



Universidade Federal de Campina Grande

Centro de Ciências e Tecnologia



Unidade Acadêmica de Ciências e Engenharia de Materiais

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

CLÁUDIA MARIA LOPES CARNEIRO TEIXEIRA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS
HIDROGEL/HIDROXIAPATITA PARA USO DERMATOLÓGICO.**

Campina Grande – PB

2013

CLÁUDIA MARIA LOPES CARNEIRO TEIXEIRA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS
HIDROGEL/HIDROXIAPATITA PARA USO DERMATOLÓGICO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa (UAEMa)

Campina Grande – PB

2013



T2660 Teixeira, Cláudia Maria Lopes Carneiro.
Obtenção e caracterização de compósitos
hidrogel/hidroxiapatita para uso dermatológico / Cláudia
Maria Lopes Carneiro Teixeira. - Campina Grande, 2013.
91 f.

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

1. Compósito de Hidrogel/HAp. 2. Hidroxiapatita. 3.
Preenchimento de Partes Moles. 4. Radiessse. 5. Dissertação
- Ciência e Engenharia de Materiais. I. Costa, Ana Cristina
Figueiredo de Melo. II. Universidade Federal de Campina
Grande - Campina Grande (PB). III. Título

CDU 678.7(043)

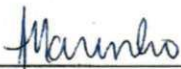
**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO COMPÓSITO
HIDROGEL/HIDROXIAPATITA PARA USO DERMATOLÓGICO.**

Cláudia Maria Lopes Carneiro Teixeira

Dissertação Aprovada em 29/01/2013 pela banca examinadora constituída dos seguintes membros:



Dr^a. Ana Crisatina Figueiredo de Melo Costa
(Orientadora)
UAEMat/UFCG



Dr. Alexandre Magno da Nóbrega Marinho
(Examinador Externo)
UAM/UFCG



Dr^a. Jane de Fátima Oliveira
(Examinadora Externa)
DQ/UEPB

AGRADECIMENTOS

A Deus, Luz Suprema e Inesgotável.

Aos meus pais que me propiciaram educação no sentido amplo e irrestrito da palavra aliado ao exemplo de luta, honradez e verdade de suas vidas.

Ao meu esposo pela sua humanidade, determinação, ousadia e empreendedorismo.

Aos meus filhos e neto que entendam todo o meu esforço na vida como pessoa, mãe, mulher, nos estudos, no trabalho... Só faz sentido pelas suas existências.

A todos os meus mestres ao longo da vida acadêmica que alimentaram a chama do saber dentro de mim.

Aos meus pacientes que aguçam a busca de novos conhecimentos e permitem praticá-los.

A grata descoberta da Engenharia de Materiais e do impulso dado pelos implicados direta e indiretamente nesta dissertação.

RESUMO

A dermatologia busca materiais para preenchimento de partes moles biocompatíveis, seguros e economicamente viáveis, no tratamento de preenchimentos subdérmicos de defeitos faciais, inclusive em pacientes portadores de lipoatrofia pelo vírus do HIV. Este trabalho propõe-se a formular um compósito contendo 70% de hidrogel de carboximetilcelulose (CMC), glicerina (GL) e 30% de hidroxiapatita (HAp) que se assemelhe ao produto comercial padrão com tal finalidade, Radiesse®. A HAp monofásica foi sintetizada com sucesso pelo método de precipitação, caracterizada por difração de raios X (DRX) e posteriormente calcinada em temperaturas de 900 e 1100°C, resultando no aumento do tamanho médio dos aglomerados. Estas foram caracterizadas por DRX, espectroscopia por fluorescência de raios X (EDX), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), distribuição granulométrica (DG) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Desenvolveu-se o compósito de hidrogel contendo CMC e GL, no qual foi adicionado 30% das HAp sintetizadas obtendo-se compósitos propostos por este trabalho. Analisou-se o produto comercial referido pelas técnicas de caracterizações acima elencadas e seus resultados comprovaram que este material é formado por uma amostra contendo 30% de HAp cristalina e monofásica envolvida por um hidrogel composto de 70% de uma mistura de glicerina, água e carboximetilcelulose, com viscosidade visual e tempo de secagem bem definidos a temperatura ambiente. Compararam-se os dados do produto comercial padrão com os dos compósitos obtidos, bem como se adotaram medidas comparativas de viscosidade visual e tempo de secagem entre eles. Os compósitos experimentais foram obtidos com sucesso sem e após calcinação de 900°C e apresentaram entre si, apenas mudanças relacionadas ao tamanho de cristalito e tamanho de partículas avaliadas pelo MEV, com comportamento semelhante em relação às demais caracterizações. Os compósitos experimentais apresentaram características semelhantes ao produto comercial padrão referido, exceto quanto ao tempo de secagem, podendo ser melhorados e avaliados futuramente em estudos *in vitro* e *in vivo* para verificar seus comportamentos biológicos.

Palavras-chave: hidroxiapatita, preenchimento de partes moles, Radiesse®.

ABSTRACT

The Dermatology searches biocompatible, safe and cost effective materials as injectable soft-tissue augmentation fillers for facial loss treatments, also from HIV-related facial lipoatrophy. This work proposes to formulate a 70% carboxymethylcellulose (CMC), glycerin (GL) aqueous polysaccharide gel and 30% synthetic calcium hydroxylapatite (HAp) approached to the standard commercial product, Radiesse®. The HAp was successfully synthesized by precipitation method, evaluated by X rays diffraction (DRX), after that, calcined at 900°C and 1100°C, resulting in higher medium sizes chipboards. These had been evaluated by DRX, spectroscopy for fluorescence of X rays (EDX), the Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), grain sized distribution (DG) and scanning electron microscopy (SEM). An aqueous polysaccharide composite gel was developed, added 30% of the synthesized HAp, obtaining proposed experimental composites and evaluated by DRX, EDX, FTIR and SEM. The commercial product cited was evaluated by the techniques of characterizations listed and its results had proven that this material is composed by 30% stable phase crystalline HAp involved in a 70% CMC, GL aqueous polysaccharide gel, with well-defined visual viscosity and drying time at room temperature. The data of the commercial product had been compared to the proposed experimental composites ones, including visual viscosity and drying time measurements. The experimental composites had been gotten successfully with or without heat treatment and had presented, among themselves, only changes related to crystallite and droplet sizes demonstrated by SEM, and the drying time, which could be improved and evaluated later *in vitro* and *in vivo* studies to verify their biological behaviors.

Key-words: Calcium Hydroxylapatite, Facial Soft-tissue fillers, Radiesse®.

PUBLICAÇÕES

TEIXEIRA, C. M. L.; SANTOS, P. T. A.; RODRIGUES, P. A.; COSTA, A. C. F. M.;
“Influência da Temperatura de Calcinação na Estrutura e Morfologia de Biocerâmica de
HAp”. In: Anais do 56º Congresso Brasileiro de Cerâmica, Curitiba – PR, 2012.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 2. 1- Aplicações das Biocerâmicas. | 22 |
| Figura 2. 2- Estrutura da celulose com ligações β -(1-4) entre unidades de D-glucopirranose. | 29 |
| Figura 2. 3- Fórmula química estrutural plana da glicerina (C ₃ H ₈ O ₃) onde cada carbono comporta um grupamento hidroxila. | 31 |
| Figura 2. 5- A pele e os fatores externos. | 35 |
| Figura 2. 6- As camadas do órgão cutâneo. | 36 |
| Figura 2. 7- Derme papilar e derme reticular. | 37 |
| Figura 2. 8- Distribuição da hipoderme no homem e na mulher. | 38 |
| Figura 2. 9- Pele como órgão imunológico. | 39 |
| Figura 2. 10- Funções da pele. | 40 |
| Figura 2. 11- Músculos da face e as marcas de expressão. | 42 |
| Figura 2. 12- Material disponível comercialmente. | 43 |
| Figura 2. 13- Produto comercial padrão adotado - efeito volumizador. | 44 |
| Figura 2. 14- (a) Micrografia ótica evidenciando as microesferas de HAp circundadas por colágeno e histiócitos e (b) Micrografia eletrônica de varredura evidenciando as partículas de HAp após 30 meses de implantação. | 45 |
| Figura 3. 1- Fluxograma para obtenção da HAp. | 47 |
| Figura 3. 2- Fluxograma para obtenção dos hidrogéis e dos compósitos de hidrogel/HAp. | 49 |
| Figura 3. 3- Consistência do produto comercial padrão adotado no encarte do fabricante. | 53 |
| Figura 3. 4- Mensuração 0,1ml do produto comercial padrão adotado em balança de precisão. | 54 |
| Figura 3. 5- Modelo experimental do tempo de secagem. | 54 |
| Figura 4. 1- Difractogramas de raios X: (a) padrão JCPDF 89-6437, (b) HAp como sintetizada (HC), (c) HAp calcinada a 900°C (HC9), e (d) HAp calcinada a 1100°C (HC11). | 55 |

| | |
|---|----|
| Figura 4. 2- Espectros de FTIR das amostras HC (a) e HC9 (b)..... | 58 |
| Figura 4. 3 - Distribuição granulométrica das amostras de HAp estudadas: (a) HC e (b) HC9..... | 59 |
| Figura 4. 4 - Micrografias da amostra HAp sintetizada (HC), em duas escalas diferentes: (a) 10 μm e (b) 1 μm | 60 |
| Figura 4. 5 - Micrografias da amostra HAp calcinada a 900°C (HC9), em duas escalas diferentes: (a) 10 μm e (b) 1 μm | 61 |
| Figura 4. 6 - Aspectos visuais e táteis das amostras dos hidrogéis experimentais: (a) C1, (b) C2, (c) C3, (d) C4 e (e) C5..... | 62 |
| Figura 4. 7 - Aspectos visuais e táteis das amostras dos hidrogéis experimentais: (a) C2, (b, c) GHC e (d, e) GHC9. | 63 |
| Figura 4. 8 - Viscosidade experimental das amostras de hidrogel/HAp: (a) comercial adotado, (b) GHC e (c) GHC9..... | 63 |
| Figura 4. 9 - Mensuração do volume de 0,1 mL do hidrogel/HAp comercial e experimentais: (a) produto comercial adotado, (b) GHC e (c) GHC9. | 64 |
| Figura 4. 10 - Tempo de endurecimento do volume 0,1 mL do produto comercial adotado: (a) tempo inicial e (b) tempo final. | 65 |
| Figura 4. 11 - Tempo de endurecimento das amostras GHC e GHC9: (a) tempo inicial e (b) tempo final..... | 66 |
| Figura 4. 12- Difratoogramas de raios X dos compósitos de hidrogel/HAp comercial e experimental: (a) padrão JCPDF 89-6437 da HAp, (b) compósito RD, (c) compósito GHC, e (d) compósito GHC9)..... | 67 |
| Figura 4. 13 - Espectros de FTIR dos compósitos hidrogel/HAp comercial e experimental: (a) RD, (b) GHC, (c) GHC9. | 70 |
| Figura 4. 14 - Micrografias do produto comercial adotado, em duas escalas diferentes: (a) 10 μm e (b) 1 μm | 71 |
| Figura 4. 15 - Micrografias para o hidrogel/HAp utilizando HAp experimental sem calcinar (GHC), em duas escalas diferentes: (a) 10 μm e (b) 1 μm | 72 |
| Figura 4. 16 - Micrografias do gel experimental utilizando HAp experimental calcinada a 900°C, em duas escalas diferentes: (a) 50 μm e (b) 10 μm | 72 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 2. 1- Classes de materiais utilizados como biomateriais. | 20 |
| Tabela 2. 2- Exemplos de biocerâmicas mais utilizadas nas aplicações médicas. | 23 |
| Tabela 2. 3- Carboximetilcelulose e suas principais características. | 30 |
| | |
| Tabela 3. 1 - Composições iniciais dos hidrogéis e dos compósitos de hidrogel/HAp estudados. | 48 |
| | |
| Tabela 4. 1 - Cristalinidade e tamanho de cristalito para as amostras HAp como sintetizada (HC) e após calcinação a 900°C e 1100°C | 56 |
| Tabela 4. 2 - EDX das amostras de HAp. | 57 |
| Tabela 4. 3 - Grupamentos químicos e suas respectivas vibrações observadas nas amostras de HC.e HC9. | 59 |
| Tabela 4. 4 - Cristalinidade e tamanho de cristalito para os compósitos hidrogel/HAp comercial (RD) e sintetizados (GHC) e calcinada a 900°C (GHC9). | 68 |
| Tabela 4. 5 - EDX das amostras do RD e dos compósitos de hidrogel/HAp. | 69 |
| Tabela 4. 6 - Grupamentos químicos e suas respectivas vibrações observadas nas amostras dos compósitos de hidrogel/HAp comercial (RD) e experimentais (GHC e GHC9). | 70 |

SIMBOLOGIA E ABREVIACÕES

μm – micrômetro (10^{-6} m)

nm – nanômetro (10^{-9} m)

$\alpha\text{AL}_2\text{O}_3$ -- Alumina densa

β - (1- 4) – D- glicopiranoose – estrutura de celulose com ligações β - (1- 4) entre as unidades de – D- glicopiranoose

ANVISA – Agência nacional de Vigilância Sanitária

C1 -- hidrogel experimental carboximetilcelulose e água (1:1)

C2 – hidrogel experimental carboximetilcelulose, água e glicerina (1:3:1)

C3 -- hidrogel experimental carboximetilcelulose, água e glicerina (1:1:1)

C4 -- hidrogel experimental carboximetilcelulose, água e glicerina (1:1:3)

C5 -- hidrogel experimental água e glicerina (1:1)

$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ -- glicerina

Ca/P – relação cálcio/ fósforo

$\text{Ca}(\text{OH})_2$ _hidróxido de cálcio

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – nitrato de cálcio

NH_4OH -- fosfato de amônio

$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ – hidroxiapatita estequiométrica

Ca_3PO_4 – fosfato tricálcio

$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ – gesso

CH_2COOH – grupos carboxílicos

$\text{ClCH}_2\text{COONa}$ – monocloroacetato de sódio

CMC – Carboximetilcelulose

COL – colágeno suíno ou bovino

DG – distribuição granulométrica

DRX – difração de raios-X

EDX – espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

FDA – Food and Drug Administration dos EUA

FTIR – fluorescência de raios-X por energia dispersiva

GL ou $[\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3]$ – glicerina

GHC – hidrogel/hidroxiapatita como calcinada

GHG9 – hidrogel/hidroxiapatita calcinada 900° C

G/HApC – hidrogel/hidroxiapatita comercial
H₃PO₄ – ácido fosfórico
HA – ácido hialurônico
HAp – hidroxiapatita de cálcio ou simplesmente hidroxiapatita
IUPAC – International Union for Pure and Applied Chemistry
MEV – microscopia eletrônica de varredura
OH⁻ – hidroxila
PE – polietileno
pH – potencial de hidrogênio
PEG – polietilenoglicol
PGA -- ácido poliglicólico
PLA – ácido polilático
PMMA – polimetilmetacrilato
PO₄ – grupo fosfato
PVA – polialcoolvinílico
SBCD – Sociedade Brasileira de Cirurgia Dermatológica
SBD – Sociedade Brasileira de Dermatologia
SUS – Sistema Único de Saúde
T₃ – Triiodotironina
T₄ – Tiroxina
TCP – fosfato tricálcico
TiO₂ – titânia
SiC – carboneto de silício
ZiO₂ -- zircônia

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 1.1 Objetivos | 17 |
| 1.1.1 Objetivo Geral..... | 17 |
| 1.1.2 Objetivos Específicos | 17 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 18 |
| 2.1 Biomateriais | 18 |
| 2.2 Compósitos | 26 |
| 2.2.1 Carboximetilcelulose..... | 28 |
| 2.2.2 Glicerina | 31 |
| 2.2.3 Hidroxiapatita (HAp) | 32 |
| 2.3 A Dermatologia | 35 |
| 2.3.1 Produto Comercial Padrão Adotado..... | 43 |
| 3 MATERIAIS E MÉTODOS | 46 |
| 3.1 Materiais | 46 |
| 3.2 Métodos | 46 |
| 3.2.2 ETAPA II – Obtenção e Caracterização dos Hidrogeis e dos Compósitos Hidrogel/HAp..... | 48 |
| 3.2.3 ETAPA III – Caracterização..... | 50 |
| 3.2.3.1 <i>Difração de Raios X - DRX</i> | 50 |
| 3.2.3.2 <i>Análise Química por Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva – EDX</i> | 51 |
| 3.2.3.3 <i>Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR</i> . 51 | |
| 3.2.3.4 <i>Distribuição Granulométrica – DG</i> | 52 |
| 3.2.3.5 <i>Microscopia e Eletrônica de Varredura – MEV</i> | 52 |
| 3.2.3.6 <i>Consistência Experimental Visual</i> | 52 |
| 3.2.3.7 <i>Tempo de Secagem</i> | 54 |

| | |
|---|-----------|
| 4. RESULTADOS PRELIMINARES E DISCUSSÕES | 55 |
| 4.1 Etapa I- Caracterização da HAp | 55 |
| 4.2 Etapa II- Aspectos Visuais dos Hidrogéis e Caracterização dos Compósitos | 61 |
| 4.1 ETAPA I- Caracterização da HAp..... | 65 |
| 5 CONCLUSÕES..... | 74 |
| 6 SUGESTÕES FUTURAS | 75 |
| REFERÊNCIAS..... | 76 |
| APENDICE A - Cálculos do percentual teórico da hidroxiapatita de cálcio (HAp) | 85 |
| ANEXO A – Figura A1-Descrição técnica do produto comercial padrão adotado | 86 |
| ANEXO B – Reagentes utilizados na obtenção da hidroxiapatita de cálcio (HAp)..... | 87 |
| ANEXO C – Fichas cristalográficas e dados com o tamanho de cristalito para as amostras estudadas | 89 |

1 INTRODUÇÃO

Com a valorização da melhoria estética por meios cada vez menos invasivos que a Cirurgia Plástica, os tratamentos não invasivos têm crescido dentro da Dermatologia como opções suplementares e complementares, entre eles o preenchimento de partes moles ou tecido conjuntivo, juntamente com a desnervação química induzida por neurotoxina, resultando no desenvolvimento de materiais biocompatíveis, duradouros e seguros.

Dentre os materiais empregados para tais fins, classificam-se em autólogos (gordura autóloga, colágeno e fibroblastos) e heterólogos (sintéticos, naturais e mistos), onde se destacam o gel de polimetilmetacrilato (PMMA), o ácido hialurônico (HA), o ácido polilático (PLA), o colágeno suíno ou bovino (COL) e a hidroxiapatita de cálcio (HAp) (COHEN et al, 2006).

Desses materiais citados, a hidroxiapatita apresenta características promissoras para várias aplicações biomédicas iniciadas há mais de 20 anos pela salutar experiência no campo reconstrutivo da Ortopedia e Neurologia. Esta vasta indicação se deu pela semelhança química da HAp à hidroxiapatita biológica dos tecidos ósseos, utilizada como cimento ósseo, revestimento das órteses e próteses ósseas, pela observação de deposição de novo tecido ósseo próximo a fraturas e deficiências ósseas faciais congênitas ou pós- traumáticas (COHEN et al, 2006).

A Odontologia e a Cirurgia Buco-Maxilo-Facial também incorporaram a HAp nos enxertos e implantes dentários, bem como nas cirurgias de perdas ósseas mandibulares pelo fato da sua semelhança química com a hidroxiapatita dentária. Exemplificando, cita-se o uso da hidroxiapatita para desenvolvimento de compósitos de colágeno com silicato para endodontia (E'GUES, 2005) e o desenvolvimento de cimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras, para uso na área médico-odontológico (SANTOS, 2002).

Na Otorrinolaringologia, o uso da hidroxiapatita foi relatado na correção do tamanho das cordas vocais (WOLRAICH e ZUR, 2010; DEFATTA et al, 2011), e em cirurgias de timpanoplastia, no preenchimento de defeitos ósseos criados em mastóides de ratos (HAMERSCHIMIDT, 2010). Na Radiologia, o uso de microesferas da HAp de diâmetro entre 75 μm e 125 μm foi reportada como marcador tecidual radiográfico no diagnóstico de incontinência urinária por estresse e no refluxo vesico ureteral (COHEN et al, 2006).

Outra área médica que tem atraído o interesse de pesquisadores e da indústria no uso da HAp é a Dermatologia. O primeiro artigo científico que relata o uso da hidroxiapatita como preenchimento facial de tecidos moles data do ano de 2004, sob o nome comercial de

Radiance FN. Nesse estudo, os autores realizaram preenchimentos em várias áreas faciais de sessenta e quatro pacientes em que todos admitiram altíssima satisfação do tratamento. Os efeitos colaterais observados foram mínimos, consistindo de hematomas ou inchaço leve. Foi observado ainda que o efeito reparador do preenchimento de HAp perdurou por seis meses (SKLAR e WHITE, 2004).

Desde então vários trabalhos demonstram o uso eficaz da HAp como preenchimento subdérmico em múltiplas aplicações da cirurgia plástica reparadora. Podem-se citar preenchimentos de: sulcos nasolabiais (MURRAY et. al., 2005; TZIKAS, 2006; JONES, 2011), bochechas (OWENS, 2005), rugas faciais e depressões (KOVACH e SENNELMANN, 2007; ALAM et. al., 2011), lipoatrofia de face associada ao HIV (MOERS-CARPI et al, 2007; QUATELA e CHOW, 2008) e cicatrizes provocadas pela acne (BUCK et. al. 2009).

