 e 10	2, 8, 10 e 11	2 e 10
Temperatura (°C)	345, 360, 380 e 390	345,360,380 e390	390
Tempo (min)	30	40	50

3.2.2.1.3 Otimização dos Biomateriais Compósitos (Segunda Etapa)

O método escolhido para o desenvolvimento de compósitos nesta pesquisa foi a moldagem por compressão seguida de tratamento térmico em Mufla. Os parâmetros utilizados para o processamento estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros utilizados no método de processamento.

Tempo (min)	30
Carga (ton)	2
Temperatura (°C)	390

Inicialmente a matéria prima foi seca em estufa a 150°C por 3h. Em seguida foi pesado 1g da mistura obtida com a razão massa/volume, baseada na densidade de cada material, nas seguintes proporções: 80%HA/PEEK20%, 70%HA/PEEK30%, 60%HA/PEEK40%. Esses cálculos essas proporções foram estabelecidas com base na composição óssea que tem aproximadamente 70% de fase inorgânica (no intuito de desenvolver um material análogo ao osso) e realizada uma mistura física da cerâmica Hidroxiapatita com o polímero PEEK, ambos na forma de pó, com acetona em almofariz e levado a estufa a 60°C por 3 horas.

Antes de iniciar o processo de moldagem por compressão, foi realizada a higienização interna do molde para evitar a contaminação.

Posteriormente o molde cilindro com cavidade com diâmetro de 16 mm como podemos observar na (Figura 4) foi preenchido com as misturas e levado à prensa hidráulica uniaxial, para que recebesse uma carga de duas toneladas (1.000kg/cm²). A prensa deve fornecer carga suficiente para moldar a peça sem deixar vazios e garantir a compactação de todas as partículas, formando assim uma amostra densa.



Figura 4 - Molde cilíndrico de metal para produção das amostras.

Após a prensagem, o molde juntamente com a peça compactada foi levado para tratamento térmico à mufla, por aproximadamente 390 °C durante 30 minutos. Posteriormente, o molde metálico foi retirado do forno e resfriado a temperatura ambiente para remoção das amostras do interior do molde. Em seguida as amostras foram submetidas as caracterizações.

3.2.2.2 Codificação das Amostras

As amostras foram desenvolvidas em diferentes proporções de HA e PEEK e identificadas de acordo com a Tabela 6.

Tabela 6 - Identificação das amostras.

Percentual de Hidroxiapatita	Percentual de PEEK	Identificação
60%	40%	A1
70%	30%	A2
80%	20%	A3

A Figura 5 apresenta as imagens dos compósitos obtidos.



Figura 5 - Imagem das amostras A1, A2 e A3.

3.2.3 Fluxograma Experimental

O fluxograma contido na Figura 6 apresenta a metodologia e descreve as etapas e sequência de desenvolvimento da pesquisa.

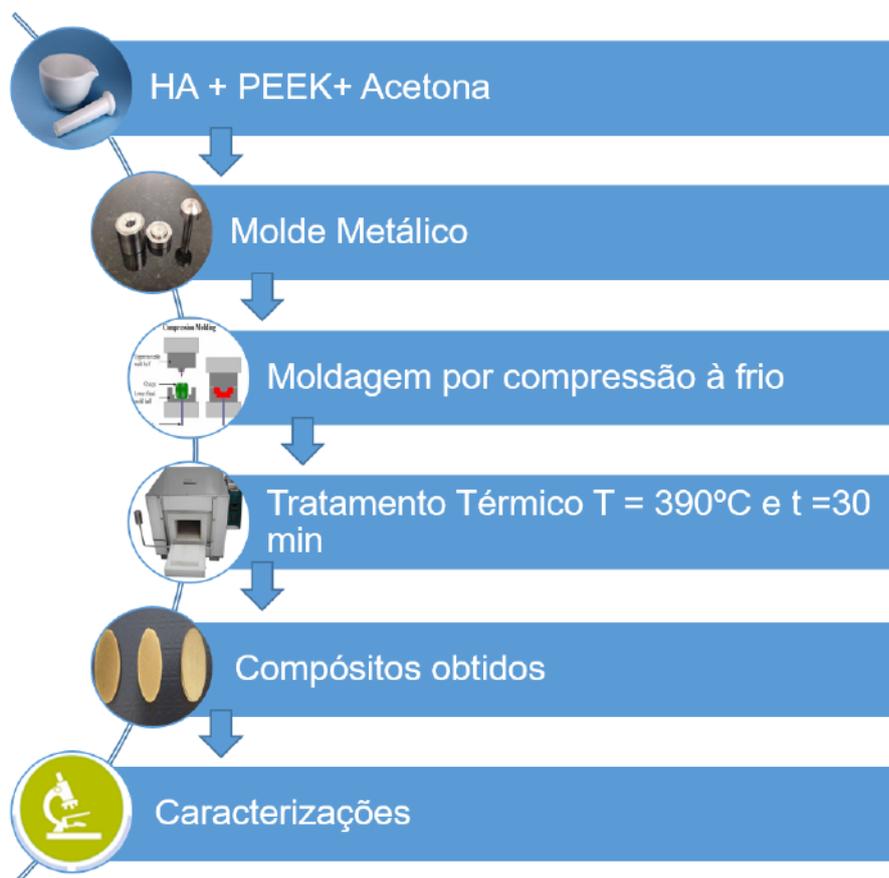


Figura 6 - Fluxograma da Metodologia do Trabalho.

3.3 Caracterizações dos Compósitos

3.3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

O FTIR permitirá determinar a presença dos grupos funcionais nos materiais através do espectro vibracional e rotacional característicos dos mesmos denominados de bandas de absorção, correspondentes aos níveis de energia. As amostras foram submetidas a técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), em temperatura ambiente e o equipamento utilizado foi o Spectrum 400 da Perkin Elmer. A técnica FTIR foi realizada utilizando a faixa de varredura de 4000 a 400 cm^{-1} .

3.3.2 Difração de Raios X (DRX)

O ensaio de Difração de Raios-X tem a finalidade de comparar as possíveis variações da cristalinidade e identificar as fases cristalinas presentes nos compósitos. E a difratometria é uma das principais técnicas de caracterização microestrutural de materiais cristalinos. Neste trabalho será utilizado o difratômetro SHIMADZU (modelo XDR 7000), com varredura angular entre 5° a 70° com passo de $2^{\circ}/\text{min}$ na montagem de Bragg-Brentano, sistema Θ - 2Θ , utilizando-se radiação $K\alpha$ do cobre ($1,5418 \text{ \AA}$), tensão 40 kV e corrente 30 mA.

3.3.3 Microscopia Ótica (MO)

Neste trabalho a técnica de microscopia ótica foi utilizada para a avaliação da morfologia da superfície e da secção transversal das amostras com o auxílio de um Microscópio Advanced 3D Digital, Hirox – KH7700, que permite reflexão e transmissão com profundidade de campo estendida com medições 2D e 3D, estando acoplado a uma estação de análise de imagens. Para a aplicação desta técnica foram utilizados aumentos que variaram de 40x, 160X e 350X. É importante ressaltar que para a avaliação do MO na secção transversal as amostras foram fraturadas em nitrogênio líquido.

3.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) é um equipamento capaz de produzir imagens de alta ampliação (até 300.000 X) e resolução. A microscopia eletrônica fornece informação morfológica e topográfica sobre superfícies de sólidos, necessário para se entender o comportamento de superfícies.

As amostras dos compósitos foram caracterizadas morfologicamente por dois microscópios eletrônicos de varredura. O primeiro foi um Microscópio Eletrônico de varredura de bancada Hitachi, modelo TM-1000, aumento máximo de 10000x, profundidade de foco de 1 mm, resolução de 30 nm, 15 KV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270 Pa), sem recobrimento metálico, mesmo em amostras não condutoras. O segundo foi o Microscópio Eletrônico de Varredura de bancada,

Phenom Prox, com aumento de até 4000x, profundidade de foco de 1 mm e tensão de 15KV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270 Pa).

3.3.5 Ensaio de Bioatividade in vitro

A capacidade de interação entre o tecido ósseo e um material específico pode ser avaliada pela habilidade de formação de apatita na superfície deste material, a partir da imersão controlada do material em Fluido Fisiológico Artificial (SBF), de concentrações iônicas semelhantes às do plasma sanguíneo humano (Tabela 6) (Kokubo; Takadama, 2006). Este ensaio foi realizado com base na norma ISO 23317-2007: “Implants for surgery – In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials”.

Tabela 7 - Concentração iônica do fluido corpóreo simulado e do plasma sanguíneo humano (10^{-3} mol/L) (Ramirez, 2010).

ÍON	SBF*	PLASMA SANGUÍNEO
Sódio (Na^+)	142,0	142,0
Potássio (K^+)	5,0	5,0
Magnésio (Mg^{2+})	1,5	1,5
Cálcio (Ca^{2+})	2,5	2,5
Cloro (Cl^-)	147,8	103,0
Hidrogenocarbonato (HCO_3^-)	4,2	27,0
Hidrogenofosfato (HPO_4^{2-})	1,0	1,0
Sulfato (SO_4^{2-})	0,5	0,5

Para a preparação do SBF, utilizou-se um recipiente de polietileno. Adicionou a este, 700 mL de água deionizada sob agitação magnética mantendo a temperatura em $36,5 \pm 0,1$ °C, foram dissolvidos os reagentes listados na Tabela 8, na ordem em que se encontram. Os reagentes foram adicionados cautelosamente, após a completa dissolução do anterior. O controle de pH é realizado a partir da adição do TRIS, pelo qual se ajusta ao valor final de 7,4. Em seguida, a solução é ajustada ao volume final de 1000 mL pela adição das águas de lavagem e água deionizada, e conservada a 5-10 °C.

As amostras dos compósitos, secas em estufa a 37°C (24 h) e pesadas. Em seguida, foram imersas em SBF utilizando recipientes de polietileno tampados. O volume (V) de SBF utilizado foi calculado em função da Área Superficial Aparente (ASA) da amostra, a uma razão V/ASA de 14/1, e estas posicionadas com a superfície plana perpendicular ao fundo do recipiente. As composições PEEK/HA foram submetidas ao ensaio (n=2), armazenadas a 37 °C, e avaliadas a 7, 14 e 21 dias, havendo troca das soluções de SBF a cada 7 dias. Ao final, os compósitos foram secos em estufa a 37°C por 24 horas, pesados e armazenados.

Para avaliação dos resultados, as amostras foram observadas por Microscopia Eletrônica de Varredura.

Tabela 8 -Reagentes utilizados para preparação do SBF.

Ordem	Reagente	Quantidade	Pureza	Fornecedor	Quantidade
1	Cloreto de Sódio (NaCl)	8,035 g	99,5 %	P.A. Nuclear	8,035 g
2	Bicarbonato de Sódio (NaHCO ₃)	0,355 g	99,5 %	P.A. Nuclear	0,355 g
3	Cloreto de Potássio (KCl)	0,255 g	99,5 %	P.A. Nuclear	0,255 g
4	Fosfato de Potássio Dibásico (K ₂ HPO ₄)	0,176 g	99,0 %	P.A. Nuclear	0,176 g
5	Cloreto de Magnésio Hexahidratado (MgCl ₂ .6H ₂ O)	0,311 g	98,0 %	P.A. Vetec	0,311 g
6	Ácido Clorídrico (HCl; 1M)	39 mL	-	P.A. Isofar	39 mL
7	Cloreto de Cálcio Dihidratado (CaCl ₂ .2H ₂ O)	0,387 g	95,0 %	P.A. Nuclear	0,387 g
8	Sulfato de Sódio (Na ₂ SO ₄)	0,072 g	99,0 %	P.A. Nuclear	0,072 g
9	TRIS (Hidroximetil) Aminometano	6,118 g	99,0 %	P.A. Nuclear	6,118 g
10	Ácido Clorídrico	0 a 5 mL (HCl; 1M)	-	P.A. Isofar	0 a 5 mL (HCl; 1M)

3.3.6 Citotoxicidade

Antes da realização do ensaio, as amostras foram esterelizadas no autoclave por 30 minutos para evitar qualquer tipo de contaminação externa durante o ensaio.

A citotoxicidade dos compósitos foram avaliados segundo a norma ISO 10993-5 2013 (Biological evaluation of medical devices – Part5: tests for cytotoxicity: in vitro methods”, através da determinação da porcentagem da viabilidade celular, utilizando o método de redução do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiliazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio], que estabelece uma correlação entre a atividade metabólica celular e o número de células viáveis em cultura in vivo. Neste ensaio, o MTT é acumulado pelas células por endocitose e a redução do anel tetrazólico deste sal resulta na formação de cristais de formazan de cor azul que se acumulam em compartimentos endossomais e/ou lisossomais, sendo depois transportados para fora das células por exocitose. Sendo a endocitose um mecanismo fundamental das células vivas, o ensaio de MTT tem sido utilizado como ensaio de viabilidade celular. As células utilizadas foram do tipo L929.

