



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



DISSERTAÇÃO

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SCAFFOLDS DE HIDROXIAPATITA
A PARTIR DO MÉTODO SOL-GEL

WILLAMS TELES BARBOSA

CAMPINA GRANDE
Fevereiro / 2015



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



OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SCAFFOLDS DE HIDROXIAPATITA
A PARTIR DO MÉTODO SOL-GEL

WILLAMS TELES BARBOSA

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

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook
Agência Financiadora: CAPES

CAMPINA GRANDE
Fevereiro / 2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

B238o Barbosa, Willams Teles.
Obtenção e caracterização de scaffolds de hidroxiapatita a partir do método Sol-Gel / Willams Teles Barbosa. – Campina Grande, 2015.
70 f. : il. Color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2015.

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

1. Biomateriais. 2. Biocerâmicas. 3. Fosfatos de Cálcio. 4. Hidroxiapatita. 5. Sol-Gel. 6. Método Réplica I. Fook, Marcus Vinícius Lia.
II. Título.

CDU 666.3-127(043)

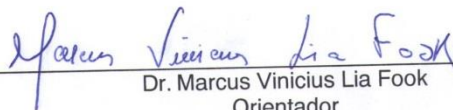
Willams Teles Barbosa

Nascimento	21 de Julho de 1985
Naturalidade	Recife-PE
Filiação	Geraldo Teles Barbosa Maria José Teles Barbosa
2006 – 2012	Graduação em Química Industrial pela Universidade Estadual da Paraíba - UEPB
2013 – 2015	Curso de pós-graduação, nível de Mestrado, em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Campina Grande - UFCG

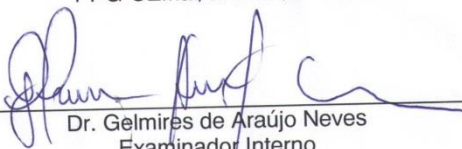
**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SCAFFOLDS DE HIDROXIAPATITA A
PARTIR DO MÉTODO SOL-GEL**

WILLAMS TELES BARBOSA

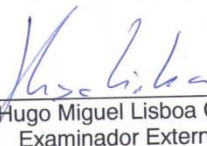
Dissertação Aprovada em 25/02/2015 pela banca examinadora constituída dos seguintes membros:



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



Dr. Gelmiros de Araújo Neves
Examinador Interno
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



Dr. Hugo Miguel Lisboa Oliveira
Examinador Externo
UAEA/UFCG

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a **DEUS** que me deu força, saúde e paz para conduzir esse trabalho da maneira mais prazerosa possível.

Aos **meus pais, Maria José Teles Barbosa e Geraldo Teles Barbosa**, primeiros incentivadores da minha educação e que sempre me apoiaram em todas as minhas decisões, e ao **meu irmão Daywison José Teles Barbosa**, pois sempre que precisei ajudou-me.

A minha **noiva Imarally**, por estar ao meu lado sempre me ajudando nas dificuldades e principalmente me incentivando.

Ao **Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook**, pela orientação, confiança e oportunidade de conhecer um pouco da Ciência dos Materiais, com essa experiência pude crescer e amadurecer na minha vida acadêmica.

Ao **Prof. Dr. Hugo Miguel Lisboa Oliveira** pela sua co-orientação, que sempre se mostrou disposto a me auxiliar quando tive dúvidas, pelas revisões, correções, sugestões, por todos os ensinamentos. Agradeço também a sua amizade, além de co-orientador, um amigo!

A todos do **Laboratório CERTBIO**, professores, funcionários e alunos, que fizeram parte desta caminhada direta ou indiretamente, me auxiliando a subir mais um degrau em minha vida, o meu imenso agradecimento.

Aos grupos que faço parte na Paroquia Santíssimo Salvador, em especial a todos do **Evangelizarte** e ao **Padre Antônio Dias**, pelas orações e apoio que sempre me deram. FIAT!

Aos professores e funcionários do Programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

A CAPES pela bolsa concedida.

RESUMO

Biocerâmicas porosas são utilizadas para fornecer local onde o tecido ósseo possa crescer e fixar o implante biologicamente. A hidroxiapatita [HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] é um fosfato de cálcio que tem recebido atenção considerável nas últimas duas décadas como material de implante. Devido à sua ocorrência natural no tecido ósseo, os fosfatos de cálcio possuem boas propriedades de biocompatibilidade e osteocondução, tornando-a um dos biomateriais mais promissores na fabricação de scaffolds para a engenharia de tecido ósseo. O objetivo do presente trabalho centrou-se no desenvolvimento e otimização de estruturas tridimensionais porosas a base de HA combinando o método Sol-Gel e a réplica da esponja de poliuretano (PU), permitindo uma interconectividade e distribuição variada dos poros. Os scaffolds desenvolvidos foram caracterizados pelas técnicas de Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS), Análise Termogravimétrica (TG), Porosidade, Ensaio de Compressão. Os resultados de FTIR apresentaram as bandas características da HA. A técnica de DRX revelou a presença da fase cristalina de HA (95%), como também em menor quantidade o α -Fosfato Tricálcico (2,5%). As análises por MEV revelaram scaffolds com poros interconectados com tamanhos de poros variando entre 50 μm a 200 μm e o EDS detectou a presença dos elementos químicos característicos da HA, como o Cálcio e o Fósforo. Os resultados de TG permitiram confirmar que as curvas de temperatura utilizadas no processo de sinterização, são eficientes para a queima da esponja, obtendo-se somente uma fase inorgânica de apatita. Os scaffolds apresentaram uma porosidade total de aproximadamente 75% e resistência à compressão variando de 3,13 a 4,86 MPa. Diante dos resultados obtidos foi possível produzir scaffolds de apatita através da metodologia Sol-Gel e combinação com a metodologia de replica de esponja porosa, com características que devem permitir a regeneração óssea.

Palavras chaves: Biomateriais, Biocerâmicas, Fosfatos de Cálcio, Hidroxiapatita, Sol-Gel, Método Réplica.

ABSTRACT

Porous bioceramics are used to provide location where the bone tissue can grow and biologically fixing the implant. Hydroxyapatite [HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] is a calcium phosphate which has received considerable attention over the past two decades as an implant material. Due to its naturally occurring in bone tissue, the calcium phosphate has good biocompatibility and osteoconductive properties, making it one of the most promising biomaterials in the manufacture of scaffolds for bone tissue engineering. The objective of this work was the development and optimization of porous three-dimensional structures composed of HA, combining sol-gel method with the replica of a polyurethane foam, allowing interconnectivity and scattered distribution of pores. The developed scaffolds were characterized by Fourier Transform in the Infrared Region (FTIR), X-Ray Diffraction (XRD), Scanning Electron Microscopy (SEM), Energy Dispersive Spectroscopy (EDS), Thermogravimetric Analysis (TG), Porosity Tests and Compression Tests. The FTIR results showed the characteristic bands of the hydroxyapatite. The XRD technique revealed the presence of a crystalline phase belonging to hydroxyapatite (97,5%), and to a lesser extent the α -Tricalcium Phosphate (2,5%). Analysis by SEM revealed scaffolds with interconnected pores which had sizes ranging from 50 μm to 200 μm and EDS detected the presence of specific chemical elements of hydroxyapatite such as Calcium and Phosphorus. TG results allowed to confirm that the temperature curves used in the sintering process, is effective for burning of the sponge, yielding only an inorganic phase of apatite. The scaffolds showed a porosity of about 75% and compressive moduli ranging from 3.13 to 4.86 MPa. Based on these results, it was possible to produce scaffolds of HA by Sol-Gel method in combination with replica of a polyurethane foam, with attributes for bone regeneration.

Keywords: Biomaterials, Bioceramics, Calcium Phosphate, Hidroxyapatite, Sol-Gel, Replica Method

PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

NASCIMENTO, I. V. S. R.; SOUZA, M. K. S.; **BARBOSA, W. T.**; FIDELES, T. B.; MARINHO, T. M. A.; FOOK, M. V. L. OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE QUITOSANA COMO SISTEMA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DA PIPERINA. In: 21º CBECIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais., 2014, Cuiabá-MT. 21º CBECIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2014. p. 7460-7467.

BARBOSA, W. T.; LISBOA, H. M.; FOOK, M. V. L.. PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF SCAFFOLDS OF HIDROXIPATITE FROM THE SOL-GEL METHOD. In: 3er Taller de Órganos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos, Vina del Mar. 3er Taller de Órganos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos., 2013. p. 357-360, 2013.

Resumos publicados em anais de congressos

FIDELES, T. B.; **BARBOSA, W. T.**; LIMA, D. B.; BORGES, S. M. P.; PINHEIRO, I. M. F.; TRINDADE, L. C.; FOOK, M. V. L. DEVELOPMENT OF CHITOSAN SCAFFOLDS BY PARTICLE AGGREGATION METHOD FOR BIOMATERIAL APPLICATIONS.. In: 8vo Congreso Latinoamericano de Organos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos - 8vo COLAOB, 2014, Rosario. 8vo Congreso Latinoamericano de Organos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos - 8vo COLAOB, 2014.

BARBOSA, W. T.; NASCIMENTO, I. V. S. R.; LISBOA, H. M.; FOOK, M. V. L.. CHARACTERIZATION OF HYDROXYPATITE SCAFFOLDS OBTAINED FROM A METHOD SOL-GEL TECHNIQUE USING A POLYMER SPONGE. In: 8vo Congreso Latinoamericano de Organos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos - 8vo COLAOB, 2014, Rosario. 8vo Congreso Latinoamericano de Organos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos - 8vo COLAOB, 2014.

NASCIMENTO, I. V. S. R.; SOUZA, M. K. S.; **BARBOSA, W. T.**; FIDELES, T. B.; FOOK, M. V. L. THERMOANALYTICAL EVALUATION OF CHITOSAN/PIPERINE MEMBRANES. In: 8vo Congreso Latinoamericano de Organos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos - 8vo COLAOB, 2014, Rosario. 8vo Congreso Latinoamericano de Organos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos - 8vo COLAOB, 2014.

BARBOSA, W. T.; LISBOA, H. M.; FOOK, M. V. L. PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF SCAFFOLDS OF HIDROXIPATITE FROM THE SOL-GEL METHOD. In: 3er Taller de Órganos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos., 2013, Vina del Mar. 3er Taller de Órganos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos., 2013.

Patentes e registros

LISBOA, H. M.; **BARBOSA, W. T.**; NASCIMENTO, I. V. S. R.; FOOK, M. V. L. OBTENÇÃO DE ARCABOUÇO DE FOSFATO DE CÁLCIO OBTIDO A PARTIR DO MÉTODO SOL-GEL COMBINADO COM O MÉTODO DE RÉPLICA. 2014, Brasil.

Patente: Modelo de Utilidade. Número do registro: BR2020140284864, data de depósito: 17/11/2014, título: "OBTENÇÃO DE ARCABOUÇO DE FOSFATO DE CÁLCIO OBTIDO A PARTIR DO MÉTODO SOL-GEL COMBINADO COM O MÉTODO DE RÉPLICA" , Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Organização estrutural do osso.	19
Figura 2: Células da matriz óssea.	21
Figura 3: Arranjo dos íons ao longo do eixo c na HA.	31
Figura 4: Estrutura cristalina da hidroxiapatita.	31
Figura 5: (a) Esponja imersa na solução sol-gel, (b) Esponja seca e (c) Scaffold após sinterização.	39
Figura 6: Taxas de sinterização dos scaffolds.	39
Figura 7: Etapas do desenvolvimento e caracterização dos scaffolds porosos de hidroxiapatita.	44
Figura 8: (a) Esponja de poliuretano; (b) Esponja impregnada com a solução, após secagem; (c) Scaffold Cerâmico, após sinterização.	45
Figura 9: Espectro vibracional de IV: (a) Esponja PU, (b) Esponja + Sol. Sol-gel e (c) Hidroxiapatita.	47
Figura 10: Difractograma de raios-X do pó obtido do scaffold.	48
Figura 11: Difractograma de raios-X do pó obtido do scaffold refinado pelo Método de Rietveld.	48
Figura 12: Análise quantitativa dos picos do espectrograma de Raios X.	49
Figura 13: Micrografia eletrônica de varredura da esponja de poliuretano: (a) 200x, (b) 1000x, (c) 2000x.	50
Figura 14: EDS da esponja de poliuretano.	50
Figura 15: Micrografia eletrônica de varredura da esponja impregnada com a solução sol-gel: (a) 200x, (b) 1000x, (c) 2000x.	51
Figura 16: EDS da esponja impregnada com a solução sol-gel.	51
Figura 17: Micrografia eletrônica de varredura do scaffold cerâmico: (a) 200x, (b) 1000x, (c) 2000x.	52
Figura 18: EDS do scaffold poroso.	52
Figura 19: Comparação da distribuição de tamanho de poros entre as amostras.	53
Figura 20: Curvas TG-DTG da esponja de poliuretano (a), esponja impregnada com a solução sol-gel (b) e scaffold cerâmico (c).	55
Figura 21: Ensaio de Compressão.	57
Figura 22: Ensaio de porosidade pelo método geométrico.	58
Figura 23: Modulo de Compressão vs Porosidade.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Propriedades mecânicas do osso cortical e trabecular.	17
Tabela 2: Crescimento tecidual de acordo com o tamanho dos poros.	27
Tabela 3: Tipos de fosfatos de cálcio e suas principais características.	29
Tabela 4: Resultados obtidos a partir do teste mecânico de compressão.	57
Tabela 5: Porosidade dos scaffolds de Hidroxiapatita.	58

LISTA DE SIGLAS

HA - Hidroxiapatita

μm - Micrômetro

MPa - Megapascal

GPa - Gigapascal

nm - nanômetro

TCP - Fosfato Tricálcio

Ca/P - Razão Cálcio e Fosforo

DCPD - Dicálcico di-hidratado

DCPA - Fosfato dicálcico anidro

α -TCP - α -fosfato tricálcio

β -TCP - β - fosfatos tricálcio

pH - Potencial de Hidrogênio Iônico

H₂O - Água

PU - Poliuretano

CERTBIO - Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste

UFMG - Universidade Federal de Campina Grande

IV - radiação de infravermelho

FTIR - Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

DRX - Difração de Raios X

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

EDS - Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X

TG - Termogravimetria

GSAS-II - Software General Structure Analysis System-II

ρ - Densidade

DTG - Termogravimetria derivada

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE SIGLAS	xii
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1 Tecido Ósseo	17
3.1.1 Composição química e funções do tecido ósseo.....	20
3.2 Biomateriais	21
3.3 Biocerâmicas.....	24
3.3.1 Biocerâmicas Porosas	25
3.4 Fosfatos de Cálcio	28
3.4.1 Hidroxiapatita	30
3.5 Processo sol-gel.....	33
3.6 Método da réplica da esponja polimérica.....	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
4.1 Local da Pesquisa.....	38
4.2 Reagentes e Materiais	38
4.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	38
4.4 Fluxograma da Metodologia.....	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
5.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR	46
5.2 Análise por Difração de Raios X - DRX.....	47
5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV e Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X - EDS	49
5.4 Análise Termogravimétrica – TG.....	54

5.5 Ensaio Mecânicos	57
5.5.1 Ensaio de Compressão.....	57
6 CONCLUSÕES	60
7 TRABALHO FUTURO	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de biomateriais mostra-se fundamentalmente importante, no sentido que a sua produção prescreve uma melhoria no nível de vida das pessoas, representada por um aumento na expectativa de vida, na saúde em geral e no bem estar da população. Dessa forma, observa-se nos últimos anos um enorme esforço no intuito de se produzir novas tecnologias nessa área (VOLKMER, 2006).

Na engenharia de tecido ósseo, o scaffold poroso é um dos componentes essenciais para regeneração óssea, este deve ser tridimensional e altamente poroso com uma rede de poros interconectados para crescimento celular/tecidual e transporte de nutrientes e resíduos metabólicos, fornecendo um suporte estrutural para o tecido recém-formado (BUCKLEY et al, 2004). A sua composição e a arquitetura desempenham papéis cruciais na capacidade de colonização das células (RAMAY, ZHANG, 2003; ZHAO et al., 2006).

O material deve ser biocompatível, bioreabsorvível cujos produtos da dissolução sejam metabolizados pelo organismo, osteocondutor e, de preferência osteoindutor (SENGERS et al., 2007). A porosidade aumenta a área superficial disponível para a justaposição osso-implante e a osseointegração, conseqüentemente, o período de ligação interfacial entre o implante e o osso é reduzido (VERCIK et al., 2003; CAMPOS et al., 2005)

Os fosfatos de cálcio estão entre os materiais mais amplamente utilizados para a regeneração do tecido ósseo. Eles podem ser fabricados na forma de géis, pastas, blocos sólidos e como matrizes porosas, e suas principais áreas de aplicação são a ortopedia e a odontologia. Uma atenção particular tem sido dada para a utilização do fosfato de cálcio hidroxiapatita (HA) devido as sua semelhança com a apatita encontrada no osso e por poder ser processada na forma de suportes porosos. (GROOT, 1980; RAMAY, ZHANG, 2003).

A hidroxiapatita (HA) é uma biocerâmica normalmente utilizada em engenharia de tecidos, como substituto do osso. Para esta aplicação, a HA é normalmente utilizado sob a forma de pó ou como suportes (ZHU et al., 2006).

Neste último caso, a HA deve apresentar uma estrutura tridimensional, com poros interligados, que garante semelhanças desejadas com o tecido ósseo devido à sua razão cálcio / fósforo (Ca/P), e também a sua estabilidade quando em contato com ambiente fisiológico. A HA apresenta semelhança significativa com o osso humano necessitando de um longo tempo de residência no corpo, para que seja reabsorvida pelo osso (GROOT, 1980; RAMAY, ZHANG, 2003).