Assim, o biomaterial comercial que possui em sua formulação 30% de micropartículas de hidroxiapatita de cálcio dispersas em um gel carregador aquoso de carboximetilcelulose e glicerina (OWENS, 2005), foi aprovado pelo Food and Drug Administration dos EUA apenas em 2006 (FDA, 2006), onde a sua vasta utilização em dermatologia está diretamente relacionada às suas vantagens, tais como: alta biocompatibilidade com o corpo humano, já que a HAp é o componente inorgânico natural dos ossos; rápida absorção do gel, deixando presente apenas as microesferas de HAp agindo como um molde (“scaffold”) para o crescimento dos fibroblastos que darão origem subsequente ao colágeno; ação de longa duração, sendo de doze meses na maioria dos pacientes e podendo chegar até dezoito meses em alguns deles; não imunogenicidade (não provoca a reação de anticorpos), o que leva pouco ou nenhum aparecimento de reações adversas locais (HAMILTON, 2009).

Apesar do vasto uso deste tipo de produto em aplicações dermatológicas e de suas inúmeras vantagens já citadas, trata-se de produto importado, cujos benefícios não atingem toda população brasileira. Somando-se a isto, a literatura científica na área da Dermatologia é escassa em relação à caracterização morfológica e estrutural deste produto, ressaltando apenas o seu excelente resultado estético final e comparações com preenchedores de ácido hialurônico e ácido polilático a despeito da durabilidade; baseando-se no seu emprego como biomaterial pelos estudos de comportamento bioquímico e clínico do uso da HAp em tecidos ósseos, estes sim, amplamente documentados na literatura científica (COHEN et al, 2006)

Deste modo, este trabalho motiva-se pelo fato de propor o desenvolvimento e a caracterização de um biomaterial a partir de um compósito de gel polimérico/HAp, com características que se assemelhem as do compósito hidrogel/HAp comercial tido como

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Biomateriais

Segundo a Conferência de Consenso em Biomateriais para aplicações clínicas em 1982, entende-se por biomaterial toda substância (com exceção de fármacos), combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo indeterminado é empregado como um todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais (NETO, 2007).

Isso significa que, no sentido mais amplo, são enquadrados nessa categoria todos os materiais empregados na medicina, odontologia, medicina veterinária e farmacologia, além daqueles que entram na forma de implantes em contato direto com o tecido do corpo. Segundo a literatura, a primeira definição prática foi dada por Park e Lakes em 2007 - "biomateriais são tudo que, de modo contínuo ou intermitente, entra em contato com fluidos corpóreos, mesmo que esteja localizado fora do corpo". Assim, pinos e placas de fixação externas, bisturis, lâminas e demais instrumentos cirúrgicos são considerados biomateriais.

Segundo Simões (2007), os biomateriais podem ser de natureza metálica, cerâmica, polimérica, ou materiais compósitos de diferentes composições, porém, para que possam ser usados em aplicações médicas, eles devem possuir uma série de propriedades específicas, que podem, fundamentalmente, serem agrupadas em uma característica chamada biocompatibilidade.

O termo "biocompatibilidade" foi utilizado para designar o desempenho biológico dos materiais. Materiais biocompatíveis podem ser considerados biomateriais, pois a biocompatibilidade indica a propriedade do material de provocar uma resposta adequada por parte dos tecidos do hospedeiro, quando utilizado em uma aplicação específica (SIMÕES, 2007).

A princípio, os biomateriais devem isentar-se de produzir respostas biológicas adversas, locais ou sistêmicas. Assim, não devem ser: tóxicos, carcinogênicos, antigênicos, mutagênicos e trombogênicos, principalmente se utilizados em contato com o sangue. Contudo, com o crescimento das aplicações de biomateriais, essas características têm sido mais discutidas. Hoje em dia se utiliza em quase todos os tipos de cirurgias, por exemplo, agentes hemostáticos locais, que são biocompatíveis, mas cuja característica principal é provocar coagulação sanguínea, ou seja, ser trombogênico (SIMÕES, 2007).

Os biomateriais podem, ainda, ser divididos conforme o tipo de interação que apresentam com os tecidos, em biotoleráveis, bioinertes, bioativos e biodegradáveis (ORÉFICE, 2005).

Materiais biotoleráveis provocam respostas inflamatórias locais toleradas pelo organismo, que os isola com uma camada de tecido conjuntivo, formando uma cápsula. O encapsulamento é induzido pela liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão, ou outros, por parte do material implantado. Esses elementos liberados ocasionam uma resposta inflamatória, com alterações do pH, recrutamento de células inflamatórias e fagocitose. O encapsulamento e a resposta inflamatória são limitados, chegando-se a um estado de equilíbrio após a resposta inicial. Quanto maior a camada conjuntiva formada no encapsulamento, menor a tolerabilidade do material pelo tecido. A maioria dos polímeros sintéticos e grande parte dos metais podem ser classificadas como biotoleráveis (ORÉFICE, 2005).

São considerados bioinertes, os materiais de grande estabilidade química superficial, que provocam uma resposta muito pequena nos tecidos do hospedeiro, com encapsulamento mínimo ou praticamente inexistente. O material libera uma quantidade mínima de componentes, recrutando quantidades mínimas de células de defesa, por um curto período de tempo. As cerâmicas costumam ser muito estáveis e, portanto enquadrar-se neste grupo. As cerâmicas mais usadas como biomateriais, são aquelas à base de alumina, zircônia e carbono. O metal bioinerte de uso mais comum atualmente é o titânio, que tem sua superfície naturalmente passivada pela formação de uma fina camada de óxidos, quando exposto à atmosfera (ORÉFICE, 2005).

Materiais bioativos são aqueles capazes de formar uma ligação de natureza química entre sua superfície e o tecido hospedeiro. No caso mais comum, que são os implantes, para uso no tecido ósseo, essa ligação é chamada osteointegração. Isso significa que a afinidade físico-química da superfície é tão grande que há osteocondução e recobrimento do implante por células ósseas. Esse tipo de fenômeno pode ser estimulado pela morfologia da superfície, como o desenvolvimento de uma rugosidade e porosidade adequadas para o crescimento ósseo. Os principais materiais bioativos são: os vidros e vitrocerâmicos à base de fosfato de cálcio. Muitos implantes metálicos ou poliméricos são recobertos por camadas finas de materiais cerâmicos para induzir a osteointegração (ORÉFICE, 2005).

Materiais biodegradáveis são os que, após certo período de tempo em contato com os tecidos, são degradados, solubilizados, ou fagocitados pelo hospedeiro. A possibilidade de o material ser eliminado após ter cumprido sua função, torna esses materiais extremamente

atrativos para aplicações médicas. Os maiores exemplos são: os polímeros biodegradáveis, como o poli(ácido láctico) (PLA) e o poli(ácido glicólico) (PGA) (ORÉFICE, 2005).

Os principais avanços no campo dos biomateriais têm ocorrido principalmente, em função do aumento da população e da expectativa de vida, que necessitam obter melhoria na qualidade de vida.

A Tabela 2.1 lista as diversas classes de materiais que podem ser utilizados como biomateriais, bem como seu uso típico, vantagens, desvantagens e características especiais.

Tabela 2. 1- Classes de materiais utilizados como biomateriais.

| Materiais | Uso típico | Vantagens | Características Especiais | Desvantagens |
|-----------------------------|--|---|--|------------------------------------|
| Cerâmicas | Implantes estruturais e recobrimentos | Resistente a esforços na compressão | Coopera com a reposição/adeseção óssea | Quebradiço a tração/impacto |
| Compósitos | Componentes dentários e ortopédicos | Resistência a esforços e baixo peso | Propriedades mecânicas | Processos elaborados de fabricação |
| Materiais biológicos | Complementos de tecidos moles, reposição de membranas | Permite recuperação funcional de tecidos e órgãos | Relação simbiótica com o local do implante incluindo autorreconstituição | Disponibilidade limitada |
| Metais e ligas | Articulações, parafusos e pinos | Ductilidade, resistência a esforços | Condutividade elétrica | Elevada densidade |
| Polímeros | Cateteres, suturas, válvulas cardíacas, implantes oculares | Resilientes, fácil fabricação. | Biodegradável, bioabsorvível | Deformação com o uso |

Fonte: VAZ, 2007.

Com a geração das cerâmicas avançadas houve uma revolução no uso de cerâmicas projetadas especialmente para reparar, reconstruir e substituir porções ósseas, acometidas por alguma patologia ou diversos traumatismos. As cerâmicas utilizadas com este propósito são chamadas de biocerâmicas e as principais são: alumina, zircônia, hidroxiapatita, fosfatos de cálcio, alguns silicatos que constituem os biovidros, e algumas cerâmicas covalentes a exemplo do semicondutor SiC. Atualmente, mais de 25% dos implantes realizados na área da ortopedia são produzidos utilizando material cerâmico.

No caso específico dos biomateriais cerâmicos à base de fosfatos de cálcio sintéticos, existe uma sinergia entre a medicina e a engenharia de tecidos, já que fosfatos de cálcio confeccionados sob a forma de matrizes porosas se adéquam em situações para regeneração de tecido, além de serem utilizados como enxerto ósseo (RIBEIRO, 2008). Estas cerâmicas também podem ser aplicadas, em sistemas de liberação controlada de fármacos em

sítios doentes, potencializando sua ação local e minimizando os efeitos indesejados de intoxicação da parte sadia não comprometida (YE et. al., 2010; SON et. al., 2011; IAFISCO et. al., 2012; GUO et. al., 2012).

A utilização de cerâmicas como biomateriais remonta a 1894, quando Dreesman relatou o uso de gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$) como um possível substituto para ossos. Este material apresenta uma resistência mecânica muito baixa e é completamente reabsorvido pelo organismo, resultando em uma rápida fragmentação e degradação. Tais propriedades pouco atrativas praticamente excluíram utilização do gesso como biocerâmica implantável (BERTRAN et al, 2000).

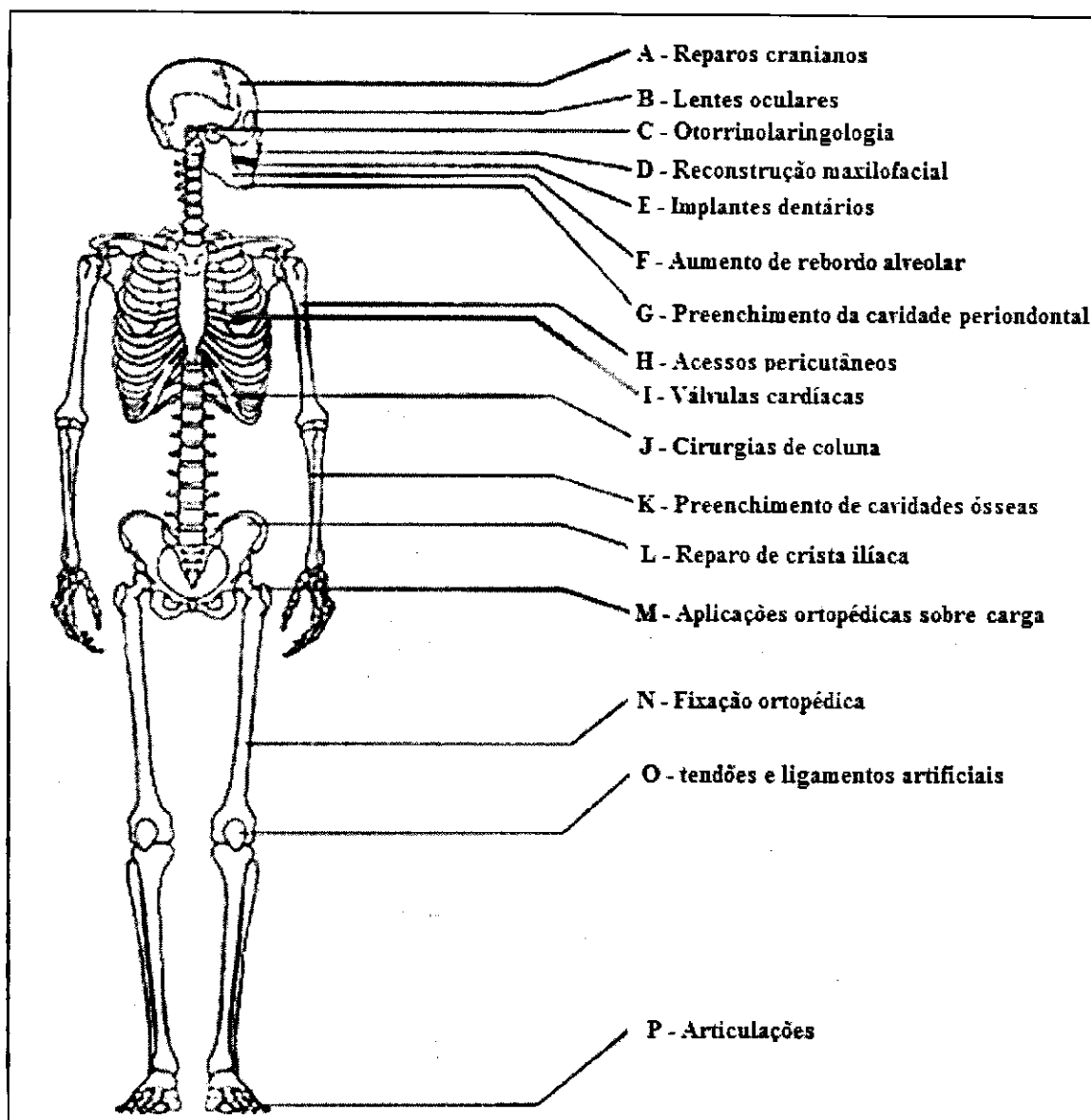
Os materiais cerâmicos foram utilizados pela primeira vez como biomateriais há cerca de 30 anos. Inicialmente, a atenção era voltada para o desenvolvimento de biomateriais que provocassem uma mínima ou nenhuma reação do tecido, características típicas destes materiais em meios agressivos. Mas, a evolução e conhecimento na área dos materiais cerâmicos, geraram proposta conceitualmente oposta: as biocerâmicas deveriam provocar reações de formação de tecido e, se possível, com a formação de uma ligação íntima entre a cerâmica e os tecidos (BERTRAN et al, 2000)..

A década de 70 marcou o início do uso mais intenso de materiais cerâmicos com propriedades que possibilitam a sua classificação como biocerâmicas. A primeira biocerâmica com uso muito difundido neste período foi a alumina densa ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$), que se apresentou como bioinerte. Este material, devido a sua boa biocompatibilidade e elevada resistência mecânica, vem sendo usado com frequência até hoje em próteses ortopédicas que substituem ossos ou parte deles que são submetidos, na sua atividade funcional, a esforços elevados (BERTRAN et al, 2000)..

De acordo com a Conferência da Sociedade Europeia para Biomateriais realizada na Inglaterra em 1986 (WILLIAMS, 1989), o termo bioinerte não é adequado, já que todo material induz algum tipo de resposta do tecido hospedeiro, mesmo que mínima, devendo, por este motivo, ser evitado. No entanto, o termo ainda é comumente utilizado, tendo sido definido por June Wilson citado por Bertran et al (2000) como sendo um material que apresenta uma resposta interfacial mínima que não resulta na ligação ou na rejeição do tecido hospedeiro, formando uma cápsula fibrosa ao redor do material. Como exemplos de biocerâmicas bioinertes podem-se citar a alumina ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$), zircônia (ZrO_2) e titânia (TiO_2). Por outro lado, uma biocerâmica bioativa (termo ainda aceito) é definida como aquela que induz uma atividade biológica específica. Exemplificando estas últimas destacam-se a hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], o fósforo tricálcico [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] e os biovidros.

Exemplos de aplicações clínicas de biocerâmicas encontram-se na Figura 2. 1.

Figura 2. 1- Aplicações das Biocerâmicas.



Fonte: HENCH e WILSON, 1999.

O grande número de artigos relacionados com as rotas de sínteses tem apresentado uma profunda influência dos métodos de preparação sobre as propriedades das biocerâmicas. Entre as variáveis que exercem influência estão a estequiometria, a estrutura cristalina e a porosidade, determinantes para o comportamento biológico de tais materiais.

A Tabela 2.2 ilustra exemplos de biocerâmicas mais utilizadas para cada uma das aplicações médicas demonstradas na Figura 2.1.

Tabela 2. 2- Exemplos de biocerâmicas mais utilizadas nas aplicações médicas.

| Aplicação | Biocerâmica |
|---------------------------------------|---|
| Reparos cranianos | Vidros bioativos |
| Lentes oculares | Al ₂ O ₃ |
| Otorrinolaringologia | Al ₂ O ₃ , Hidroxiapatita (HA) Vidros, vitro-cerâmicos e compósitos ativos. |
| Reconstrução buco-maxilo-facial | Al ₂ O ₃ Hidroxiapatita Compósitos HA-PLA Vidros bioativos |
| Implantes dentários | Al ₂ O ₃ HA e recobrimentos com HA Vidros bioativos Cimentos endodônticos Ca(OH) ₂ |
| Aumento de rebordo alveolar | Al ₂ O ₃ Compósitos HA-TCP Compósitos HA-PLA Vidros bioativos |
| Preenchimento da cavidade periodontal | HA TCP Compósitos HA-PLA Vidros bioativos |
| Acessos pericutâneos | Vidros e Vitro-cerâmicas bioativas HA Recobrimentos com carbono pirolítico |
| Válvulas cardíacas | Recobrimentos com carbono pirolítico |
| Cirurgias de coluna | Vitro-cerâmicas bioativas HA |
| Preenchimento de cavidades ósseas | TCP Vidros e Vitro-cerâmicas bioativas |
| Reparo de crista íliaca | Vitro-cerâmicas bioativas |
| Aplicações ortopédicas sobre cargas | Al ₂ O ₃ Zircônia Compósitos HA-PE Recobrimentos de HA em peças metálicas |
| Fixação ortopédica | Pinos de carbono-PLA Pinos de fosfatos de cálcio |
| Tendões e ligamentos artificiais | Compósitos de fibras de carbono |
| Articulações | Compósitos de fibras de carbono |

Fonte: HENCH e WILSON, 1999.

Genericamente, o preparo de uma biocerâmica, envolve três etapas fundamentais: (i) preparo do pó; (ii) secagem parcial do bloco conformado e (iii) aquecimento a altas temperaturas para obtenção do bloco sinterizado ou calcinado (RATIER et al, 2001). Após a síntese, as partículas do pó são moldadas na forma desejada, por compactação a altas pressões

ou umectação do pó e posteriormente submetendo-o à calcinação a temperaturas elevadas. Alternativa é a compactação sob pressão e aquecimento de maneira simultânea.

Para melhorar a coesão das partículas e tornar os corpos mais densos, pode ser feita a adição de água ou substâncias orgânicas, como o poli (álcool vinílico), seguida da secagem parcial do bloco. Durante a última etapa do processo de obtenção de cerâmicas, o aquecimento do material a altas temperaturas (até aproximadamente 2/3 da temperatura de fusão do material, normalmente acima de 1000°C), leva à fusão superficial das partículas do pó, fazendo com que elas se aglomerem e formem um bloco sólido e denso. No entanto, este procedimento resulta em cerâmicas com poros da ordem de alguns μm (micrômetros), dimensão pouco interessante para materiais utilizados em implantes ósseos (LAYROLLE e FELLAH, 2009). Mas relevante na Dermatologia, onde a mobilização estrutural tecidual sem osteocondução atende o intuito de volumizador de partes moles.

Para obtenção de cerâmicas com poros de maior grandeza, as técnicas comumente utilizadas consistem na mistura de algum polímero ou substância orgânica ao material em pó, que é eliminado posteriormente durante as etapas de consolidação da cerâmica, ou o umedecimento do material em pó com peróxido de hidrogênio, que posteriormente decompõe com a liberação de oxigênio gasoso formando poros. No caso de biocerâmicas de fosfato de cálcio, alternativamente pode-se proceder à troca hidrotérmica do íon carbonato do carbonato de cálcio que formam os corais marinhos por íons fosfato, resultando em “réplicas de corais”, que apresentam naturalmente a porosidade adequada. Mais recentemente, fosfatos de cálcio têm sido usados para o preparo de suportes esponjosos, “*scaffolds*”, para a fixação de células ósseas, capazes de induzir a restauração do osso através de estratégias de engenharia de tecidos (CLARKE et al, 2011).

Por sua vez, os polímeros formam uma classe versátil de materiais que têm sido amplamente estudados por médicos e profissionais de saúde com o objetivo de encontrar cada vez mais novas aplicações dos mesmos na área médica. Isto pode ser atribuído à sua facilidade de síntese e/ou modificação desses polímeros, o que gera significantes alterações nas propriedades físicas e mecânicas. O desenvolvimento de biomateriais poliméricos pode ser considerado como um processo revolucionário. Trabalhos sobre a aplicação de polímeros naturais como biomateriais datam de milhares de anos. No entanto, a aplicação de polímeros sintéticos na medicina data de apenas duas décadas (ORÉFICE, 2005).

O uso de polímeros como biomateriais como os conhecidos hoje começou na década de 1940 durante a Segunda Guerra Mundial. Uma das primeiras tentativas foi o uso do polímero sintético polimetacrilato de metila (PMMA) como uma córnea artificial.