Para avaliação da citotoxicidade, foi utilizado o método de contato direto entre o substrato do material e as células. As células L929 foram obtidas do banco de células do Rio de Janeiro e preservadas em nitrogênio líquido no CERTBIO.

Foi utilizada uma concentração de 1×10^5 células/mL em meio de cultura RPMI (Roswell Park Memorial Institute) Medium 1640 e adicionados 100 μ L em uma placa com 96 poços. A placa foi transferida para estufa de CO₂ a 37°C e incubadas por 24 h. Após este período, foi removido os 100 μ L e adicionados as amostras e mais 200 μ L de RPMI. O RPMI mais células foi utilizado como controle negativo. A placa foi incubada novamente em estufa de CO₂ a 37°C por mais 24 h, totalizando então 48 horas desde o início do ensaio.

Após estas 48 horas foi removido a amostra e o meio de cultura RPMI e foram adicionados 100 μ L de MTT (1mg/ml) em PBS (tampão fosfato salino). Novamente as placas foram incubadas em estufa de CO₂ a 37°C por 3 hrs. Depois disso, o sobrenadante foi descartado e adicionado 100 μ L de álcool isopropílico. A leitura da densidade ótica foi determinada em um leitor de microplacas (Victor3 –

Perkin Elmer), a 570 nm com filtro de referência de 650 nm. A viabilidade celular foi calculada em porcentagem pelo teste de GRUBBS e o cálculo de incerteza, considerando o controle negativo 100 % de viabilidade.

De acordo com a classificação de citotoxicidade de materiais do documento ISO10993-5 2013, a viabilidade celular (%) determina a citotoxicidade do material de modo que, os resultados mais consideráveis são acima de 70%, abaixo disto, o material é considerado potencialmente citotóxico.

3.3.7 Adesão Celular

Para avaliação da adesão celular, foi utilizado o método de contato direto entre o substrato do material e as células. As células OFCOLL II do tipo osteoblastos foram obtidas do banco de células do Rio de Janeiro e preservadas em nitrogênio líquido no CERTBIO.

Antes de dar início ao ensaio, as amostras foram esterilizadas em autoclave durante 30 minutos para evitar qualquer tipo de contaminação externa durante o ensaio.

Foi utilizada uma concentração de 1×10^4 células/mL em meio de cultura DMEM (Soro 10% + Antibiótico Antimicótico 1%) em uma placa com 24 poços e adicionados a cada poço 1 ml do meio de cultura DMEM e levado a uma incubadora de CO₂ 5% a 37 °C durante 7 dias. Durante este período o meio de cultura foi trocado 3 vezes. Após os 7 dias o meio de cultura foi removido dos poços e as amostras foram lavadas com PBS. Posteriormente o PBS foi removido e a cada poço foi adicionado formaldeído 10% durante 10 minutos para fixação celular. Após os 10 minutos, o formaldeído 10% foi removido e as amostras foram lavadas com PBS. Posteriormente o PBS foi removido dos poços, as amostras foram secas em estufa a 40 °C durante 24 horas e recobertas com ouro. Após os 07 dias de cultivo, a adesão celular foi avaliada pela observação da superfície das amostras metalizadas por Microscopia eletrônica de varredura (MEV).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados expostos no item 4.1 são referentes a Primeira Etapa de estudos Preliminares na segunda Fase e a partir do item 4.2 resultados da Segunda Etapa .

4.1 Microscopia Óptica (MO)

4.1.1 (Primeira Etapa/ Segunda Fase)

Nas Figuras 7 (a), (b) e (c) pode-se visualizar imagens de MO da superfície dos compósitos PEEK/HA, realizadas na segunda etapa do estudo preliminar e nas respectivas concentrações: A1, A2 e A3.

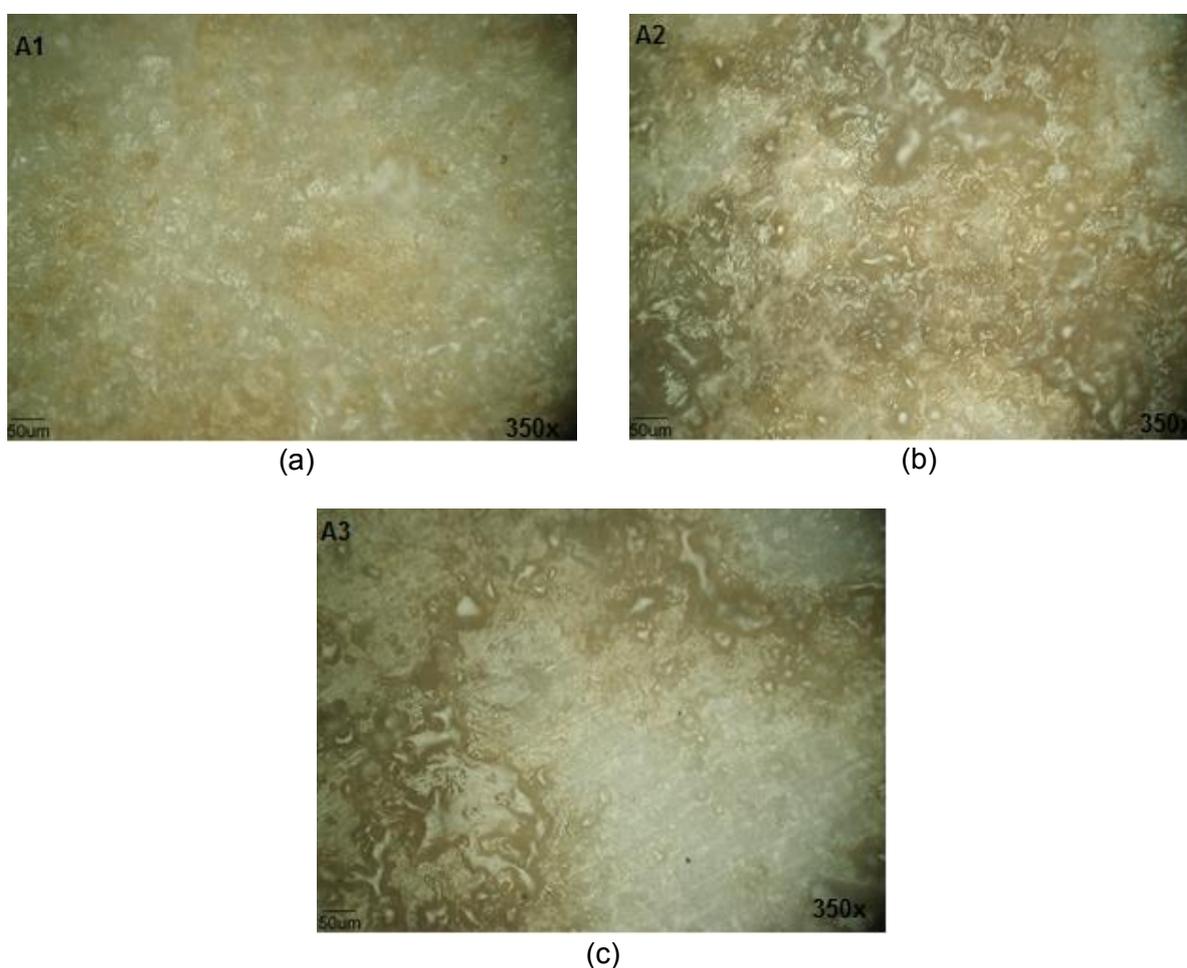
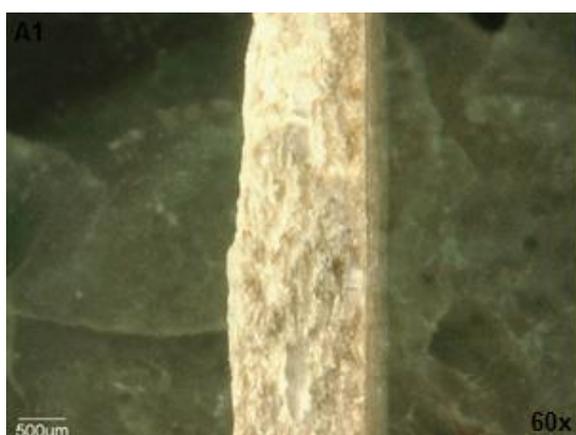


Figura 7 - Imagens de Microscópio Óptico, referente às superfícies dos compósitos PEEK/HA A1, A2 e A3 com um aumento de 350x, respectivamente, 7(a), 7(b) e 7(c) .

Analisando a Figura 7 é possível observar superfícies com morfologia heterogênea, sinal de rugosidade que apresentam um aumento significativo, proporcional ao aumento na concentração da hidroxiapatita nos compósitos, é bem

visível uma variação na coloração, onde essas regiões mais /claras evidenciam a hidroxiapatita, já que essa distribuição aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração de hidroxiapatita nos compósitos respectivamente A1, A2 e A3. É possível observar nas imagens das superfícies algumas ranhuras, possivelmente provocadas pelo método de processamento.

Nas Figuras 8(a), (b) e (c) podemos observar as micrografias da seção transversal das amostras nas diferentes proporções, Nestas micrografias apresentadas foi possível identificar uma morfologia densificada com aspecto heterogêneo, rica em regiões com grandes aglomerados das partículas mais claras e que e mais visível nas Figuras 8(b) e (c), bem como regiões com quantidade significativa de cavidades, que pode ser resultado do método de processamento utilizado.



(a)



(b)



(c)

Figura 8 - Imagens de Microscópio Ótico, referente às seções transversais das fraturas dos compósitos PEEK/HA A1, A2 e A3, com um aumento de 60x, respectivamente, 8 (a), 8(b) e 8(c).

4.2 Microscopias Óptica (MO)

4.2.1 Segunda Etapa

A Figura 9 ilustra a morfologia da superfície e da secção transversal das amostras do PEEK puro.

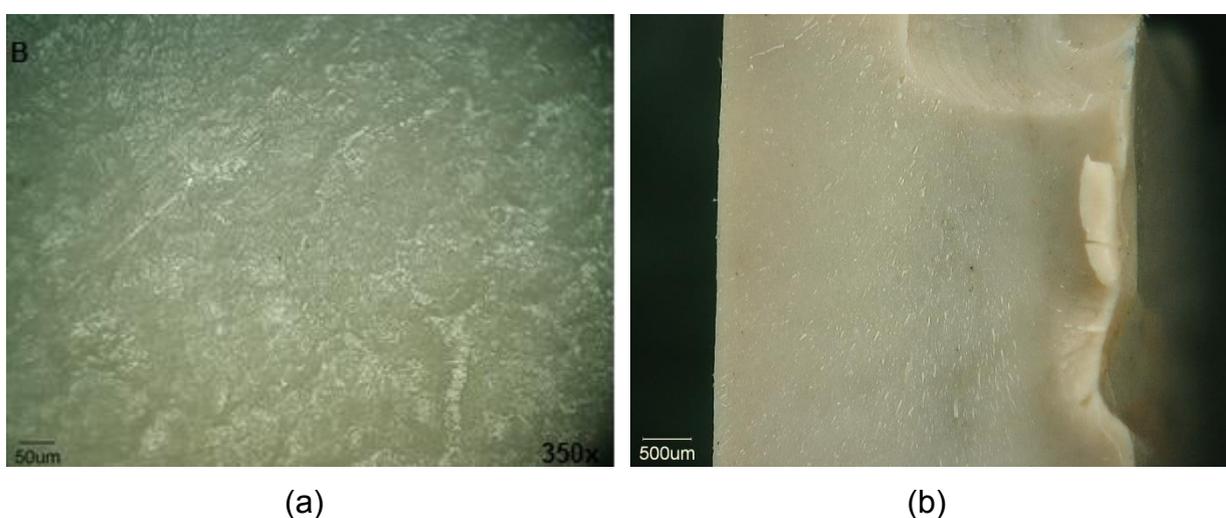


Figura 9 - Imagens de microscopia Óptica da superfície(a) e da secção transversal(b) de PEEK puro.

Nestas imagens é possível observar uma superfície com cor uniforme, morfologia densa, pouco rugosa, com pequenas aglomerações de partículas em algumas regiões, e em pontos específicos a presença de ranhuras.

Na Figura 9 (b) pode-se visualizar na secção transversal uma morfologia com aspecto homogêneo, superfície lisa e pequenas áreas de cor mais clara que pode ser indicativo dos aglomerados das partículas.