A presença de porosidade na arquitetura de um biomaterial é condição fundamental para estabilização e neoformação tecidual junto ao mesmo. Um dos critérios mais importantes para o crescimento ósseo em um suporte poroso esta relacionado com tamanho de poro, variando entre 100-150 μ m (JONES et al, 2007). Além disso, uma superfície porosa melhora a interligação mecânica entre o biomaterial implantado e o osso natural, proporcionando uma maior estabilidade mecânica. O tamanho de poro mínimo requerido para regenerar o osso mineralizado é geralmente considerado como sendo ~100 μ m (ITALA et al., 2001).

Vários métodos têm sido utilizados para a produção de scaffolds porosos de HA. Um deles é o método sol-gel, este proporciona uma mistura molecular de cálcio e fósforo capaz de melhorar a homogeneidade química e permitir a preparação de pós altamente puros, devido à possibilidade de um cuidadoso controle dos parâmetros do processo, resultando geralmente em uma microestrutura de granulação fina que contem uma mistura de cristais de tamanho de submícron a nano, sendo muito importante para melhorar a reação de contato e a estabilidade da interface osso artificial/natural (BEZZI et al., 2003).

Desta forma, neste trabalho propôs-se a obtenção de scaffolds de hidroxiapatita a partir deste método para reconstituição do tecido ósseo, que possa atender à crescente demanda desses materiais nas aplicações médicas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obtenção e caracterização de scaffolds de hidroxiapatita obtidos pela combinação do método sol-gel com o método de réplica da esponja polimérica.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Desenvolver a metodologia para a obtenção de fosfatos de cálcio pelo método sol-gel no interior de uma esponja de poliuretano;
- Estabelecer condições de queima da esponja polimérica e sinterização dos scaffolds;
- Avaliar a composição dos scaffolds obtidos;
- Avaliar as propriedades morfológicas dos scaffolds porosos;
- Avaliar as propriedades mecânicas dos scaffolds porosos;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Tecido Ósseo

O esqueleto humano é constituído por mais de 200 ossos de tamanho, forma e composição variáveis. Macroscopicamente, o tecido ósseo pode se apresentar como compacto na região mais periférica dos ossos, denominada cortical, e esponjoso ou trabecular, como rede de trabéculas contendo espaços intercomunicantes que abrigam a medula óssea. As superfícies ósseas internas e externas são revestidas respectivamente pelo endóstio e perióstio (KATCHBURIAN, ARANA, 2004; JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2004).

De maneira geral, aproximadamente 80% do esqueleto consiste em osso compacto e 20% em osso esponjoso (TORTORA, GRABOWSKI, 2002).

A parte esponjosa do osso (trabecular) apresenta uma porosidade interconectada entre 50 e 90 % (TORO, 2005). Essa parte apresenta maior atividade metabólica, pois possui em sua superfície maior número de células por unidade de volume que no osso cortical (MARINHO, 1995). A parte compacta do osso (cortical) é a região que suporta as diferentes cargas e forças exercidas sobre o osso. Ela se encontra na parte superficial dos ossos e sua função é revestir todos os ossos do nosso organismo (MUNDSTOCK, 2010). A Tabela 1 mostra as propriedades mecânicas do osso trabecular e cortical.

Tabela 1: Propriedades mecânicas do osso cortical e trabecular.

Propriedades	Osso Cortical Longitudinal	Osso Cortical Transversal	Osso Trabecular
Resistência à compressão (MPa)	100 – 230	106 – 133	2 – 12
Resistência à Tração (MPa)	78 - 150	51 – 56	-
Resistência à flexão (MPa)	50 - 150	-	-
Módulo de Elasticidade, E (GPa)	7 – 30	-	0,05 – 0,5

Fonte: STROGANOVA et al. 2003, KOKUBO, KIM, KAWASHITA, 2003.

Além de sua função estrutural, que dá forma e rigidez ao corpo, os ossos são responsáveis pela proteção de órgãos vitais, como o cérebro e órgãos sensoriais; pela fabricação de células sanguíneas, que ocorre na medula óssea vermelha situada no tecido esponjoso e pela homeostase que ajuda manter constante o nível de cálcio no sangue (SIKAVITSAS, TEMENOFF, MIKOS, 2001).

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo, cuja matriz extracelular é calcificada e constitui uma das estruturas mais rígidas do corpo, porém apresenta características dinâmicas e muda de forma constantemente, dependendo da força a ele aplicada. A resistência e rigidez do osso estão intimamente relacionadas com a associação dos cristais de hidroxiapatita com o colágeno. Se o osso for descalcificado, ele ainda mantém sua forma original, mas se torna extremamente flexível. O componente orgânico da matriz óssea, que constitui aproximadamente 35% do peso seco do osso, inclui fibras que são quase exclusivamente de colágeno tipo I. O colágeno, que constitui cerca de 90% do componente orgânico do osso, é formado de feixes grandes (50 a 70 nm de diâmetro) que representam a dimensão típica de 67 μm (GARNET, HIATT, 2003).

A fim de entender as propriedades do osso, torna-se necessário conhecer suas propriedades estruturais e seus níveis de organização.

- Aspectos macroscópicos

Macroscopicamente, o tecido ósseo pode se apresentar como compacto, na região mais periférica dos ossos, denominada cortical, e esponjoso ou trabecular, com rede de trabéculas contendo espaços intercomunicantes que abrigam a medula óssea. As superfícies ósseas internas e externas são revestidas respectivamente pelo endóstio e perióstio. O perióstio constitui membrana de grande importância para a integridade dos ossos (KATCHBURIAN, ARANA, 2004; JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2004).

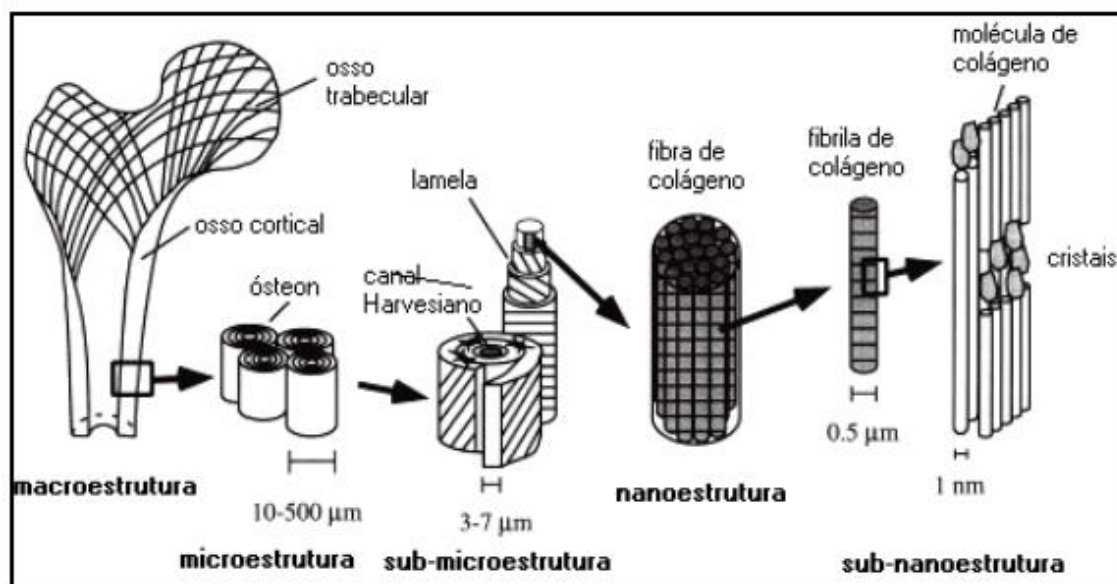
- Aspectos microscópicos

O tecido ósseo pode ser classificado em primário (imaturo) que se apresenta com disposição irregular, não organizada das fibras colágenas e menor quantidade de cristais de hidroxiapatita. Está presente no feto, no calo

ósseo, nas osteomielites, nos tumores ósseos e na doença óssea de Paget. É classificado também como secundário (maduro, haversiano ou lamelar), com fibras colágenas dispostas em lamelas paralelas ou concêntricas em torno dos canais de Harvers, formando osso compacto ou esponjoso (COTRAM, KUMAR, COLLINS, 2005).

O tecido ósseo tem dois componentes básicos: células e matriz orgânica, sobre a qual se depositam os componentes inorgânicos. Na Figura 1 é possível observar a organização estrutural do osso, macroscopicamente e microscopicamente.

Figura 1: Organização estrutural do osso.



Fonte: RHO, KUHN-SPEARING, ZIOUPOS, 1998.

A fase mineral compreende 60-70% do peso do tecido ósseo de um fosfato de cálcio apatítico, denominado hidroxapatita carbonatada (SINHA et al., 2001). Sob a superfície do tecido ósseo, deposita-se uma camada de matriz denominada osteóide, que se caracteriza por uma matriz não mineralizada, contendo grande quantidade de fibras colágenas tipo I produzidas pelos osteoblastos (KATCHBURIAN, ARANA, 2004).

Os cristais de apatita estão dispostos em espaços discretos dentro das fibrilas de colágeno, portanto limitando o possível crescimento primário dos cristais, forçando-os a serem discretos e descontínuos.

3.1.1 Composição química e funções do tecido ósseo

Além dos componentes orgânico e inorgânico, o tecido ósseo é um tipo de tecido conjuntivo formado por células e material extracelular calcificado, conhecido como matriz óssea. As células são os osteoblastos, osteoclastos e osteócitos, conforme Figura 2 (JUNQUEIRA, CARREIRO, 2004). As células ósseas se localizam dentro do próprio tecido ósseo ou no estroma conjuntivo da medula óssea, rico em células mesenquimais pluripotenciais indiferenciadas (FERNÁNDEZ -TRESGUERRES-HERNÁNDEZ -GIL et al., 2006).

Osteoblastos

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

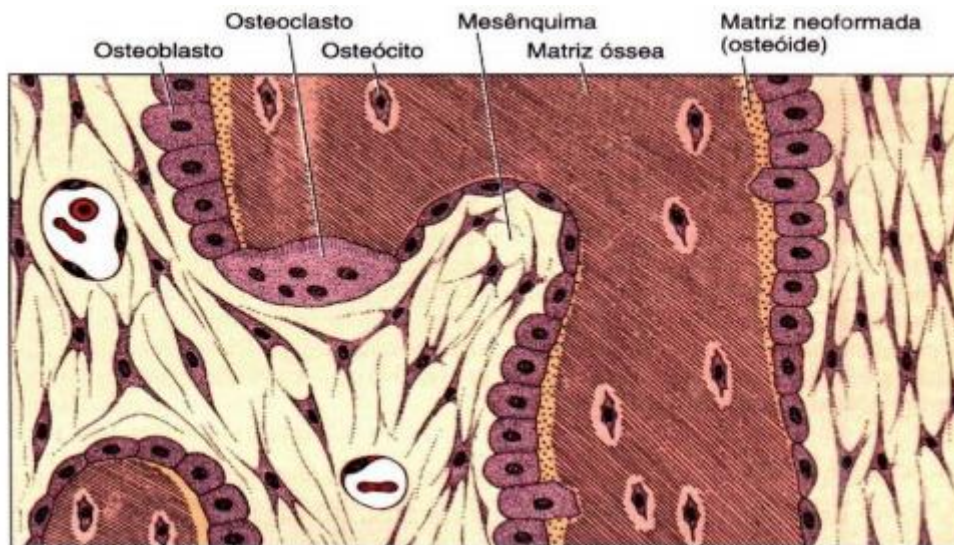
Osteócitos

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

Osteoclastos

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

Figura 2: Células da matriz óssea.



Fonte: Junqueira, Carneiro, 2004.

3.2 Biomateriais

Um biomaterial é uma substância que foi projetada e conformada para que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, é usada para direcionar, pelo controle das interações com os componentes dos sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou de diagnóstico, em medicina humana ou veterinária (WILLIAMS, 2009).

Um dos pré-requisitos essenciais para intitular um material como um biomaterial é a sua biocompatibilidade, ou que este seja bioinerte, assim ele é definido como aquele que não influencia negativamente o meio biológico, de modo que não sejam observadas reações tóxicas, alérgicas ou carcinogênicas, desempenhando uma resposta tecidual apropriada em uma aplicação específica (WILLIAMS, 2008).

Os biomateriais têm sido destinados especificamente a proporcionar respostas em níveis celulares e moleculares (RATNER, BRYANT, 2004). Além disso, a reação favorável do hospedeiro para materiais implantados é muito importante para o seu desempenho (WANG, LU, ZREIQAT, 2014).

A terceira geração compreende os vários tipos de biomateriais: sintético (metais, polímeros, cerâmicos, compósitos); derivado da natureza (por exemplo, derivados de plantas, derivadas de tecido) e semi-sintéticos ou

híbrido. Os biomateriais sintéticos incluem os metais, polímeros, as cerâmicas e os compósitos (KULINETS, 2015).

Os materiais metálicos (metais e suas ligas) são usados principalmente em aplicações que necessitam do suporte de carga, tais como implantes ortopédicos (fios, chapas, parafusos e próteses totais ou parciais) e aplicações dentárias. Os metais e suas ligas mais comuns utilizados para fins medicinais são diferentes tipos de aços inoxidáveis, ligas de titânio e titânio puro e ligas à base de cobalto (KULINETS, 2015).

A grande variedade do polímero proporciona que eles venham sendo bastante utilizados para aplicações biomédicas. São usados principalmente para aplicações como, prótese vascular, cateteres, dispositivos para liberação controlada de drogas, próteses faciais, pele/cartilagem, prótese intra-ocular, e, em conjunto com metais, em ortopedia e odontologia. Além disso, também incluem materiais poliméricos no estado líquido, filem e na forma de gel que são utilizadas como adesivos, revestimentos, materiais anti-adesão, e enchimentos (KULINETS, 2015).

As cerâmicas são compostos policristalinos, que devido à compressão e alta resistência ao desgaste, são utilizadas tradicionalmente em restaurações dentárias e ortopédicas para certas aplicações (por exemplo, como parte de articulações artificiais). Em forma de pó, elas são também utilizadas em conjunção com polímeros para encher as cavidades ósseas como cimentos ósseos em aplicações dentárias e ortopédicas (KULINETS, 2015).

Os compósitos são uma classe de materiais que combinam os benefícios de seus componentes, e em que os componentes de material são distintamente separados acima do nível molecular. Eles são especificamente concebidos para uso particular e são utilizados numa grande variedade de aplicações médicas (KULINETS, 2015).

Outro tipo de biomaterial são os naturais. Os materiais naturais são muitas vezes semelhantes, se não idênticos, aos materiais de que o sistema biológico pode reconhecer e processar através de vias metabólicas. Isto permite que o material funcione ao nível molecular e supra a resposta inflamatória, permitindo que o material seja metabolizado através de mecanismos fisiológicos (enzimas). Os materiais naturais geralmente permitem

evitar os problemas de toxicidade muitas vezes apresentada por materiais sintéticos, especialmente polímeros. A grande desvantagem dos polímeros naturais é que elas podem desnaturar-se ou decompor-se a baixas temperaturas, fazendo com que o seu processamento e esterilização sejam etapas desafiadoras (KULINETS, 2015).

Para serem utilizados na medicina os biomateriais devem apresentar os seguintes requisitos, em ordem de importância: clínico, processamento e econômico. A consideração clínica óbvia é que o biomaterial deve possuir propriedades físicas, químicas e biológicas adequadas, para cumprir a sua função. Por exemplo, se não se pretende, o material não deve degradar em resposta às condições corrosivas do ambiente biológico e prejudicar suas propriedades, ou libertar substâncias potencialmente nocivas de degradação locais ou sistêmicos. Além do desempenho específico para a aplicação, um biomaterial também deve apresentar praticidade no processamento, ser custo razoável, atender aos requisitos de comercialização e demonstrar a facilidade de uso na aplicação específica (KULINETS, 2015).

Os materiais de engenharia começaram a desempenhar papéis importantes em aplicações clínicas diferentes, tais como sistemas de administração de medicamentos controlados, terapias genéticas, o desenvolvimento de suportes para engenharia de tecidos, substituição e dispositivos cirúrgicos em diferentes áreas terapêuticas (KEANE, BADYLAK, 2014).

O campo do desenvolvimento e aplicação de biomateriais é altamente interdisciplinar, combina os princípios de engenharia e biologia e, geralmente, envolve a utilização de uma combinação dos seguintes: biomateriais, células e moléculas bioativas (KEANE, BADYLAK, 2014).

Atualmente, para a utilização como substitutos do tecido ósseo, existem diversos biomateriais disponíveis. Eles variam não somente em relação à sua origem e composição química, mas também quanto à sua ação mecânica e configuração espacial (blocos sólidos, lâminas, esponjas porosas e hidrogéis) (GIANNOUDIS et al., 2005; ABUKAWA et al., 2006). Esses biomateriais devem atuar como um suporte temporário para proporcionar adesão celular, proliferação e migração, além de, ser capaz de degradar a uma taxa

correspondente a formação do osso. A estrutura porosa tridimensional com poros interligados pode servir como um reservatório de água, nutrientes, citocinas e fatores de crescimento, os quais são necessários para o crescimento adequado do tecido (ARVIDSON et al., 2011; YANG et al., 2001, 2002).

Muitos materiais foram utilizados em procedimentos de reparação óssea. Primeiramente se utilizava materiais bioativos não ósseos (principalmente metais e polímeros), que não apresentam respostas teciduais adversas. Mais tarde, descobriu-se que uma melhor reparação óssea poderia ser alcançada com os fosfatos de cálcio bioativos. Esses materiais não são apenas biocompatíveis, mas também orientam a formação de osso em sua superfície (DE GROOT, 1980; LEGEROS, 2002).

3.3 Biocerâmicas

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

Vários materiais cerâmicos têm sido vulgarmente utilizados no campo médico para mais de 40 anos para reparar o tecido ósseo doente ou danificado. Desde o início dos anos 1970, uma primeira geração de cerâmica, chamadas de cerâmicas bioinertes, feitas de alumina, foram implantadas com sucesso. Ao mesmo tempo, têm-se aumentado o interesse para os materiais de fosfato de cálcio, pois estes apresentam uma composição química semelhante a do mineral do osso (HENCH, 1998, HENCH 2002).