Encorajados pelos sucessos iniciais, os cirurgiões começaram a usar uma variedade de polímeros para diversas aplicações, tais como dispositivos intravenosos para contato com sangue, substituições de articulação de quadril e como lentes intraoculares. No entanto, na maioria desses casos, os médicos ficavam limitados a utilizar polímeros inicialmente desenvolvidos para outras aplicações (CATO e LAKSHMI, 2006).

Durante a segunda metade do século XX, os cientistas começaram a modificar polímeros já existentes com o intuito de adequar propriedades como a biocompatibilidade e propriedades mecânicas para aplicações biomédicas. Além disso, os avanços recentes na Farmacologia e na Biotecnologia abriram as fronteiras do campo da Biomedicina que exigia materiais com bioatividade, biocompatibilidade, e em muitos casos, a existência de um estágio intermediário entre as duas, a biodegradabilidade. A existência de materiais poliméricos biodegradáveis é altamente requerida para aplicações *in vivo*, tais como sistemas controlados de liberação de drogas e recuperação de tecidos danificados (CATO e LAKSHMI, 2006).

A descoberta de polímeros biodegradáveis a partir de polímeros bioinertes foi considerada um avanço significativo na Ciência dos Biomateriais. Polímeros biodegradáveis são aqueles que se degradam *in vitro* e *in vivo* na presença de fluidos corporais. O critério básico de seleção de um polímero biodegradável para ser utilizado como um biomaterial é que seus produtos de degradação devem ser atóxicos, e que a taxa de degradação e as propriedades mecânicas do material devem corresponder ao pretendido para a aplicação. A maior vantagem dos polímeros biodegradáveis em comparação com polímeros bioinertes é de que uma vez implantados, evita-se a necessidade de um segundo procedimento cirúrgico para sua remoção.

Além disso, a biodegradação pode oferecer outras vantagens em curto prazo nas aplicações médicas, como por exemplo, em aplicações ortopédicas, onde implantes metálicos mecanicamente incompatíveis, por levarem ao desgaste do osso; enquanto implantes biodegradáveis transferem essa carga lentamente já que se degradam. Da mesma forma em sistemas de liberação controlada de drogas, o controle da cinética da liberação de drogas é possível através da variação da taxa de degradação da matriz polimérica (CATO e LAKSHMI, 2006).

Polímeros biodegradáveis podem ser classificados com base em sua origem em: naturais e sintéticos. Polímeros naturais parece ser a escolha óbvia para aplicações biomédicas, devido à sua excelente biocompatibilidade. No entanto, polímeros naturais não foram totalmente explorados na área biomédica, devido às desvantagens inerentes associadas,

tais como o risco de infecção viral, antigenicidade, instabilidade do material e variações significativas das propriedades. Polímeros sintéticos, por outro lado, oferecem enormes vantagens sobre polímeros naturais devido à sua facilidade de síntese, o que proporciona aos polímeros sintéticos um leque amplo de propriedades com excelente reprodutibilidade. Além do fato da taxa de degradação desses polímeros serem conhecida e determinada pelo seu tipo de estrutura (CATO e LAKSHMI, 2006).

Tem havido um grande interesse na aplicação de diversos polissacarídeos em algumas áreas médicas e mesmo farmacêutica, podendo realçar-se o desenvolvimento de agentes de contraste para aplicação em imagiologia médica, sistemas de liberação controlada de fármacos, hidrogéis e mesmo bioadesivos. Este incremento no uso dos polissacarídeos como biomateriais deve-se ao fato destes compostos apresentarem na sua estrutura grupos funcionais como grupos hidroxílicos primários e secundários, grupos amínicos e grupos carboxílicos. Qualquer destes grupos pode ser usado para promover a derivatização química das moléculas ou a ligação a estas de ligantes específicos. Desta forma, a molécula natural pode ser modificada, as suas características químicas e físicas alteradas e a sua aplicabilidade específica melhorada.

Outras vantagens da aplicação dos polissacarídeos como biomateriais incluem: a grande variedade de compostos, densidade próxima dos meios biológicos e a sua biocompatibilidade. A história dos polissacarídeos como biomateriais inicia-se em 1959, quando um derivado de celulose encontrou a sua primeira aplicação biomédica. Outros polissacarídeos se seguiram e agora compostos como a quitina e a sua derivada quitosana, a inulina, e o dextrano, entre outros, encontram múltiplas aplicações médicas (FERREIRA e GIL, 2006).

2.2 Compósitos

Os compósitos compreendem uma classe de materiais que a cada dia ganha mais importância tecnológica. Quando um material é preparado usando materiais de naturezas distintas é gerado um compósito. A preparação de materiais compósitos visa imprimir novas propriedades aos materiais. Sendo um material multifásico, um compósito exhibe além das propriedades inerentes de cada constituinte, propriedades intermediárias decorrentes da formação de uma região interfacial (NETO, 2006).

As fases dos compósitos são chamadas de matriz (que pode ser de três tipos: cerâmica, polimérica e metálica) e a fase dispersa (geralmente fibras ou partículas que servem

como carga). A matriz geralmente é um material contínuo que envolve a fase dispersa. As propriedades do compósito são uma junção de fatores como a geometria da fase dispersa, distribuição, orientação e também da compatibilidade interfacial entre os constituintes da mistura. É necessário que haja uma afinidade entre os materiais que serão unidos, pois devem trabalhar juntos respondendo aos esforços físicos do meio. Por isso é muito importante conhecer as propriedades químicas e físicas dos diferentes materiais que serão unidos. De modo particular, as propriedades das interfaces (ou superfícies) destes materiais (CALLISTER, 2008).

O sistema álcool polivinílico/vidro bioativo pode levar a preparação de nanocompósitos (com dimensões na faixa de nanômetros, nm – 10^{-9} m) com bioatividade (biodegradabilidade) controlada. O álcool polivinílico é um polímero solúvel em água (e conseqüentemente no ambiente fisiológico) e está sendo cogitado para ser usado como sangue artificial e matriz para sistema de fornecimento de substâncias químicas no corpo (liberação controlada de drogas). A produção de materiais com fases inorgânicas submicroscópicas inseridas em uma matriz polimérica pode ser alcançada através da síntese de nanocompósitos, também chamados de híbridos inorgânico-orgânicos (MANSUR et. al., 2012).

A possibilidade de combinação de entidades orgânicas e inorgânicas em níveis nanométricos e moleculares em híbrido inorgânico-orgânicos capacitam a abertura de uma série de novas oportunidades para compósitos com propriedades e estrutura controláveis. Tal tipo de organização estrutural em materiais sintéticos se assemelha, em grande extensão, a estrutura presente em alguns tecidos vivos, como o osso, onde o constituinte inorgânico (hidroxiapatita carbonatada) e entidades orgânicas (como colágeno), se interagem em diminuta escala, formando nanofases ligadas entre si por ligações químicas de primeira ordem. Assim, a ciência e tecnologia relacionada com híbridos inorgânico-orgânicos potencialmente podem ser aplicadas à preparação de uma nova classe de materiais semelhante estruturalmente a tecidos vivos (bionanocompósitos polímero-cerâmico) para aplicações médicas e odontológicas (GUO et. al., 2011).

Como uma nova geração de materiais compósitos, surgiram recentemente os bionanocompósitos como um campo emergente entre as fronteiras da ciência dos materiais – nanotecnologia – ciências da vida. Basicamente todos esses bionanocompósitos apresentam como fase matriz um hidrogel (mistura de polímeros naturais e água) e como fase reforço nanopartículas cerâmicas (LIU et. al., 2007). Como característica determinante, ambas as fases precisam ser biocompatíveis, já que estes bionanocompósitos são utilizados em aplicações médicas, tais como: preenchimentos subdérmicos (LIU et. al., 2007), liberação

controlada de drogas (BILGAINYA et. al., 2010), córnea artificial (WANG et. al., 2010), agentes cicatrizantes (RAMLI e WONG, 2011) e “*scaffolds*” para crescimento de cardiomiócitos (fibras musculares cardíacas) evitando falta de irrigação sanguínea e consequentemente infarto do miocárdio (REIS et. al., 2012).

Dentre os polímeros naturais mais utilizados para a obtenção de um hidrogel pode-se destacar: polietilenoglicol (PEG) (QIU et. al., 2003), carboximetilcelulose (MA et. al., 2007), glicerol (YU et. al., 2009), polialcoolvinílico (PVA) (WANG et. al., 2010) e a quitosana (GRUMEZESCU et. al., 2012).

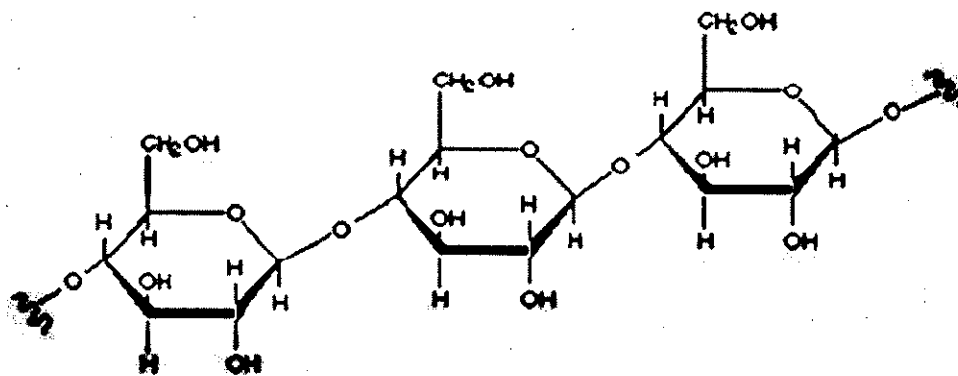
2.2.1 Carboximetilcelulose

A Carboximetilcelulose (CMC), obtida através da reação da celulose com monocloroacetato de sódio ($\text{ClCH}_2\text{COONa}$), é um hidrocolóide que contribui para formação de gel, na retenção de água, além de apresentar propriedades de polieletrólito. A presença de substituintes com grupos $-\text{CH}_2\text{COOH}$ (carboxílicos) na cadeia e celulose produz um afastamento das cadeias poliméricas e permite uma maior penetração de água, conferindo a CMC solubilidade em água a frio e viscosidade (ROHR, 2007). A propriedade mais importante do CMC é a viscosidade, sendo que por possuir características tixotrópicas e em certos casos pseudoplásticas (fluido não Newtoniano), sua viscosidade sofre influências de fatores externos, tais como: velocidade de agitação (cisalhamento), tempo de agitação, viscosímetro, temperatura, peso molecular, regularidade da molécula e número de substituições; portanto, há que se padronizar a determinação de viscosidade, padronizando todas as variáveis que nela estiverem implicadas. A viscosidade é reversível com temperatura e estável a pH entre 5 e 11 (ROHR, 2007).

A CMC tem uma ampla aplicação em cosméticos e alimentos como um agente de retenção de água e de um estabilizador de dispersão em concentrações de 1-2%, nestas concentrações, não interfere nas propriedades organolépticas do produto a ser adicionado (YU et. al., 2009). É fisiologicamente inerte, não tóxico, não é agente sensibilizante e sua biodegradabilidade varia de lenta a muito lenta (NIE, 2004).

A estrutura da CMC é baseada no polímero de β -(1,4)-D-glucopiranosose da celulose de cadeia longa e peso molecular variável (Figura 2.2).

Figura 2. 2- Estrutura da celulose com ligações β -(1-4) entre unidades de D-glucopirranose.



Fonte: FERREIRA e GIL, 2006.

A estrutura da celulose permite substituição de três grupos hidroxilas (OH^-) em cada molécula de glucose. Entretanto, um grau de substituição de 0,9 grupos $\text{OH}/\text{glucose}$ é suficiente para conferir as propriedades desejadas. Devido as suas propriedades, tais como: solubilidade na água fria e quente, aumento da viscosidade na solução, habilidade para formar filme, adesividade, características de suspensão, retenção da água, resistência a óleos, gorduras e solventes orgânicos a CMC tem uma ampla gama de aplicações especificamente, em processos de encapsulação e liberação de princípios ativos na área farmacêutica; como filmes comestíveis protetores, tanto na formulação de muitos produtos alimentícios, quanto no melhoramento de seus processamentos na indústria alimentícia; como agente floculante e espessante na indústria de cosméticos; como agente de liberação de pesticidas e nutrientes na indústria agrícola (BATISTUZZO, 2002).

Em soluções diluídas, as moléculas de CMC apresentam-se, na maior parte, estendidas “*rod-like*”, devido à repulsão eletrostática presente ao longo da cadeia principal do polímero, apresentando um maior raio hidrodinâmico. Em soluções concentradas as moléculas de CMC se enovelam, ocorrendo o emaranhamento, alcançando a forma de gel termo reversível. A Tabela 2.3 apresenta algumas informações referentes às propriedades e aplicações da carboximetilcelulose (ROHR, 2007).

Os derivados de celulose, solúveis em água, caracterizam-se por serem compostos que apresentam aplicações tecnológicas importantes. A maior parte deles é substituída ionicamente e, dependendo do grau de substituição do polímero, pode conferir à estrutura, propriedades físico-mecânicas específicas para uma determinada aplicação.

Tabela 2. 3- Carboximetilcelulose e suas principais características.

| | |
|-----------------------|--|
| Preparação | <ul style="list-style-type: none"> • Modificação química, celulose, ácido monoclóro-acético, hidróxido de sódio, água, 20-100°C, sob agitação contínua. |
| Propriedades | <ul style="list-style-type: none"> • Cristalinidade: amorfo • T_m = 250°C • Material termorrígido • Solúvel em água • Atacável por micro-organismos |
| Aplicações | <ul style="list-style-type: none"> • Cosméticos: espessante em loções, xampus, etc. • Alimentos: espessante em preparações dietéticas • Tintas: espessante em emulsões aquosas |
| Nome comercial | <ul style="list-style-type: none"> • Tylose |

Fonte: ROHR, 2007.

Por exemplo, a carboximetilcelulose (CMC), pode ser utilizada em varias áreas da medicina: componentes de hemostasias (Surgicel®), vasos sanguíneos artificiais (Basye®), substitutos temporários de pele (Biofill®) (ROHR, 2007).

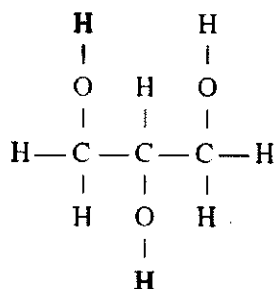
O preparo de soluções de carboximetilcelulose sódico (CMC) em água ocorre em duas etapas: dispersão do pó e dissolução do pó na água. O carboximetilcelulose sódico (CMC) é fácil e rapidamente dissolvido ao dispersar-se convenientemente o pó, despejando-o contínua e vagarosamente sob vigorosa agitação, evitando com isso a formação de aglomerados (grumos) que dificultam a dispersão e conseqüente dissolução. Convém observar que quanto maior a viscosidade do meio, maior deverá ser o cuidado no momento da dispersão do carboximetilcelulose sódico (CMC) (NIE, 2004).

No preparo de soluções, a água pode ser fria, porém, no caso de prepararem-se soluções com concentrações acima de 2%, recomenda-se que a água seja pré-aquecida a 50°C. Outro método consiste em dispersar o pó ou os grânulos em água fervente, fortemente agitada e em seguida adiciona-se água fria complementar, ainda sob-boa agitação, até ter-se a solução desejada. Quando for necessária uma rápida dispersão é aconselhável pré-umedecer o carboximetilcelulose sódico (CMC) com um líquido orgânico miscível em água, como por exemplo, o etanol, metanol, glicerol, acetona, etc. Duas ou três partes de líquido por parte de carboximetilcelulose sódico (CMC) já são suficientes (NIE, 2004).

2.2.2 Glicerina

Glicerina ou glicerol são verbetes que designam o 1,2,3-propanotriol, conforme a nomenclatura IUPAC, ilustrado na Figura 2.3.

Figura 2. 3- Fórmula química estrutural plana da glicerina (C₃H₈O₃) onde cada carbono comporta um grupamento hidroxila.



As propriedades organolépticas da glicerina incluem, além do sabor doce, o aspecto de líquido viscoso, inodoro e incolor, nas condições ordinárias.

A glicerina é um poliálcool, presente em todos os óleos e gorduras de origem animal e vegetal em sua forma combinada a ácidos graxos como o ácido oléico, esteárico, palmítico e láurico resultando na molécula de triacilglicerol. O glicerol combinado faz parte das membranas celulares de todas as células animais e vegetais, na forma de fosfolipídios. (CAMPBELL, 2006).

A presença de uma hidroxila em cada um de seus carbonos lhe confere propriedades singulares, pois apresenta facilidade em formar pontes de hidrogênio – ligações intermoleculares significativamente fortes, e justifica seus pontos de fusão (17,8°C) e de ebulição (290°C) relativamente altos, se comparados aos de outras substâncias de peso molecular semelhante. De forma análoga, ligações intermoleculares com outras substâncias portadoras de hidroxila prenunciam a miscibilidade com essa natureza de compostos, como o são a água e o etanol, nos quais apresenta solubilidade infinita. Em verdade, as características moleculares da glicerina não apenas a torna solúvel em água como faz dela uma substância extremamente higroscópica, conferindo-lhe ação umectante. Utiliza-se ainda como solvente e agregador de consistência. Soluções diluídas de glicerina são susceptíveis de fermentação bacteriana em glicóis, ácidos e/ou gases. (CASTELLÓ, 2009).

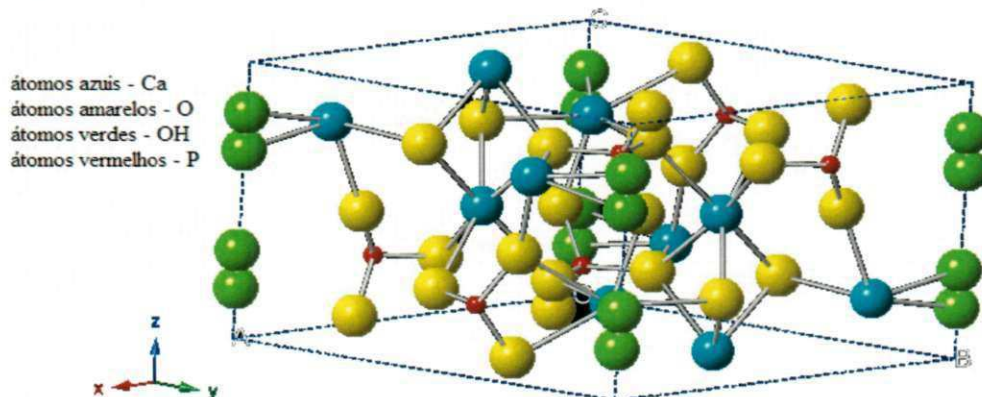
O glicerol é reconhecido como seguro para o consumo humano desde 1959 pelo FDA, podendo ser utilizado em produtos distintos para os mais diversos propósitos nas áreas: alimentícia (24%); médica, hospitalar, cosmética (40%) e farmacêutica (7%); indústrias do tabaco, têxtil, do papel, de tintas e resinas (18%); de lubrificantes de máquinas e outros (11%). (FAIRBANKS, 2009).

2.2.3 Hidroxiapatita (HAp)

Os ossos e dentes humanos são compostos por uma fase mineral de fosfato de cálcio denominada apatita, que se apresentam sob a forma de cristais com tamanho inferior a 100nm. A hidroxiapatita sintética (HAp) é uma cerâmica quimicamente equivalente à apatita biológica. A HAp é um material sintético mais indicado para a reparações ósseas devido a sua estabilidade sob condições *in vivo*, alta biocompatibilidade, excelente condutividade óssea e alta capacidade para promover proliferação de osteoblastos (KALITA e VERMA, 2010).

A fórmula química da hidroxiapatita estequiométrica é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, ilustrada na Figura 2.4, com razão Ca/P igual a 1,67. Porém composições estáveis podem ter esta razão estendida entre aproximadamente 1,5 e 1,75.

Figura 2. 4- Esquema ilustrativo da estrutura cristalina da hidroxiapatita (HAp).



A célula unitária dos cristais de HAp podem apresentar tanto uma estrutura cristalográfica monoclinica, com quatro unidades da fórmula por célula unitária como hexagonal, onde a transição de fase monoclinica para a estrutura hexagonal ocorre a 370°C. A HAp com estrutura hexagonal apresenta os seguintes parâmetros de rede: $a = b = 0,943 \text{ nm}$ e $c = 0,688 \text{ nm}$., e contém 10 íons cálcio em sítios não equivalentes, quatro no sítio I (Ca I) e seis no sítio II (Ca II). Os íons cálcio no sítio I estão alinhados em colunas, enquanto os íons cálcio do sítio II estão em triângulos equiláteros perpendiculares ao eixo c da estrutura. Os cátions do sítio I estão coordenados a 6 átomos de oxigênio pertencentes a diferentes tetraedros de PO_4 e também a 3 outros átomos de oxigênio distantes. A existência de dois sítios de íons cálcio traz consequências importantes para a HAp, pois suas propriedades estruturais podem ser afetadas dependendo do sítio ocupado pelo cátion (KALITA e VERMA, 2010).