A Figura 10 apresenta as Micrografias Ópticas dos compósitos de HA/PEEK.

Nas Figuras 10 (a), (c), (e) pode-se observar as imagens de MO da superfície dos compósitos PEEK/HA, respectivamente A1, A2 e A3. Todas as imagens referentes a superfície das amostras foram obtidas com aumento de 160x. Onde é possível observar um aspecto de material denso, irregular, e quando comparado

com a superfície do PEEK puro, apresenta um aumento significativo de aglomerados de partículas, podendo ser justificado pela presença da hidroxiapatita. É clara a variação de cor na superfície dos compósitos, evidenciando a presença da hidroxiapatita já que essa distribuição aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração de hidroxiapatita.

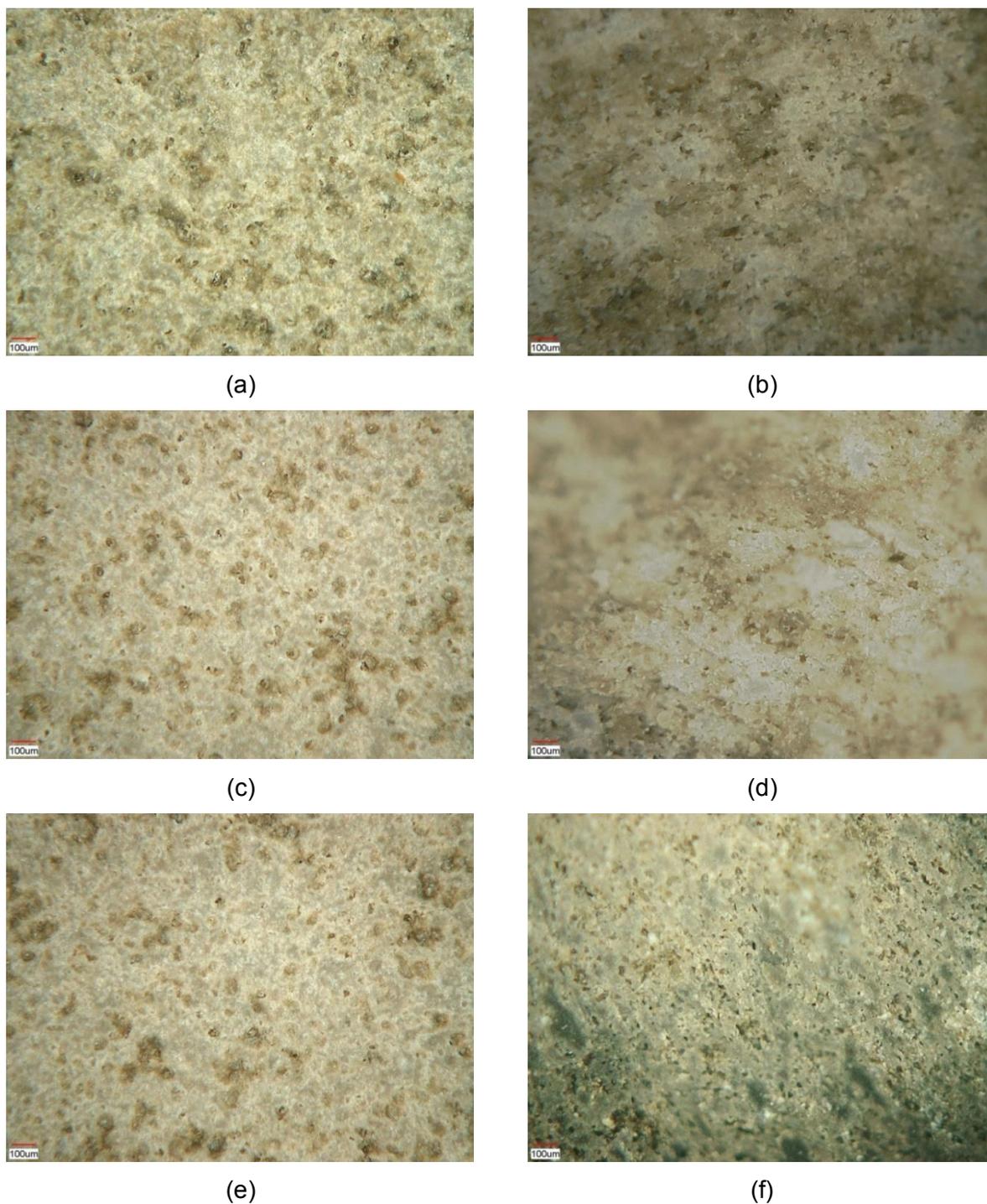


Figura 10 - Imagens de microscopia óptica da superfície e da secção transversal dos compósitos A1(a) e (b), A2(c) e (d) e A3(e) e (f).

Nas Figuras 10 (b), (d) e (f) podemos observar as micrografias da secção transversal das fraturas das amostras nas diferentes proporções. Todas as imagens referentes à secção transversal das amostras foram obtidas com aumento de 160x. Com relação às micrografias da secção transversal, foi observada uma morfologia rugosa, que pode ser resultado do método de quebra do material por Nitrogênio líquido, além disso, foi possível identificar uma melhora significativa na homogeneidade da mistura após o uso da acetona na mistura, quando comparado com o método inicial citado na fase de estudos preliminares, e apenas na amostra com maior concentração de Hidroxiapatita foram visualizados pequenos aglomerados de partículas mais claras.

4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Figura 11 apresenta as imagens de Microscopia eletrônica de Varredura dos compósitos.

Na figura 11 (a), (c) e (e) é possível identificar que com o aumento da quantidade de HA favoreceu uma maior densificação das partículas e também uma diminuição na quantidade de vazios, que pode ser pela interação entre as partículas de HA que apresentam uma forte tendência para formar aglomerados, devido às forças de Van der Waals e pontes de hidrogênio envolvidas na (Zhang et al., 2014). E com isso se torna mais áspera, como também um discreto aumento dos aglomerados de partículas mais claras na superfície dos como também é possível ver q elas estão bem dispersas.

As micro rugosidades conferidas ao material, observadas na superfície das amostras em maior quantidade na amostra com menor concentração de HA (A1) e são favoráveis à diferenciação e proliferação de osteoblastos, corrobora com os resultados desta pesquisa e conforme demonstrado na literatura por (Wang et al., 2011; Gonçalves *et al.*, 2015).

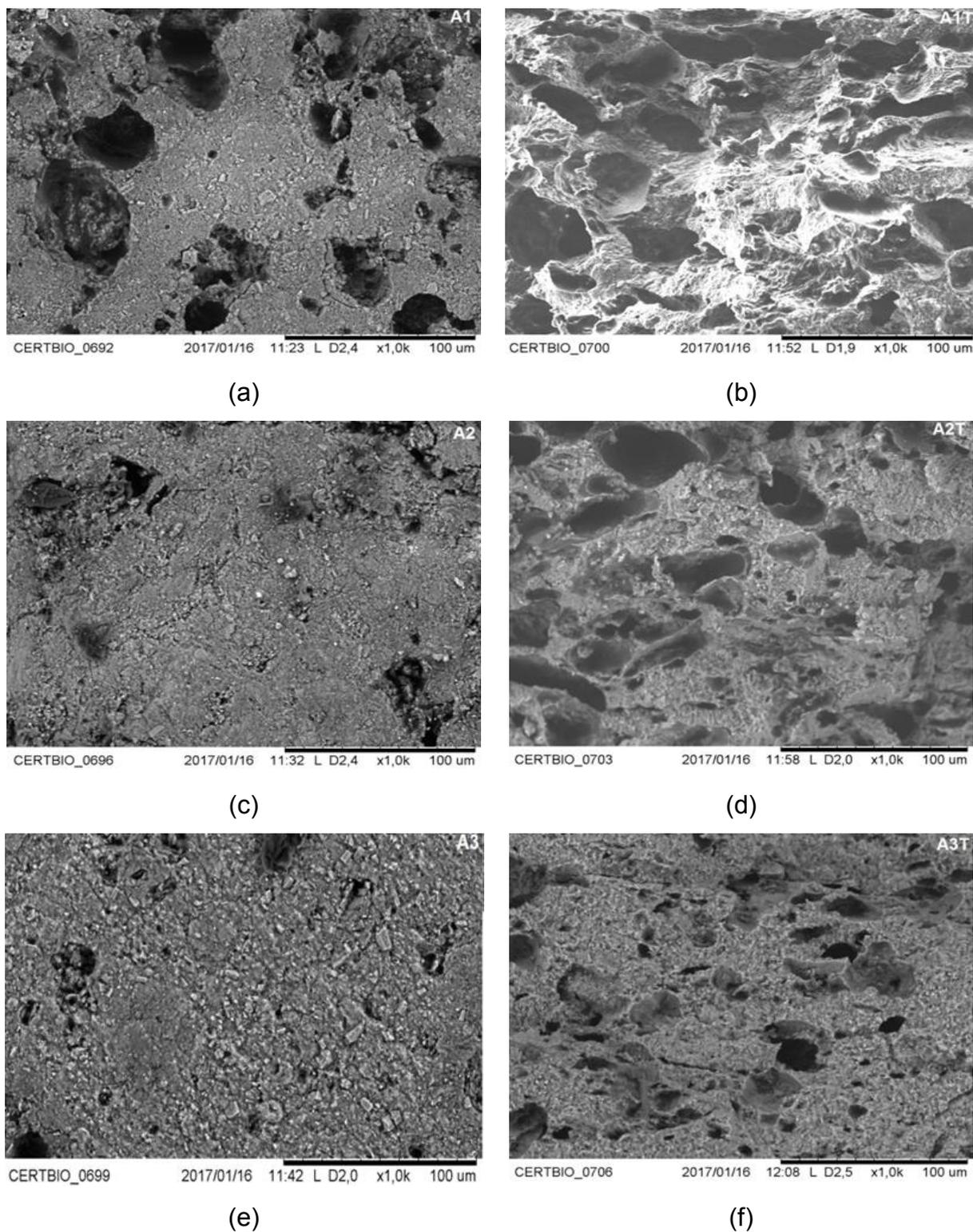


Figura 11 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura dos compósitos A1(a) e (b), A2(c) e (d) e A3(e) e (f) em aumento de 1000x.

Nas Figuras 11 (b), (d) e (f) pode-se observar na secção transversal dos compósitos, A1, A2 e A3, uma morfologia rugosa com presença de cavidades que diminui em número e tamanho com o aumento da quantidade de hidroxiapatita nas

amostras, que pode ser resultantes do método de processamento utilizado. Além disso, foi possível identificar um aspecto mais homogêneo da mistura dos materiais quando na observação da secção transversal.

4.4 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Através da análise por Espectroscopia do Infravermelho, foram observadas as bandas de absorção presentes no material utilizado e nos compósitos produzidos.

Analisando o espectro de FTIR da Hidroxiapatita, Figura 12(A) pode-se observar as bandas características dos grupos funcionais da Hidroxiapatita em torno de 1026 cm^{-1} e em 1094 cm^{-1} correspondem a deformação de estiramento assimétrico do grupo PO_4^{3-} , e o outro em 960 cm^{-1} que corresponde as vibrações de estiramento simétrico do PO_4^{3-} . Essas bandas de absorção características da hidroxiapatita estão de acordo com os resultados obtidos por (Hahn et al, 2013)

O espectro de FTIR do PEEK puro Figura 12 (B), mostrou bandas de absorção de CH aromáticos em $671, 766, 830\text{ cm}^{-1}$, em 929 cm^{-1} que ocorre deformação angular do grupo CH aromático. Nas bandas $1011, 1159, 1170$ e 1213 cm^{-1} ocorre um estiramento assimétrico do grupo C-O. Outras bandas de deformações axiais em $1278, 1305$ e 1488 cm^{-1} , são referentes ao grupo C=C, associados ao grupo C-O do éter aromático. Em 1594 e 1645 cm^{-1} correspondem ao estiramento principal e secundário respectivamente, da carbonila C=O, conforme observado por (Costa e Silva, 2011). Na Tabela 9 são apresentadas as principais bandas dos grupos característicos do PEEK.

Tabela 9 - Bandas e tipos de vibrações características dos grupamentos do PEEK.