Apenas algumas dessas cerâmicas estão atualmente em uso clínico como, zircônia (ZrO_2), alumina (Al_2O_3) e a hidroxiapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$], (PARK, BRONZINO, 2002).

As Biocerâmicas, para serem utilizadas em aplicações para reparo do tecido ósseo, precisam apresentar características como: (1) não-tóxicas, (2) não carcinogênico, (3) não-alérgica, (4) não apresentar reação inflamatória, (5) ser biocompatível e (6) bio-funcional. Elas são classificadas, dependendo de sua interação com o tecido ósseo em: bioinertes, bioativas e biodegradáveis (PARK, BRONZINO, 2002).

As cerâmicas bioinertes são aqueles que não provocam reação de corpo estranho no organismo, encontrando-se em ligação direta ao tecido receptor. Exemplos: titânio, zircônia e alumina. As bioativas são aquelas que possuem uma ligação direta aos tecidos vivos, geralmente apresenta em sua composição, íons de cálcio e/ou fósforo (no caso dos substitutos ósseos) que vão estabelecer uma comunicação química com o osso envolvente. Exemplos: HA, vidros bioativos. E as cerâmicas reabsorvíveis são caracterizadas por degradarem lentamente e gradualmente substituídas pelos tecidos onde são implantados. Exemplos: fosfato tricálcico, vidros bioativos (PARK, BRONZINO, 2002; WANG, LU, ZREIQAT, 2014).

As biocerâmicas podem ser empregadas na forma densa e/ou porosa. Para a cerâmica densa, o tecido não é aderido fisicamente, química ou biologicamente e com isso o material pode se mover facilmente, levando o implante ao desprendimento e eventual fracasso. Já as porosas são usadas para reparar, reconstruir e substituir partes do corpo humano, pois se integram bem com o tecido ósseo vivo, estimulando seu crescimento. (CAO et al., 1996).

3.3.1 Biocerâmicas Porosas

Uma das aplicações para cerâmicas porosas que tem grande destaque atualmente se encontra no campo de biomateriais, tal como na reconstituição, reparos e preenchimento de cavidades ósseas decorrentes de processos inflamatórios, acidentes ou osteoporose (HENCH, 1998). Utilizam-se matérias-primas de elevada pureza química e que não produzam reações tóxicas quando colocadas em contato com tecidos vivos, seguida de fatores ligados à estrutura porosa formada, tal como a fração de poros, sua forma, tamanho e distribuição. A resistência mecânica do componente é também muito importante, visto que a inclusão de porosidade se dá em detrimento da

resistência mecânica e restrições à utilização como material estrutural podem ocorrer (SEPÚLVEDA et al., 1999).

Esses materiais possuem características como baixa densidade, elevada área superficial, baixa condutividade térmica, permeabilidade controlada, aliada a sua resistência mecânica, podendo essas, serem adaptadas para cada aplicação específica (VARGOVÁ et al., 2011).

Na tentativa de reproduzir uma estrutura porosa para ser aplicada como implante do tecido ósseo natural, desenvolveu-se as cerâmicas porosas. A razão para a sua utilização, é fornecer local para o tecido ósseo crescer e fixar o implante biologicamente. Para o crescimento ocorrer, o tamanho do poro deve ser grande o bastante para acomodar as células juntamente com o sistema de irrigação sanguínea, ficando por volta de 100 a 200 μm de diâmetro (KARAGEORGIU, KAPLAN, 2005).

Se o material for inerte e poroso, uma adesão interfacial se forma devido ao crescimento do tecido para dentro dos poros superficiais ou através do implante, com aumento da área superficial de interface e consequente aumento de resistência ao movimento do implante no tecido (CAMILO, 2006).

A existência de poros com dimensões adequadas favorece o crescimento de tecido através deles e ocorre um forte entrelaçamento do tecido com o implante, aumentando a resistência do material *in vivo*. Os implantes macroporosos aceleram o processo de regeneração, já que permitem o crescimento progressivo de colágeno e posterior mineralização do tecido ósseo através dos poros abertos e interconectados (ZAVAGLIA, 2003). A osteocondução quase sempre é observada nas cerâmicas, sobretudo quando estas possuem composição e/ou porosidade similares à estrutura óssea (CORNELL et al., 1998).

O tecido responde diferentemente ao diâmetro do poro do material, a Tabela 2 mostra o crescimento tecidual de acordo com o tamanho dos poros (MATSURA, 1995).

Tabela 2: Crescimento tecidual de acordo com o tamanho dos poros.

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

Fonte: MATSURA, 1995.

Os poros fornecem local para o tecido ósseo crescer e fixar o implante biologicamente. O tamanho mínimo necessário para o crescimento de células ósseas é de 100-200 µm. Poros menores, entre 75 e 100 µm resultam no crescimento de tecido osteóide não mineralizado. Poros menores ainda, entre 10 e 75µm, permitem a penetração apenas de tecido fibroso, o que ajuda na fixação mecânica do implante (KARAGEORGIU, KAPLAN, 2005).

Cerâmicas porosas à base de HA, por exemplo, possuem grande potencial de aplicação na área de implantes ósseos. Isto se deve primeiramente à alta compatibilidade do material, cuja constituição química é similar à do osso. Também, no caso do material poroso, a alta área superficial permite maior área de contato entre o implante e o tecido hospedeiro, o que aumenta a resistência da interface e evita mobilidade do implante, diminuindo assim as chances de respostas inflamatórias (RAVAGLIOLI, KRAJEWSKI, 1992; HENCH, 1998).

De acordo com os estudos de STUART et al., 2006, as principais técnicas de obtenção de esponjas cerâmicas podem ser classificadas como: Método da Réplica, Método de Gelcasting e Sacrifício de “template”.

Entre as diversas técnicas de confecção dos materiais cerâmicos porosos o método da réplica da esponja polimérica tem se tornado uma boa alternativa para a fabricação desses materiais. Essa técnica permite, em muitos casos, controlar as propriedades microestruturais das cerâmicas, permitindo com isso ajustar deliberadamente a porosidade dos poros, morfologia e distribuição de tamanho (OCHUMA et al., 2007).

3.4 Fosfatos de Cálcio

O fosfato de cálcio tem merecido lugar de destaque entre as denominadas biocerâmicas por não apresentarem toxicidade local ou sistêmica (biocompatibilidade), ausência de respostas a corpo estranho ou inflamações e aparente habilidade em interagir com o tecido hospedeiro. Tais vantagens podem ser explicadas pela natureza química destes materiais, que por serem formados basicamente por íons cálcio e fosfato, participam ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica (KAWACHI et al., 2000).

Biocerâmicas a base de Ca-P tem uma característica única para substituição e regeneração de osso devido a sua semelhante composição com a fase mineral óssea. Cerca de 60 ~ 70% em peso de massa óssea humana é constituída de Ca-P, com uma composição química semelhante à HA. Portanto, a HA e outros materiais sintéticos à base de Ca-P, tais como α - e o β -fosfato tricálcio (TCP) têm sido amplamente utilizados para a substituição e regeneração de ossos e dentes (ZHANG et al., 2011; WANG, LU, ZREIQAT, 2014).

Compostos à base de Ca-P são abundantes na natureza com diferentes proporções de Ca/P, composição química e/ou estruturas cristalinas, como podem ser observadas na Tabela 3. Embora estes compostos de Ca-P estejam presentes em tecidos duros humanos, apenas alguns, incluindo fosfato dicálcico di-hidratado (DCPD), fosfato dicálcico anidro (DCPA), α -fosfato tricálcio (α -TCP), β - fosfatos tricálcio (β -TCP) e a hidroxiapatita (HA), são usados na área biomédica. Os mais extensivamente estudados em aplicações ortopédicas e dentárias são α -TCP, β -TCP e HA. Todos eles α -TCP, β -TCP e HA podem ser convertidos de uma forma para outra sob condições termodinâmicas específicas. Por exemplo, a HA pode se decompor termicamente em TCP ao perder moléculas de H₂O. As temperaturas de decomposição, bem como as propriedades físico-químicas (razão Ca/P, tipo e quantidade de inclusões, tamanho de partículas), podem variar significativamente dependendo do método de fabricação da HA e condições atmosféricas (CIHLAR et al., 1999; LEGEROS, LEGEROS 1993; LIAO et al., 1999; LOCARDI et al., 1993; RAVAGLIOLI, KRAJEWSKI, 1992).

Nos últimos anos, em particular a hidroxiapatita sintética $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, HA], tem sido amplamente empregadas nas áreas médicas e odontológicas por apresentarem excelente biocompatibilidade proporcionada pela sua similaridade química, biológica e cristalográfica com a fase mineral do osso humano. Uma propriedade notável da HA é sua bioatividade, em particular a habilidade para formar ligação química com os tecidos duros vizinhos após a implantação (LIU et al., 2001; HWANG; LIM., 1999; VERCIK, 2004).

Tabela 3: Tipos de fosfatos de cálcio e suas principais características.

Razão Ca/P	Fosfatos de Cálcio	Fórmula Química	Grupo Espacial	Solubilidade a 25°C, g/L	pH de estabilidade a 25°C
0,5	Fosfato Monocálcico monohidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Triclínico P1	~ 18	0,0 – 2,0
0,5	Fosfato monocálcico anidro (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	Triclínico P1	~ 17	[c]
1,0	Fosfato dicálcico diidratado (DCPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Monoclínico /a	~ 0,088	2,0 – 6,0
1,0	Fosfato dicálcico anidro (DCPA)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	Triclínico P1	~ 0,048	[c]
1,33	Fosfato octacálcio (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Triclínico P1	~ 0,0081	5,5 – 7,0
1,5	α -Fosfato Tricálcico (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Monoclínico P2 ₁ /a	~ 0,0025	[a]
1,5	β -Fosfato Tricálcico (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Romboedral R ₃ CH	~ 0,0005	[a]
1,2 – 2,2	Fosfato de Cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$, n=3-4,5; 15-20% H ₂ O	N/A	[b]	~ 5 – 12 ^[d]
1,5 – 1,67	Hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ^[e] (0<x<1)	N/A	~ 0,0094	6,5 – 9,5
1,67	Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hexagonal P6 ₃ /m	~ 0,0003	9,5 – 12
2,0	Fosfato tetracálcico (TTCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	Monoclinico P2 ₁	~ 0,0007	[a]

N/A, Não Aplicável

^[a] Esses compostos não podem ser precipitados a partir de uma solução aquosa.

^[b] Não pode ser medido precisamente.

^[c] Estável a temperaturas acima de 100°C.

^[d] Sempre metaestável.

^[e] Quando $x=1$ ($Ca/P=1,5$), a fórmula química é $Ca_9(HPO_4)(PO_4)_5(OH)$.

Fonte: Adaptado (DOROZHKIN, 2009).

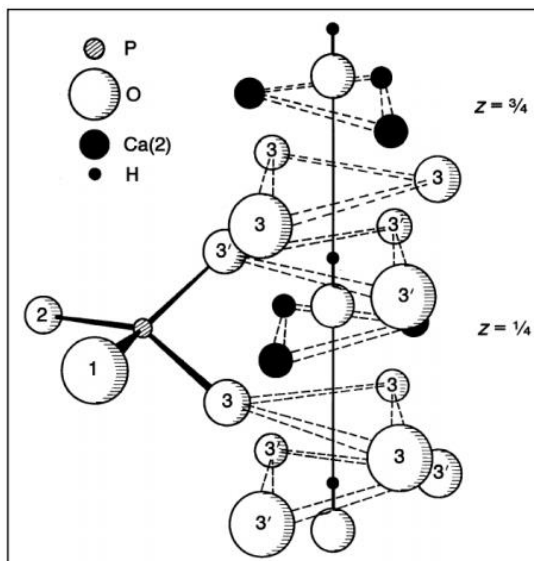
Os parâmetros mais importantes para caracterizar um fosfato de cálcio são: razão Ca/P, basicidade/acidez e solubilidade. Esses parâmetros são fortemente relacionados com o pH da solução. Quanto menor a razão Ca/P, maior a acidez e a solubilidade em água do fosfato de cálcio. Os compostos mais ácidos têm maior solubilidade, como o fosfato monocálcico monohidratado. Já os compostos básicos, como as apatitas, são menos solúveis (DOROZHKIN, 2009).

3.4.1 Hidroxiapatita

O termo "apatita" descreve uma família de compostos com estruturas similares, mas não a mesma composição. As substituições podem ocorrer, por exemplo: Sr para Ca, Mg para Ca, F para OH, Cl para OH, CO_3 para PO_4 ou CO_3 para OH. Essas substituições afetam suas propriedades, tais como parâmetros de rede, propriedades espectrais, tamanho de cristal e morfologia, o que, por sua vez, afetar a sua estabilidade química (solubilidade) e estabilidade térmica. (YOUNG, ELLIOTT, 1966; ZAPANTA-LEGEROS, 1965)

A Hidroxiapatita de cálcio, vulgarmente designado por HA, tem uma composição específica $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ com uma razão estequiométrica Ca/P de 1,67, e tem uma estrutura específica cristalográfica: sistema hexagonal, grupo espacial, $P6_3/m$, que é caracterizado por uma simetria perpendicular (ao longo do eixo c) a três eixos "a" equivalentes (a_1 , a_2 , a_3), formando ângulos de 120° entre si, como mostrado pela Figura 3. (ELLIOTT *et al.*, 2002; BEEVERS, MCINTYRE, 1956; YOUNG, ELLIOTT, 1966).

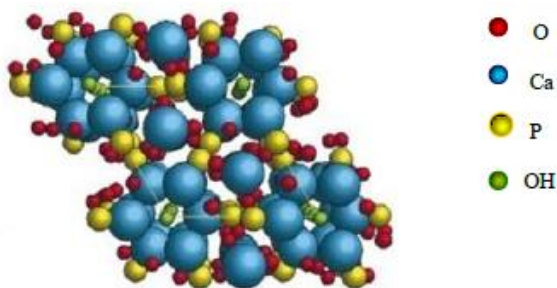
Figura 3: Arranjo dos íons ao longo do eixo c na HA.



Fonte: ELLIOTT et al., 2002.

O tecido ósseo é constituído basicamente por colágeno, água e componentes inorgânicos. Esse componente inorgânico é composto fundamentalmente por cálcio e fósforo. Inicialmente, o cálcio e o fósforo são depositados como sais amorfos para serem rearranjados numa estrutura cristalina semelhante a HA $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$. Devido à grande superfície de troca iônica da microestrutura cristalina da matriz mineral, outros íons, como Na, K, Mg e CO_3 , também podem ser encontrados, a célula unitária da HA esta ilustrada na Figura 4. Dependendo da ingestão de flúor, quantidades variáveis de fluorapatita, também podem estar presentes, sendo esta a diferença da hidroxiapatita sintética para a natural. A HA estequiométrica tem 39,9% em peso de cálcio, 18,5% de fósforo e 3,38% de hidroxila (OH), ou seja, ela é ausente de íons (GOMIDE, 2005).

Figura 4: Estrutura cristalina da hidroxiapatita.



Fonte: AOKI, 1991.

A HA biológica ou sintética são, atualmente, utilizados para a reparação do osso e a regeneração óssea sob a forma de grânulos, blocos e/ou suportes porosos, isoladas ou como composto com polímeros ou outros materiais cerâmicos ou até mesmo como revestimentos sobre próteses ortopédicas ou implantes dentários. A similaridade química e estrutural da HA sintética com o osso possibilitam seu uso na área médica como material biocompatível em implantes e próteses. A principal diferença entre a HA sintetizada e o mineral do osso é a sua alta cristalinidade, a estequiometria e a ausência de carbonato. Isto resulta em uma taxa de biodegradação muito menor em comparação com o mineral ósseo nanocristalino (TADIC et al., 2004; LEGEROS, LEGEROS, 2008).

Essa similaridade química com a fase mineral do osso e sua biocompatibilidade tornaram a hidroxiapatita um dos materiais mais conhecidos, favorecendo o crescimento ósseo para os locais em que ela se encontra (osteocondutor), estabelecendo ligações entre a hidroxiapatita e o tecido ósseo (bioativo), permitindo a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas, sendo que as células não distinguem entre a hidroxiapatita e a superfície óssea, o que indica a grande similaridade química superficial (SANTOS, L. A., 2002).

As propriedades do pó da hidroxiapatita, as condições de compactação e de sinterização, macroporosidade e microporosidade influenciam as propriedades mecânicas da HA densa. Várias propriedades mecânicas (por exemplo, a resistência à compressão) diminuem com o aumento da quantidade de microporosidade. O aumento da temperatura de sinterização provoca um aumento na densidade, no tamanho dos grãos, na resistência compressão, à flexão, à torção e nos módulos de elasticidade em compressão (DE GROOT, 1983; JARCHO, 1981). A diferença nos valores de propriedades mecânicas também é atribuída a diferenças na preparação do pó de HA (LI, DE WIJN, LAYROLLE, DE GROOT, 2002). Diferentes métodos de preparação fazem diferença no tamanho do grão (tamanho pequeno grão tende a dar maior tenacidade à fratura) e na composição (DENISSEN, MANGANO, VENINI, 1985).

As propriedades da HA são fortemente dependentes do método de preparação. A razão Ca/P e algumas substituições influenciam, dentre outros fatores, a estabilidade do material. A HA estequiométrica, ou seja, com razão Ca/P igual a 1,67, apresentam boa cristalinidade e são estáveis até 1200°C (ELLIOTT, 1994). A solubilidade das apatitas é um fator importante para seu comportamento *in vivo*. Fatores como morfologia, composição, tamanho de cristal e cristalinidade, afetam a dissolução do material (BOHNER, 2000).