A estrutura da hidroxiapatita permite substituições catiônicas e aniônicas isomorfas com facilidade. O Ca^{2+} pode ser substituído por cátions metálicos tais como o Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , etc.; os grupos fosfatos por carbonatos e as hidroxilas por carbonatos, fluoretos e cloretos. Essas substituições podem alterar a cristalinidade, os parâmetros de rede, as dimensões dos cristais, a textura superficial, a estabilidade e a solubilidade da estrutura da hidroxiapatita (MAVROPOULUS et al, 2002).

Do ponto de vista biológico, o flúor é uma das impurezas mais importantes da hidroxiapatita dos tecidos calcificados. Na hidroxiapatita de ossos e dentes, os carbonatos ocupam sítios dos íons fosfato e dos íons OH^- em uma razão de 10:1. Nas carboapatitas sintéticas do tipo A, os íons carbonato localizam-se em canais e ocupam os mesmos sítios que os íons hidroxila. Nas carboapatitas do tipo B, os íons carbonato ocupam os sítios dos íons fosfatos. As carboapatitas do tipo B têm composição similar ao tecido ósseo e dentário. O grupo carbonato não altera a cristalinidade da hidroxiapatita, mas pode acelerar os processos de dissolução da estrutura, o que é verificado nas cáries dentárias e nos processos de reabsorção óssea (SILVA, 2006).

Além da sua ocorrência biológica, a hidroxiapatita pode ser sintetizada em laboratório por reações de estado sólido e por métodos úmidos. As sínteses no estado sólido requerem altas temperaturas, mas o material obtido é muito cristalino e geralmente estequiométrico (fração molar Ca/P de 1,67). Os métodos úmidos são divididos em três grupos: precipitação, método hidrotermal e os métodos secos, obtendo-se materiais com diferentes morfologias, estequiometria e diferentes cristalinidades.

Diferentes métodos químicos empregados na obtenção da HAp: emulsão (SONODA et. al., 2002), sol-gel (BEZZI et. al., 2003), mecanoquímico (MOCHALES et. al., 2004.), micro-ondas (KALITA e VERMA, 2010), gravitacional (NATHANAEL et. al., 2011) e reação de combustão (GHOSH et. al., 2011), reações de estado sólido (método cerâmico de mistura de óxidos) (PRAMANIK et. al., 2007), coprecipitação (PÉREZ et. al., 2012) e precipitação (RAMESH et. al., 2012).

Entre esses métodos, o método de precipitação é um dos mais utilizado para a obtenção da HAp devido principalmente ao seu baixo custo e simplicidade (RIGO, 2007).

Os métodos comerciais de precipitação normalmente utilizados para preparar HAp baseiam-se nos métodos de Rathje e também no de Hayek e Newesely. O primeiro consiste na adição gota a gota de ácido fosfórico (H_3PO_4) em uma suspensão sob agitação de hidróxido de cálcio [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] em água, enquanto o método de Hayek e Newesely consiste na reação entre nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) e fosfato de amônio (NH_4OH). O precipitado formado é

posteriormente filtrado, lavado, seco, e então moído até ficar um pó fino de alta pureza. Este método tem como grande atrativo para obtenção de HAp o fato de gerar como subproduto da reação somente água (RIGO, 2007).

No método de precipitação a temperatura de preparação não excede os 90°C, logo simples e de fácil executabilidade. Podem ser preparados cristais de dimensões nanométricas do tipo agulha, lâmina e bastões (exibem área de maior superfície e melhor bioatividade que blocos maiores de cristais; melhoram a calcinabilidade pela redução na temperatura de calcinação e aumentam a densificação). No entanto, as condições técnicas de execução do preparo requerem acurácia e precisão, pois influenciam diretamente a estequiometria, razão Ca/P e cristalinidade da HAp. Tendendo a resultar HAp de baixa estequiometria. (MOBASHERPOUR et. al., 2007).

Dentre os parâmetros do processo que merecem especial atenção, pode-se citar o pH, temperatura de obtenção, concentração molar dos reagentes, taxa de adição dos reagentes, tempo de envelhecimento, e temperatura de calcinação. O tempo de envelhecimento e a cinética de reação são variáveis críticas para a pureza e características cristalográficas do material obtido. O tempo de envelhecimento prolongado e altas temperaturas favorecem alcançar razões Ca/P da HAp estequiométrica de 1,67 e altas cristalinidades, enquanto que processos mais rápidos à temperatura ambiente, utilizando reagentes concentrados, mostram valores da razão Ca/P próximos a 1,55 e baixa cristalinidade. A rápida precipitação durante a titulação da solução de fosfato em solução de cálcio pode levar a uma falta de homogeneidade química no material obtido. Já uma titulação lenta e com soluções diluídas garante um produto final estequiométrico e mais homogêneo quimicamente. (HENCH e WILSON, 1999; FONSECA, 2007).

A HAp produzida por precipitação apresenta-se como agregados (~1-100µm) constituídos de cristais primários pequenos (<1µm). (FONSECA, 2007).

A hidroxiapatita de cálcio foi sintetizada pelo método de precipitação (RIGO, 2007), o qual consiste na adição gota a gota de ácido fosfórico (H₃PO₄) em suspensão sob agitação de hidróxido de cálcio [Ca(OH)₂] em água, de forma a estabelecer a relação estequiométrica de Ca/P = 1,67 de acordo com cálculo descritos no APÊNDICE A.

A HAp é solúvel em soluções ácidas, enquanto que em soluções alcalinas ela se apresenta insolúvel, e fracamente solúvel em água destilada. Porém, a solubilidade da HAp em água destilada aumenta com a adição de eletrólitos. Além disso, a solubilidade da hidroxiapatita modifica-se na presença de aminoácidos, proteínas, enzimas e outros compostos orgânicos. Contudo, a taxa de solubilidade depende diretamente da forma,

porosidade, tamanho de cristal, cristalinidade, defeitos, etc. Através dos diferentes métodos de preparo, pode-se obter hidroxiapatita praticamente absorvível até não absorvível em meios fisiológicos (RIGO, 2007).

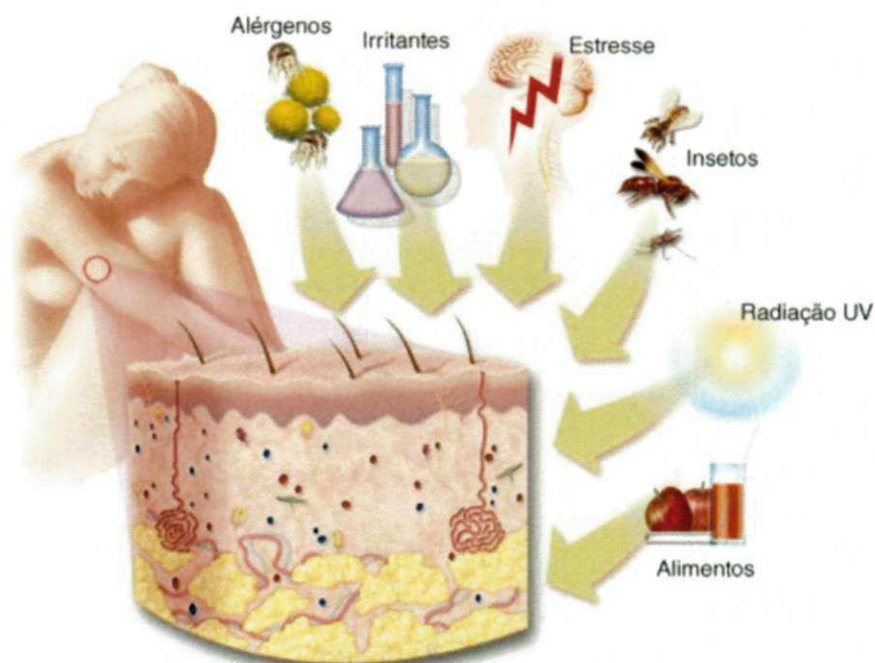
2.3 A Dermatologia

Dermatologia é a especialidade médica que se ocupa do diagnóstico e tratamento clínico-cirúrgico das doenças que acometem o maior órgão do corpo humano – a pele, tendo em média dois metros quadrados de área em um indivíduo adulto. A especialidade engloba ainda as doenças que acometem os anexos cutâneos: cabelos e unhas, bem como as mucosas (ex: boca e genitais).

A Dermatologia atua em todos os processos fisiopatológicos que envolvem a pele: desde simples infecções, reações autoimunes e inflamatórias (internas ou externas), e tumores.

A Figura 2.5 ilustra os diversos fatores externos que podem influenciar em respostas na pele.

Figura 2. 5- A pele e os fatores externos.

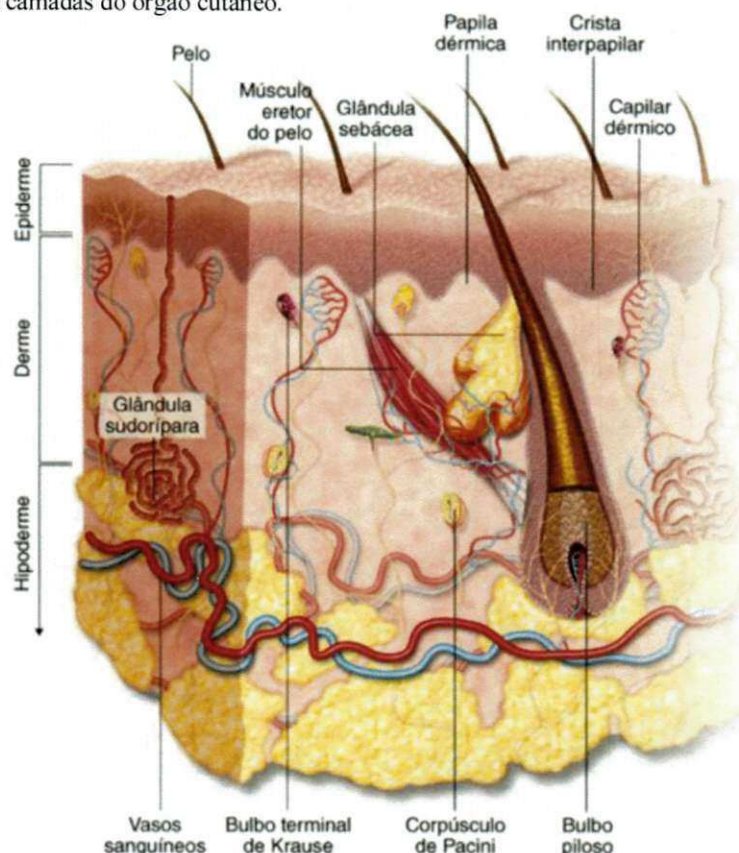


Fonte: SLOMINSKI e WORTSMAN, 2000.

Nos seres humanos, a pele é o órgão de maior superfície e funciona como uma barreira biológica que separa a homeostase interna do meio externo. É organizada em três

camadas interdependentes entre as quais se distribuem os anexos cutâneos: glândulas sudoríparas écrinas e apócrinas, unidades pilossebáceas e unhas. Esses estratos são descritos como: epiderme é a camada mais superficial e consta de epitélio escamoso, estratificado e queratinizado que, devido às características do estrato córneo, desempenha o papel de barreira (BELDA JR et. al. 2010). A Figura 2.6 ilustra a pele e suas camadas.

Figura 2. 6- As camadas do órgão cutâneo.

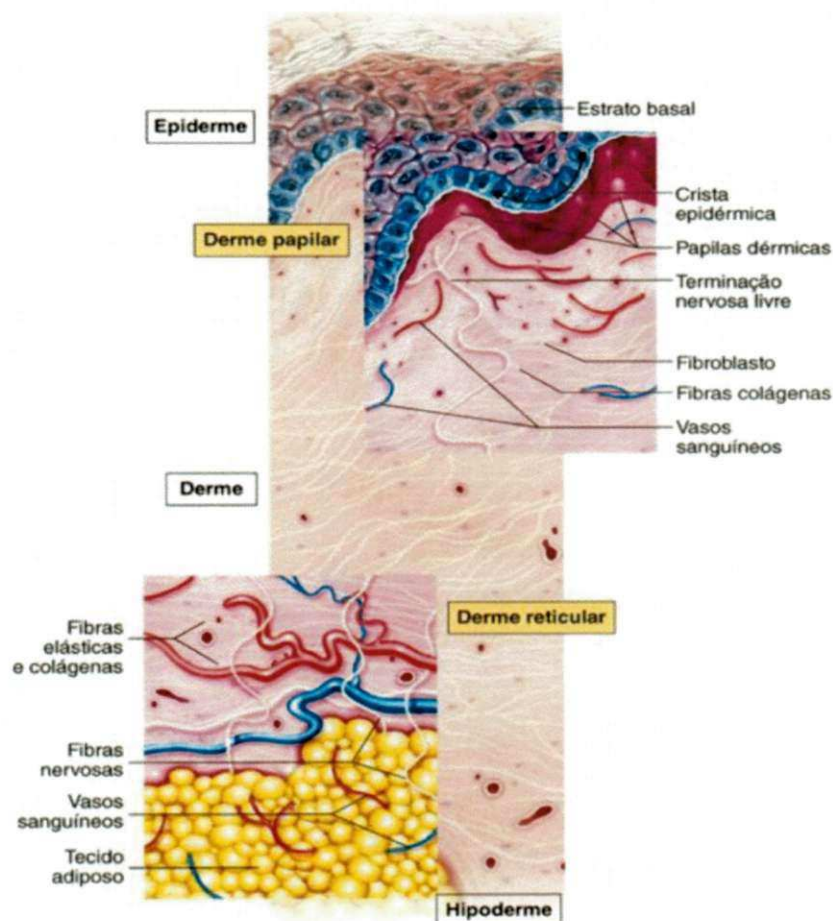


Fonte: ATLAS DE DERMATOLOGIA, SBD, RGR Publicações S.A., 2012.

Derme – camada média – é composta por tecido conjuntivo fibroso, filamentoso e amorfo com funções de sustentação, alojando redes vasculares, nervosas, células e receptores sensitivos. A derme é dividida em duas regiões funcionais separadas pelo plexo vascular subpapilar: a derme papilar, que se localiza acima do plexo e a derme reticular, que se encontra abaixo. A derme papilar (Figura 2.7) está justaposta à epiderme, se molda a ela e apresenta projeções em formas de dedos, denominadas papilas dérmicas, que se intercalam com as cristas epidérmicas. As papilas possuem componentes nervosos e vasculares que nutrem a epiderme, aumentam a superfície de contato com esse epitélio e facilitam o intercâmbio de moléculas entre esses tecidos. (SORRELL e CAPLAN, 2004).

A derme papilar se diferencia da reticular na organização e composição de sua matriz extracelular. Nela, os feixes de colágeno são finos, estão pouco organizados, contêm basicamente colágeno do tipo I e do tipo III e raramente são encontradas fibras elásticas maduras. A derme reticular é a região dominante da derme e estende-se desde o plexo vascular subpapilar até a hipoderme. Diferentemente da derme papilar, essa região é composta principalmente por fibras de colágeno grossas que se organizam em uma rede de feixes entre tecidos, em que predomina o colágeno do tipo IV. Nessa região são identificadas fibras elásticas maduras e ramificadas que se dispõem em volta dos feixes de colágeno (FREEDBERG, et. al. 2003; SORRELL e CAPLAN, 2004).

Figura 2. 7- Derme papilar e derme reticular.



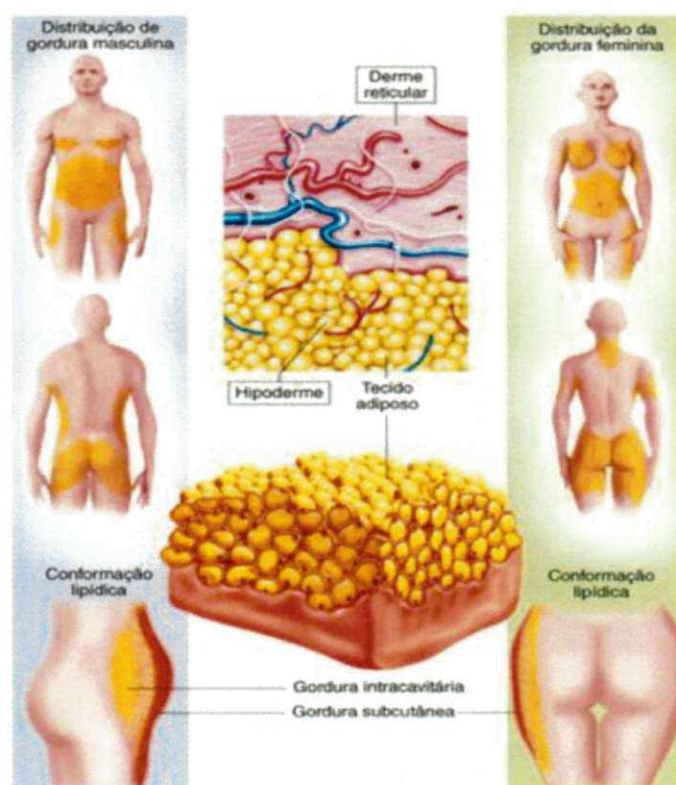
Fonte: ATLAS DE DERMATOLOGIA, SBD, RGR Publicações S.A., 2012.

A hipoderme ou gordura subcutânea é a camada mais profunda, cujo componente principal é o adipócito ou célula gordurosa e serve como amortecimento as camadas

superficiais e é uma fonte de energia por sua reserva de lipídeos. A hipoderme faz limite com a derme reticular. A Figura 2.8 ilustra características do tecido celular subcutâneo.

Os adipócitos agrupam-se em pequenos lóbulos que estão separados por septos de tecido conjuntivo, onde circulam os vasos sanguíneos que nutrem a região, os nervos e os vasos linfáticos. Nos seres humanos, os depósitos de gordura concentram-se no tecido adiposo subcutâneo e no tecido da cavidade intraperitoneal. É por esse motivo que a hipoderme representa um reservatório de energia. Os depósitos de gordura formam-se durante toda a vida, devido ao acúmulo de lipídeos nos adipócitos ou pela proliferação dos adipócitos existentes e se distribuem de modo diferente no indivíduo masculino e feminino (Figura 2.8). A hipoderme possui importância estética, já que define os contornos corporais. Ainda tem propriedades de: isolar do frio, amortecer as outras camadas da pele e permitir que essas últimas se deslizem sobre os planos profundos (GUYTON et HALL, 2006).

Figura 2. 8- Distribuição da hipoderme no homem e na mulher.

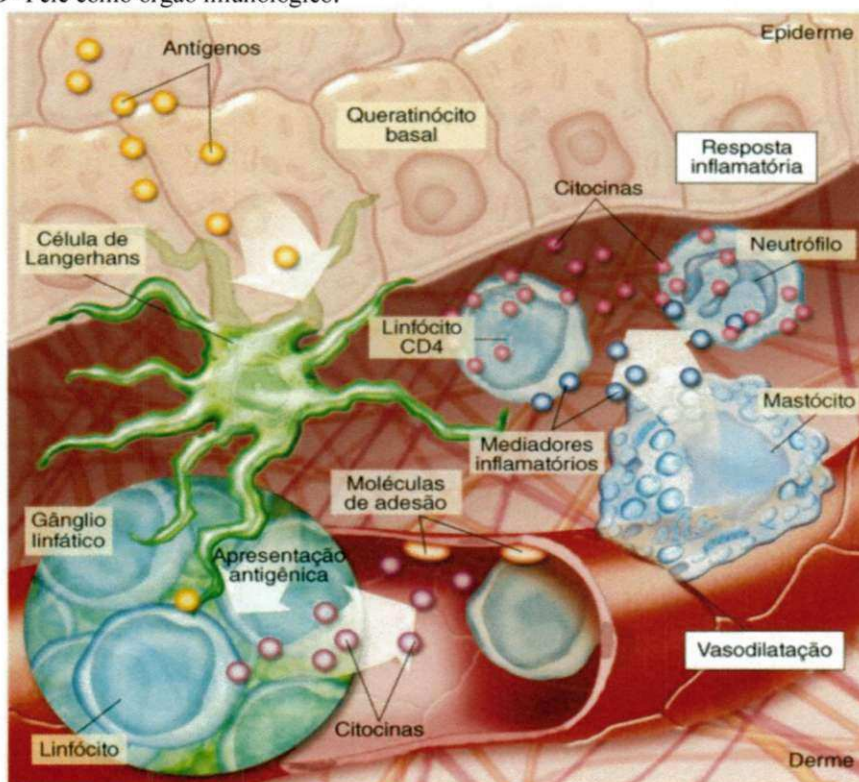


Fonte: ATLAS DE DERMATOLOGIA, SBD, RGR Publicações S.A., 2012.

A pele está permanentemente exposta a diferentes agressões. A integridade desse órgão depende em grande parte do sistema imunológico cutâneo. Esse sistema é composto por

diferentes células sentinelas, como as células dendríticas, os linfócitos T de memória, os mastócitos e os macrófagos. As células dendríticas – como as células de Langerhans da epiderme ou as células dendríticas da derme apresentam os antígenos que entram em contato com a pele aos linfócitos T virgens nos gânglios linfáticos que a drenam. Após esse encontro, os linfócitos T virgens transformam-se em linfócitos T de memória. Durante essa transição, os linfócitos T expressam moléculas que lhes permitem entrar nos órgãos diferentes do tecido linfático, como a pele. Quando os antígenos apresentados previamente participam de algum processo que afeta a pele, os linfócitos T de memória os reconhecem mediante seus receptores, ativam-se e sintetizam substâncias efetoras como as citocinas, esquematizadas na Figura 2.9 (BELDA JR et. al., 2010).