Banda (cm^{-1})	Vibrações
1594	Estiramento principal C=O
1646	Estiramento secundário C=O
1488, 1307 e 1278	Estiramento C=C dos anéis aromáticos
1219, 1168, 1155 e 1011	Estiramento assimétrico C-O
836, 766 e 671	Deformação angular das ligações C-H do anel para fora do plano

A partir dos espectros de FTIR dos compósitos de PEEK/HA, Figura 12 nas respectivas proporções PEEK40%/HA60%(A1), PEEK30%/HA70%(A2), PEEK20%/HA80%(A3), é possível observar a principal banda característica em torno de 1026 cm^{-1} correspondente a deformação de estiramento assimétrico do grupo PO_4^{3-} . C bandas características do PEEK, mostraram bandas de absorção de CH aromáticos em $671, 766, 830\text{ cm}^{-1}$, em 929 cm^{-1} ocorre deformação angular do grupo CH aromático. Nas bandas $1011, 1159, 1170$ e 1213 cm^{-1} ocorre um estiramento assimétrico do grupo C-O. Em 1594 e 1645 cm^{-1} correspondem ao estiramento principal e secundário, respectivamente, da carbonila C=O.

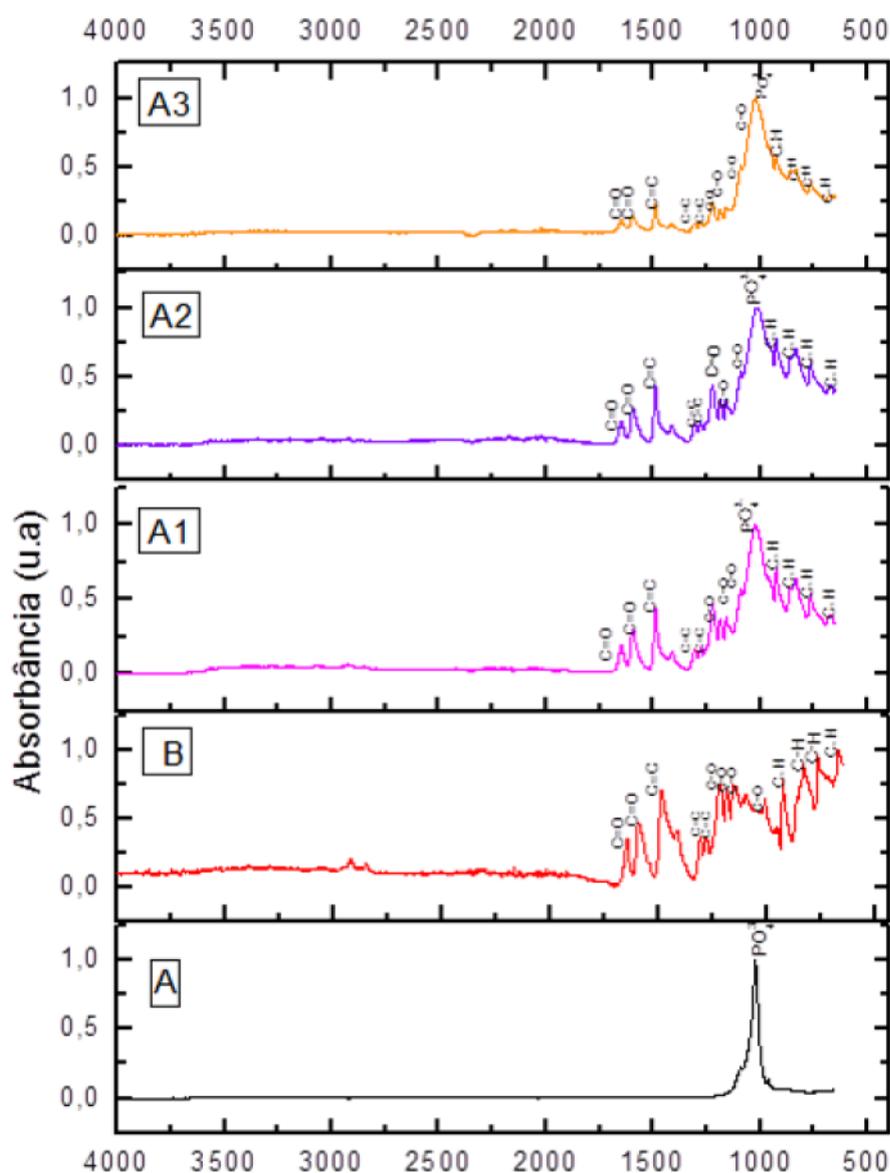


Figura 12 - Espectroscopia na região do Infravermelho de A, B, A1, A2 e A3.

Analisando a Figura 12, é possível observar também que com o aumento da quantidade de HA nos compósitos ocorreu um aumento na intensidade das bandas dos grupos fosfatos respectivamente, o que pode ter interferido na diminuição da intensidade vibracional das bandas características do PEEK. A partir das observações dos espectros concluímos que os compósitos de PEEK/HA A1, A2 e A3 não apresentam formação de novas ligações químicas identificáveis, portanto não apresentam interação entre os materiais.

4.5 Difractometria de Raios x (DRX)

O difratograma da hidroxiapatita na Figura 13 apresenta picos de difração característicos com o padrão JCPDS 9-432 e JCPDS 72-1243 o qual foi muito importante para comparação dos difratogramas dos compósitos A1, A2 e A3 respectivamente. Foram observados os dois grupos de picos de reflexão que podem ser utilizados para identificação da formação de hidroxiapatita: um pico a $2\theta = 26^\circ$ (002), $2\theta = 31,8^\circ$ (211), $2\theta = 33^\circ$ (112), $2\theta = 40^\circ$ (310), $2\theta = 46^\circ$ (222), $2\theta = 50^\circ$ (213) (Hahn, 2013; Fook, 2012; Chen; Wang; Lin, 2002).

O difratograma do PEEK, na Figura 13 (B), apresenta três picos de alta intensidade pertencente aos planos de difração (110), (113), (200) e (213), sendo em torno de $18,8^\circ$, 21° , $22,6^\circ$ e outro por volta de $28,7^\circ$ (Rego, 2012).

A análise de DRX para os compósitos PEEK/HA apresenta respectivamente um aumento gradativo na intensidade e estreitamento dos picos, o que justifica o aumento da cristalinidade que pode ser atribuído a inserção da hidroxiapatita que é um mineral cristalino e apresentam os picos a $2\theta = 26^\circ$ (002), $2\theta = 31,8^\circ$ (211), $2\theta = 33^\circ$ (112), $2\theta = 40^\circ$ (310), $2\theta = 46^\circ$ (222), $2\theta = 50^\circ$ (213) em todos os difratogramas dos compósitos. Na Tabela 10 podem-se observar os índices de cristalinidade da hidroxiapatita e dos compósitos e confirma a descrição na tabela abaixo.

Tabela 10 - Resultado do cálculo do índice de cristalinidades das amostras A, A1, A2 e A3.

Amostras	Área cristalina (I_{Cr}) (kcps*deg)	Área Amorfa (I_a) (kcps*deg)	Cristalinidade(%)
A1 (60% HA)	0,5926	0,4203	58,5020
A2 (70% HA)	0,8536	0,3305	72,0893
A3 (80% HA)	0,9708	0,3392	74,1088
Hidroxiapatita – HA	1,5477	0,3807	80,2595

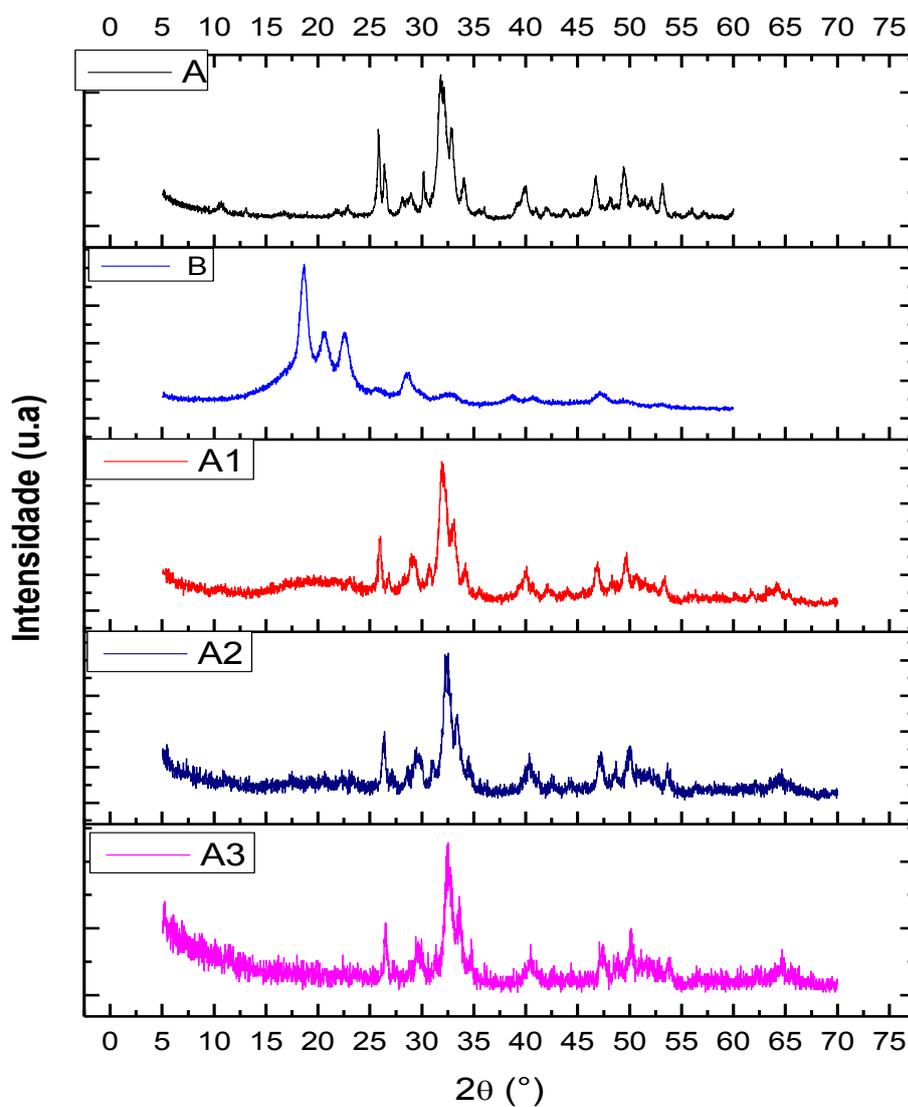


Figura 13 - Difratoigramas de raios X da Hidroxiapatita (A), do PEEK (B), e dos compósitos PEEK/HA (A1, A2 e A3).

4.6 Bioatividade In Vitro

As amostras de PEEK puro e dos compósitos submetidas à avaliação da bioatividade *in vitro*, pela imersão controlada em SBF, foram pesadas antes e após o ensaio e avaliadas após 7, 14 e 21 dias, foram analisadas por MEV e as micrografias obtidas estão ilustradas nas figuras 14, 15, 16, 17, e 18.

A Figura 14 (a) e (b) mostra a morfologia da superfície de PEEK puro antes e após 21 dias de imersão em SBF, e pode-se observar que não apresentaram diferença no peso após o ensaio, como também não foi possível identificar alterações significativas na superfície da amostra mesmo após 21 dias de imersão, o que indica que esse material não apresentou capacidade bioativa e corrobora com os resultados obtidos por (Yu et al., 2005).

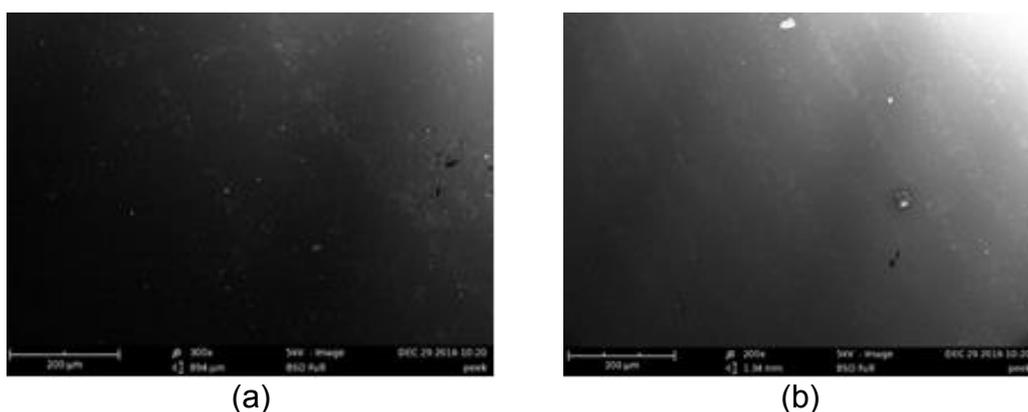


Figura 14 - Imagens de Microscopia Eletrônica de varredura de PEEK puro antes de imersão em SBF (a) e após 21 de imersão em SBF(b).