A biocompatibilidade da HA permite que sejam estabelecidas ligações de natureza química com o tecido ósseo permitindo o crescimento do osso ao redor do implante em curto período de tempo, isto é, osteocondução, o que a faz escolha certa para composição de próteses e implantes (VOLKMER, 2006; VAZ, 2007). Depois de implantada e de servir como suporte para o crescimento ósseo, a HA passa a ser absorvida pelo organismo, o que resulta no tecido ósseo regenerado no lugar onde o implante de HA foi alojado (NORDSTROM, KARLSSON, 1990). Estudos têm mostrado que a HA começa a ser reabsorvida gradualmente após 4 ou 5 anos depois de implantada (MUNDSTOCK, 2006).

3.5 Processo sol-gel

O método sol-gel, tal como o nome indica, inicia-se pela formação de um sol, seguindo-se da formação de um gel. O sol é uma suspensão coloidal cujas partículas em suspensão são as partículas dos agentes precursores, que por reações de hidrólise e de condensação originarão uma rede tridimensional (gel) altamente reticulada de estrutura aberta, onde as unidades primárias estão unidas entre si, quer por ligações químicas, pontes de hidrogénio ou forças de Van der Waals (NAYAK, 2010). Após a formação do gel ocorre remoção do solvente por secagem (ar livre ou secagem supercrítica). Depois de seco, o gel é submetido a um tratamento de sinterização onde ocorre a modificação, das propriedades do produto final, em particular da cristalinidade (NAYAK, 2010; YUAN, LIU, 2002).

Para sintetizar HA têm sido desenvolvidas diversas técnicas de síntese; síntese mecânico-química, por combustão, técnicas de química húmida, como a precipitação, deposição eletroquímica, método sol-gel ou emulsão (FENG, 2005).

Particularmente para a obtenção da HA, o sol-gel é um método químico aquoso que, devido à alta reatividade do pó obtido, não necessita de um valor elevado de pH, nem de elevada temperatura de sinterização, o que resulta na ausência de fenômenos de degradação durante a sinterização (FATHI, 2007; FENG, 2005; RAJABI-ZAMANI, 2008). O método proporciona uma mistura molecular de cálcio e fósforo capaz de melhorar a homogeneidade química e permite a preparação de pós altamente puros, devido à possibilidade de um cuidadoso controle dos parâmetros do processo. Deste processo resultam cristais de tamanho submícron a nano que favorecem a reação de contato e a estabilidade da interface osso artificial/osso natural (FENG, 2005; SANTOS, et al., 2005).

3.5.1 Fases do Sol-Gel

O método sol-gel engloba as seguintes fases fundamentais:

- a) formação do sol;
- b) formação do gel;
- c) envelhecimento;
- d) secagem;
- e) sinterização;

Formação do sol

Existem diversos tipos de soluções de partida ou precursoras, que se classificam com base nas suas propriedades físicas, contudo a solução precursora mais usual é o sol.

O sol é constituído por uma solução que tem a particularidade de ser uma suspensão coloidal, em que a fase dispersa é tão pequena (tamanho das partículas entre 1 nm e 1000 nm) que as forças gravitacionais são negligenciáveis. Dependendo do precursor, o sol ou solução inicial pode ser obtido em diversos solventes (FRANCO, SILVA, BORGES, 2009).

Formação do gel

Um gel é uma rede tridimensional interligada, rígida e porosa, que se pode expandir de forma estável, somente limitado pelo recipiente utilizado, ao longo de uma fase líquida. A continuidade da estrutura sólida dá elasticidade ao gel.

O gel é formado quando se dá a gelificação do sol ou da solução de partida, estas são transformadas numa solução coloidal ou polimérica, há a formação de agregados fractais que crescem, começam a colidir uns com os outros (perto das ligações do ponto de gel), formando-se aglomerados quase estacionários que acabam por se ligar, construindo assim uma rede (teoria da percolação) (BRINKER, 1990) (FRANCO, SILVA, BORGES, 2009).

Envelhecimento

No processo sol-gel o envelhecimento é importante, pois atua como fator de mudança na estrutura e propriedades após a gelificação.

O envelhecimento contempla as seguintes fases: condensação, dissolução e precipitação, ou transformações de fase dentro da fase sólida ou líquida.

Alguns géis diminuem de tamanho de forma espontânea, designando-se de sinérese, com a formação de uma ligação ou atração entre as partículas induzidas pela contração da rede e libertação dos líquidos dos poros (BRINKER, 1990).

Secagem

A diminuição de tamanho do gel pode ocorrer durante a síntese (no envelhecimento) ou quando o solvente evapora na secagem, ocorrendo deformação na rede e transporte de líquido através dos poros.

A secagem por evaporação sob condições normais origina uma pressão capilar que reduz a rede do gel; o gel resultante designa-se por xerogel, onde ocorre uma redução de volume de um fator entre 5 a 10 do gel húmido.

Se porventura o gel húmido é colocado num autoclave e seco sob condições supercríticas não vai existir uma interface entre o líquido e o vapor; assim sendo não ocorre pressão capilar e a redução do gel é relativamente pequena.

Este processo é designado de secagem supercrítica e o gel resultante é um aerogel (BRINKER, 1990).

Sinterização

A maior parte dos géis são amorfos, mesmo após a secagem. Assim, surge a necessidade de aquecê-los para poderem cristalizar.

Se o objetivo do método sol-gel é produzir um cerâmico com poros livres, sendo necessário que o aquecimento a que o gel é submetido tenha uma temperatura suficientemente alta para provocar a sinterização.

A sinterização é um processo de colapso dos poros impulsionados pela energia de superfície. (BRINKER, 1990).

3.6 Método da réplica da esponja polimérica.

Esse método baseia-se na impregnação de uma estrutura celular nesse caso a esponja de poliuretano (PU) em uma suspensão cerâmica ou solução precursora, a fim de produzir um scaffold que exiba a mesma morfologia que o material original. A esponja polimérica é mergulhada em uma suspensão cerâmica até total preenchimento (recobrimento) de sua estrutura. Após a impregnação as esponjas são submetidas a secagem, para remover o excesso da suspensão formando uma fina camada de recobrimento no meio suporte obtendo-se assim o scaffold cerâmico. (STUDART et al., 2006; VARGOVÁ et al., 2011).

As principais características que esses scaffolds devem apresentar são o tamanho médio dos poros, a distribuição do volume destes, a interligação dos poros, a forma deles, o tamanho mínimo médio do poro e a sua rugosidade. Para produzir um scaffold com boas propriedades é fundamental apresentar tais características (GROSS, 2004).

Outra variável importante no processo de obtenção de scaffolds cerâmicos é o tratamento térmico. Essa etapa pode ser descrita como uma das mais importantes do processo, pois é nela que ocorrerá a degradação da esponja polimérica e a consolidação da estrutura. O controle térmico pode ser avaliado conforme a degradação da esponja polimérica por uma análise de TGA, para verificar a perda de massa da esponja com o aumento da temperatura. Com esse resultado pode-se adequar a taxa de aquecimento a ponto de melhorar a resistência mecânica da esponja evitando defeitos em sua estrutura. Durante a sinterização da esponja as taxas de aquecimento devem ser mínimas possíveis permitindo a decomposição gradual de difusão do material polimérico, evitando a acumulação de pressão no interior dos suportes revestidos, diminuindo com isso o número de trincas nas esponjas cerâmicas (SCHEFFLER, COLOMBO, 2004; STUART et al., 2006).

Entre as diversas técnicas de confecção dos materiais cerâmicos porosos a rota de processamento de esponjas cerâmicas tem se tornado uma boa alternativa para a fabricação desses materiais. Essa técnica permite, em muitos casos, controlar as propriedades microestruturais das cerâmicas, permitindo com isso ajustar deliberadamente a porosidade dos poros, morfologia e distribuição de tamanho, se tornando uma boa alternativa para a fabricação de scaffolds cerâmicos com alta porosidade e permeabilidade. (OCHUMA et al., 2007).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local da Pesquisa

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – CERTBIO, localizado na Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais, na Universidade Federal de Campina Grande/ UFCG.

4.2 Reagentes e Materiais

- Nitrato de Cálcio Tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Sigma-Aldrich;
- Pentóxido de Fósforo (P_2O_5), Sigma-Aldrich;
- Álcool Etílico Absoluto ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), Neon;
- Esponjas poliméricas de poliuretano com densidade 21kg/m^3 , cedidas pela empresa Emanuel Colagens, Campina Grande-PB;

4.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.3.1 Preparação dos Reagentes

Uma solução de fosfato foi obtida através da dissolução de Nitrato de Cálcio Tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e Pentóxido de Fósforo (P_2O_5) em 50mL de Álcool Etílico Absoluto ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) separadamente. Após dissolução as duas soluções foram misturadas numa proporção Ca/P para a obtenção da HA.

4.3.2 Preparação dos Scaffolds

As esponjas de poliuretano cortadas em dimensões 50x25x10mm foram imersas durante 2 minutos na solução sol-gel, e comprimidas com um bastão de vidro para total imersão no líquido. Após a primeira imersão as esponjas foram secas a 80°C durante 24h. Posteriormente, as esponjas cobertas com fosfato de cálcio foram sinterizadas até temperaturas de 400°C e 1200°C , com

isotérmicas a 400°C durante 1h e isotérmica na temperatura final de 2h, tal como está representado nas Figuras 5 e 6.

Figura 5: (a) Esponja imersa na solução sol-gel, (b) Esponja seca e (c) Scaffold após sinterização.

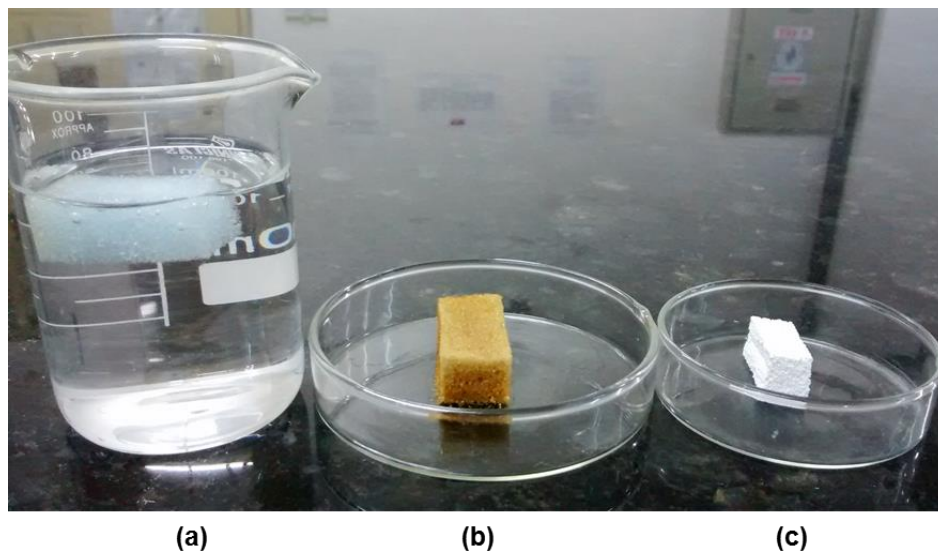
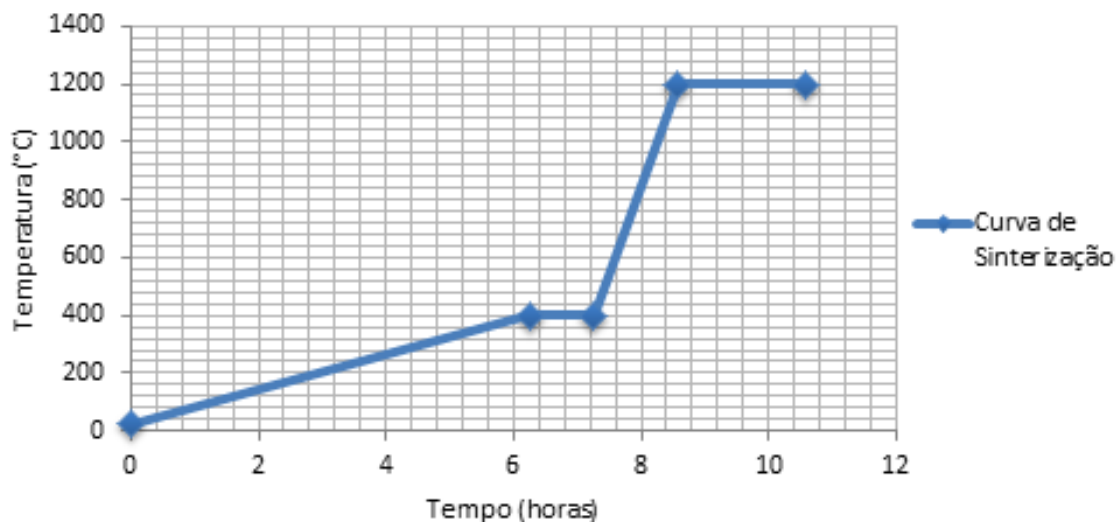


Figura 6: Taxas de sinterização dos scaffolds.



As caracterizações realizadas nos primeiros scaffolds preparados neste trabalho revelaram que estes não apresentaram razão Ca/P igual a 1,67, referente à hidroxiapatita e sim ao fosfato dicálcico e também que estes apresentaram uma resistência mecânica muito abaixo do requisitado pela literatura. Para tanto, fez-se o ajuste da estequiometria e da curva de

sinterização para a obtenção de novos scaffolds, estes apresentaram razão Ca/P de 1,67 referente à hidroxiapatita, e resistência mecânica adequadas.

4.3.3 Caracterizações dos scaffolds produzidos.

Os scaffolds obtidos foram caracterizados pelas técnicas de Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS), Termogravimetria (TG), Porosidade e Ensaio de Compressão. As análises foram realizadas na Universidade Federal de Campina Grande/UFCG, no Laboratório CERTBIO.

4.3.3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR

A caracterização por FTIR foi realizada através da análise de espectroscopia na Região do Infra-Vermelho com Transformada de Fourier da PERKINELMER SPECTRUM 400, para identificar as bandas características dos grupos funcionais, presentes nas matérias-primas utilizadas nesta pesquisa utilizando a faixa de varredura na região do infravermelho médio de 4000 a 500 cm^{-1} , com varredura no modo transmissão.

4.3.3.2 Difração de Raios X – DRX e Refinamento pelo Método de Rietveld

A caracterização por DRX foi realizada em um Difrátômetro de raios X para determinar o grau de cristalinidade. As análises de difração de raios X foram conduzidas a temperatura ambiente em aparelho XRD-7000 Shimadzu, no intervalo de 2theta de 10 a 60°C, a uma taxa 1°C/min utilizando radiação $K\alpha$ do cobre (1,5418 Å), tensão de 40kV e corrente 30Ma. As análises quantitativas de difração de raios X, foram submetidas posteriormente ao refinamento de Rietveld, utilizando o software General Structure Analysis System-II (GSAS-II).

4.3.3.2.1 Método de Rietveld

O método de Rietveld tem como característica fundamental o ajuste de um difratograma a um padrão difratométrico permitindo assim extrair informações da estrutura cristalina e informações analíticas dos materiais. O padrão difratométrico de um material cristalino pode ser entendido como um conjunto de picos individuais cujas características dos picos: altura, posição, largura, forma e área são dependentes do tipo de átomos e de sua posição no agrupamento atômico repetitivo que forma um cristal. O modelo estrutural adaptado por Rietveld (YOUNG, 1995) inclui vários tipos de parâmetros, entre os quais: parâmetros da estrutura cristalina, parâmetros do perfil das reflexões, parâmetros globais, parâmetros da intensidade. Os parâmetros da estrutura cristalina incluem: as coordenadas (x,y,z) da posição dos átomos na célula unitária 3 ; os deslocamentos atômicos; a densidade ocupacional das posições atômicas; as dimensões (a,b,c) da célula unitária e os ângulos (α,β,γ) entre os vetores; tensões e deformações; textura; tamanhos de cristalitos; discordância e defeitos planares (GOBBO,2003).

4.3.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

A caracterização morfológica dos materiais é de fundamental importância para se definir seu comportamento, sendo assim, a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) tem se demonstrado essencial na observação e análise da microestrutura de superfícies.

A caracterização por MEV foi realizada em um Microscópio Eletrônico de Varredura fabricado pela Phenon, modelo PRO X, acoplado com sistema para micro análise químico por Espectroscopia de Energia Dispersiva – EDS.

4.3.3.4 Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X – EDS

A caracterização por EDS foi realizada em um Microscópio Eletrônico de Varredura fabricado pela Phenon, modelo PRO X, para determinar a composição do scaffold, isto pelo sistema para micro análise química por Espectroscopia de Energia Dispersiva – EDS acoplado no MEV.

4.3.3.5 Análise Termogravimétrica – TG

A análise termogravimétrica (TG) é utilizada para verificar a estabilidade térmica e composição de um material. Ele avalia as mudanças de peso de um material como uma função da temperatura (ou tempo), sob uma atmosfera controlada.

A caracterização por Termogravimetria foi realizada em um TG fabricado pela PerkinElmer, modelo Pyris 1, a faixa de temperatura utilizada foi de 30 a 900°C, com uma razão de aquecimento de 5°C/min, em atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 20 mL/min. Foi utilizada massa de 1,5 mg ± 0,05 mg acondicionada em cadinho de alumina para cada amostra.

4.3.3.6 Porosidade

As medidas de porosidade foram realizadas pelo método geométrico, para tal foram pesadas em balança com 4 casas de precisão e tiveram as suas dimensões medidas. O valor da densidade, ρ , foi calculado pela divisão da massa pelo volume.

$$\rho_{scaffold} = \frac{\text{Massa do scaffold}}{\text{Volume do scaffold}} \quad \text{Equação 1}$$

A porosidade total foi calculada de acordo com a fórmula:

$$\text{Porosidade (\%)} = 1 - \frac{\rho_{scaffold}}{\rho_0} \quad \text{Equação 2}$$

onde, ρ_0 é igual a 3,156 g/cm³ (Densidade teórica da Hidroxiapatita).