Figura 2. 9- Pele como órgão imunológico.



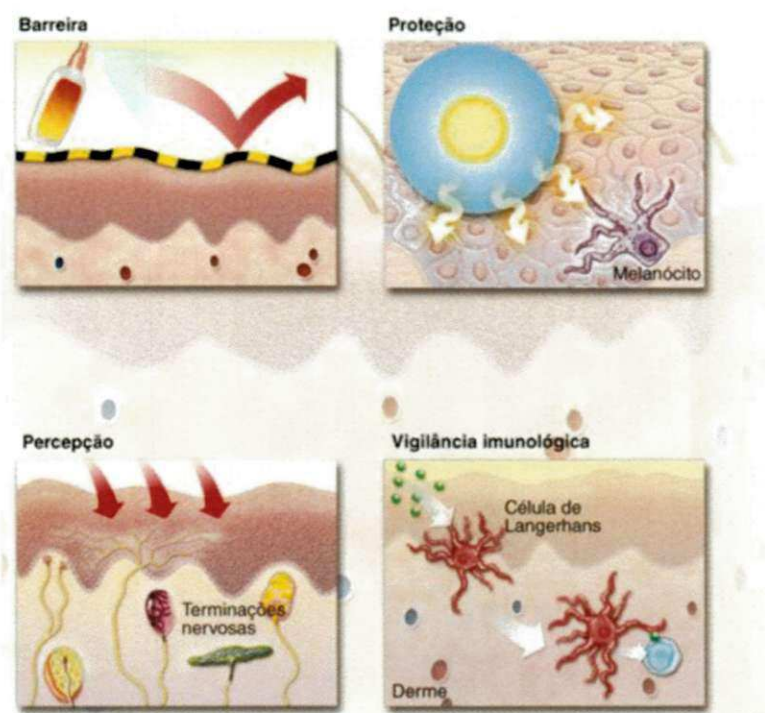
Fonte: ATLAS DE DERMATOLOGIA, SBD, RGR Publicações S.A., 2012

A pele isola o meio interno dos estímulos flutuantes do exterior e sua função principal é a proteção (Figura 2.10). Apresenta duas barreiras que contribuem em grande parte com essa função: a córnea e a melânica. A barreira córnea resguarda os queratinócitos vivos dos estratos subjacentes, e os lipídeos intercelulares nesse nível impedem a perda excessiva de

água, o que é importante para preservar a integridade da pele e evitar a desidratação. (GUYTON et. HALL, 2006)

A descamação constante na superfície epidérmica é um mecanismo contra a abrasão mecânica e a invasão por microrganismos. A barreira melânica protege contra as queimaduras solares, a fotocarcinogênese e o fotoenvelhecimento causados pela radiação ultravioleta (UV). A radiação UVB é a responsável pelas queimaduras solares. Quando elas ocorrem, a pele se torna eritematosa devido à liberação de prostaglandinas por parte dos queratinócitos lesados. Após alguns dias surge o bronzeado característico que ocorre pelo fato da radiação UVB estimular a síntese de melanina pelos melanócitos. Esse pigmento é distribuído nos queratinócitos, absorve a radiação UV e evita o aumento da lesão no DNA nuclear. Dado que a pele apresenta receptores especializados e terminações nervosas livres, é um dos órgãos que participa da percepção sensorial e é um mecanismo de defesa contra os agentes nocivos do meio ambiente (CASEY, 2002).

Figura 2. 10- Funções da pele.



Fonte: ATLAS DE DERMATOLOGIA, SBD, RGR Publicações S.A., 2012.

A pele participa da regulação da temperatura corporal devido a sua estrutura, que aloja os receptores térmicos – de calor e de frio –, as glândulas sudoríparas écrinas, e uma importante rede vascular. Esse órgão elimina o calor pela evaporação, convecção e radiação.

Na evaporação participam as glândulas sudoríparas écrinas que transportam o suor para a superfície cutânea, onde finalmente evapora. Esse mecanismo é importante quando a temperatura ambiente ultrapassa os 30°C. A perda de calor por convecção e radiação depende de mudanças no fluxo sanguíneo cutâneo. Por meio da reação de vasodilatação aumenta o fluxo sanguíneo local, com convecção do calor dos órgãos internos e dos músculos estriados para a superfície cutânea. A pele é preservada do frio pelas propriedades isolantes da hipoderme e conserva o calor pela reação de vasoconstrição. Por outro lado, esse órgão desempenha funções endócrinas por ser o local da ativação de diferentes hormônios (como a conversão de testosterona em 5-diidrotestosterona ou estradiol, e de T4 em T3) e participa da síntese de vitamina D₃. (PASSLICK-DEETJEN e BEDENBENDER-STOLL, 2005).

A Cirurgia Dermatológica é uma área de atuação que abrange procedimentos diversos, capazes de remover ou modificar a pele e o tecido celular subcutâneo, sejam eles diagnósticos, cirúrgicos, cosmiátricos ou oncológicos. Dentre os procedimentos realizados, destacam-se: cirurgia e procedimentos a laser, criocirurgia, remoção de tumores e sinais benignos, eletrocirurgia, peelings e preenchimentos, cirurgia Micrográfica de Mohs, cirurgia de unha e transplante de cabelos utilizando o que existe de mais moderno em terapêutica médica (SBCD, 2012).

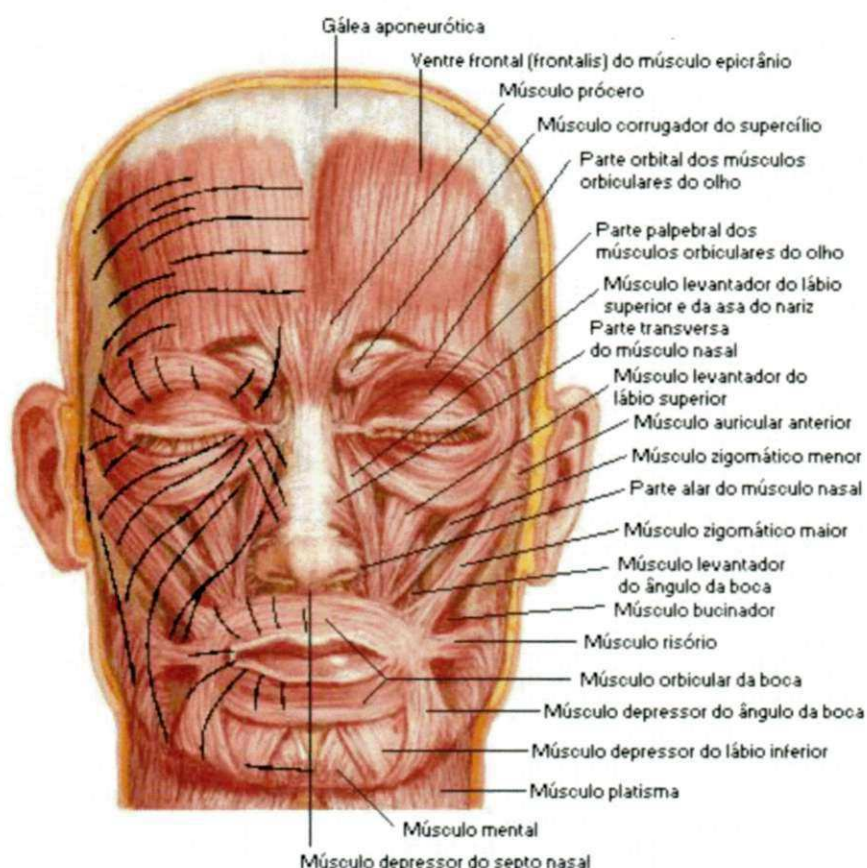
O conhecimento e domínio sobre anatomia, fisiologia da face e envelhecimento são imprescindíveis na prática diária da cirurgia dermatológica, considerando a presença de importantes estruturas vitais vâsculo-nervosas e musculares, as quais devem ser poupadas de lesões em virtude do risco de sequelas definitivas e irreversíveis, bem como reconhecer as alterações ósseas, musculares e adiposas fisiológicas advindas da idade para o manejo mais adequado, cirúrgico ou não, mas que garanta um aspecto final mais próximo do natural.

O preenchimento cutâneo é uma técnica utilizada para a correção de sulcos, rugas e cicatrizes. Consiste na injeção de substâncias sob a área da pele a ser tratada elevando-a e diminuindo a sua profundidade, com conseqüente melhora do aspecto. A técnica, desenvolvida por dermatologistas, pode ser realizada no consultório, sendo um procedimento rápido e que, na maioria das vezes, não necessita nem mesmo de anestesia. Para pessoas mais sensíveis, se desejado, podem ser utilizados anestésicos tópicos, sob a forma de cremes, aplicados 30 a 60 minutos antes do preenchimento, para atenuar a sensação da picada da agulha. A técnica é muito utilizada para atenuar o sulco nasogeniano (aquele que se acentua com o sorriso e vai do canto do nariz ao canto da boca) ou os sulcos ao redor dos lábios. (GLOGAU, 2012).

Também é usada para aumento labial, correção de cicatrizes de acne e reposição volumétrica em áreas do corpo onde ocorre perda de gordura com o envelhecimento (LIMA, 2012).

A Figura 2.11 ilustra os músculos presentes na face e as linhas de expressão que ocorrem com a idade.

Figura 2. 11- Músculos da face e as marcas de expressão.



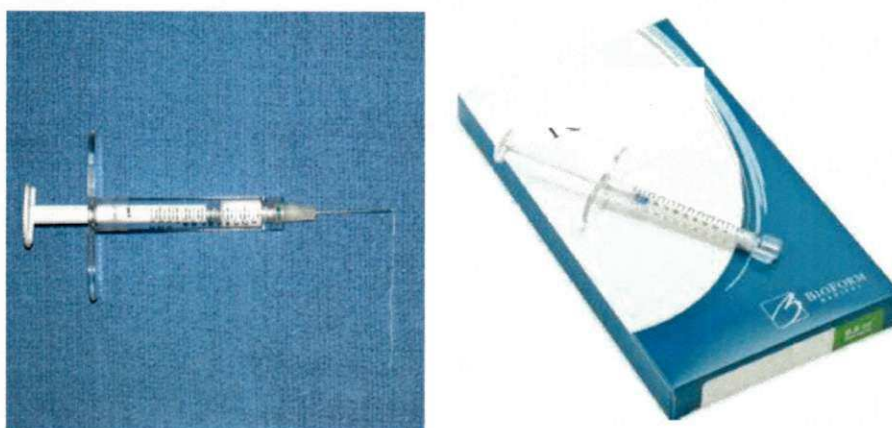
Fonte: NETTER, 2000.

Os preenchimentos cutâneos podem ser de dois tipos: Preenchedores temporários e definitivos, dentre os materiais mais utilizados estão o ácido hialurônico e o metacrilato, respectivamente; e Preenchedores com estímulo à produção de colágeno pelo organismo, que será o responsável pelo preenchimento das rugas, dentre estes preenchimentos, os materiais mais utilizados são o ácido polilático (Sculptra®) e a hidroxiapatita de cálcio (Radiesse®). (GLOGAU, 2012).

2.3.1 Produto Comercial Padrão Adotado

O material adotado é um produto estéril isento de látex, não pirogênico, semi-sólido, coeso quando em meio subdérmico e injetável. Seu componente principal é a hidroxiapatita de cálcio (HAp), um material biocompatível com o corpo humano, que tem sido usado por mais de 20 anos na medicina e que no Brasil está sendo comercializado pelo laboratório Merz-Biolab em seringas descartáveis de 1,5 ml e 0,8 mL, como apresentado na Figura 2.12 (JACOVELLA, 2006).

Figura 2. 12- Material disponível comercialmente.



Fonte: AHN, 2007.

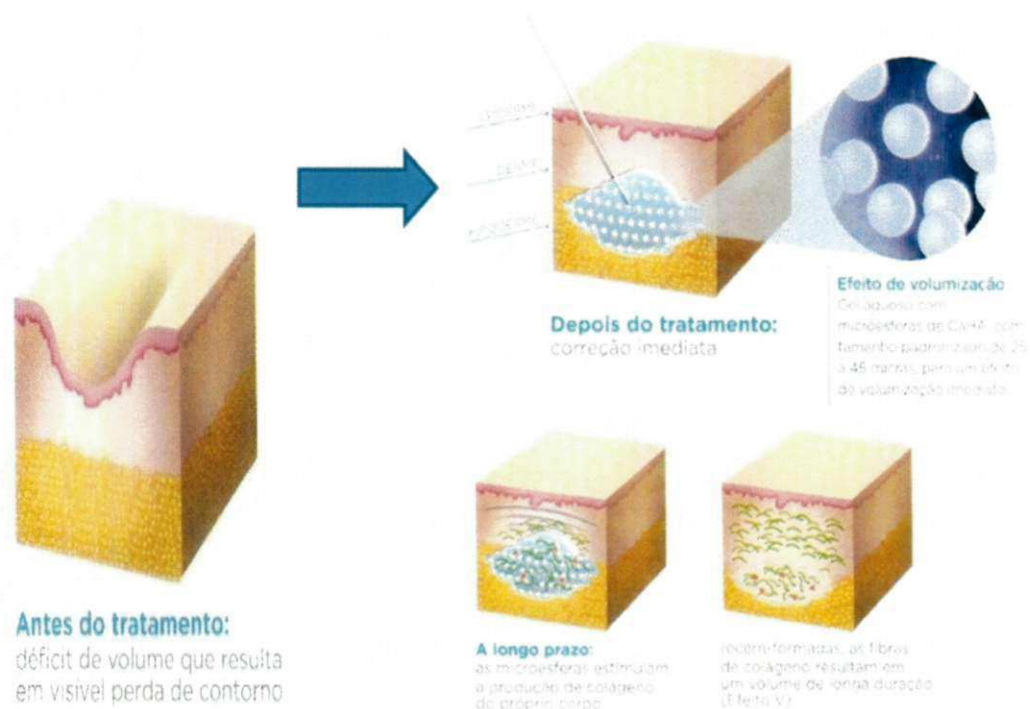
De acordo com Jacovella (2006) a natureza semi-sólida do produto é obtida por uma suspensão de microesferas (25 μm a 45 μm de diâmetro) de HAp em um suporte de gel que consiste basicamente de água destilada, carboximetilcelulose e glicerina. A estrutura do gel é formada pela adição de uma pequena quantidade de carboximetilcelulose (CMC), glicerina e água, formando um hidrogel, que é dissipado *in vivo* e substituído por tecido mole em crescimento, enquanto que a HAp permanece no local injetado (OWENS, 2005).

Em aproximadamente 2 a 3 meses, a carboximetilcelulose e a glicerina são reabsorvidas e substituídas por colágeno. Jacovella (2006) afirma que quando o referido produto é depositado em tecidos moles, como a derme, as partículas de HAp induzem a formação de colágeno, enquanto ocorre um colapso gradual das mesmas, até que a fagocitose seja completamente alcançada, sem que haja calcificação, isto é, a HAp é totalmente biocompatível com o corpo humano, conforme esquematizado na Figura 2.13. (JACOVELLA, 2006)

Vale salientar também que nenhuma infiltração óssea ou migração dos sítios de injeção foram observadas pela literatura (BERLIN,2008; CARRUTHERS et.al., 2008).

As microesferas de HAp presentes no produto em discussão têm a mesma composição química dos constituintes inorgânicos dos dentes e ossos e exibem um extenso perfil de segurança. A biocompatibilidade da HAp tem sido testada extensivamente em estudos pré-clínicos e demonstrou ser atóxico, não antigênico, não mutagênico, nem irritante. Além disso, os resultados clínicos, histológicos, e de microscopia eletrônica da HAp *in vivo* têm atestado excelente tolerância. (SHONO et. al., 2012)

Figura 2. 13- Produto comercial padrão adotado - efeito volumizador



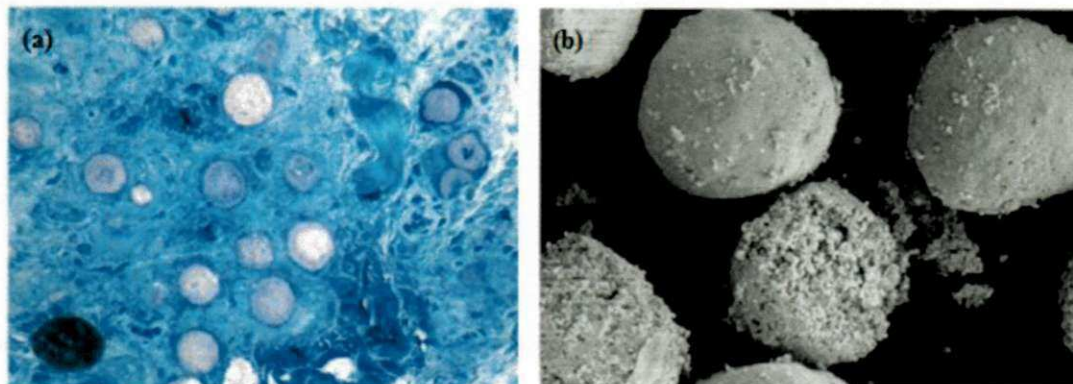
Fonte: BIOFORM MEDICAL, 2012.

Em estudos de biocompatibilidade em implantes de HAp têm sido encontradas mínimas respostas inflamatórias e quando ocorre, sem rejeição e sem evidência de toxicidade local ou sistêmica (JACOVELLA, 2006).

O produto em questão recebeu aprovação do FDA (Food and Drug Administration) desde 2006 (FDA, 2006) e desde então tem sido amplamente utilizado para várias indicações: em aumento de laringe (GRANT et al, 2008), reconstrução de tecidos moles (GLOGAU, 2012), e preenchimento de defeitos dentários e maxilofaciais (HAMERSCHMIDT, 2010 e JONES, 2009). O mesmo tem sido usado com sucesso também em urologia como um agente regulador para tratamento de incontinência urinária (MAYER et al, 2001).

A Figura 2.14 evidencia as microesferas de HAp e os tecidos circundantes, embora não referencie a escala de aumento adotada.

Figura 2. 14- (a) Micrografia ótica evidenciando as microesferas de HAp circundadas por colágeno e histiócitos e (b) Micrografia eletrônica de varredura evidenciando as partículas de HAp após 30 meses de implantação.



Fonte: JACOVELLA, 2006.

Este material pode ser injetado em diferentes regiões faciais com o objetivo de melhorar ou aperfeiçoar algumas marcas faciais: linhas glabellares, regiões malares (bochechas), áreas sob os olhos, no nariz, nos sulcos naso-labiais, comissuras orais, no queixo e em outras áreas. Não é recomendado para a parte palpebral dos músculos orbiculares dos olhos, porque as marcas de expressão conhecidas como “pés de galinha” são em parte uma consequência da expressão dinâmica, nem para aumento labial. (CENTENO, 2006).