As Figuras 15 (a), (b) e (c) apresenta as micrografias de MEV referente às superfícies dos compósitos antes da imersão em SBF.

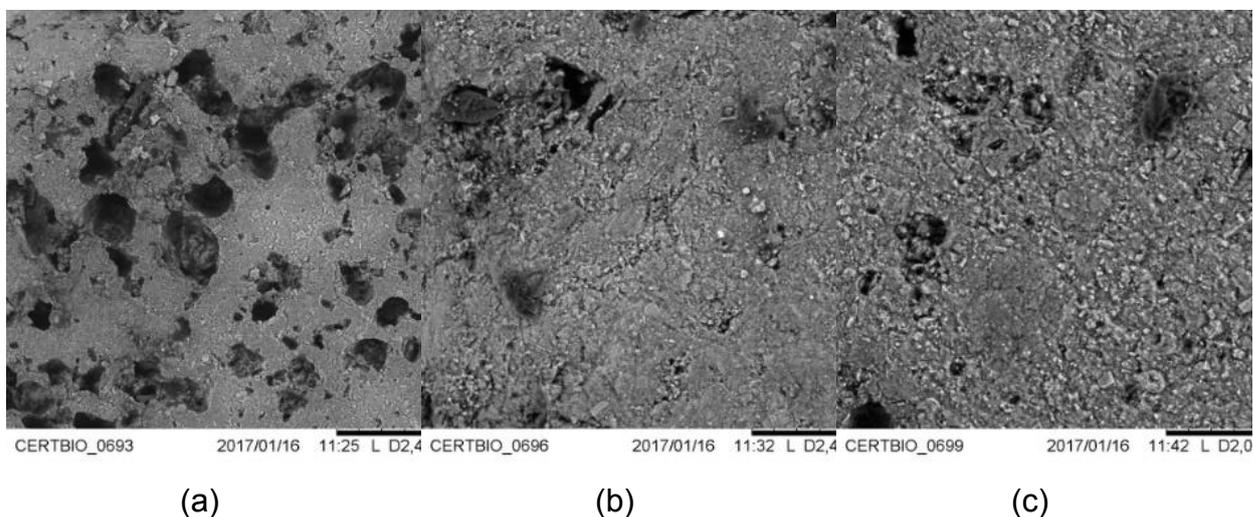
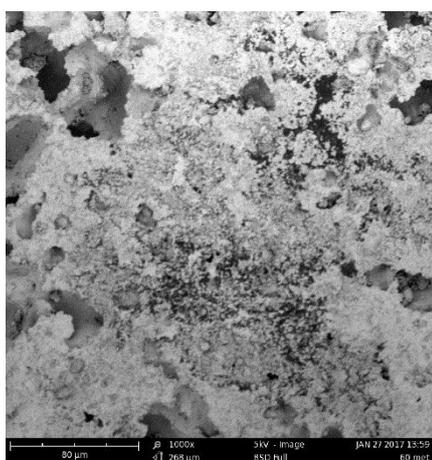
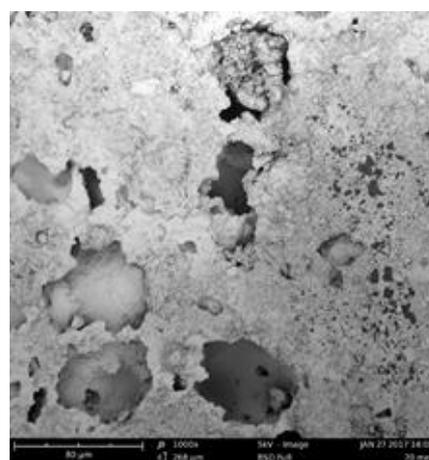


Figura 15 - Imagens de Microscopia Eletrônica de varredura dos compósitos A1(a), A2(b) e A3(c) antes de imersão em SBF.

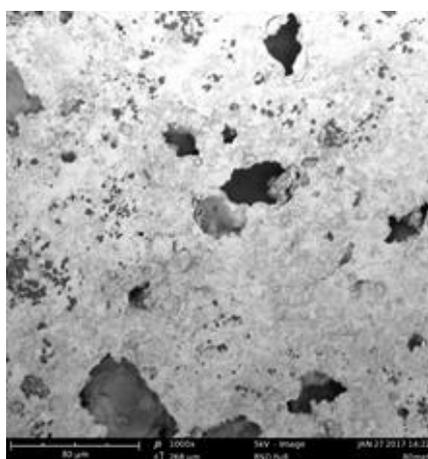
A Figura 16(a), (b) e (c) ilustra a superfície dos compósitos depois de sete dias de imersão em SBF. Ao comparar com as imagens dos compósitos antes da imersão (Figuras 15a, b e c) é possível identificar pequenos cristais esféricos sobre na superfície dos compósitos, predominantemente na amostra A3 (Figura 16 (c)). A quantidade de cristais formados é proporcional à concentração de HA no compósito.



(a) A1 7 Dias



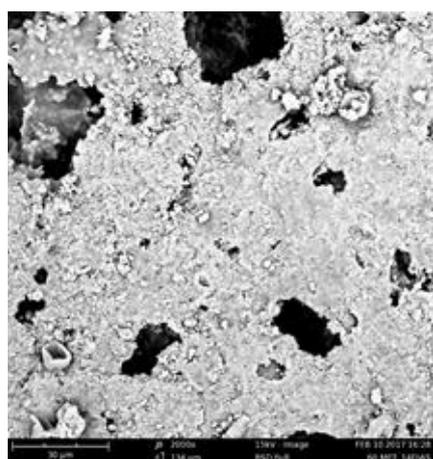
(b) A2 7 Dias



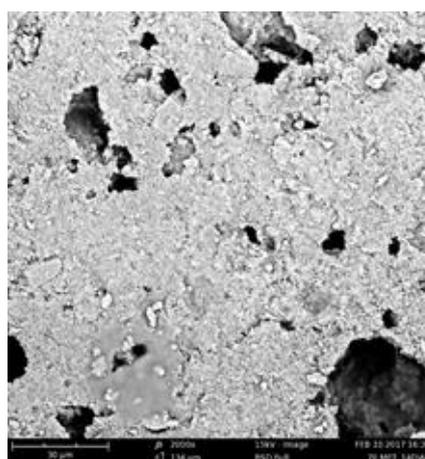
(c) A3 7 Dias

Figura 16 - Micrografias de MEV obtidas das amostras dos compósitos após ensaio de bioatividade *in vitro* após 7 dias de avaliação.

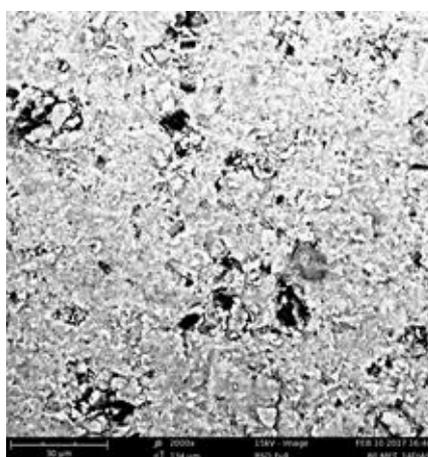
A Figura 17(a), (b) e (c) ilustra a superfície dos compósitos depois de quatorze dias de imersão em SBF.



(a) A1 14 Dias



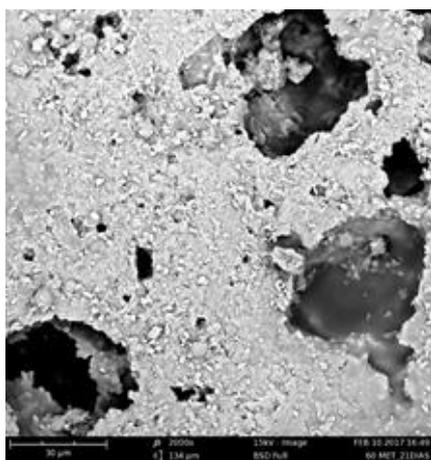
(b) A2 14 Dias



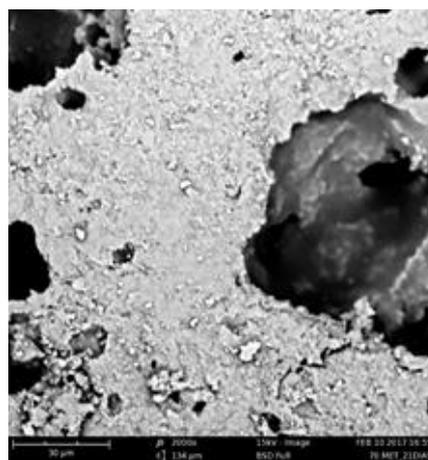
(c) A3 14 Dias

Figura 17 - Micrografias de MEV obtidas das amostras dos compósitos após ensaio de bioatividade in vitro após 14 dias de avaliação.

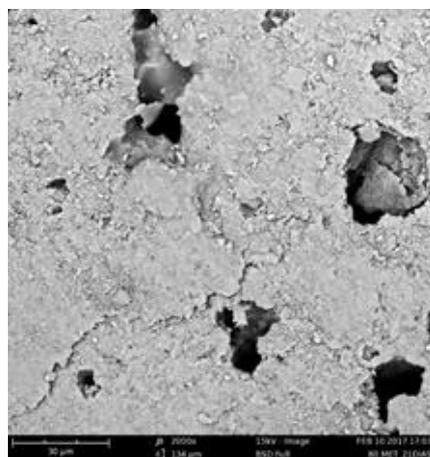
Na Figura 17(a), (b) e (c), nas imagens das superfícies depois de 14 dias em imersão é possível visualizar a formação dos cristais de apatita em quase toda a extensão das micrografias, à medida que aumenta o tempo de imersão, estes cristais crescem em tamanho e formam uma camada cobrindo completamente a superfície original dos compósitos, como é evidente a partir Figura 18 (a), (b), (c), (d), (e) e (f), com 21 dias em imersão, além disso, o tamanho dos cristais aumenta com o aumento da quantidade de HA nos compósitos e a morfologia das partículas depositadas é praticamente similar em todos os compósitos.



(a) A1 21 Dias



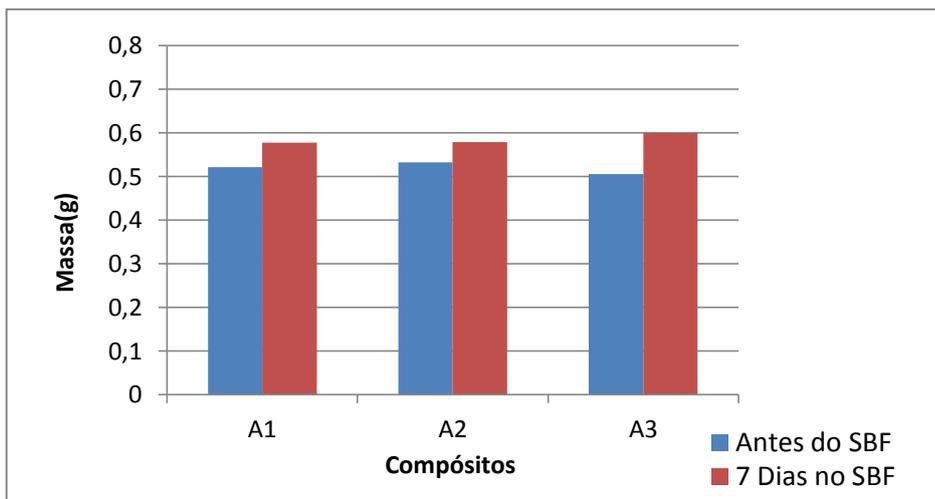
(b) A2 21 Dias



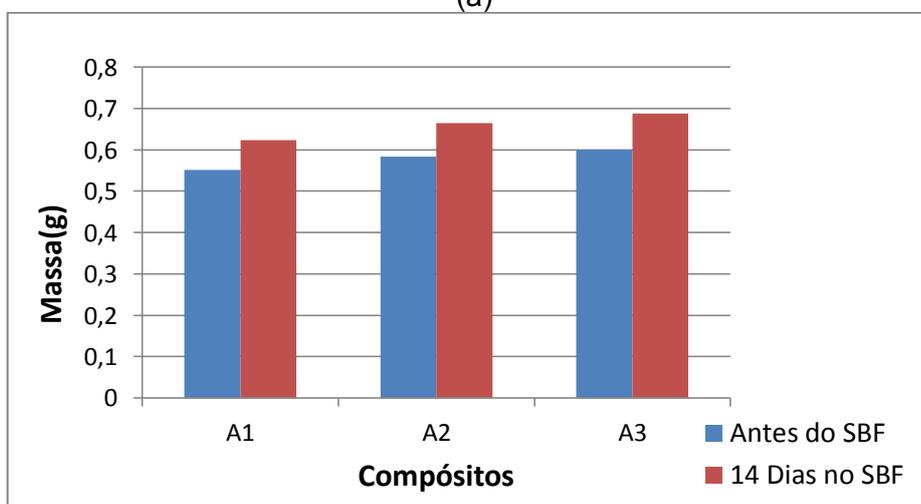
(c) A3 21 Dias

Figura 18 - Micrografias de MEV obtidas das amostras dos compósitos após ensaio de bioatividade *in vitro* após 21 dias de avaliação.