4.3.3.7 Ensaio Mecânico

4.3.3.7.1 Ensaio de Compressão

O ensaio de compressão tem como objetivo adquirir a carga máxima suportada pelos scaffolds. Para o ensaio de compressão foram confeccionados 03 scaffolds retangulares porosos.

Os testes de compressão foram realizados em uma máquina universal de ensaios eletromecânicos Instron, modelo 3360 Series Dual Column Table Frames, célula de carga de 500N em amostras com formato retangular com taxa de deformação constante de 0,5 mm/min. A resistência à compressão será calculada a partir da divisão entre a tensão máxima e a área original.

A resistência mecânica à compressão foi calculada de acordo com a equação abaixo:

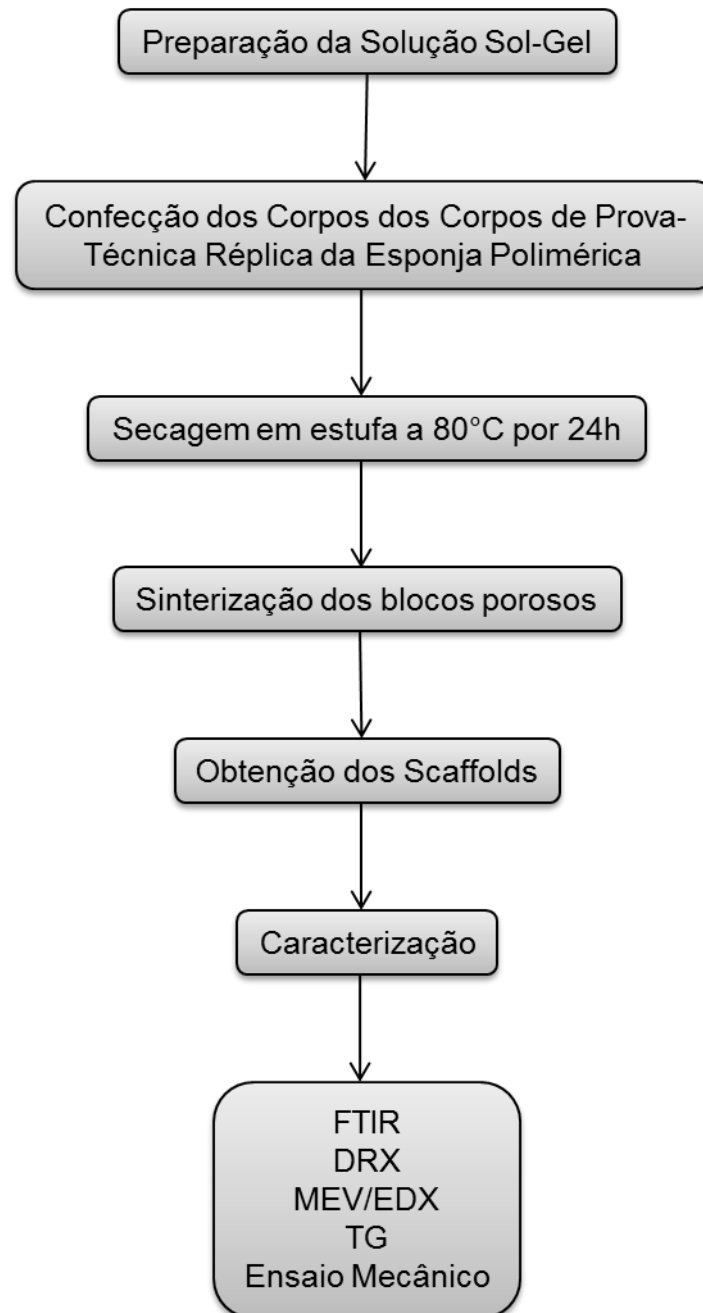
$$\sigma = \frac{F}{A} \quad \text{Equação 3}$$

onde σ é a tensão de ruptura (MPa), F é a força (N) necessária para a fratura e A é a área da seção reta dos corpos-de-prova (mm²).

4.4 Fluxograma da Metodologia

O fluxograma contido na Figura 7 apresenta a metodologia e descreve as etapas e a sequencia de desenvolvimento da pesquisa.

Figura 7: Etapas do desenvolvimento e caracterização dos scaffolds porosos de hidroxiapatita.

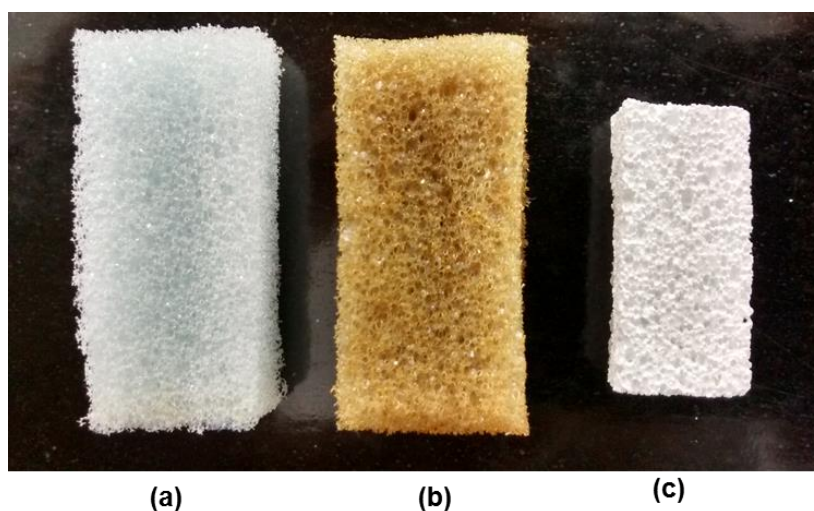


5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A esponja de poliuretano, a esponja seca impregnada com a solução sol-gel e o scaffold poroso obtido estão apresentados na Figura 8. Ao analisar visualmente a esponja seca impregnada com a solução sol-gel (Figura 8 (b)) nota-se que esta apresentou uma coloração marrom, devido ao processo de secagem da esponja polimérica impregnada com a solução sol-gel, onde ocorreu a adesão das partículas cerâmicas nos filamentos poliméricos, apresentando assim uma coloração marrom, podendo ser explicada pela reação que ocorre entre do pentóxido de fósforo em etanol, que contem as espécies fosforadas: H_3PO_4 e $PO(OH)_x(OC_2H_5)_{3-x}$ e pelo nitrato de cálcio tetra-hidratado, que é um sal inorgânico em que os íons de nitrato são agentes oxidantes que favorecem algumas reações de decomposição, nomeadamente de decomposição de grupos etilo.

Ao observar o scaffold obtido (Figura 8 (c)) nota-se que, após a queima ocorreu a contração do scaffold, tendo em vista que antes da queima o scaffold apresentava 50 x 25 x 10mm de dimensão e após a etapa de queima o mesmo apresentou cerca de 22,19 x 10,15 x 9,3mm de dimensão, representando cerca de 56,8% de retração linear, devido a eliminação da esponja polimérica e dos agentes orgânicos utilizados na suspensão cerâmica, assim obtendo uma estrutura cerâmica tridimensional.

Figura 8: (a) Esponja de poliuretano; (b) Esponja impregnada com a solução, após secagem; (c) Scaffold Cerâmico, após sinterização.



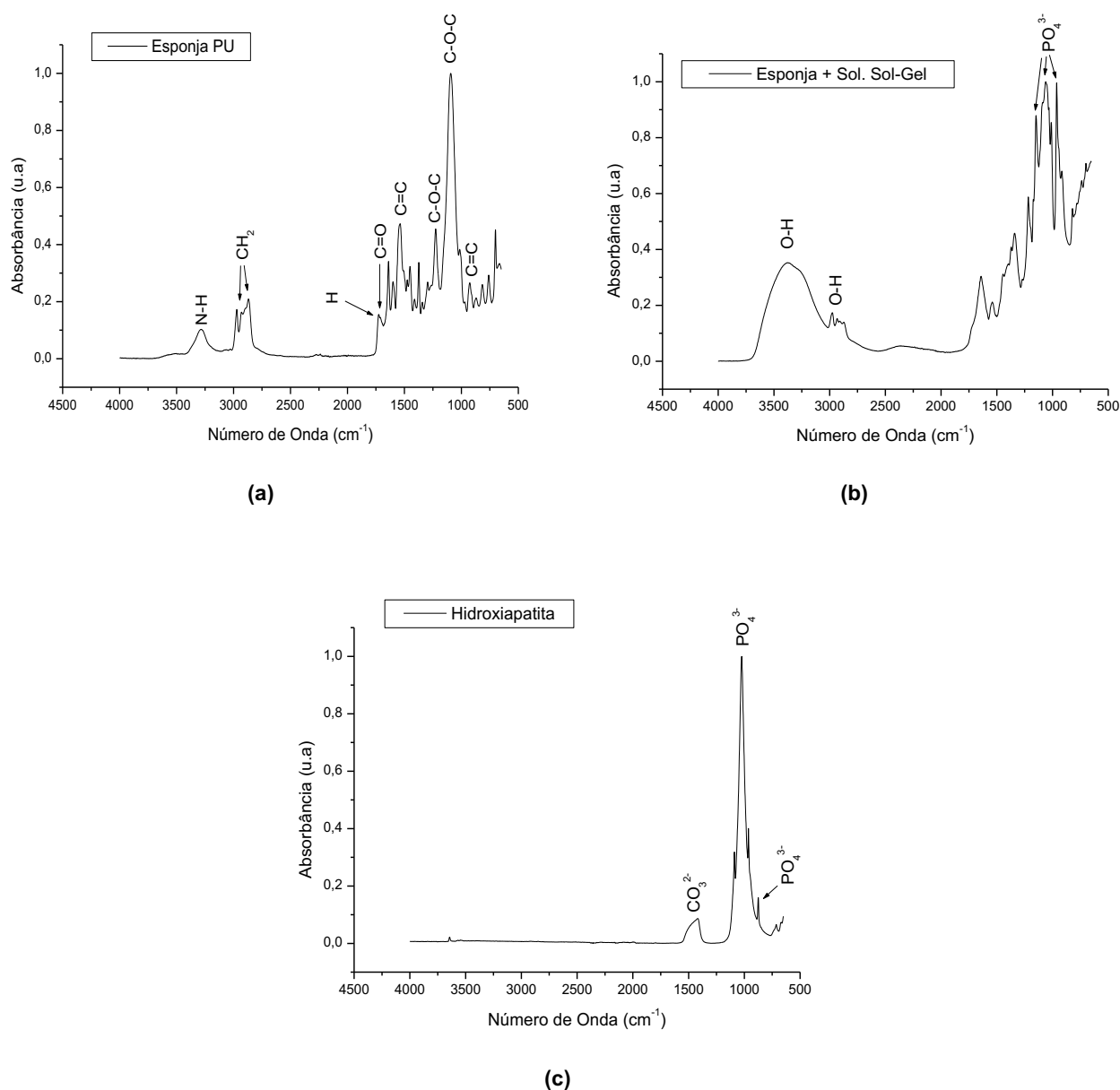
5.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR

Para efeito de caracterização, a Figura 9 (a) evidencia o espectro de FTIR da esponja de poliuretano. Analisando o espectro, observou-se que a banda na região de 3284 cm^{-1} é associada com a ligação N-H (uretana), bandas nas regiões 2971 e 2868 cm^{-1} estão associados ao estiramento assimétrico de CH_2 (no caso, C-H de poliéter). A região de 1712 cm^{-1} é relacionada à ligação C=O (estiramento de H ligado) e a região de 1725 cm^{-1} é associada ao ion H não ligado. A presença do grupo C=O (carbonila) é uma medida direta da extensão das frações dos domínios rígidos encontrados classicamente em poliuretanas. Bandas nas regiões de 1093 , 1225 e 1262 cm^{-1} estão relacionadas à ligação C-O-C (éter), bem como bandas em 1600 , 1537 e 870 cm^{-1} são devido às estruturas de aromáticos, tais como C=C de anel benzênico.

Na Figura 9 (b), referente ao conjunto da esponja de poliuretano com o fosfato de cálcio obtido pelo sol-gel, observou-se um aumento da absorbância na banda entre 3000 e 3373 cm^{-1} atribuída às vibrações de estiramento de grupos OH, tanto do resíduo de água adsorvida quanto da fase cerâmica. Outras bandas foram observadas em torno de 1149 , 1061 e 962 cm^{-1} correspondentes à deformação assimétrica de grupo PO_4^{3-} .

A Figura 9 (c) apresenta o espectro de FTIR do fosfato de cálcio obtido por sol-gel. A banda na região 1412 cm^{-1} é atribuída à incorporação de grupos CO_3^{2-} proveniente da queima da esponja de poliuretano durante a sinterização, visto que as amostras foram preparadas em atmosfera aberta. As bandas na região de 1024 , 872 cm^{-1} correspondem às vibrações de estiramentos e flexões dos grupos PO_4^{3-} (SILVA, 2006; ARSAD e LEE, 2011).

Figura 9: Espectro vibracional de IV: (a) Esponja PU, (b) Esponja + Sol. Sol-gel e (c) Hidroxiapatita.



5.2 Análise por Difração de Raios X - DRX

Analisando a Figura 10, e por comparação com os padrões de DRX da apatita pura, com base nas fichas JCPDS 9-432 e JCPDS 72-1243 de acordo com a ISO 13779-3 2008, comprovou-se que o fosfato de cálcio produzido por sol-gel é hidroxiapatita em sua maior composição (97,5%). A partir do difratograma de raio-x obtido (Figura 10), foi realizado refinamento pelo método

de Rietveld para refinar os parâmetros de rede das fases presentes (Figura 11) e observou-se que este fosfato apresenta grupo espacial P 63m, parâmetros de rede $a = b = 9.40613\text{nm}$, $c = 6.87886\text{nm}$, ângulos entre os eixos: $\alpha = 90.000$, $\beta = 90.000$, $\gamma = 120.000$ e volume = 527.072, comprovando que a hidroxiapatita cristalizou no sistema simétrico hexagonal.

Figura 10: Difratoograma de raios-X do pó obtido do scaffold.

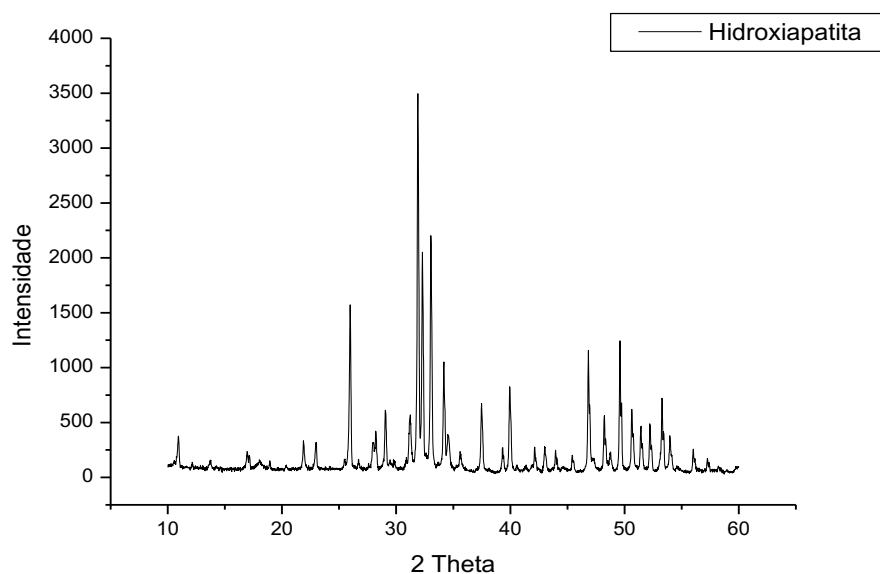


Figura 11: Difratoograma de raios-X do pó obtido do scaffold refinado pelo Método de Rietveld.

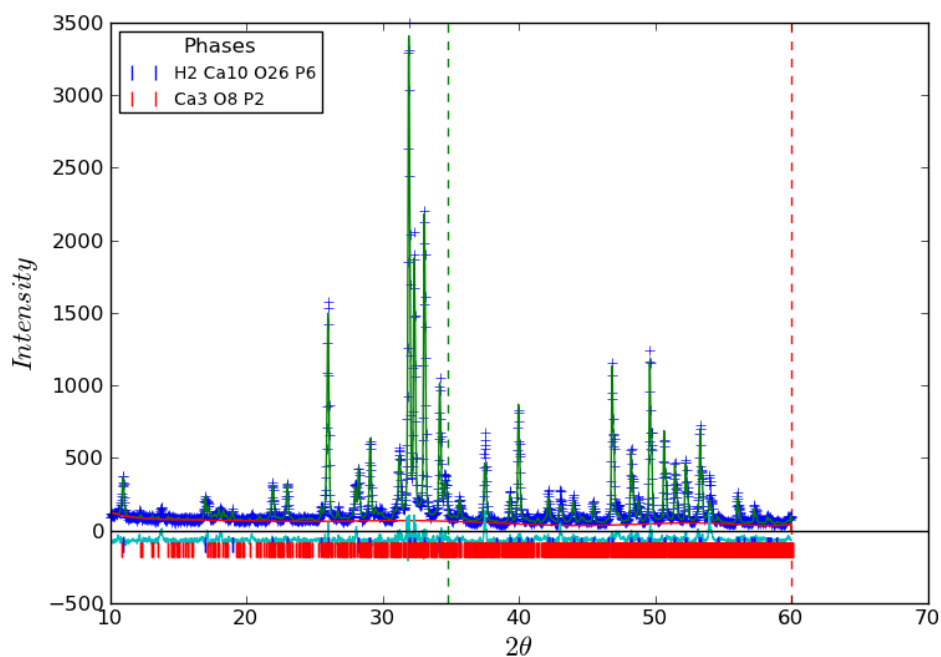
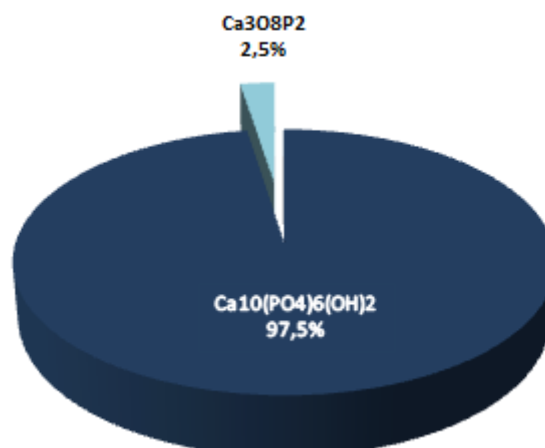


Figura 12: Análise quantitativa dos picos do espectrograma de Raios X.