Além disso, injeções deste tipo também são contra-indicadas para pacientes que apresentam infecções cutâneas agudas ou crônicas próximas ao local a ser tratado, quelóides, distúrbios hemorrágicos graves, em presença de preenchedores permanentes prévios como silicone e PMMA, e expectativas irrealistas por parte do paciente. Os benefícios do tratamento com o produto comercial padrão adotado permanecem por cerca de 2 anos na maioria dos pacientes e o tratamento é eficaz e bem tolerado sem complicações significativas.(ANEXO A).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Para a realização deste trabalho de pesquisa foram utilizados os seguintes materiais:

- a) Produto comercial padrão adotado, adquirido no comércio local (descrição técnica do produto se encontra no ANEXO A);
- b) Hidroxiapatita de cálcio (HAp) sintetizada em laboratório pelo método de precipitação a partir de soluções diluídas de ácido fosfórico (H_3PO_4) e hidróxido de cálcio ($Ca(OH)_2$) (descrição técnica dos reagentes se encontram no ANEXO B);
- c) Polímero aniônico carboximetilcelulose, $(-RO-O-O-RO-)_n$, onde $R=CH_2CO_2H$, P.A. do laboratório Sigma-Aldrich;
- d) Glicerina [$C_3H_5(OH)_3$], P.A. do laboratório FMaia;

3.2 Métodos

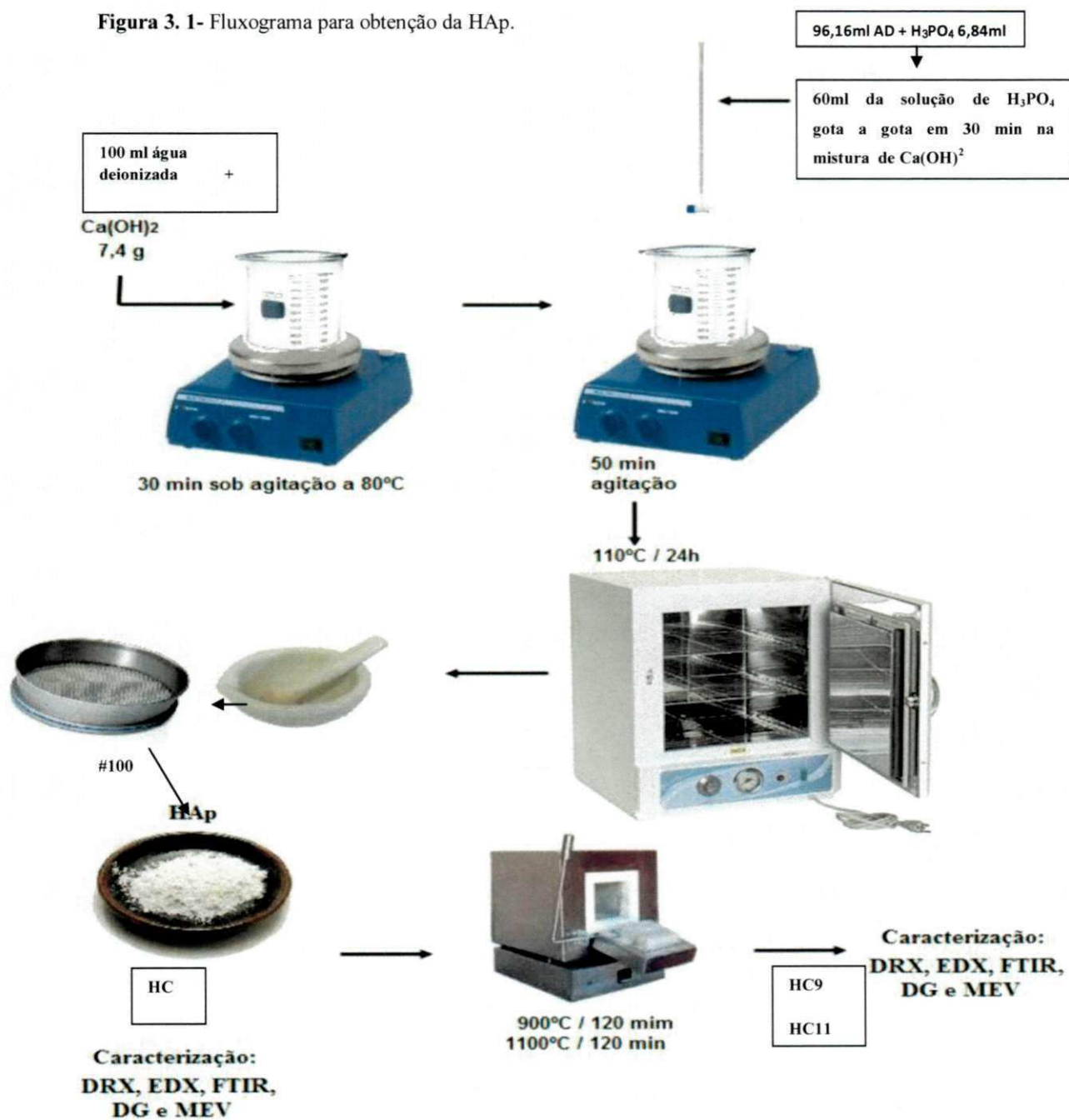
3.2.1 ETAPA I – Obtenção e Caracterização da HAp

A hidroxiapatita de cálcio foi sintetizada pelo método úmido de precipitação (SAERI et. al., 2003), o qual consiste na adição gota a gota de ácido fosfórico (H_3PO_4) em suspensão sob agitação de hidróxido de cálcio [$Ca(OH)_2$] em água, de forma a estabelecer a relação estequiométrica de $Ca/P = 1,67$ de acordo com cálculo descritos no APÊNDICE A.

O Fluxograma da Figura 3.1 apresenta a sequência de obtenção da HAp. Inicialmente 7,4 g de hidróxido de cálcio [$Ca(OH)_2$] foram dissolvidos em 100 mL e 6,84 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) foram dissolvidos em 93,16 mL de água deionizada, respectivamente. A solução de hidróxido de cálcio foi submetida à agitação constante por 30 minutos até atingir a temperatura de $80^\circ C$. Em seguida a esta mistura de hidróxido de cálcio, adicionou-se 60mL da solução de H_3PO_4 previamente preparada, gota a gota, na velocidade de 2ml/min, permanecendo sob agitação por cerca de 50 minutos, até atingir uma viscosidade, na forma de uma pasta seca e areada. Depois de seco, o material permaneceu em estufa por 24 horas a uma temperatura de $110^\circ C$. O produto resultante da secagem foi triturado em almofariz de ágata, peneirado em malha 100 mesh (149 μm), obtendo-se a amostra designada por HAp e caracterizada por DRX (confirmando a presença de HAp monofásica), EDX, FTIR, DG e MEV. Posteriormente, a amostra como sintetizada - HC, foi calcinada à $900^\circ C/2h$ e a

1100°/2h e caracterizadas por DRX com objetivo de avaliar a influência da calcinação na morfologia e na fase da HAp sintetizada e conseqüentemente alterar a preparação dos compósitos. As amostras após calcinação foram designadas por HC9 e HC11, respectivamente. As amostras de HAp sintetizada e após calcinação foram caracterizadas por EDX, FTIR e MEV e utilizadas para preparar as formulações dos compósitos.

Figura 3. 1- Fluxograma para obtenção da HAp.



Fonte: PRÓPRIA, 2013

3.2.2 ETAPA II – Obtenção e Caracterização dos Hidrogéis e dos Compósitos Hidrogel/HAp

3.2.2.1 Preparação dos Hidrogéis e dos Compósitos

Para obtenção dos compósitos de hidrogel/HAp experimentais (70% de hidrogel e 30% de HAp) foi necessário inicialmente obter-se apenas os hidrogéis, com a finalidade de determinar qual a concentração adequada de água, glicerina(GL) e carboximetilcelulose (CMC) seriam necessárias para adquirir um hidrogel rígido, com resistência mecânica e fluidez necessária para ser ejetado em uma seringa de 1 mL, e posteriormente comparar com as características físico-químicas do hidrogel polimérico comercial adotado. Estabeleceu-se aleatoriamente utilizar um volume total de 25 mL do líquido (água e/ou glicerina) do volume total do líquido, de forma a misturar adequadamente em um Becker de 50 mL, e fixou-se a concentração de carboximetilcelulose em 1g (4%) e a concentração de HAp em 7,5g (30%) para o volume de 25 mL. As composições testadas dos precursores para obtenção do hidrogel polimérico e dos compósitos experimentais estão descritos na Tabela 3.1.

Tabela 3. 1 - Composições iniciais dos hidrogéis e dos compósitos de hidrogel/HAp estudados.

| Gel experimental | Água destilada (mL) | Glicerina (mL) | Carboximetilcelulose (g) | HC (g) | HC9 (g) |
|------------------|---------------------|----------------|--------------------------|--------|---------|
| C1 | 25,00 | ----- | 1,00 | ---- | ---- |
| C2 | 18,75 | 6,25 | 1,00 | ---- | ---- |
| C3 | 12,50 | 12,50 | 1,00 | ---- | ---- |
| C4 | 6,25 | 18,75 | 1,00 | ---- | ---- |
| C5 | ----- | 25,00 | 1,00 | ---- | ---- |
| GHC | 18,75 | 6,25 | 1,00 | 7,5 | ---- |
| GHC9 | 18,75 | 6,25 | 1,00 | ---- | 7,5 |

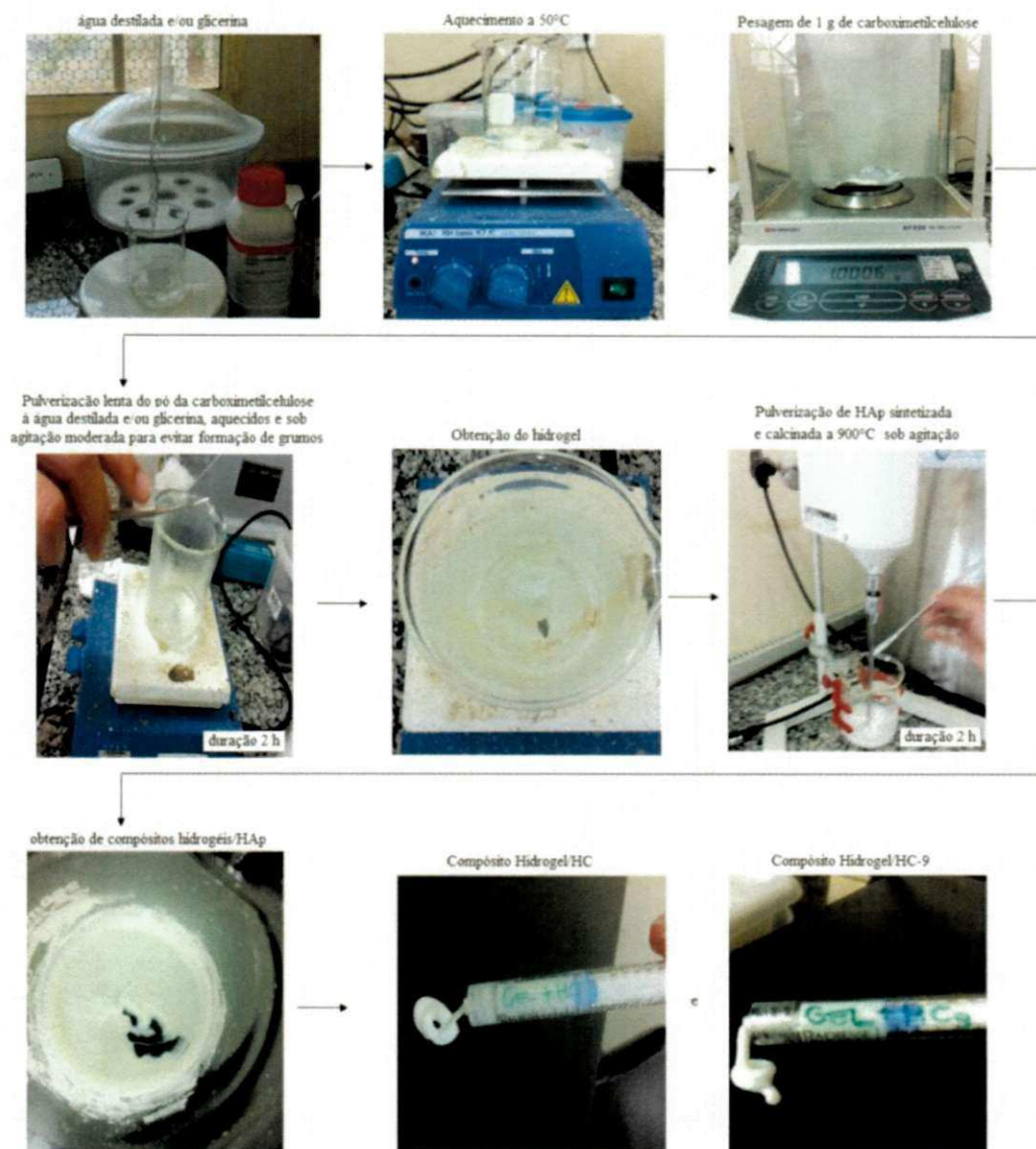
Fonte: PRÓPRIA, 2013

A literatura recomenda o uso da CMC em cosméticos e alimentos como um agente de retenção de água e de um estabilizador de dispersão em concentrações de 1%-2% (YU et. al., 2009). Porém, neste trabalho a quantidade fixa de CMC foi utilizada no seu percentual superior ao recomendado pela literatura, visando obter-se um hidrogel viscoso e com trabalhabilidade adequada à aplicação dermatológica. No caso da HAp

a quantidade usada de 30% foi a recomendada pelo fabricante do produto comercial padrão adotado.

O fluxograma da Figura 3.2 ilustra o procedimento de obtenção dos hidrogéis e dos compósitos.

Figura 3.2- Fluxograma para obtenção dos hidrogéis e dos compósitos de hidrogel/HAp.



Fonte: PRÓPRIA, 2013

Para preparação dos hidrogéis, inicialmente foi medido 25 mL do líquido (água e/ou glicerina), agitado magneticamente em uma placa de aquecimento modelo BIOSTAR até atingir

50°C e posteriormente adicionado lentamente 1,0g de carboximetilcelulose, sob agitação moderada por 2 h para evitar formação de grumos, obtendo-se o hidrogel. Seguidamente, adicionou-se lentamente 30% das HAp (HC e HC9) ao hidrogel, que corresponde ao volume total do líquido de 25 mL. Manteve-se sob agitação constante por 2 h em um agitador mecânico Fisaton 712. Após a obtenção dos compósitos, estes foram ejetados na seringa de 1 mL do fabricante do produto comercial adotado e avaliados quanto a fluidez, viscosidade visual e tempo de secagem.

3.2.3 ETAPA III – Caracterização

3.2.3.1 Difração de Raios X – DRX

As análises de difração de raios X foram conduzidas a temperatura ambiente em um equipamento Shimadzu (XRD-6000) a 40 kV e 30 mA, radiação $\text{CuK}\alpha = 1,54 \text{ \AA}$, no intervalo de varredura de 2θ , entre 0 a 80 graus, a uma taxa de $2^\circ/\text{min}$. Esse ensaio foi realizado no Laboratório de Caracterização Engenharia de Materiais da UFCG.

O cálculo de tamanho de cristalito D_{hkl} foi determinado para as reflexões basais principais do material em estudo usando a equação (1) de Scherrer (AZÁROFF, 1964).

$$D_{hkl} = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} D_{hkl} = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (1)$$

Onde k é o coeficiente de forma do ponto da rede recíproca (0,9-1,0), λ é o comprimento de onda do $\text{CuK}\alpha$ (1,54 Å) e θ é o ângulo de difração. O parâmetro β foi corrigido utilizando a seguinte equação (2):

$$\beta = \sqrt{\beta_{exp}^2 - \beta_{inst}^2} \quad (2)$$

Onde β_{inst} é a largura instrumental extraída de uma amostra padrão que tenha um tamanho de partícula muito grande ($\sim 6 \mu\text{m}$), e β_{exp} é a largura experimental da amostras a ser analisada. O padrão utilizado foi o boreto de lantânio (LaB_6 , NIST).

O tamanho de cristalito foi calculado a partir das linhas principais de alargamento de raios X por meio da deconvolução do pico de difração secundário do silício policristalino (utilizado como padrão), usando-se a equação de Scherrer (KUNGLER et al, 1962).

Os parâmetros de rede foram obtidos por meio da rotina DICVOL91 for Windows, disponível no pacote de programas FullProff (LOUER et al, 1993). A cristalinidade dos pós obtidos por reação de combustão foram determinadas por meio da razão entre a área integrada dos picos de difração da porção cristalina e a área integrada da fração amorfa, usando o software Crystallinity fornecido pelo fabricante do difratômetro, "Shimadzu".

3.2.3.2 Análise Química por Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva – EDX

O espectrômetro de fluorescência de raios X é um instrumento que determina quantitativamente os elementos de número atômico acima de 20, em forma de óxidos presentes em uma determinada amostra. Isto é possível através da aplicação de raios X na superfície da amostra e a posterior análise dos fluorescentes raios X emitidos. A análise semi-quantitativa dos componentes químicos presentes nas amostras foi determinada por espectroscopia de raios-X, num equipamento modelo EDX-720, da marca SHIMADZU. Para o ensaio foram preparadas amostras na forma de pastilhas de 20 mm de diâmetro. O ensaio foi realizado no Laboratório de Caracterização de Materiais, da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, Campus I.

3.2.3.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

A radiação infravermelha corresponde à parte do espectro eletromagnético entre as regiões do visível e das micro-ondas. A porção de maior utilidade para a análise de grupos funcionais de estruturas orgânicas e inorgânicas está situada entre 4000 e 400 cm^{-1} . A espectroscopia no infravermelho fornece evidências da presença de vários grupos funcionais das estruturas devido à interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética em um processo de vibração. As ligações que constituem as moléculas e grupamentos de átomos estão em constantes movimentos axiais e angulares. Os espectros de FTIR das amostras foram coletados em pastilhas de KBr a 1%, usando um espectrômetro Shimadzu Spectrum BX – Perkin Elmer, entre 4000 e 400 cm^{-1} , com exceção do produto comercial adotado e dos compósitos hidrogel/HAp que a varredura foi de 4000 e 650 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 20 varreduras do Laboratório de Caracterização de Materiais, da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, Campus I.

3.2.3.4 Distribuição Granulométrica – DG

A técnica da distribuição granulométrica é utilizada para determinar o tamanho das partículas, ou mais especificamente, a distribuição dos diferentes tamanhos de partículas em uma amostra através da difração de raio laser. Para a realização da determinação da distribuição granulométrica das amostras estudadas, os pós foram desaglomerados em peneira malha 325 (abertura de 44 μm), dispersos em água destilada com ultrassom durante 5 minutos. Posteriormente estas foram levadas para a análise no equipamento Malven, modelo Mastersize 2000 do Laboratório de Caracterização de Materiais, da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande.

Esta técnica só se emprega para análises de compostos na forma de pós, daí a não empregabilidade desta para a análise do produto comercial padrão adotado.

3.2.3.5 Microscopia e Eletrônica de Varredura – MEV

A caracterização de materiais por microscopia eletrônica de varredura permite a observação da morfologia das partículas e/ou aglomerados das amostras em questão, bem como também observar a topografia da superfície das mesmas. Para a análise morfológica das amostras estudadas foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura de bancada, modelo XL30 FEG SEM, marca Philips, pertencente ao Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos.

3.2.3.6 Consistência Experimental Visual

Sabe-se que a viscosidade é uma propriedade inerente aos fluidos, correspondente ao transporte microscópico de quantidade de movimento por difusão molecular. Ou seja, quanto maior a viscosidade de um fluido, menor será a velocidade com que este se movimenta. O centipoise é a unidade de viscosidade mais usada devido ao fato de que a água tem uma viscosidade de 1,0020 cp (centipoise) a 20 °C.

A determinação da viscosidade experimental das amostras de bionanocompósitos hidrogel/HAp idealizada, considerando a definição acima, seria realizada utilizando-se o seguinte procedimento: sobre um vidro de relógio posicionado em uma balança com quatro casas decimais de precisão, seria depositada uma massa igual a 1g da amostra, com o auxílio de uma seringa descartável graduada de 10mL de volume e seria observada a quantidade de

mililitros do produto que seriam necessários para obter-se esta massa de 1g. Desta forma, seria determinada a viscosidade da amostra em centipoise, partindo-se do princípio de que 1 poise = 100 centipoise = 1 g/(cm·s). Todavia, em virtude de uma seringa de 1,5ml do material adotado importar R\$ 640,00 (preço na distribuidora Prescrita em 12/08/2012) sem definir gramatura por mL, inviabilizou-se a proposta previamente descrita.

Assim sendo, adotamos uma ilustração (Figura 3.3) do próprio fabricante em seu encarte promocional (ANEXO A) como parâmetro visual de consistência, onde o gel comercial aparece dispensado diretamente da seringa em forma de espiral, de modo a obter-se aspecto semelhante com as amostras dos compósitos hidrogel/HAp em estudo.

Figura 3. 3- Consistência do produto comercial padrão adotado no encarte do fabricante.



Fonte: ANEXO A, 2012.

Adotou-se como padrão o montante equivalente a 0,1ml do produto comercial e mensurou-se em balança de precisão de 4 dígitos modelo AY 220 Max 220g d = 0,1 mg da marca SHIIMADZU com o objetivo de definir sua gramatura no referido volume e designar, assim por amostragem, um parâmetro secundário, onde deve-se obter valores correlatos ao mensurar-se iguais quantidades de 0,1 mL das amostras dos compósitos hidrogel/HAp em questão (GHC e GHC90). Demonstrando, com isso que as composições criadas estão em conformação com a composição do produto comercial adotado.

Figura 3. 4- Mensuração 0,1ml do produto comercial padrão adotado em balança de precisão.



Fonte: PRÓPRIA, 2013

3.2.3.7 Tempo de Secagem

O tempo de secagem é uma propriedade importante uma vez que este indica o tempo no qual o produto comercial padrão adotado e as amostras dos compósitos hidrogel/HAp obtidos tomam consistência e então não podem mais ser manipulados.

Para a determinação do tempo de secagem das amostras estudadas, tomou-se por base uma alíquota de 0,1 mL das amostras de GHC, GHC9 E RD acondicionadas sobre uma superfície lisa e plana. Estas, por sua vez, mantiveram-se à temperatura ambiente com circulação natural de ar. Monitorou-se hora a hora até que as alíquotas das amostras estivessem secas (rígidas), de tal forma a determinar o intervalo de cada item isoladamente, onde o resultado do tempo de secagem do produto comercial adotado passa a ser o parâmetro a ser atingido pelas amostras dos compósitos aqui pesquisados.

Figura 3. 5- Modelo experimental do tempo de secagem.