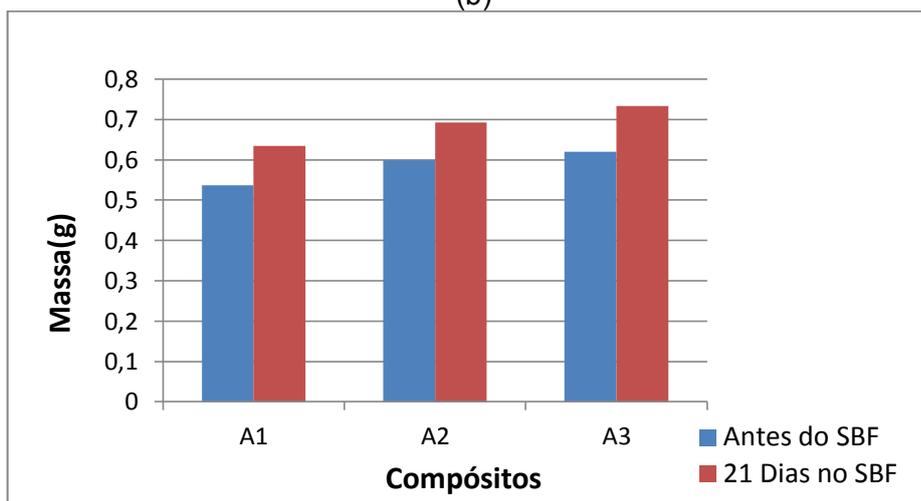
A Figura 19 ilustra os graficos dos compósitos pesados antes e após o ensaio de bioatividade *in vitro*.



(a)



(b)



(c)

Figura 19 - Gráficos das amostras dos compósitos pesadas antes e após ensaio de bioatividade in vitro a 7, 14 e 21 dias de avaliação.

Nas Figuras 19 (a, b e c) pode-se verificar nos gráficos das amostras dos compósitos pesadas antes e depois de 7, 14 e 21 dias de imersão em SBF, e a partir da avaliação do peso das amostras dos compósitos, antes e depois da imersão foi constatado que a formação da camada de apatita depositada na superfície aumenta o peso das amostras gradual ao aumento no tempo de imersão.

Precipitações de fosfatos de cálcio em nanocompósitos HA/PEUAPM com morfologia similar, comprovando capacidade bioativa, foram avaliadas por (Fang, 2007).

Yu e colaboradores (2005) utilizaram um método de processamento parecido com o método desta pesquisa e avaliaram capacidade dos biomateriais compósitos PEEK/HA de formar apatita carbonatada em SBF e verificaram com os resultados obtidos, que o método de processamento abordado neste trabalho não interfere na capacidade bioativa da HA e que essa capacidade aumenta com proporcional à quantidade de HA.

4.7 Citotoxicidade

Os resultados apresentados (Tabela 11) representa a viabilidade celular em porcentagem e U(VIAB) representa o erro/desvio referente a viabilidade celular, dos resultados do ensaio de citotoxicidade, para as amostras dos compósitos A1, A2 e A3, com media de aproximadamente 80% de células preservadas. Portanto tem-se que as amostras, apresentaram viabilidade celular acima do índice de citotoxicidade previsto pela norma ISO 10993-5 2009 que é de no mínimo (70%), indicando que estas amostras não exibem efeitos citotóxicos em contato com a linha celular L929.

Tabela 11 - Média da viabilidade celular para amostras dos compósitos A1, A2 e A3.

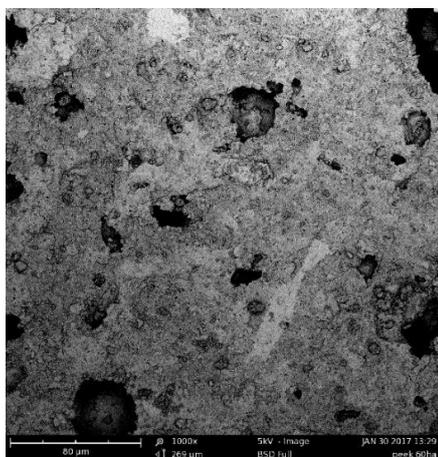
Amostra	%VIAB.	±	U(VIAB).	Total(%)
A1	111	±	20	91
A2	104	±	29	75
A3	91	±	18	74

Sheiko e colaboradores (2016), pesquisaram um fio de nitinol revestido com PEEK para aplicações como biomaterial e obtiveram resultados satisfatórios sobre a biocompatibilidade celular (fibroblastos L929) dos fios de Nitinol revestido com PEEK.

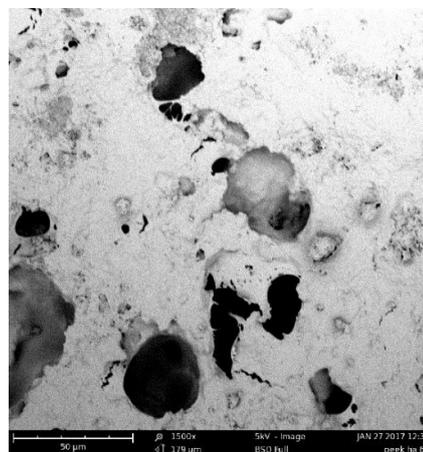
Luo e colaboradores (2014) estudaram a preparação de compósitos de PEEK para fixação óssea utilizaram o método de MTT para medir a viabilidade celular de suas estruturas e concluíram que as mesmas possuem um bom indicativo de compatibilidade celular.

4.8 Adesão Celular

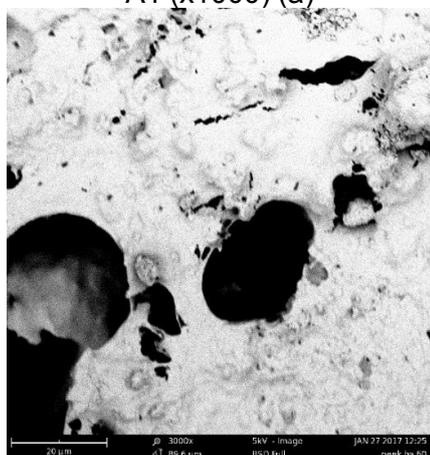
A morfologia das amostras dos compósitos PEEK/HA após o ensaio de adesão celular *in vitro* realizado foi analisada por MEV e as imagens obtidas de diferentes regiões da superfície do material estão apresentadas nas Figuras, 20, 21 e 22.



A1 (x1000) (a)



A1 (x1500) (b)

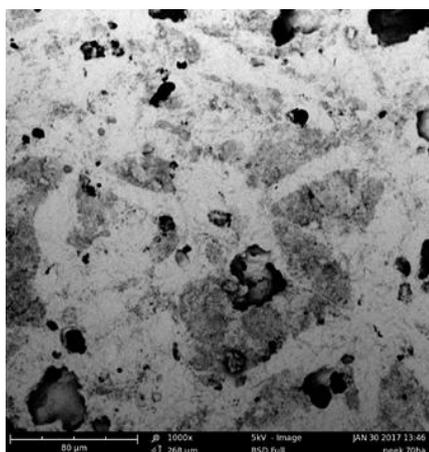


A1 (3000x) (c)

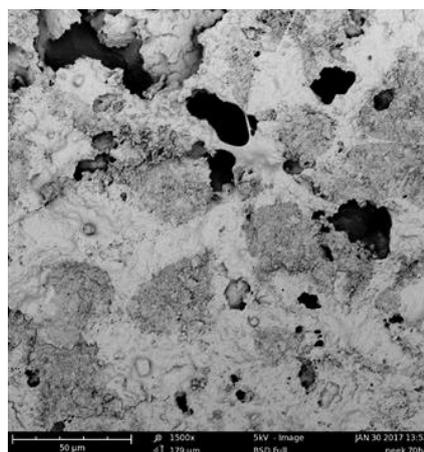


A1 (4500x) (d)

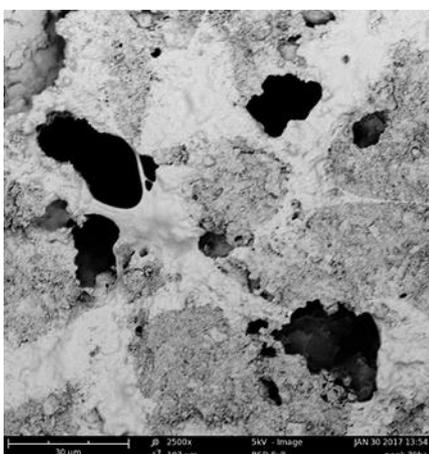
Figura 20 - Micrografias de MEV da superfície da amostra A1 (a), (b), (c) e (d) depois do ensaio de adesão celular.



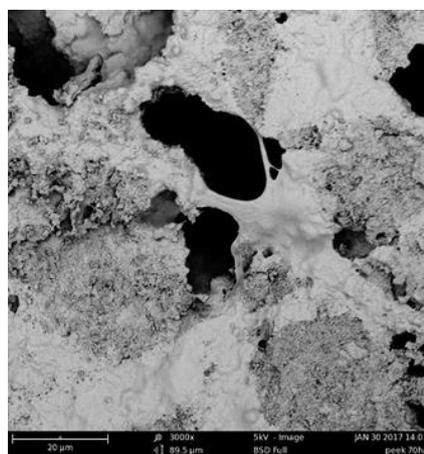
A2 (x1000) (a)



A2 (x1500) (b)



A2 (x2500) (c)



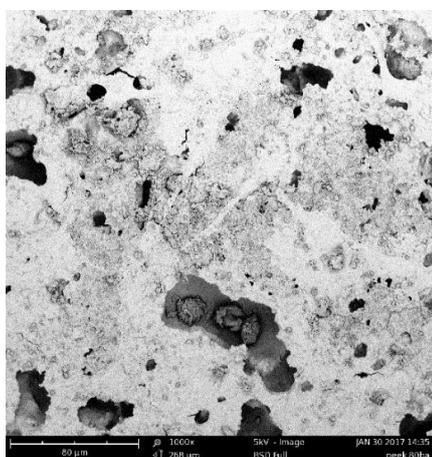
A2 (x3000) (d)

Figura 21 - Micrografias de MEV da superfície da amostra A2 (a), (b), (c) e (d) depois do ensaio de adesão celular.

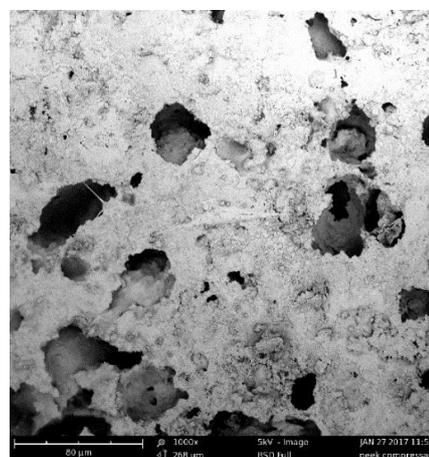
Analisando as Figuras 20, 21 e 22 referente aos compósitos A1, A2 e A3, pode-se visualizar uma superfície com morfologia irregular, com variação de tonalidade, onde as regiões mais claras evidencia a presença de células osteoblásticas na superfície desses compósitos como também é possível observar interação célula / material o que caracteriza a adesão das células osteoblásticas no material, além disso, é possível observar que as células aderidas, apresentam prolongamentos celulares (pseudópodes), os quais são característicos de seu desenvolvimento e viabilidade. Através desses prolongamentos, as células realizam as interações célula/célula e desencadeiam mecanismos de sinalização que serão

responsáveis pela síntese e secreção de matriz extracelular, caracterizado nas imagens pela região mais claras. Todas essas características são necessárias para manutenção do tecido celular e seu desenvolvimento.