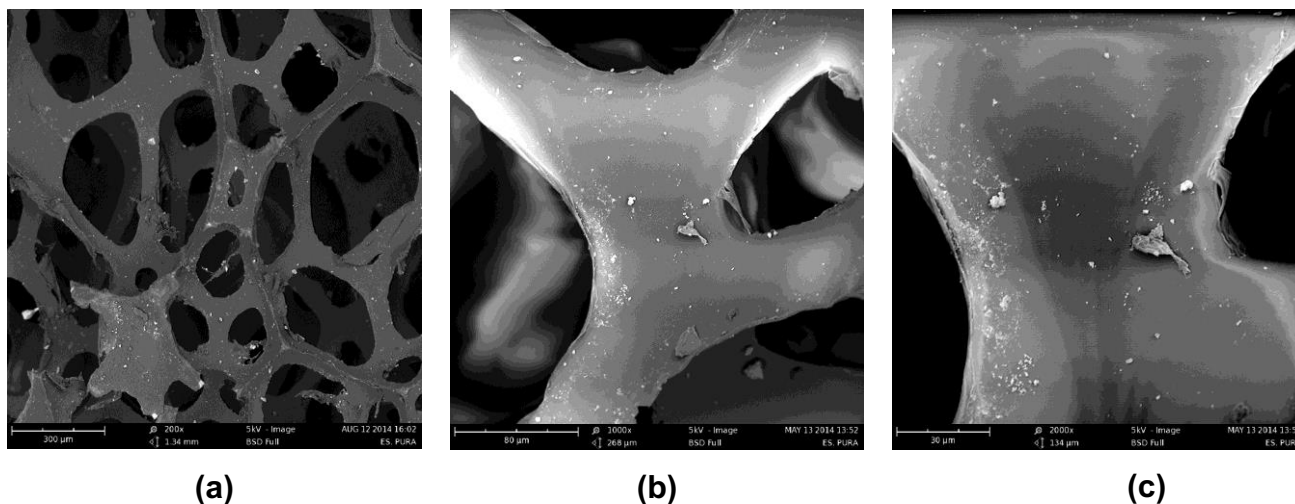
Com o refinamento, foi possível quantificar a presença de duas fases cristalinas, onde cerca de 97,5% dos picos dos espectrogramas de Raios X, correspondem a fase cristalina da hidroxiapatita, apresentando apenas 2,5% de impurezas na forma de α -Fosfato Tricálcico (Figura 12). De acordo com a ASTM F 1185/03, no que se refere à composição mínima, a quantidade de hidroxiapatita para utilização como implantes cirúrgicos deve ser de 95% (NATTA e PASSERINI, 1929; TOMITA, KAWANO, SHIRAKI et al., 1996).

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV e Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X - EDS

A Microscopia Eletrônica de Varredura foi utilizada no sentido de poder observar a estrutura porosa da esponja de poliuretano (Figura 13), da esponja impregnada com a solução sol-gel (Figura 15) e do scaffold cerâmico formado depois da sinterização (Figura 17) com aumentos de 200x, 1000x e 2000x.

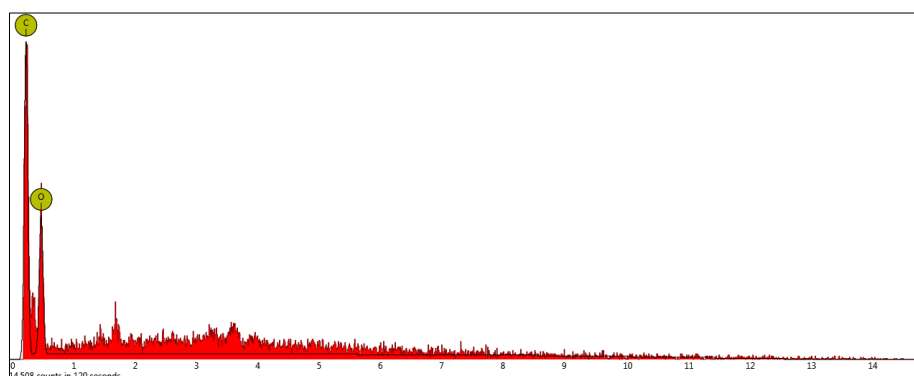
Na Figura 13 observa-se uma estrutura porosa característica de uma esponja de poliuretano, com uma estrutura morfológica bem definida, de tipo circular, com porosidade em forma radial.

Figura 13: Micrografia eletrônica de varredura da esponja de poliuretano: (a) 200x, (b) 1000x, (c) 2000x.



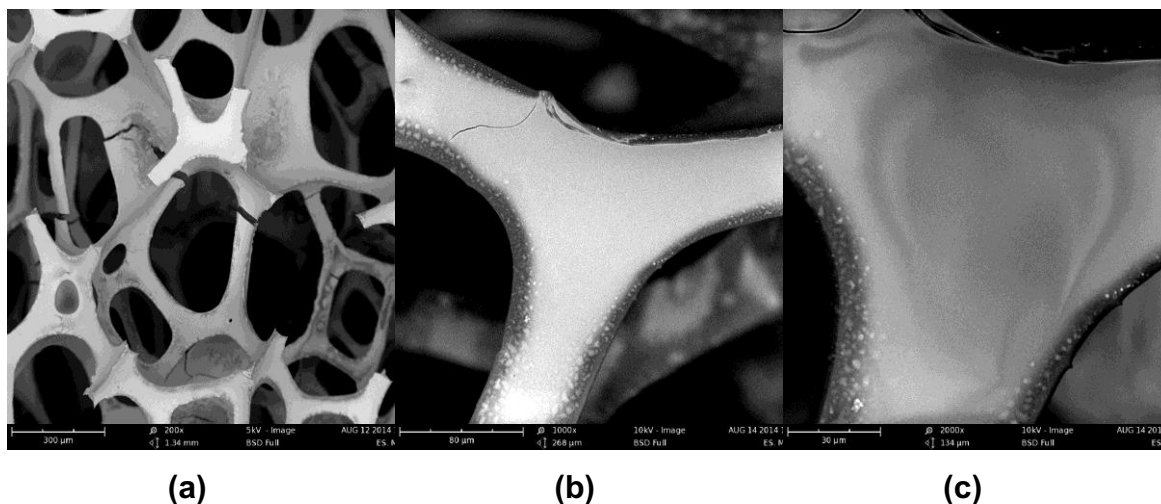
Na Figura 14 observa-se o espectro de EDS com os respectivos elementos carbono (C) e oxigênio (O) característicos do poliuretano.

Figura 14: EDS da esponja de poliuretano.



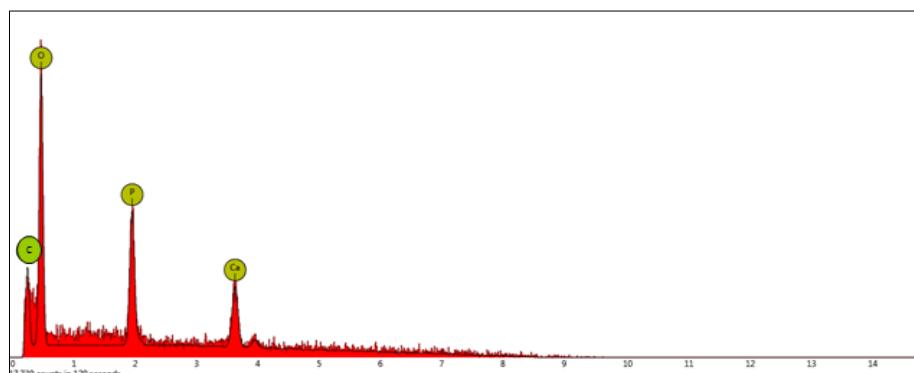
Na Figura 15 é possível observar que ocorreu o recobrimento dos filamentos da esponja de poliuretano com a solução sol-gel, não interferindo em sua estrutura porosa, mantendo suas características. Pela análise da micrografia, nota-se que o recobrimento é total das paredes da esponja polimérica, não se tendo verificado zonas sem recobrimento.

Figura 15: Micrografia eletrônica de varredura da esponja impregnada com a solução sol-gel: (a) 200x, (b) 1000x, (c) 2000x.



A Figura 16 apresenta o espectro de EDS da esponja impregnada com a solução sol-gel, evidenciando a presença cálcio (Ca), fósforo (P) e oxigênio (O) presentes na solução sol-gel e do carbono (C) próprio do poliuretano.

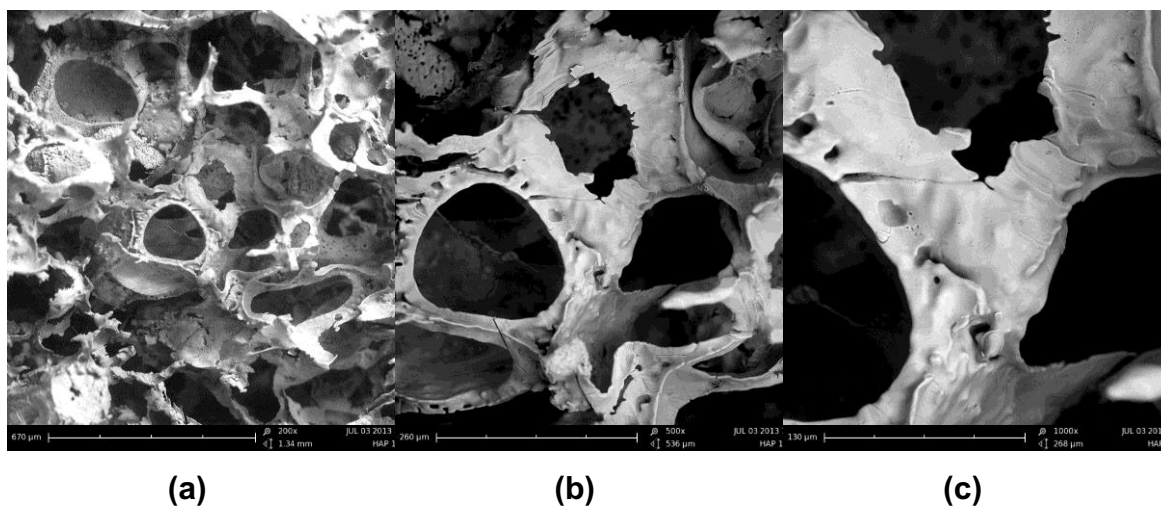
Figura 16: EDS da esponja impregnada com a solução sol-gel.



A Figura 17 apresenta a micrografia dos scaffolds obtidos sinterizados a 1200°C. Observou-se que as amostras apresentam uma arquitetura porosa ao longo de sua estrutura com poros interconectados variando de tamanhos, mantendo a porosidade característica da esponja de poliuretano utilizada como réplica para a obtenção dos scaffolds. Analisando as imagens verifica-se a existência de algumas discontinuidades na estrutura porosa, isto é, algumas falhas que poderão ter influência nas propriedades mecânicas do scaffold.

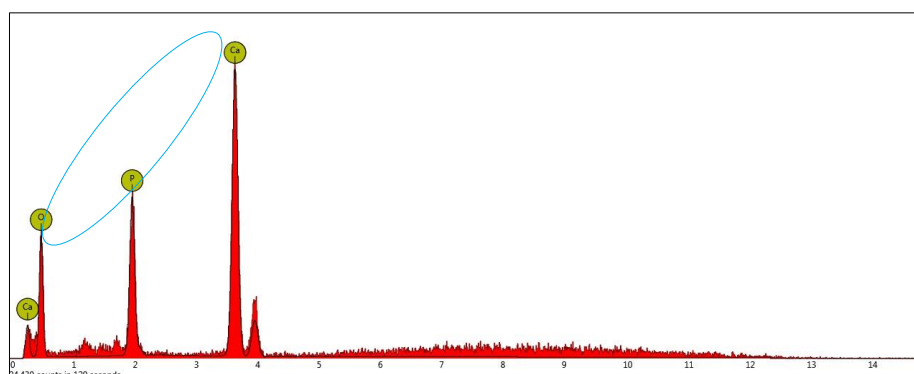
Acrescenta-se que estas falhas poderão ser resultado da contração do cerâmico, vaporização rápida do polímero ou pouco tempo de sinterização.

Figura 17: Micrografia eletrônica de varredura do scaffold cerâmico: (a) 200x, (b) 1000x, (c) 2000x.



A Figura 18 apresenta o espectro de EDS do scaffold com a presença dos íons cálcio (Ca) e Fosforo (P) pertencentes aos fosfatos, comprovando que a composição do scaffold apresenta os mesmos íons da apatita.

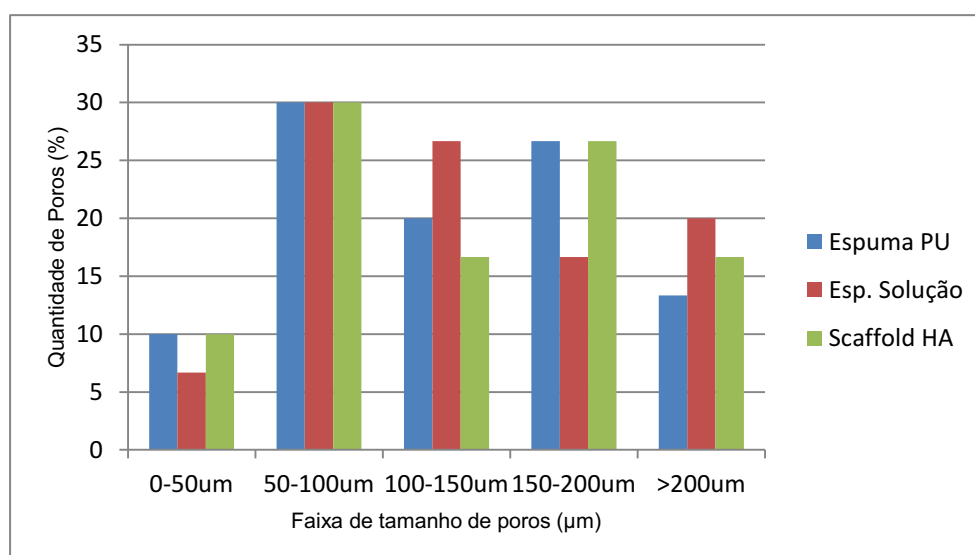
Figura 18: EDS do scaffold poroso.



Na Figura 19 temos a comparação da distribuição de tamanho de poros entre as amostras desenvolvidas apresentando 5 faixas de distribuição de poros com tamanho variando de 0 μm a $>200\mu\text{m}$. A faixa de 50-100 μm foi a que apresentou maior quantidade de poros para as três amostras, correspondendo a 30% da quantidade total de poros e a faixa de 150-200 μm , com 23,3% da quantidade total de poros, seguida pela faixa entre 100-150 μm

que apresentou 21,1% da quantidade total de poros, os poros acima de 200 μm representaram 16,6% da quantidade total e a faixa 0-50 μm foi a que apresentou a menor quantidade total de poros resultando em 8,8%.

Figura 19: Comparação da distribuição de tamanho de poros entre as amostras.



Assim, podemos observar que o scaffold formado apresentou distribuição de poros equivalente a apresentada pela esponja de poliuretano, evidenciando que a técnica de replica da esponja foi eficiente na criação de um scaffold poroso.

A esponja impregnada com a solução sol-gel foi a que apresentou uma maior variação de quantidade de poros em relação às demais que não sofreram uma variação significativa, com destaque para o aumento na quantidade de poros na faixa de 100-150 μm .

Analisando o gráfico observou-se que as amostras apresentaram uma maior quantidade de macroporos comparado a microporos, segundo Bohner et al., 2005 que classificaram os poros de scaffolds para substituição óssea com dimensões de 1-20 μm como microporos e macroporos > 100 μm .

A porosidade tem como característica principal a interconectividade, responsável pela manutenção e crescimento do tecido ósseo, pelo transporte de nutrientes e drenagem de líquidos intersticiais. A migração iônica, que ocorre inicialmente entre a superfície do implante e o plasma sanguíneo, pode ocorrer quando os poros apresentam dimensões próximas de 5 μm ,

influenciando de maneira positiva a dinâmica de adsorção celular, a capilaridade e a permeabilidade dos fluidos corpóreos, que poderiam contribuir na dissolução desta biocerâmica (RATNER et al., 1996; YASZEMSKI, et al., 1996). A presença de poros com diâmetros superiores a 100 μm demonstra que os suportes de HA obtidos pela técnica réplica da esponja polimérica são adequados à regeneração óssea, pois poros acima de 100 μm são compatíveis com a osteocondução, uma vez que um osteoblasto ocupa uma área de 700 μm^2 . Isso mostra que os poros dos suportes de HA são suficientemente extensos para acomodar células (THOMSON, et al., 1998; NARBAT, et al., 2006).

5.4 Análise Termogravimétrica – TG

A análise termogravimétrica foi utilizada para investigar o comportamento térmico da esponja de poliuretano (a), esponja impregnada com a solução sol-gel (b) e do scaffold cerâmico (c), a análise foi realizada sob atmosfera de ar sintético.