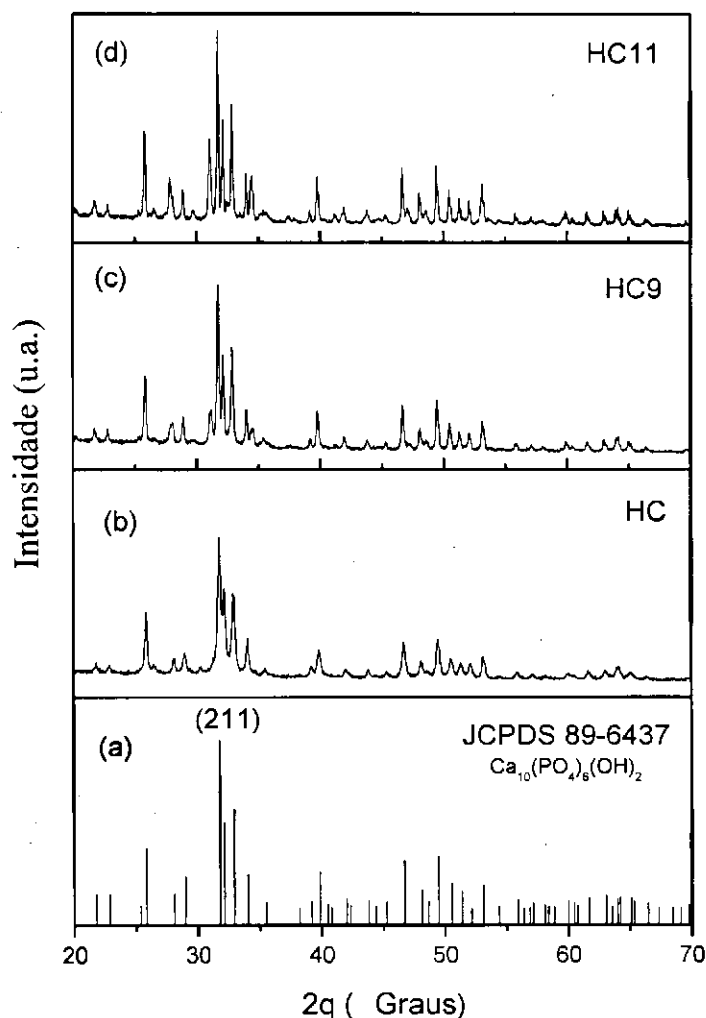
Fonte: PRÓPRIA, 2013

RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Etapa I- Caracterização da HAp

A Figura 4.1 ilustra os difratogramas de raios X obtidos para as amostras de HAp sintetizada (HC), HAp calcinada a 900°C (HC9), e HAp calcinada a 1100°C (HC11). Mediante o espectro de difração de raios X para as amostras HC, HC9 e HC11, verifica-se que foi possível à obtenção da hidroxiapatita de cálcio utilizando o método de precipitação e após calcinação a 900°C e 1100°C/2h. Isso foi comprovado pela presença de picos correspondentes apenas à fase única da hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ apresentada nos difratogramas de raios X de acordo com a ficha JCPDS 89-6437 (ANEXO C).

Figura 4. 1- Difratogramas de raios X: (a) padrão JCPDF 89-6437, (b) HAp como sintetizada (HC), (c) HAp calcinada a 900°C (HC9), e (d) HAp calcinada a 1100°C (HC11).



Analisando os difratogramas de raios X, verifica-se que as amostras HC9 e HC11, apresentaram comportamentos semelhantes à amostra HC que não foi calcinada. Porém, pode-se inferir que o tratamento térmico ocasionou um aumento na cristalinidade da HAp. Isto é verificado pela redução da largura basal dos picos e aumento na intensidade.

A Tabela 4.1 apresenta os resultados para a cristalinidade e o tamanho de cristalito das amostras HAp sintetizada (HC), e após calcinação a 900°C (HC9) e 1100°C (HC11), respectivamente. Observa-se, que a amostra HC apresentou um tamanho de cristalito de 28 nm e cristalinidade 86%. Enquanto, as amostras calcinadas apresentaram tamanho de cristalito e cristalinidade de 52 nm e 98%; 77 nm e 97%, respectivamente. Desta forma, a hidroxiapatita calcinada a 900°C apresentou um aumento do tamanho de cristalito e da cristalinidade em torno de 46% e 12%, quando comparado com a hidroxiapatita sem a calcinação; enquanto, a hidroxiapatita calcinada a 1100°C apresentou um aumento no tamanho de cristalito e na cristalinidade de 64% e 11% superior à hidroxiapatita.

Tabela 4. 1 - Cristalinidade e tamanho de cristalito para as amostras HAp como sintetizada (HC) e após calcinação a 900°C e 1100°C.

| Amostras | Cristalinidade (%) | Tamanho de cristalito para reflexão $d_{(211)}$ (nm) |
|----------|--------------------|--|
| HC | 86 | 28 |
| HC9 | 98 | 52 |
| HC11 | 97 | 77 |

Fonte: PROPRIA, 2013

Com base nestes resultados, verificou-se que a calcinação alterou mais significativamente o tamanho do cristalito, mantendo a cristalinidade com valores próximos, tanto na amostra sem calcinar como após calcinação e que não houve alteração na fase, indicando que é possível obter a HAp mesmo sem calcinação e que a fase é estável termicamente. Desta forma, o aumento da temperatura de calcinação de 900°C para 1100°C, não se faz necessário, visto que visa-se preparar os compósitos com uma HAp com tamanho em escala nanométrica, cristalina e estável termicamente.

Considerando-se os argumentos anteriores, escolheram-se para o preparo dos compósitos de hidrogel/HAp as condições que forneceram à HAp os menores valores de tamanho de cristalito, sendo estas encontradas nas HAp sem calcinar e calcinada a 900°C.

A Tabela 4.2 apresenta os valores experimentais da análise semi-quantitativa dos óxidos presentes nas amostras de HAp sintetizada (HC) e HAp calcinada a 900°C (HC9) determinados por EDX.

Tabela 4. 2 - EDX das amostras de HAp.

| HC | | |
|---|-----------|----------------|
| Óxidos | % Teórica | % Experimental |
| P ₂ O ₅ | 42,38 | 48,50 |
| CaO | 55,83 | 47,80 |
| H ₂ O | 1,79 | n.d. |
| SiO ₂ | - | 3,56 |
| SrO | - | 0,12 |
| Fe ₂ O ₃ | - | 0,02 |
| Relação CaO/P ₂ O ₅ | 1,32 | 0,98 |
| HC9 | | |
| Óxidos | % Teórica | % Experimental |
| P ₂ O ₅ | 42,38 | 47,60 |
| CaO | 55,83 | 48,70 |
| H ₂ O | 1,79 | n.d. |
| SiO ₂ | - | 3,46 |
| K ₂ O | - | 0,23 |
| Relação CaO/P ₂ O ₅ | 1,32 | 1,02 |

Fonte: PRÓPRIA, 2013

Os cálculos teóricos do percentual de cada óxido presente para a HAp se encontram no APÊNDICE A. Todos os reagentes utilizados para a síntese da HAp possuem grau de pureza 98%, isto significa que 2% são de impurezas, relatadas pelo fabricante como resíduos de cloreto, sulfato, ferro, cálcio, magnésio, potássio, sódio, níquel, chumbo, zinco e cobalto (ANEXO B).

De forma geral, em face dos resultados, notou-se que os valores experimentais foram próximos aos valores teóricos calculados, tanto para as amostras de HAp sem e após calcinação, indicando que possuem em sua composições principalmente os óxidos de fósforo e de cálcio.

Comparando-se as amostras de HC e HC9, verifica-se que a calcinação reduziu as impurezas. Analisando-se o parâmetro de estequiometria, relação de CaO/P₂O₅, os valores experimentais das amostras HC e HC9 foram inferiores ao valor teórico estimado. Estas diferenças entre os valores experimentais e os valores teóricos podem ser explicadas com base nas seguintes considerações:

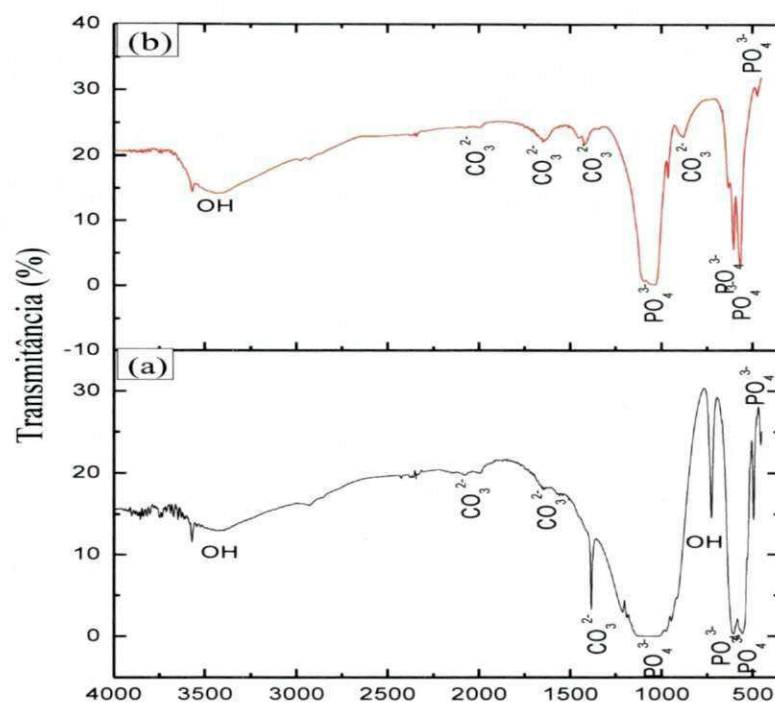
- Presença das impurezas, oriundas dos precursores utilizados para a preparação da HAp (hidróxido de cálcio e ácido fosfórico) relatados no ANEXO B.
- O percentual de óxidos demonstrados no ensaio de fluorescência de raios X utiliza um balanço de massa estequiométrico entre os teores de óxidos existentes na amostra, ou seja, os teores de SiO₂, SrO, Fe₂O₃ e K₂O estão presentes nas amostras devido aos

precursores utilizados na preparação das mesmas, de modo que as quantidades dos óxidos esperados são balanceadas para atingir o total de 100%. Além do mais, a análise é semi-quantitativa, o que não indica exatidão dos valores calculados. Assim sendo, a análise permite, de forma geral, uma identificação dos óxidos ou elementos existentes nas amostras.

- Na composição teórica da hidroxiapatita tem-se presente um percentual de água de 1,79%, e no caso das amostras sintetizadas possivelmente este percentual deve ser inferior, pois as amostras de HAP passaram por etapas de secagem a 110°C e calcinação a 900°C/2h, respectivamente.

A Figura 4.2 ilustra os espectros de FTIR obtidos para as amostras de HAP como sintetizada (HC) e HAP calcinada a 900°C (HC9).

Figura 4. 2- Espectros de FTIR das amostras HC (a) e HC9 (b).



Fonte: PRÓPRIA, 2013

Verifica-se mediante os espectros das amostras HC e HC9, a presença de bandas correspondentes à ligação O–H da hidroxila, ao grupo CO_3^{2-} dos carbonatos e ao grupo PO_4^{3-} dos fosfatos. Porém, nota-se que devido a calcinação a 900°C a banda da OH centrada em 726 cm^{-1} , não está mais presente.

Todas as bandas encontradas nas amostras estão de acordo com as observadas por Sharma et. al. (2012), quando estudaram a síntese de hidroxiapatita nanocristalina pelo método da precipitação e a funcionalização com ácido amino, e por Leeke et. al. (2012), quando estudaram o efeito das condições de processamento na obtenção de nanopartículas de hidroxiapatita. Também as bandas encontradas nas amostras estão de acordo com a literatura especializada de caracterização de materiais por FTIR (SILVERSTEIN et al., 2007).

A Tabela 4.3 apresenta os grupamentos químicos e suas respectivas vibrações obtidas a partir dos espectros de FTIR das amostras HC e HC9.

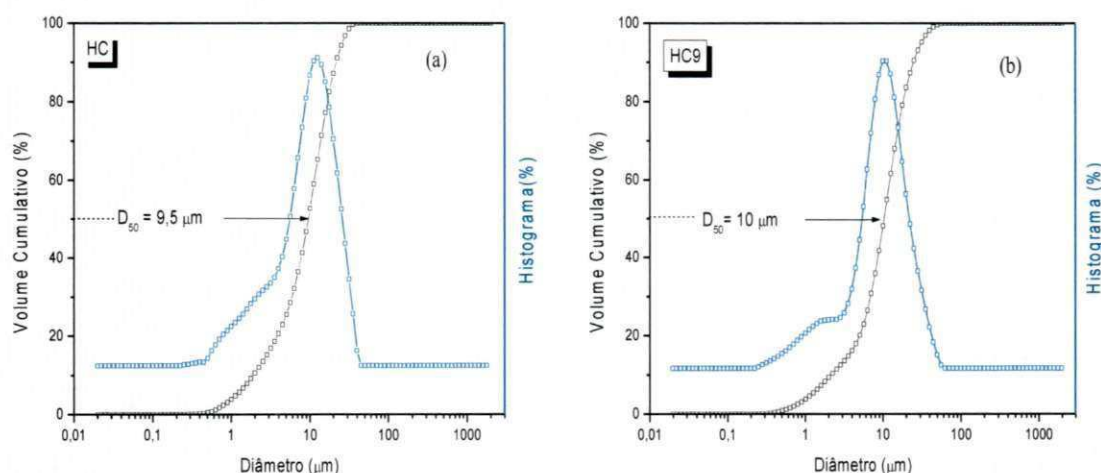
Tabela 4.3 - Grupamentos químicos e suas respectivas vibrações observadas nas amostras de HC.e HC9.

| Amostra | Grupamentos químicos | Vibração (cm ⁻¹) |
|---------|-------------------------------|------------------------------|
| HC | OH ⁻ | 3571 e 726 |
| | CO ₃ ²⁻ | 1661 e 1384 |
| | PO ₄ ³⁻ | 1055, 962, 594 e 495 |
| HC9 | OH ⁻ | 3565 |
| | CO ₃ ²⁻ | 1642, 1437 e 884 |
| | PO ₄ ³⁻ | 1068, 962, 594 e 475 |

Fonte: PRÓPRIA, 2013.

A Figura 4.3 ilustra os gráficos da distribuição granulométrica obtida para as amostras de HAp sem e após calcinação a 900°C.

Figura 4.3 - Distribuição granulométrica das amostras de HAp estudadas: (a) HC e (b) HC9.



Fonte: PRÓPRIA, 2013.

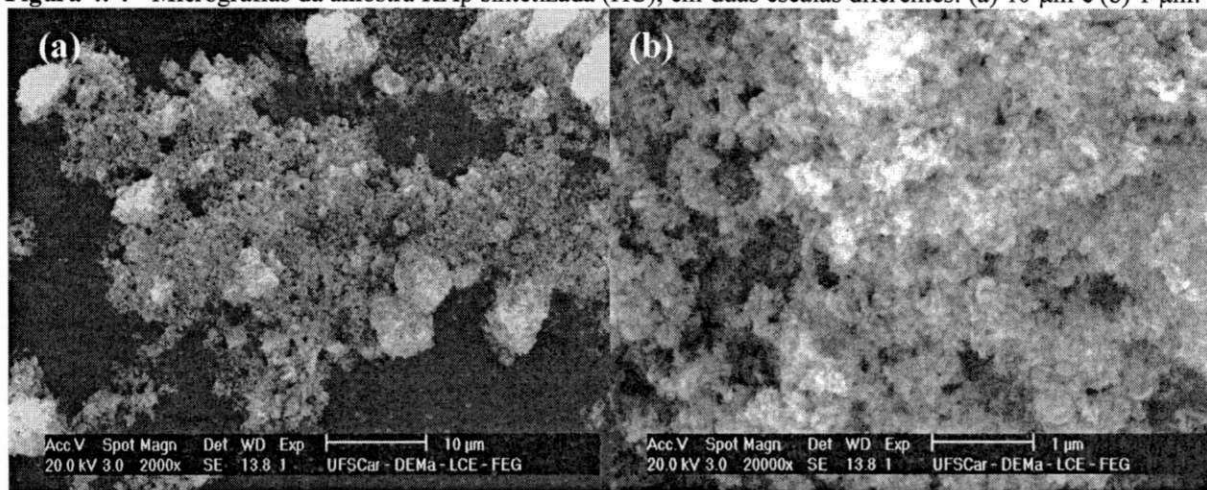
Observa-se mediante as curvas de distribuição granulométrica das amostras HC e HC9 uma distribuição estreita de tamanho de aglomerados (D_{50}) bimodal, com tamanho

médio de 9,5 e 10 μm , respectivamente. Este formato da distribuição de partículas da HAp também foi observado por Jiao et al. (2012), quando estudaram a síntese e caracterização da HAp preparada pelo método spray-dry, porém com tamanhos de aglomerados na faixa de 2 a 40 μm . Pode-se também observar que a calcinação a 900°C ocasionou um leve estreitamento da distribuição com uma aumento em torno de 5 % no tamanho médio dos aglomerados.

Comparando os valores de aglomerados com os valores reportados por Leeke et. al. (2012), que foi de 5 μm quando estudaram o efeito das condições de processamento na obtenção de nanopartículas de hidroxiapatita pelo método sol-gel, verifica-se que o método de precipitação possibilitou a obtenção de aglomerados com tamanho superior. Por outro lado, os valores reportados neste trabalho estão na mesma ordem de grandeza de tamanhos de aglomerados e com distribuição bimodal semelhantes aos resultados reportados por Nakazato et al. (2012), quando obteve a HAp pelo método de pirólise seca em leito fluidizado, cujo tamanho variou entre 5 a 50 μm .

As Figuras 4.4 e 4.5 ilustram as micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura para as amostras de HAp sintetizada (HC) e HAp calcinada a 900°C (HC9).

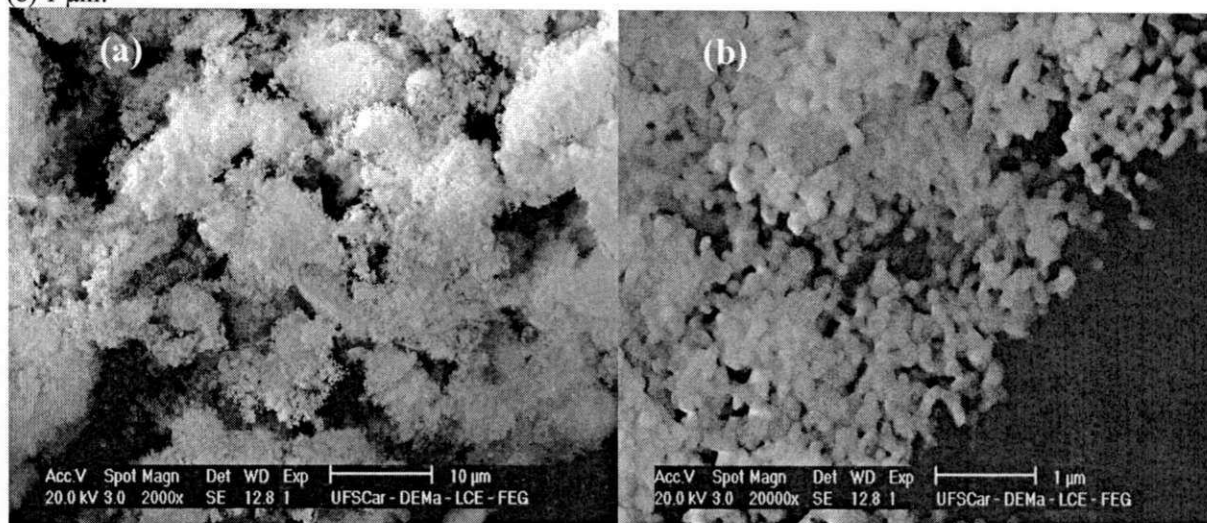
Figura 4.4 - Micrografias da amostra HAp sintetizada (HC), em duas escalas diferentes: (a) 10 μm e (b) 1 μm .



Fonte: PRÓPRIA, 2013.

Analisando as micrografias exibidas na Figura 4.4a, observa-se que a amostra de HAp sem calcinar (HC) é formada por aglomerados moles, com formato irregular esponjoso e contendo porosidade interpartícula. Na Figura 4.4b, observa-se que os aglomerados são formados por partículas muito pequenas interconectadas.

Figura 4.5 - Micrografias da amostra HAp calcinada a 900°C (HC9), em duas escalas diferentes: (a) 10 µm e (b) 1 µm.



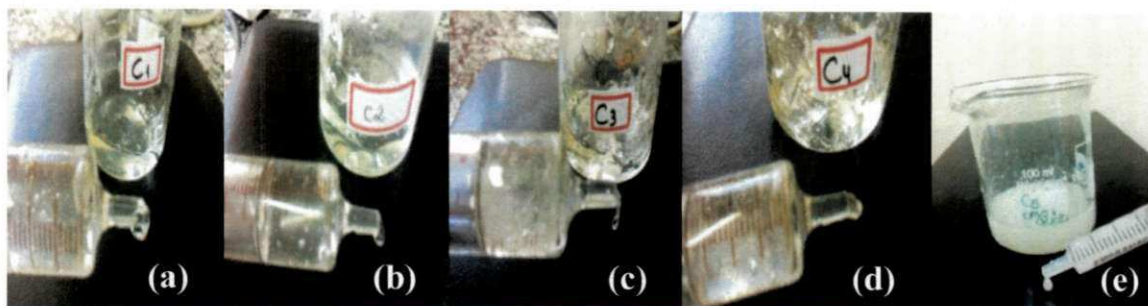
Fonte: PRÓPRIA, 2013.

Com relação à amostra da HAp calcinada a 900°C (HC9), verifica-se pela Figura 4.5a, que é formada de aglomerados moles, de formato irregular arredondados, com aspecto de flocos porosos e constituído de partículas finas interligadas. Baseada na Figura 4.5b, observa-se que os aglomerados são constituídos por microesferas de partículas de hidroxiapatita interconectadas por forças fortes de ligação (algumas partículas apresentam início de pré-sinterização - formação de empescoamento), com tamanho inferior a 0,5 µm de diâmetro.