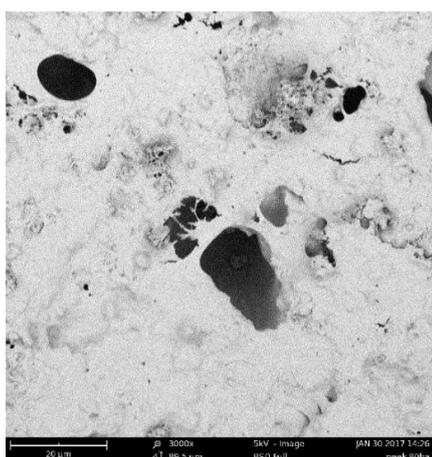
Portanto, os compósitos A1, A2 e A3 promoveram significativamente a ligação das células com o material e podendo ser também relacionado com o aumento da hidrofiliicidade dos compósitos. No trabalho de Zhou e colaboradores foi mostrado que aumento da hidrofiliicidade e rugosidade da superfície dos compósitos relacionados com a presença da HA.



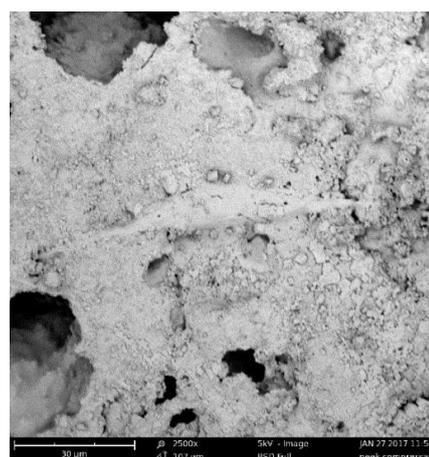
A3 (x1000)(a)



A3 (x1000)(b)



A3 (x3000) (c)



A3 (x2500) (d)

Figura 22 - Micrografias de MEV da superfície da amostra A3(a), (b), (c) e (d) depois do ensaio de adesão celular.

Rui e colaboradores 2014, avaliaram a adesão de osteoblastos nas superfícies de compósitos PEEK/nHA e comprovaram fixação, desenvolvimento proliferação e diferenciação das células assim como maior Atividade Fosfatase Alcalina (ALP). Ajami e colaboradores, 2016 estudaram uma nova técnica de feixe de átomo neutro acelerado, com o intuito de melhorar a bioatividade e adesão celular do PEEK, e hidrofiliabilidade. Os resultados demonstraram que o tratamento ANAB obteve como resultado uma maior e melhor adesão, atividade metabólica e proliferação celular no PEEK.

Os resultados encontrados Zhao e colaboradores 2016, indicaram adesão e proliferação de células osteogênicas, bem como as propriedades mecânicas foram melhoradas para os biocompósitos PEEK / nHA / CF em comparação com PEEK puro.

5 CONCLUSÕES

O estabelecimento dos parâmetros utilizados na metodologia da pesquisa a partir do estudo preliminar, foi de grande importância para desenvolvimento dos compósitos e para a otimização do processamento.

A técnica de moldagem por compressão seguido de tratamento térmico foi adequada para o desenvolvimento dos compósitos HA/PEEK, tendo em vista a que foram obtidas amostras densas dos compósitos.

As avaliações morfológicas, estruturais e espectrométricas demonstraram a formação de uma mistura física dos materiais.

Os ensaios biológicos evidenciaram a capacidade bioativa dos compósitos HA/PEEK e indicaram que o material é biocompatível e favorável para adesão e desenvolvimento celular.

A composição HA40%/PEEK60% (A1) foi a mais satisfatória para o desenvolvimento dos compósitos, pois apresentou maior viabilidade celular, capacidade bioativa e demonstrou adesão e proliferação celular.

Diante do exposto o sistema desenvolvido apresenta-se como promissor para a obtenção de compósitos para aplicação como biomaterial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABODE-IYAMAH, K.; KIM, S. B.; GROSLAND, N.; KUMAR, R.; BELIRGEN, M.; LIM, T. H.; TORNER, J.; HITCHON, P. W. Spinal motion and intradiscal pressure measurements before and after lumbar spine instrumentation with titanium or PEEK rods. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 21, n. 4, p. 651–655, 2014.

ABNT NBR ISO 10993-5 (2009). Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.

Ajami, S.; Coathup, M. J.; Khoury, J.; Blunn, G. W. Augmenting the bioactivity of polyetheretherketone using a novel accelerated neutral atom beam technique. *Journal Biomedical Materials Research. Part B Applied Biomaterials*. 2016.

AMINI, A. R.; LAURENCIN, C. T.; NUKAVARAPU, S. P. Bone tissue engineering: recent advances and challenges. **Critical reviews in biomedical engineering**, v. 40, n. 5, p. 363–408, 2012.

ANSELME, K. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*, v.21, n.7, p.667-681. 2000.

ANSELME K, PONCHE A, BIGERELLE M. influência Relativa de topografia da superfície e química de superfície na resposta das células a materiais de implante ósseo. Parte 2: aspectos biológicos. *Proc Inst Mech Eng H*. 2010; 224 (12): 1487-1507.

ASTM International: F2103-01 Standard Guide for Characterization and Testing of Chitosan Salts as Starting Materials Intended for Use in Biomedical and Tissue-Engineered Medical Product Applications, 2007.

ASTM E2105-00. Standard Practice for General Techniques of Thermogravimetric Analysis (TGA) Coupled With Infrared Analysis (TGA/IR) 2010.

ASTM D3418-15. Standard Test Method for Transition Temperatures and Enthalpies of Fusion and Crystallization of Polymers by Differential Scanning Calorimetry.

ASTM D695–15. Standard Test Method for Compressive Properties of Rigid Plastics.

ASTM D7774-12(2002).Standard Test Method for flexural Fatigue Properties of Rigid Plastics.

AZEVEDO, V.V.C.; CHAVES S. A.; BEZERRA D. C.; LIA FOOK M. V.; COSTA A. C. F. M.; Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, nº 3, p.27-34, 2007.

BANSAL S, CHAUHAN V, SHARMA S, MAHESHWARI R, JUYAL A, RAGHUVANSHI S. Evaluation of hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate mixed with bone marrow aspirate as a bone graft substitute for posterolateral spinal fusion. **Indian J Orthop** ,v. 43, 234-9, 2009.

BAKAR, A.; CHENG, M.; TANG, S.; YU, S; LIAO, K.; TAN, C. Tensile properties, tension–tension fatigue and biological response of polyetheretherketone–hydroxyapatite composites for load-bearing orthopedic implants. **Biomaterials**, v 24, p. 2245–2250, 2003.

BISPO, V. M. **Estudo do efeito da reticulação por Genipin em suportes biocompatíveis de Quitosana-PVA**. 2009. 140p. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas), Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2009.

BORGES, A.P.B.; REZENDE, C.M.F.; RIBEIRO, M.F.B.; MELO, E.G.; NETO, P.I.N. Hidroxiapatita sintética como substituto ósseo em defeito experimental provocado no terço proximal da tíbia em cão: aspectos à microscopia eletrônica de transmissão. **Arquivo de medicina veterinária e zootecnia**. v. 52, p. 616-620, 2000.

CHEN, J.; GUO, Q. ; ZHANG, S. ; WANG,X. ; SHAO, X. Research on Friction and Wear Behaviors of PEEK/PEI/PES Plastics Alloys under Sliding Contact Condition **Procedia Engineering**, v. 36. p. 285 – 291. 2012.

CHEN, F.M.; LIU, X. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering. **Progress in Polymer Science**, v 53, p.86-168, 2015.

CHEN, F.; WANG, ZC; LIN, CJ. Preparation and Characterization of nano-sized hydroxyapatite particles and hydroxyapatite/chitosan nano-composite for use in biomedical materials. **Materials Letters**, v.57, pp. 858-861, 2002.

COSTA, G.G.da.; BOTELHO, E.C.; REZENDE, M. C.; COSTA, M.L. Avaliação do ciclo térmico de conformação por compressão de peças em poli(sulfeto de fenileno) reforçado com fibras contínuas de carbono. **Polímeros**, v 18, p. 81-86, 2008.

DALLAN, P. R. M. Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. (Tese). 194f, 2005.

DANTAS, M.J.L. Estruturas tridimensionais fabricadas a partir de esferas quitosana/hidroxiapatita para regeneração óssea. 2016. 119f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande – Paraíba.

DINIZ, J.; DIONÍSIO, V. Propriedades mecânicas do tecido ósseo: uma revisão bibliográfica. IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, p. 1363–1366, 2005.

FERNANDEZ-TRESGUERRES-HERNANDEZ-GIL, I.; ALOBERA-GRACIA, M,A.; DEL CANTO PINGARRON, M.; JEREZ, L.B. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, v.11, p.: E47-E51, 2006.

FRESHNEY, R. I. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and specialized Applications. 5 ed. Wily-blackwell: New Jersey , 2010.

FIDELES, T. B. Desenvolvimento de Scaffolds de Quitosana para Aplicação na Engenharia de Tecidos. 2014. 122f. (Tese Doutorado). Ciência e Engenharia de Materiais Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Campina Grande. Paraíba.

FOOK, A.C.B.M. Desenvolvimento de Biocerâmicas porosas para regeneração óssea. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Campina Grande-UFCG. Campina Grande-Paraíba.

FOOK, A.C.B.M. **Desenvolvimento e Caracterização de arcabouços de Compositos HA/biopolímeros para engenharia de tecidos.** 2012. 12 1f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Campina Grande-UFCG. Campina Grande-Paraíba.

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

GARRIDO, C.A; FONSECA, T.C; SAMPAIO, V.S. Use of the biological ceramic in filling bone defects. **Revisit Brasilia de Ortopedia** .433 – 438, 2010.

GITTINGS, J. P.; BOWEN, C. R.; DENT, A. C. E.; TURNER, I. G.; BAXTER, F. R.; CHAUDHURI, J. B. Electrical characterization of hydroxyapatite-based bioceramics. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 2, p. 743–754, 2009.

GÓMEZ-MORALES, J. et al. Progress on the preparation of nanocrystalline apatites and surface characterization: Overview of fundamental and applied aspects. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, v. 59, n. 1, p. 1–46, 2013.

GONÇALVES, E. M. et al. Three-dimensional printed PCL-hydroxyapatite scaffolds filled with CNTs for bone cell growth stimulation. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, p. 1–10, 2015.

GOULD, J. A. **Fisioterapia na ortopedia e na medicina do esporte**. São Paulo: Manole, 1993. p.3-47.

HAK, D. J. The use of osteoconductive bone graft substitutes in orthopaedic trauma. **Jam Acad orthop Surg**, v. 15, p. 525-536, 2007.

HAHN, B. D.; PARK, D. S.; CHOI, J. J.; RYU, J.; YOON, W. H.; CHOI, J. H.; KIM, J. W.; AHN, C. W.; KIM, H. E.; YOON, B. H.; JUNG, I. K. Osteoconductive hydroxyapatite coated PEEK for spinal fusion surgery. **Applied Surface Science**, v. 283, p. 6–11, 2013.

HENCH, L.L. POLAK, J.M. Third-generation biomedical materials, *Science*, v.295, p. 1014-7, 2002.

HUTMACHER, D. W. et al. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 1, p. 245–260, 2007.

INGRAM, R.T.; CLARKE, B.L.; FISHER, L.W.; FITZPATRICK, L.A., Distribution of noncollagenous proteins in the matrix of adult human bone: evidence of anatomic and functional heterogeneity. **J Bone Miner Res**, v.8, p. 1019–29, 1993.

IKADA, Y. Challenges in tissue engineering. *Journal of the Royal Society Interface*, v.3, n.10, p.589-601. 2006.

JEE, W.S.S. Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology. In: COWIN, S.C. (Ed.). **Bone mechanics handbook**. Boca Raton, FL: CRC, 2001. Cap1, 1.1-1.68.

JIANG, T.; JAMES, R.; KUMBAR, S.G.; LAURENCIN, C.T. Chapter 5 - Chitosan as a Biomaterial: Structure, Properties, and Applications in Tissue Engineering and Drug Delivery. In: KUMBAR, S. G.;LAURENCIN, C. T., *et al* (Ed.). **Natural and Synthetic Biomedical Polymers**. Oxford: Elsevier, p.91-113, 2014.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

JUNQUEIRA C. CARNEIRO, J. **Histologia basica/L**. 11ª ed - Rio de Janeiro Guanabara koogan 2012.

KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; DOS REIS, R. R.; ALVES, O. L. Biocerâmicas: Tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 518–522, 2000.

KURTZ, S.M.; DEVINE, J.N. PEEK biomaterials in trauma, orthopedic, and spinal implants. **Biomaterials**, v 28, p.4845-4869, 2007.

KURTZ, S. M. PEEK Biomaterials Handbook. Plastic Desing Library. Elsevier. 2012. ISBN-13: 9781437744637.