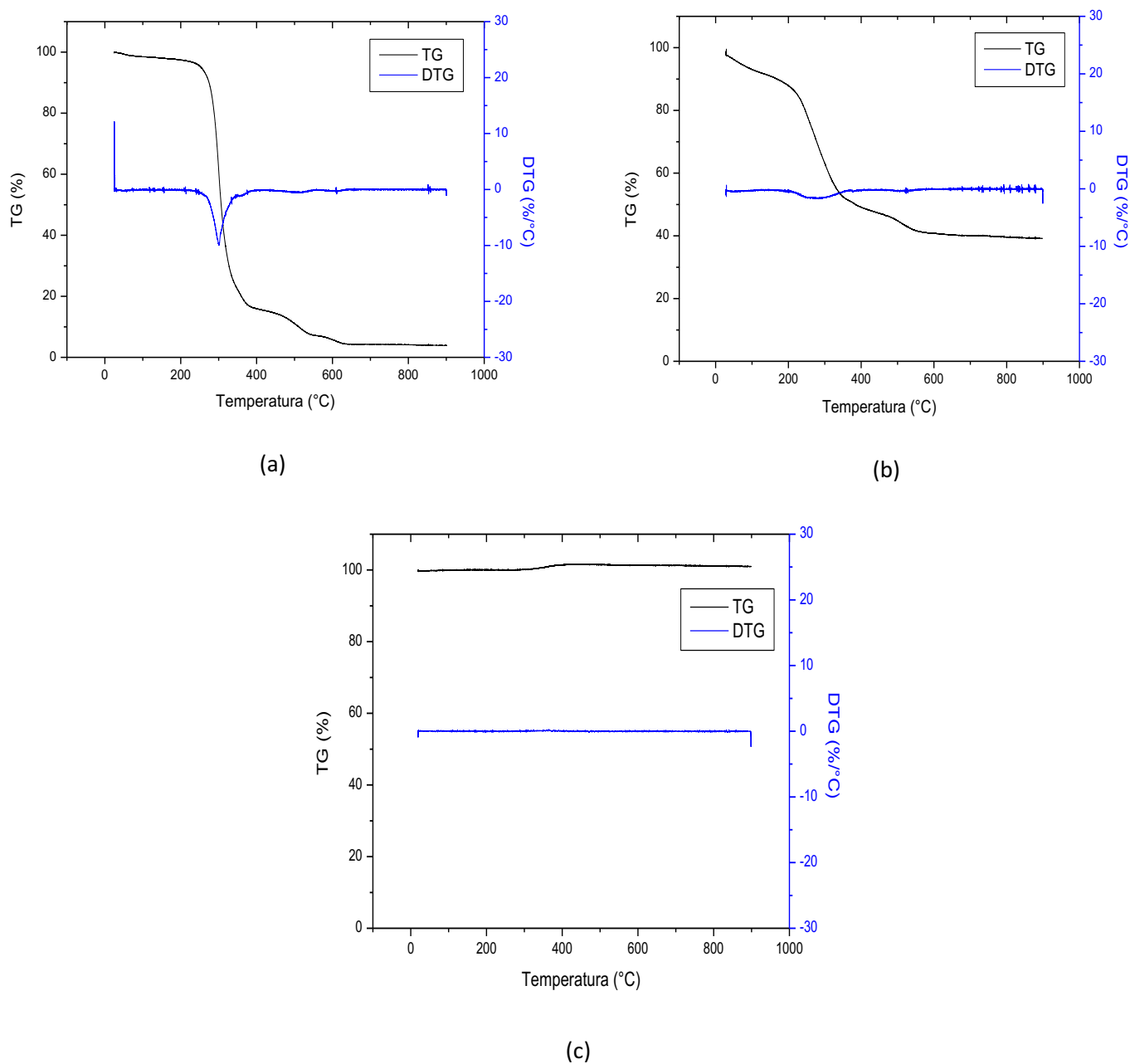
A Figura 20 (a) mostra a perda de massa da esponja de poliuretano sem recobrimento. A curva DTG demonstra um pico exotérmico em 300°C resultando numa perda de 84% de massa que, segundo a literatura, está relacionada com a decomposição do poliuretano, uma vez que ocorre liberação de energia. Poliuretanos são degradados termicamente entre 200-300 °C com formação de resíduos livres de nitrogênio e uma fumaça amarela contendo nitrogênio. O aumento de temperatura provoca quebra do resíduo em compostos menores e liberação, na fumaça, de compostos de nitrogênio como: HCN, acetonitrila, acrilonitrila, propionitrila, pirrol, piridina, anilina, benzonitrila, quinolina e fenilisocianato (MATUSCHEK et al., 2002).

A curva TG/DTG da esponja impregnada com a solução sol-gel apresentada na Figura 20 (b) apresentou uma leve perda entre 200 e 400°C, mesma faixa de temperatura apresentada na TG/DTG da esponja PU, resultando em uma perda de massa de 49%. Observa-se que o recobrimento da esponja com a solução sol-gel diminuiu a perda de massa, em comparação com a esponja de poliuretano, indicando a incorporação da solução sol-gel. O

menor percentual se deve ao fato da presença da fase cerâmica do recobrimento, que analisando a parte final da curva, se verifica que esta tem cerca de 40% do peso inicial do scaffold recoberto.

A Figura 20 (c) mostra as curvas TG/DTG do pó obtido dos scaffolds, observa-se que não ocorreu perdas significativas, apresentando um comportamento estável ao longo da temperatura do ensaio.

Figura 20: Curvas TG-DTG da esponja de poliuretano (a), esponja impregnada com a solução sol-gel (b) e scaffold cerâmico (c).



A partir dos resultados obtidos, para as curvas TG/DTG da Figura 20 (a) e (b) acima, com a presença de poliuretano, a partir de 200°C, a degradação começa a provocar uma perda significativa de massa de aproximadamente 66% na média, este evento é associado a decomposição das matrizes de poliuretano ocorrendo a perda de elementos voláteis e água. Analisando os dados para a esponja impregnada (b), verifica-se que o cerâmico representa cerca de 40% do seu peso total. Já o scaffold cerâmico não apresentou perda significativa, caracterizando uma estabilidade térmica na faixa de temperatura testada.

Estes dados de termogravimetria confirmam que a utilização de uma isotérmica a 400°C, produz a queima efetiva da componente polimérica, já que é a esta temperatura que se perde quase a totalidade dos compostos orgânicos (80%). Uma vez que se pretendeu efetuar a queima da esponja de uma forma gradual optou-se por usar esta temperatura como isotérmica e não uma temperatura acima com o fim de minimizar danos na estrutura cerâmica final devido a uma vaporização rápida demais.

5.5 Ensaios Mecânicos

5.5.1 Ensaio de Compressão

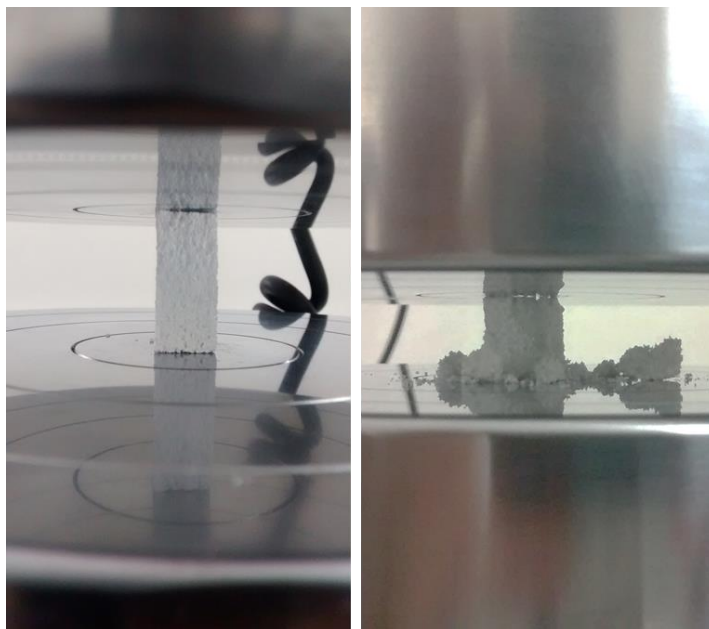
Na Tabela 4 podem ser observados os resultados do ensaio de compressão realizado nos scaffolds obtidos.

Tabela 4: Resultados obtidos a partir do teste mecânico de compressão.

Amostra	Tensão Max. (MPa)	Módulo de Compressão (MPa)
Scaffold 1	0,049	3,13
Scaffold 2	0,061	4,46
Scaffold 3	0,081	4,86
Média	0,064	4,15 MPa / 415 KPa

Na Figura 21 é possível observar o ensaio de compressão realizado nos scaffolds de hidroxiapatita.

Figura 21: Ensaio de Compressão.



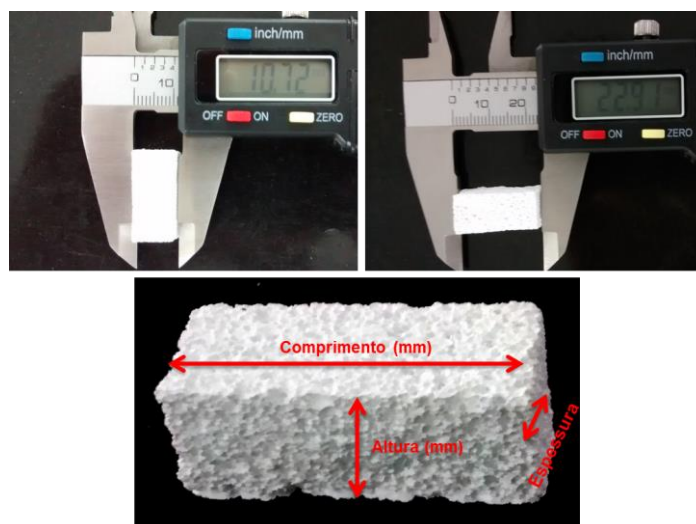
Na Tabela 5 pode-se observar os resultados referentes à porosidade dos scaffolds de hidroxiapatita, determinados pelo método geométrico.

Tabela 5: Porosidade dos scaffolds de Hidroxiapatita.

	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Altura (mm)	Massa (g)	Porosidade (%)
Scaffold 1	21,00	11	9,70	1,7255	76
Scaffold 2	22,80	9,85	9,20	1,7117	74
Scaffold 3	22,79	9,60	9,10	1,5701	75
Média	22,19	10,15	9,33	1,7279	75

Na Figura 22 observa-se a medição dos scaffolds para a realização do ensaio de porosidade pelo método geométrico.

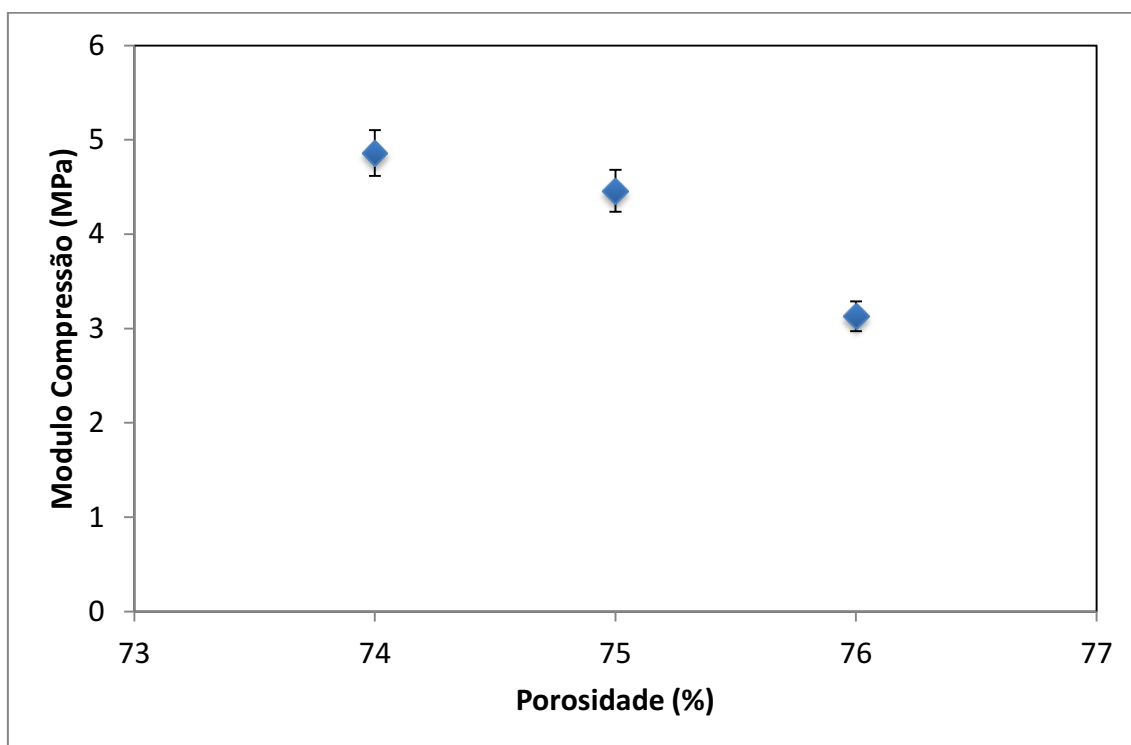
Figura 22: Ensaio de porosidade pelo método geométrico.



Como pode ser observado na Tabela 4, o módulo de compressão variou de 3,13 a 4,86MPa. A Tabela 5 apresenta os resultados da porosidade que variou de 74 a 76%. Tais valores podem ser considerados adequados para aplicações como implantes em locais que não sofrem altas exigências mecânicas, como por exemplo, o osso trabecular. Uma comparação exata com valores obtidos na literatura é difícil, pois os valores de porosidade são distintos. Volkmer (2012) estudou a obtenção e caracterização de hidroxiapatita porosa pelo método sol-gel obteve scaffolds com porosidade de 37 a 73,5% e o módulo de compressão variou de 5,45 a 1,9MPa. Tal fato pode estar ligado à temperatura de sinterização utilizada (1200°C) e tempo de patamar (2 hora).

Na Figura 23 observa-se um gráfico que relaciona porosidade e modulo de compressão dos scaffolds de hidroxiapatita. É possível observar que existe uma relação entre porosidade e modulo de compressão: quanto maior a porosidade, menor o modulo de compressão.

Figura 23: Modulo de Compressão vs Porosidade.



6 CONCLUSÕES

Conclui-se que foi possível produzir scaffolds de apatita através da metodologia Sol-Gel e combinação com a metodologia de réplica de esponja porosa. Conclui-se ainda que a metodologia sol-gel produziu um fosfato de cálcio com 97,5% dos picos serem atribuído à hidroxiapatita e 2,5% ao α -fosfato tricálcico.

Os scaffolds produzidos apresentam uma estrutura porosa teoricamente ideal para o crescimento celular, tendo a maioria dos poros (>70%) valores entre os 50 μ m e os 200 μ m.

Os resultados de termogravimetria permitiram confirmar que as curvas de temperatura utilizadas no processo de sinterização, são eficientes para a queima da esponja, obtendo-se somente uma fase inorgânica de apatita.

Os scaffolds apresentaram porosidade média de cerca de 75% e resistência à compressão médias de 4,15MPa. Considera-se que tais valores são adequados a aplicação no osso trabecular, tendo em vista que a parte esponjosa do osso apresenta porosidade entre 50 e 90% e modulo de compressão variando de 2 a 12 MPa.

Considera-se que com os resultados obtidos no presente trabalho, se obteve um scaffold capaz de ser utilizado em engenharia de tecidos para a regeneração óssea.

7 TRABALHO FUTURO

Apesar da hidroxiapatita ser considerada uma cerâmica biocompatível por toda a comunidade científica, considera-se que seria interessante confirmar a biocompatibilidade dos presente scaffolds através de ensaios *in vitro* e *in vivo*.

Ainda e face as propriedades mecânicas obtidas, considera-se que para trabalho futuro se deveria estudar a influencia de alguns parâmetros de produção a fim de tentar melhorar aquelas propriedades. Assim apresenta-se a titulo de exemplo fatores como tamanho de partícula da hidroxiapatita e temperaturas de sinterização.

Finalmente, considera-se ainda interessante estender o método sol-gel apresentado, mas variando a razão Cálcio/Fosforo afim de se obterem fosfatos de cálcio de interesse biomédico como o Beta Fosfato Tricálcico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOKI, H. **Science and medical applications of hydroxyapatite**. Tokyo: Takayama Press System Center, p. 230, 1991.

ABUKAWA, H. The engineering of craniofacial tissues in the laboratory: A review of scaffolds and implant coatings. **Dental Clinics of North American**, Philadelphia, v. 50, n. 2, p. 205-216, 2006.

ARSAD, S.M., M, LEE. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Nanoparticles and β -TCP Particles. **International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering**, vol. 7, p. 184-188, 2011.

ARVIDSON, K., ABDALLAH, B. M., APPEGATE, L. A., BALDINI, N., CENNI, E., GOMEZ-BARRENA, E., GRANCHI, D., KASSEM, M., KONTTINEN, Y. T., MUSTAFA, K., PIOLETTI, D.P., SILLAT, T. AND FINNE-WISTRAND, A. Bone regeneration and stem cells. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 15, p. 718–746, 2011.

BEEVERS, C. A.; MCINTYRE, D. B. The atomic structure of fluorapatite and its relation to that of tooth and bone mineral. **Miner Mat.**, v. 27, p. 254–259, 1956.

BEZZI, A.; CELOTTI, G.; LANDI, E.; TORRETA, T. M. G.; SOPYAN, I.; TAMPIERI, A. **Materials and Physics**, v. 78 (3), p. 816, 2003.

BOHNER, M.; VAN LENTHE, G. H.; GRÜNENFELDER, S.; HIRSIGER, W.; EVISON, R.; MÜLLER, R. Synthesis and characterization of porous β -tricalcium phosphate blocks. **Biomaterials**, v. 26, p. 6099-6105, 2005.

BOHNER, M.; Calcium Orthophosphates in Medicine: from Ceramics to Calcium Phosphate Cements. **Injury-International Journal of the Care of the Injury**, v. 31, p. 37-47, 2000.

BRINKER, C.J.; SCHERER, G. W. Sol-gel Science - The physics and chemistry of sol-gel processing. **Academic Press Inc.**, San Diego, 1990.

BUCKLEY, C.T.; O'KELLY, K.U. Regular scaffold fabrication techniques for investigations in tissue engineering. **Topics in Bio-Mechanical Engineering**, p. 147-166, 2004.

CAMILO, C. C. **Escafoldes para implantes osseos em alumina/ha/biovidro: análises mecânica e in vitro**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Programa de Pós Graduação em Engenharia Mecânica. São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo. p.145, 2006

CAMPOS, S. D.; CAMPOS, E. A.; SILVEIRA, C. B. DA; BINI, R. A. "Biomateriais à base de $\text{Na}_2\text{O-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ preparados com serragem e

com glucose de milho: influência na porosidade e na cristalinidade”, **Cerâmica**, v. 51, p. 274-279, 2005.

CAO, W.; HENCH, L. L. Bioactive Materials. **Ceramics International**, vol. 22, n.6, p. 493-507, 1996.

CIHLAR, J.; BUCHAL, A.; TRUNEC, M. Kinetics of thermal decomposition of hydroxyapatite bioceramics. **Journal of Materials Science**, v. 34, p. 6121–6131, 1999.

CORNELL, C. N.; LANE, J.M. Current Understanding of Osteoconduction in Bone Regeneration. **Clinical Orthopaedics & Related Research: Fracture Healing Enhancement**, v. 355, p. 267-273, 1998.

COTRAM, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Ossos, articulações e tumores de partes moles. In: Cotram, R.S., Kumar, V., Colins, T. **Robbins: patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1088-1090, 2005.

DE GROOT, K. Bioceramics consisting of calcium phosphate salts. **Biomaterials**, v. 1(1), p. 47-50, 1980.

DE GROOT, K. Ceramics of calcium phosphates: preparation and properties. In: **Bioceramics of Calcium Phosphate**. deGroot K (Ed). CRC Press: Boca Raton, p. 100–114, 1983.

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

DENISSEN, H.; MANGANO, C.; VENINI, G. Hydroxylapatite Implants. Piccin Nuova Libreria, SPA: Padua, 1985.

DOROZHKIN, S. V.; Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine. **Materials**. v. 2, p. 399-498, 2009.

ELLIOTT, J. C. **Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates**. v. 18. Elsevier Science B. V. 1994.

ELLIOTT, J. C.; WILSON, R. M.; DOWKER, S. E. P. **Apatite structures. Advances in X-ray Analysis**. v. 45, p. 172-181, 2002.

FATHI, M. H.; HANIFI, A. Evaluation and Characterization of Nanostructure Hydroxyapatite Powder Prepared by Simple Sol-Gel Method. **Materials Letters**, v. 61, p. 3978-3983, 2007.

FENG, W.; MU-SEN, L.; YU-PENG, L.; YONG-XIN, Q. A simple sol–gel technique for preparing hydroxyapatite nanopowders. **Materials Letters**, v. 59, p. 916-919, 2005.

FERNÁNDEZ-TRESGUERRES-HERNÁNDEZ-GIL, I.; GRACIA, M. A. A.; PINGARRÓN, M. D. C.; JEREZ, L. B. Physiological bases of bone regeneration

I: histology and physiology of bone tissue. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v. 11, p. 47-51, 2006.

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

FRANCO, P. Q.; SILVA, J. C.; BORGES, J. P. Produção de Fibras de Hidroxiapatite por Electrofiação. *Ciência & Tecnologia dos Materiais*, Lisboa, v. 22, p. 57-64, 2009.

GARNET, L. P.; HIATT, J. L. Tratado de histologia. Tradução de Thaís Porto Amadeu et al. Rio de Janeiro: **Elsevier**, cap. 7, 2003.

GIANNOUDIS, P. V.; DINOPOULOS, H.; TSIRIDIS, E. Bone substitutes: An update. **Injury**, Bristol, v.36, n.3, p.20-27, 2005.

GOBBO, L. DE A. **Os compostos de clínquer portland: sua caracterização por difração de raios-x e quantificação por refinamento de Rietveld**. São Paulo, 2003. 157 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Minerais e Hidrogeologia). Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, 2003.

GOMIDE, V. S. **Desenvolvimento e caracterização mecânica de compósitos hidroxiapatita-zircônia e hidroxiapatita-titânia para fins biomédicos**. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Engenharia Mecânica. Campinas: Universidade Estadual de Campinas. p. 121, 2005.

GROSS, K. A. Biodegradable composite scaffolds with an interconnected spherical network for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 25, p. 4955-4962, 2004.

HENCH, L. L. Bioceramics. **J. Am. Ceram. Soc.** v. 81 (7), p. 1705 – 1728, 1998.

HENCH, L. L.; POLAK, J. M. **Third-generation biomedical materials**. Science, v. 295, p. 1014–1017, 2002.

HWANG, K.; LIM, Y. Chemical and structural changes of hydroxyapatite films by using a sol-gel method. **Surf. & Coat. Techn.** v. 115, n. 2-3, p.172-175, abril, 1999.

ITALA, A. I.; YLANEN, H.O.; EKHOLM, C.; KARLSSON, K.H.; ARO, H.T. Pore diameter of more than 100 micron is not requisite for bone ingrowth in rabbits. **J. Biomed. Mater**, v. 58(6), p. 679–683, 2001.

JARCHO, M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. **Clin Orthopaed.**, v. 157, p. 259–78, 1981.

JONES, A. C.; ARNS, C. H.; SHEPPARD, A. P.; HUTMACHER, D. W.; MILTHORPE, B. K.; KNACKSTEDT, M. A. **Assessment of bone ingrowth into porous biomaterials using MICRO-CT**. *Biomaterials*, v.28, p. 2491-2504, 2007.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: Junqueira, L.C., Carneiro J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p. 111-128, 2004.

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

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e embriologia oral**. Texto-atlas-correlações clínicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

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

KEANE, T. J.; BADYLAK, S. F. Biomaterials for tissue engineering applications. **Seminars in Pediatric Surgery**, v. 23, n. 3, p. 112-118, 2014.

KULINETS, I. Biomaterials and their applications in medicine. In: AMATO, S. F. e EZZELL, R. M. (Ed.). *Regulatory Affairs for Biomaterials and Medical Devices*: **Woodhead Publishing**, p.1-10, 2015.

KOKUBO, T.; KIM, H.; KAWASHITA, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2161-2175, 2003.

LEGEROS, R. Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. **Clin Orthop Relat Res**, n. 395, p. 81-98, Feb., 2002.

LEGEROS, R. Z.; LEGEROS, J. P. **An introduction to bioceramics**. In: Hench, L. L. and Wilson, J. (eds.) *An Introduction to Bioceramics*. World Scientific, Singapore, (1993).

LEGEROS, R.Z.; LEGEROS, J.P. **Hydroxyapatite**. In: KOKUBO (Ed.), T. *Bioceramics and their clinical applications*: Woodhead Publishing, p. 367-394, 2008.

LI, S. H.; DE WIJN, J. R.; LAYROLLE, P.; DEGROOT, K. Synthesis of macroporous hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. **J Biomed Mater Res.**, v. 61, p. 109–120, 2002.

LIAO, C. J.; LIN, F. H.; CHEN, K. S.; SUN, J. S. Thermal decomposition and reconstitution of hydroxyapatite in air atmosphere. **Biomaterials**, v. 20, p. 1807–1813, 1999.

LIU, D.M.; YANG, Q.; TROCZYNSKI, T.; TSENG, W. J. Structural evolution of sol-gel-derived hydroxyapatite. **Biomaterials**. v. 23, n. 7, p. 1679-1687, set. 2001.

LOCARDI, B.; PAZZAGLIA, U. E.; GABBI, C.; PROFILO, B. Thermal-behavior of hydroxyapatite intended for medical applications. **Biomaterials**, v. 14, p. 437–441, 1993.

MARINHO, R. M. **Climatério**. Rio de Janeiro: MEDSI Editora Médica e Científica Ltda, 1995.

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

MATUSCHEK, G.; HERRERA, M.; KETTRUP, A. Thermal degradation of thermoplastic polyurethane elastomers (TPU) based on MDI, **Polymer Degradation and Stability**, v. 78, p. 323-331, 2002.

MUNDSTOCK, K. B. **Obtenção e caracterização de biovitrocerâmicas celulares do sistema Na₂O-CaO-SiO₂-P₂O₅**. 2010. 138f. Tese Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

MUNDSTOCK, K. B. **Preparação e caracterização de novos cimentos à base de fosfatos de cálcio, quitosana e álcool polivinílico, reforçados com fibra de celulose para enxerto ósseo**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Santa Catarina Florianópolis, UFSC. 2006.

NARBAT, M. K.; ORANG, F.; HASHTJIN, M. S., GOUDARZI, A. Fabrication of porous hydroxyapatite-gelatin composite scaffolds for bone tissue engineering, **Iranian Biomedical Journal**, v. 10, n. 4, p. 215-223, 2006.

NAYAK, A. K. Hydroxyapatite Synthesis Methodologies : An Overview. **International Journal of ChemTech Research**, v. 2(2), p. 903-907, 2010.

NORDSTROM, E. G.; KARLSSON, K. H.; Carbonate-doped hydroxyapatite. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**. v. 1, p. 182-184, 1990.

OCHUMA, I. J.; OSIBO, O. O.; FISHWICK, R. P.; POLLINGTON, S.; WAGLAND, A.; WOOD, J.; WINTERBOTTOM, J. M. Three-phase photocatalysis using suspended titania and titania supported on a reticulated foam monolith for water purification. **Catalysis Today**, v. 128, p. 100–107, 2007.

PARK, J. B.; BRONZINO, J. D. **Biomaterials: Principles and Applications**. CRC Press, 2002.

RAJABI-ZAMANI, A. Synthesis of Nanocrystalline Carbonated Hydroxyapatite Powder Via Nonalkoxide Sol-Gel Method. **Materials Science and Engineering C**, v. 28, p. 1326-1329, 2008.

RAMAY, H. R.; ZHANG, M. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods. **Biomaterials**. v. 24 (19), p. 3293-3302, 2003.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. **An introduction to materials in medicine**. Ed. By Buddy D. Ratner. Academic Press. USA. 2^o Edição, 1996.

RATNER, B. D.; BRYANT, S. J. Biomaterials: Where we have been and where we are going. **Annu Rev Biomed Eng**, v. 6, p. 41–75, 2004.

RAVAGLIOLI, A.; KRAJEWSKI, A. **Glasses and ceramics as coatings for massive supports. Bioceramics: materials, properties, applications**. London: Chapman & Hall, Ed. A. Ravaglioli, A. Krajewski, p. 198-243, 1992.

RHO, J-Y; KUHN-SPEARING, L.; ZIOUPOS, P. Mechanical Properties and the Hierarchical Structure of Bone. **Medical Engineering & Physics**, v. 20, p.92-102, 1998.

SANTOS, L. A. **Desenvolvimento de cimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras para uso na área médico-odontológica**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2002.

SANTOS, M. L.; FLORENTINO, A. O.; SAEKI, M. J.; APARECIDA, A. H.; LIA FOOK, M. V.; GUASTALDI, A. C. Síntese de Hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. **Ecl. Química**, n. 3, v. 30, p.29-35, 2005.

SCHEFFLER, M.; COLOMBO, P. Cellular ceramics: structure, manufacturing, properties and applications. Weinheim: **Wiley- VCH**, p. 645, 2004.

SENGERS, B. G., TAYLOR, M., PLEASE, C. P., OREFFO, R. O. C. Computational modelling of cell spreading and tissue regeneration in porous scaffolds, **Biomaterials**, v. 28(10), p. 1926–1940, 2007.

SEPÚLVEDA, P.; PANDOLFELLI, V. C.; ROGERO, S. O.; HIGA, O. Z.; BRESSIANI, J.C. Hidroxiapatita porosa produzida através do gelcasting de esponjas visando aplicações biomédicas. **Cerâmica**, v.45, n. 296, p. 198-202, 1999.

SIKAVITSAS, V. I.; TEMENOFF, J. S.; MIKOS, A. G. Biomaterials and bone mechanotransduction. **Biomaterials**, v. 22, p. 2581-2593, 2001.

SILVA, O.G. **Síntese e caracterização de híbridos inorgânicos-orgânico formados a partir de reações de silanização da hidroxiapatita e monetita, Dissertação de Mestrado**. Química da Universidade Federal da Paraíba, 2006.

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

STROGANOVA, E. E.; MIKHAILENKO, N. YU.; MOROZ, O. A. Glass-Based Biomaterials: Present and Future (A Review). **Glass and Ceramics**, v. 60, n. 10, p. 12-16, 2003.

STUDART, A. R., GONZENBACH, U. T.; TERVOORT, E.; GAUCKLER, L. J. Processing routes to macroporous ceramics: A review. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 89, n. 6, p. 1771-1789, jun. 2006.

TADIC, D.; BECKMANN, F.; SCHWARZ, K.; EPPLE, M. A novel method to produce hydroxyapatite objects with interconnecting porosity that Avoids Sintering. **Biomaterials**, v. 25, p. 335 – 3340, 2004.

THOMSON, R. C.; YASZEMSKI, M.J.; POWERS, J. M.; MIKOS, A. G. Hydroxyapatite fiber reinforced poly (α -hydroxy ester) foams for bone regeneration, **Biomaterials**, v. 19, p. 1935-1943, 1998.

TORO, M. E. N. **Desarrollo y Caracterización de materiales Biodegradables para Regeneración Ósea**, Tese (Doctor em Ciências Especialidad Ingeniería Química) – Departament de Ciencia dels Materials i Enginyeria Metallúrgica, Enginyeria Industrial de Barcelona, Universitat Politècnica de Catalunya, 2005.

TORTORA, G., GRABOWSKI, S. R. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogans S. A., 2002.

VARGOVÁ, M.; PLESCHA, G.; VOGTB, U. F.; ZAHORAND, M.; GORBARA, M.; JESENKA, K. TiO₂ thick films supported on reticulated macroporous Al₂O₃ foams and their photoactivity in phenol mineralization. **Applied Surface Science**. v. 257, 4678–4684, 2011.

VAZ, G. J. O. **Propriedades de biocerâmicas porosas de fosfato de cálcio obtidas com matérias-primas de origem orgânica e sintética**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP. 2007.

VERCIK, L. C. O. **Estudo do recobrimento de hidroxiapatita sobre superfícies de Ti cp e liga Ti-6Al-4V, sem e com deposição de TiO₂ por plasma spray**. Tese (Doutorado em Química)- Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, p.127, 2004.

VERCIK, L. C. O.; ASSIS, C. M.; LIA FOOK, M. V.; SANTOS, M. L.; GUASTALDI, A. C. Recobrimento de apatitas “in vitro” sobre titânio: influência do tratamento térmico, **Eclética Química**, v. 28(1), p. 25-31, 2003.

VOLKMER, T.M. **Obtenção e caracterização de hidroxiapatita porosa pelo método gelcasting de esponjas para uso como implantes**. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Programa de Pós Graduação em Engenharia de

Minas, Metalúrgica e de Materiais. Porto Alegre: Escola de Engenharia da UFRGS, p. 139, 2006.

WANG, G. C.; LU, Z. F.; ZREIQAT, H. **Bioceramics for skeletal bone regeneration**. In: MALLICK, K. (Ed.). *Bone Substitute Biomaterials*: Woodhead Publishing, p.180-216, 2014.

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

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

YANG, S. F., LEONG, K. F., DU, Z. H.; CHUA, C. K. The design of scaffolds for use in tissue engineering. **Part II. Rapid prototyping techniques**. *Tissue Engineering*, v. 8 , p. 1–11, 2002.

YANG, S. F.; LEONG, K. F.; DU, Z. H.; CHUA, C. K. The design of scaffolds for use in tissue engineering. **Part I. Traditional factors**. *Tissue Engineering*, v. 7, p. 679–689, 2001.

YASZEMSKI, M.J.; PAYNE, R.G.; HAYES, W.C.; LANGER, R.; MIKOS, A.G. Evolution of bone transplantation: molecular, cellular and tissue strategies to engineer human bone, **Biomaterials**, v. 17(2), p. 175–85, 1996.

YOUNG, R. A. **The Rietveld Method**. 1 ed. New York: Oxford University Press, p. 298, 1995.

YOUNG, R. A; ELLIOTT, J. C. Atomic scale bases for several properties of apatites. **Arch Oral Biol.**, v. 11, p. 699–707, 1966.

YUAN, Y., LIU, C. S. **Synthesis of nanometer hydroxyapatite by sol-gel method**. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao Acta Academiae Medicinae Sinicae*, v. 24(2), p. 129-133, 2002.

ZAPANTA-LEGEROS, R. Effect of carbonate on the lattice parameters of apatite. **Nature**, v. 206, p. 403–405, 1965.

ZAVAGLIA, C. A. **Curso de Introdução à Cerâmicas**. Apostila de biocerâmicas - Faculdade de Engenharia Mecânica, Unicamp, Campinas, 2003.

ZHANG, Y.; LIU, Y.; JI, X. B.; BANKS, C. E.; ZHANG, W. Flower-like hydroxyapatite modified carbon paste electrodes applicable for highly sensitive detection of heavy metal ions. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, p. 7552–7554, 2011.

ZHAO, J.; XIAO, S.; LU, X.; WANG, J.; WENG, J. A study on improving mechanical properties of porous HA tissue engineering scaffolds by hot isostatic pressing”, **Biomedical Materials**, v. 1(4), p. 188-192, 2006.

ZHU, X.; EIBL, O.; BERTHOLD, C.; SCHEIDELER, L.; GEIS- GERSTORFER, J. Structural characterization of nanocrystalline hydroxyapatite and adhesion of pre-osteoblast cells. **Nanotechnology**, v. 17(11), p. 2711-2721, 2006.