KURTZ, [S.](#) PEEK performance: a next-generation biomaterial. 2011. <Disponível em: http://www.medicaldevicenetwork.com/features/feature_128303/ >

KURTZ, S. M. Implantable PEEK Polymers: A Decade of Progress in Spine. Orthopedic Design & Technology. 2010. <Disponível em: http://www.odtmag.com/contents/view_features/2010-02-11/implantable-peek-polymers--a-decade-of-progre>.

LAPA, V. M. da C. Otimização da maquinagem do PEEK e seus compósitos PEEK/cf30 e PEEK/gf30. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica). Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade de Aveiro, Aveiro-Portugal.

LI, J.; WANG, Q.; CHAN, C. M.; WU, J. Effect of molding temperature on crystalline and phase morphologies of HDPE composites containing PP nano-fibers. **Polymer**, v. 45, n. 16, p. 5719–5727, 2004.

LIU, S.; LU, J.; WANG, Y.; WANG, Z.; REN, L. Preparation and characterization of PVA-PEEK/PVA- β -TCP bilayered hydrogels for articular cartilage tissue repair. **Composites Science and Technology**, v 128, p.58-64, 2016.

LIU, W.; CAO, Y. **5.28 - Tissue-Engineering Technology for Tissue Repair and Regeneration**. Second Edi ed.[s.l.] Elsevier B.V., 2011. v. 1

LIMA, R.S.C. **Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos: Quitosana/Insulina**.2010.112f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Campina Grande.

LIMA, M.S.C.F de. **Resposta Térmica de um Compósito PEEK + PTFE + Fibra de Carbono + Grafite**. 2012. 137f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica). Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN, Natal-Rio Grande do Norte.

LÚCIO, M. A. M. **Efeito da osteoporose e da osteoartrose nas propriedades mecânicas e estruturais do osso trabecular**. 2008. 89f. Dissertação (Pós-Graduação de Engenharia Biomédica do Instituto Superior Técnico da Universidade Técnica de Lisboa), Lisboa.

LUO, H.; XIONG,G.; ZHIWEI, Y.; SUDA, R.; LI ,Q.; MA, C.; LI, D.; WHANG, Z.; WAN, Y. Preparation of three-dimensional braided carbon fiber-reinforced PEEK composites for potential load-bearing bone fixations. Part I. Mechanical properties and cytocompatibility. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v 29, p.103-113, 2014.

MACHADO DO REIS, L.; KESSLER, C.B.; ADAMS, D.J.; LORENZO, J.; JORGETTI, V.; DELANY, A.M. Accentuated osteoclastic response to parathyroid hormone undermines bone mass acquisition in osteonectin-null mice. **Bone**, v.43, p. 264–73, 2008.

MONTE, T.; PÉPE, N. Estudo de Revestimentos em Biomateriais por Projeção Térmica. **Ciência e Tecnologia dos Materiais**, v.15, p. 51-58. 2003.

MOTA, N. L.; CASTRO JÚNIOR, A. F.; CASTRO, B. K.; SILVEIRA NETO, L. L.; AARESTRup, B. J. V. Embriologia e histofisiologia do tecido ósseo: revisão de literatura e bases histofisiológicas das principais doenças ósseas metabólicas. *Boletim do Centro de Biologia da Reprodução*, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 27-32, 2008.

MORAES JÚNIOR, E.F. **Enxerto autógeno para aumento em espessura e ou altura do processo ósseo alveolar, transtornos de técnica cirúrgica, complicações e sobrevivência dos implantes**. 2002. P.136. Tese (Doutorado em

Odontologia), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2002.

MORENO, M. et al. Scaffolds for bone regeneration: state of the art. **Current pharmaceutical design**, fev. 2016.

NOGUEIRA, C. L., **Obtenção e Caracterização de Compósitos Termoplásticos Avançados à Base de Matrizes de Polipropileno Reforçados com Fibra de Carbono**. 2004. 135f. Tese (Doutorado, Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA)), São José dos Campos, São Paulo.

O'BRIEN, F. J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. **Materials Today**, v. 14, n. 3, p. 88–95, 2011.

O'REILLY, E. B.; BARNETT, S.; MADDEN, C.; WELCH, B.; MICKEY, B.; ROZEN, S. Computed-tomography modeled polyether ether ketone (PEEK) implants in revision cranioplasty. **Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery**, v. 68, n. 3, p. 329–338, 2015.

ORÉFICE, R.L., PEREIRA, M.M., MANSUR, H.S. **Biomateriais – fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica, 2006. p. 239-249.

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

PARK, S.-H.; LLINÁS, A.; GOEL, V.K.; Hard tissue replacements. **The Biomedical Engineering Handbook**: 2. Ed., Boca Raton: CRC Press LLC. v.45, n.1, 2006.

PARK, J.; LAKES, R.S. **Biomaterials: an Introduction**. 3th Edition. New York: Springer, 2007.

PEEK. 2014. <Disponível em :<http://www.sdplastics.com/peek.html>>.

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

PINTO J.G,S, CIPRANDI M.T,O, AGUIAR R.C, LIMA P.V,P, HERNANDEZ, P.A,G, SILVA JÚNIOR A,N,. Enxerto autógeno x biomateriais no tratamento de fraturas e deformidades faciais – uma revisão de conceitos atuais. **RFO UPF**, v.12, p. 79-84, 2007.

PUPPI, D. et al. Polymeric materials for bone and cartilage repair. **Progress in Polymer Science**, v. 35, n. 4, p. 403–440, 2010.

QUINLAN, E. P. Thermal and crystallinity profiles in laminates manufactured with automated thermoplastic tow placement process. 2011. Dissertação (mestrado). McGill University, Montréal- Canadá.

RAGHAVENDRA, G. M.; VARAPRASAD, K.; JAYARAMUDU, T. **Biomaterials**. [s.l.] Elsevier Inc., 2015.

RAMIREZ, C. A. O. **Estudo por microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução de nanopartículas de hidroxiapatita e hidroxiapatita carbonatadas em diferentes estagios de cristalização**. [s.l.] Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, 2010.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. **A History of Biomaterials**. Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine, 2 ed., 2004.

REGO, B.T. **Avaliação do comportamento mecânico de nanocompósito de PEEK/nHA sob Curta e Longa Duração para aplicação como biomaterial** [dissertação de mestrado]. São Carlos – São Paulo: Universidade Federal de São Carlos – UFScar, 2012.

ROBERTS,W;GARETTO,L.P. **Fisiologia e metabolismos osseos**. In:Implantes Dentários Contemporâneos. São Paulo. Livraria Santos Editora. p. 225-237. 2000

RUI,M.; Tang. S.;Tan.H.; Lin. W.; Wang. Y.; Wei. J.; Zhao. L.; Tang. E.Preparation, characterization, and *in vitro* osteoblast functions of a nano hydroxyapatite/polyetheretherketone biocomposite as orthopedic implant material. Int J Nanomedicine9, 3949–3961. 2014.

SADAT-SHOJAI, M. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 8, p. 7591–7621, 2013.

SANTANA, A.S. **Estudo do desenvolvimento de compósitos a partir de pré-impregnados PEEK/fibra de carbono por moldagem por compressão a quente**. 2010. 108f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica), Universidade de Taubaté. Taubaté-São Paulo.

SHEIKO, Nataliia; KÉKICHEFF,Patrick; MARIE, Pascal; SCHMUTZ, Marc; JACOMINE, Leandro; PERRIN,Fabienne. PEEK (polyether-ether-ketone)-coated nitinol wire: Film stability for biocompatibility applications. **Applied Surface Science**, v 389 , p.651-665, 2016.

SILVA, A. J. de J.; COSTA, M. F. da. Estudo e caracterização das propriedades quimiomecânicas do poli(éter éter cetona) (PEEK) envelhecido em álcool anidro. Painel PEMM PEMM/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro (Brasil). 2011.

SILVA, M.C. **Arcabouços quitosana/curcumina como sistema de liberação controlada para tratamento de câncer de mama**. 2012. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande – Paraíba.

SILVA, M.C. **Arcabouços quitosana/curcumina como sistema de liberação controlada para tratamento de câncer de mama**. 2015. 181f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande – Paraíba.2015

SILVER, F; DOILLON, C. Biocompatibility, interations and implantable materials, New York, VCH. v. 1. p. 1-76, 1989.

SINHA, A.; INGLE, A.; MUNIM, K. R.; VAIDYA, S N.; SHARMA, B. P.; BHISEY, A. N. Development of calcium phosphate based bioceramics. **Bull. Mater. Sci.**, v. 24, n.6, p. 653-657, 2001.

SOUZA, R. A.; DIAMANTINO, A. G.; NASCIMENTO, A.; XAVIER, M. Propriedades Mecânicas do tecido ósseo e riscos de fraturas. XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, p. 1–3, 2009.

TANG, C. Y.; TSUI, C. P.; LIN, W.; USKOKOVIC, P. S.; WANG, Z. W. Multi-level finite element analysis for progressive damage behavior of HA/PEEK composite porous structure. **Composites Part B: Engineering**, v. 55, p. 22–30, 2013.

TOTH, J.M.; WANG, M.; ESTES, B.T.; SCIFERT, J.L.; SEIM, H. B.; TURNER, A. S. Polyetheretherketone as a biomaterial for spinal applications. **Biomaterials**, vol.27, p.324-334, 2006.

TUREK, S. L. **Ortopedia: Princípios e sua Aplicação 1**. São Paulo: Editora Manole, 1991. P.756.

VACCARO, A.R.; SINGH, K.; HAID, R.; KITCHEL, S.; WUISMAN, P.; TAYLOR, W.; BRANCH, C.; GARFIN, S. The use of bioabsorbable implants in the spine. **The Spine Journal**, v.3, p.227-237, 2003.

VERT, M. et al. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 3, n. 6, p. 432-446, 1992.

VICTREX® PEEK 2015. <Disponível em: <http://www.victrex.com>>.

YU,S.; HRIRAM,K.P.; CHEANG,P,; AIK,K.K. In vitro apatite formation and its growth kinetics on hydroxyapatite/ polyetheretherketone biocomposites. *Biomaterials*, vol.26, p.2343-2352, 2005.

WANG, L.; WENG, L.; SONG, S.; SUN, Q. Mechanical properties and microstructure of polyetheretherketone- hydroxyapatite nanocomposite materials. **Materials Letters**, v. 64, n. 20, p. 2201–2204, 20, 2010.

WANG, G. et al. Enhanced effects of nano-scale topography on the bioactivity and osteoblast behaviors of micron rough ZrO₂ coatings. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 86, n. 2, p. 267–274, 2011.

WANG, H.; ZHANG, S.; WANG, G.; YANG, S.; ZHU, Y. Tribological behaviors of hierarchical porous PEEK composites with mesoporous titanium oxide whisker. *Wear*, v 297, p.736-741, 2013.

WANG, J. et al. Biomimetically Ornamented Rapid Prototyping Fabrication of an Apatite-Collagen-Polycaprolactone Composite Construct with Nano-Micro-Macro Hierarchical Structure for Large Bone Defect Treatment. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 7, n. 47, p. 26244–26256, 2015.

WILLIAMS, D. F. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, v. 29, n. 20, p. 2941-2953, 2008.

WILLIAMS, D. F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, n. 30, p. 5897-5909. 2009.

WONG, J.Y.; BRONZINO, J.D. *Biomaterials*. Boca Raton: CRC Press. 2007.

ZHANG, X. et al. Polymer-ceramic spiral structured scaffolds for bone tissue engineering: Effect of hydroxyapatite composition on human fetal osteoblasts. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. 2–11, 2014.

ZHANG, Y.; ZUO, K.; ZENG, Y-P. Effects of gelatin addition on the microstructure of freeze-cast porous hydroxyapatite ceramics. **Ceramics International**, v. 35, p. 2151–2154, 2009.

ZHAO.M.;Li. H.;Liu. X.;Wei. J.;Ji. J.;Yang. S.;Hu. Z.;Wei. S. Response of Human Osteoblasts to the n-HA / PEEK Quantitative Proteomic Study of Bio-effects of Compound Nano-Hydroxyapatite. Know. Rep. 6, 22832; Doi: 10,1038 / srep22832 (2016).

ZHOU, H.; LEE, J. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 7, p. 2769–2781, 2011.

ZHOU, T.; ZHU, Y.; LI, X.; LIU, X.; YEUNG, K. W. K.; WU, S.; WANG, X.; CUI, Z.; XIANJIN, Y.; CHU, P. K. Surface functionalization of biomaterials by radical polymerization. **Progress in Materials Science**, v83, p 191-235, 2016.

ANEXOS

Amostras produzidas na etapa de investigação exploratória.