4.2 Etapa II- Aspectos Visuais dos Hidrogéis e Caracterização dos Compósitos

A Figura 4.6 ilustra os hidrogéis obtidos sem a presença da HAp. Na Figura 4.6a do hidrogel C1, composto por 100% de água (25 mL) e 4% (1g) de carboximetilcelulose, verifica-se que após a mistura, tem-se a presença de um hidrogel com boa resistência mecânica e boa fluidez (suficiente para ser ejetado utilizando-se seringa de 1 mL). Porém como este hidrogel, não contém a glicerina, reagente que precisa ser adicionado por fazer parte da composição do produto comercial padrão (ANEXO A), foi adotado como referência para preparar os demais hidrogéis com a glicerina. Para os hidrogéis seguintes, a quantidade de carboximetilcelulose foi mantida fixa, e variou-se aleatoriamente a quantidade de glicerina para os 25 mL estabelecidos como volume total da mistura.

Figura 4.6 - Aspectos visuais e táteis das amostras dos hidrogéis experimentais: (a) C1, (b) C2, (c) C3, (d) C4 e (e) C5.



Fonte: PRÓPRIA, 2013.

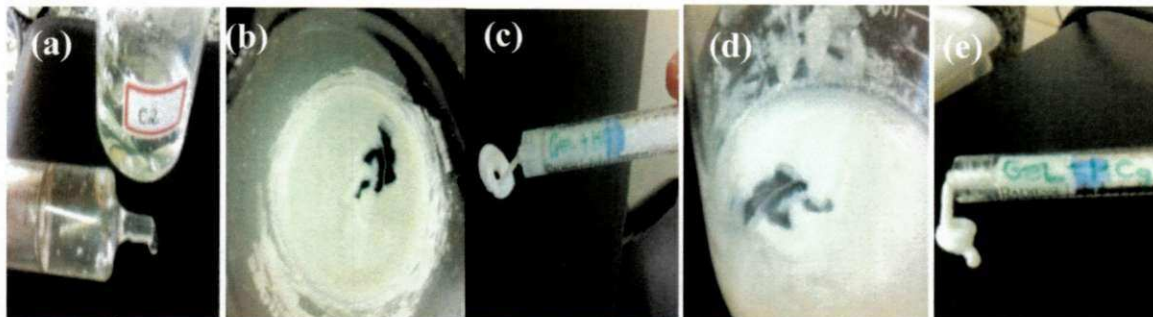
De acordo com a Figura 4.6b, verifica-se que o hidrogel C2, composto por 75% (18,75 mL) de água, 4% (1g) de carboximetilcelulose e 25% (6,25g) de glicerina apresentou aspecto de gel, com fluidez e resistência mecânica adequada para ser ejetado da seringa de 1 mL, ou seja, excelente maleabilidade e manuseio.

Na Figura 4.6c, verifica-se que o hidrogel C3, composto de 50% (12,5 g) de água, 4% (1g) de carboximetilcelulose e 50% (12,5g) de glicerina, apresentou um aspecto endurecido, com maior resistência mecânica, mas com baixa fluidez ao ser ejetado da seringa. Para o hidrogel C4 (Figura 4.6d), composto de 25% (6,25 g) de água, 4% (1g) de carboximetilcelulose e 75% (18,75g) de glicerina, verificou-se que o mesmo ficou muito rígido (duro), de forma que não foi ejetado da seringa com facilidade e baixa fluidez. Por fim, preparou-se o hidrogel apenas com 100% (25 mL) de glicerina e 4% (1g) de carboximetilcelulose, hidrogel C5 (Figura 4.6e) e verificou-se que o mesmo não apresentou aspecto de gel, com coloração turva ou opaca e apresentação visível de grumos. Logo, conclui-se que a água tem suma importância na formação do gel.

Assim, considerando-se os aspectos visual e tátil dos hidrogéis C1 a C5, levando-se em conta que ainda necessitava-se acrescentar 30% de seu peso de HAp e ainda assim, manter o aspecto de fluidez (viscosidade) e resistência mecânica capaz de ser ejetado, deslizando-se suavemente, utilizando seringa de 1mL, decidiu-se pelo hidrogel C2 como o hidrogel ideal para se preparar os compósitos com 30% de HAp sem e após calcinação a 900°C.

A Figura 4.7 ilustra o hidrogel C2 e os demais compósitos obtidos com 30% das amostras de HAp sem e após calcinação de 900°C, que são os compósitos GHC e GHC9, respectivamente.

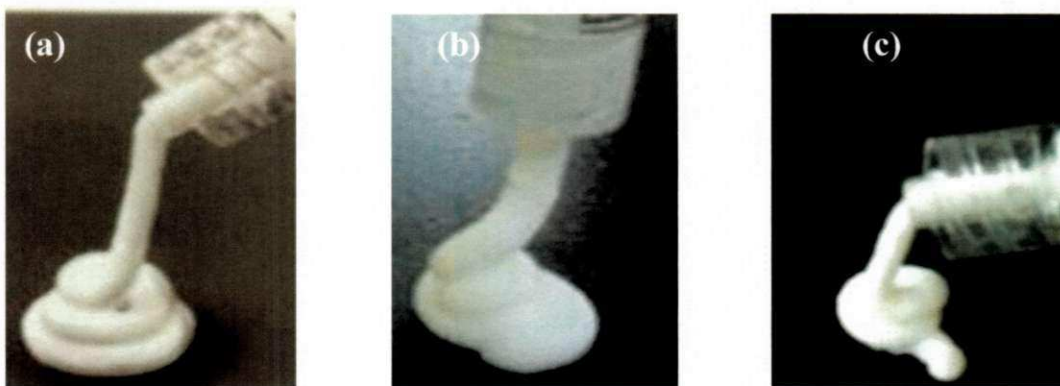
Figura 4. 7 - Aspectos visuais e táteis das amostras dos hidrogéis experimentais: (a) C2, (b, c) GHC e (d, e) GHC9.



Fonte: PRÓPRIA, 2013.

Observando a Figura 4.7b, verifica-se que após a adição da HAp sem calcinar, o hidrogel mantém seu aspecto de gel com fluidez e coloração branca. Na Figura 4.7c, observa-se que o compósito formado GHC é ejetado utilizando seringa de 1mL com facilidade, apresentado boa fluidez (viscosidade) e adequada trabalhabilidade. O mesmo comportamento e aspecto foi observado para o compósito preparado com 30% da HAp após calcinação de 900°C, (Figura 4.7e). Obtidos os compósitos acima citados, avaliaram-se então suas viscosidades mediante seus aspectos visuais comparados com a viscosidade visual relatada para o produto comercial adotado de acordo com o catálogo do fabricante (ANEXO A) como ilustrados na Figura 4.8.

Figura 4. 8 - Viscosidade experimental das amostras de hidrogel/HAp: (a) comercial adotado, (b) GHC e (c) GHC9.



Fonte: PRÓPRIA, 2013.

Verifica-se que o hidrogel/HAp comercial padrão adotado (Figura 4.8a) quando ejetado forma um perfil de hélice, mantendo a forma sem romper-se da seringa, o que indica boa resistência mecânica, boa fluidez e viscosidade adequada do hidrogel. Para os demais compósitos GHC e GHC9 (Figura 4.8b e 4.8c), verificam-se os mesmos comportamentos e

características, ou seja, que os hidrogéis são ejetados da seringa moldados, mantendo suas formas e sem romperem-se da seringa, indicando fluidez e resistência ao perfil helicoidal sugerindo uma viscosidade semelhante ao produto comercial adotado, conforme informações do fabricante contidas no ANEXO A. O hidrogel/HAp preparado com a HAp sem calcinar apresentou comportamento semelhante ao hidrogel/HAp com a HAp calcinada a 900°C.

A Figura 4.9 exibe o peso equivalente a 0,1 mL do hidrogel/HAp comercial padrão adotado e dos hidrogéis/HAp experimentais (GHC e GHC9). Esta característica é importante para visualizar que em 0,1 mL do material tem-se aproximadamente o mesmo valor em gramas, o que permite inferir que os hidrogéis/HAp experimentais têm características semelhantes ao hidrogel/HAP comercial.

Assim, na Figura 4.9a, verifica-se que 0,1 mL do hidrogel/HAp comercial possui 0,1607g, enquanto que os hidrogéis/HAp experimentais GHC e GHC9 apresentaram valores de 0,1453 e 0,1469g, respectivamente nas figuras 4.9b e 4.9c. Isto indica, que o hidrogel/HAP comercial é 8,58% um pouco mais denso que os hidrogéis/HAp experimentais, ou seja, o hidrogel/HAP comercial possui maior massa por volume de material.

Figura 4. 9 - Mensuração do volume de 0,1 mL do hidrogel/HAp comercial e experimentais: (a) produto comercial adotado, (b) GHC e (c) GHC9.

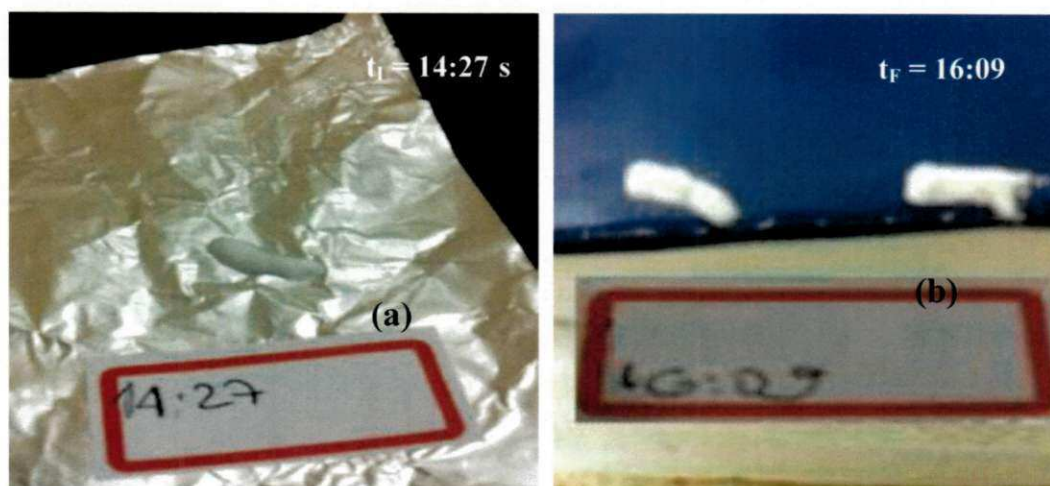


Fonte: PRÓPRIA, 2013.

Apesar da pequena diferença em gramas observadas entre os hidrogéis/HAP comercial e experimentais, verifica-se que os dados corroboram entre si indicando uma boa semelhança entre os hidrogéis/HAP experimentais e o comercial.

A Figura 4.10 ilustra o tempo de secagem para o produto comercial adotado. Observa-se que o hidrogel/HAp comercial foi ejetado no tempo inicial de 14:27 h e no tempo final de 16:09 h este encontrava-se completamente seco a temperatura ambiente, apresentando aspecto rígido e quebradiço, de modo que não pode ser manuseado. O tempo de secagem total a temperatura ambiente de 0,1 mL do referido produto foi em torno de 01:40 hs.

Figura 4. 10 - Tempo de endurecimento do volume 0,1 mL do produto comercial adotado: (a) tempo inicial e (b) tempo final.

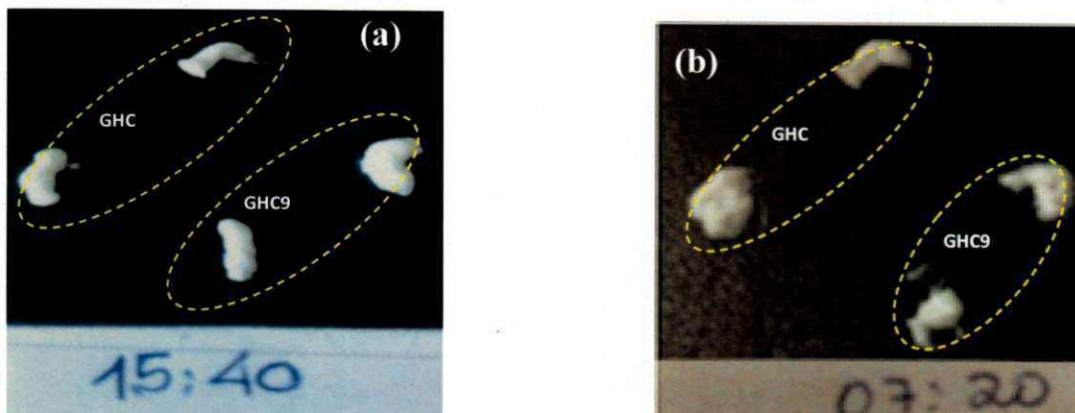


Fonte: PRÓPRIA, 2013.

A Figura 4.11 ilustra o tempo de secagem para os hidrogéis/HAp experimentais (GHC e GHC9). Verifica-se que o tempo inicial que os hidrogéis/HAP foram ejetados iniciou em 15:40 h e foi deixado secando até as 7:20 h do dia seguinte. Porém, verificou-se que os hidrogéis/HAp experimentais não secaram totalmente, persistiram moldáveis além de 24 horas (Figura 4.11b).

Diante destes resultados pode-se observar que tanto as amostras do compósito preparado com a HAp sem e após calcinação a 900°C apresentaram comportamento semelhante ao hidrogel/HAp comercial adotado, indicando, deste modo que ambas as amostras dos compósitos podem ser utilizadas para estudos *in vitro* e *in vivo* de forma a verificar seus comportamentos biológicos.

Figura 4. 11 - Tempo de endurecimento das amostras GHC e GHC9: (a) tempo inicial e (b) tempo final.



Fonte: PRÓPRIA, 2013.

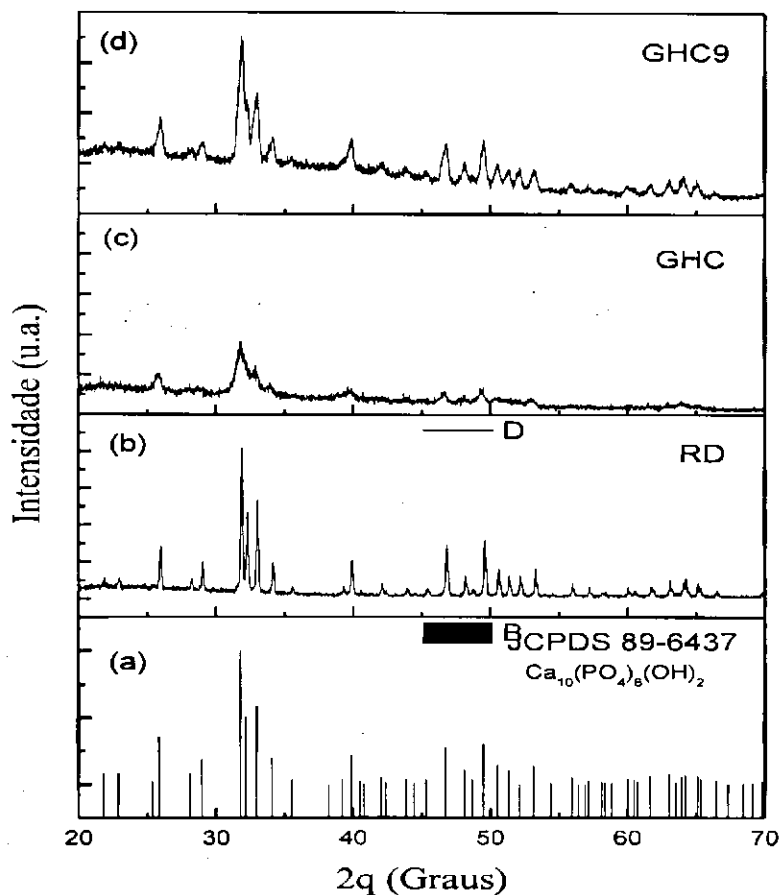
A Figura 4.12 ilustra os difratogramas de raios X obtidos para as amostras dos compósitos hidrogel/HAp comercial (RD) e experimentais (GHC) e calcinada a 900°C (GHC9). Pode-se observar a presença da fase única da hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ de acordo com a ficha JCPDS 89-6437, para os compósitos hidrogel/HAp comercial e experimentais.

Para hidrogel/HAp comercial, observa-se no difratograma de raios X picos bem definidos e de largura basal semelhantes a largura basal observada nos espectros das amostras de HAp calcinadas a 900 e 1100°C, indicando, que a presença do hidrogel, que é um material amorfo, praticamente não interferiu nas linhas do espectro. Isso é um indicativo que a partícula de HAp comercial é cristalina e possivelmente formada por aglomerados de micropartículas, de modo que a presença do hidrogel envolve os aglomerados, porém a parcela amorfa do hidrogel no compósito formado pouco interfere nas linhas de difração do espectro da HAp. Esta possibilidade está coerente com as informações fornecidas pelo fabricante no rótulo do Radiesse[®], que indica que é composto por 30% de microesferas (escala de partículas em micrômetro) de HAp e 70% do hidrogel (ANEXO A).

Analisando os espectros dos compósitos de hidrogéis/HAp preparados com as amostras de HAp sem e após calcinação a 900°C (GHC e GHC9), observa-se que as linhas de difração são bem mais largas, quando comparadas com a largura basal do hidrogel/HAp comercial. Indicando que para estes compósitos, a presença do hidrogel (material amorfo) interferiu mais acentuadamente nas linhas de difração do espectro da HAp. Isto, possivelmente ocorreu devido à HAp utilizada para preparação dos compósitos de hidrogéis/HAp experimentais serem constituídas de aglomerados de partículas nanométricas,

e, neste caso, a presença dos 70% do hidrogel amorfo que compõem os compósitos interferem no espectro de difração da HAp.

Figura 4. 12- Difrátogramas de raios X dos compósitos de hidrogel/HAp comercial e experimental: (a) padrão JCPDF 89-6437 da HAp, (b) compósito RD, (c) compósito GHC, e (d) compósito GHC9).



Fonte: PRÓPRIA, 2013

A Tabela 4.4 apresenta os valores de cristalinidade e tamanho de cristalito para os compósitos hidrogel/HAp comercial e experimental. Verifica-se uma redução de 71 e 23% na cristalinidade, e uma redução de 88 e 82% no tamanho de cristalito dos compósitos preparados com a HAp experimental sem e com calcinação a 900°C em comparação com a amostra do compósito comercial. Estes resultados indicam claramente a interferência do hidrogel amorfo no espectro de difração dos compósitos experimentais, em consequência das partículas nanométricas das HAp utilizadas.

Tabela 4. 4 - Cristalinidade e tamanho de cristalito para os compósitos hidrogel/HAp comercial (RD) e sintetizados (GHC) e calcinada a 900°C (GHC9).

| Amostras | Cristalinidade (%) | Tamanho de cristalito para reflexão $d_{(211)}$ (nm) |
|----------|--------------------|--|
| RD | 93 | 73 |
| GHC | 27 | 9 |
| GHC9 | 72 | 13 |

Fonte: PRÓPRIA, 2013.

O hidrogel causou um aumento na largura dos picos, o que interferiu no cálculo do tamanho de cristalito, que está relacionado com a largura e meio altura dos picos de difração, causando a diminuição no tamanho do cristal. Entretanto, em virtude da HAp utilizada ser a mesma, o tamanho do cristal deveria permanecer o mesmo. Todavia, verifica-se que a presença do hidrogel (formado por carboximetilcelulose e glicerina), um material amorfo, interferiu nas propriedades estruturais do material, aumentando a largura dos picos e diminuindo a intensidade, conseqüentemente, o tamanho do cristal e a cristalinidade diminuíram.

Verifica-se também, que o tamanho de cristalito e a cristalinidade do compósito comercial é equivalente ao tamanho de cristalito e cristalinidade da amostra de HAp calcinada a 1100°C, sem presença do hidrogel (Tabela 4.1). Isto é mais um indicativo que a amostra do compósito comercial é formado por aglomerados de microesferas de HAp, ou seja, as partículas da HAp sintetizadas e calcinadas a 900°C são mais finas (nanométricas) quando comparadas com as partículas da HAp para obter o compósito comercial.

A Tabela 4.5 apresenta os valores experimentais da análise semi-quantitativa do produto comercial padrão adotado (RD), e para os compósitos hidrogel/HAp preparados com a HAp sintetizada (GHC) e calcinada a 900°C (GHC9) determinados por EDX.

De forma geral, notou-se que os valores experimentais foram próximos aos valores teóricos calculados, tanto para os compósitos de hidrogel/HAp experimentais e o comercial, indicando que possuem em sua composições principalmente os óxidos de fósforo e de cálcio.

Para os hidrogéis/HAp comercial e os experimentais verificou-se que a relação de $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ apresentam valores superiores ao teórico e que no caso do hidrogel/HAp comercial o valor se aproxima mais do teórico.

Esta diferença pode ser explicada pelo fato, que a glicerina e a carboximetilcelulose são compostas apenas por carbono, oxigênio e hidrogênio, e estes elementos químicos não são detectados na análise de EDX devido à limitação do equipamento que detecta apenas elementos a partir do número atômico 20, ou seja, a partir do cálcio (PARREIRA et al, 2006).

Aplicam-se aqui os esclarecimentos elencados anteriormente quanto à presença de impurezas e o percentual de óxidos presentes no ensaio de fluorescência de raios X na página 57.

Tabela 4. 5 - EDX das amostras do RD e dos compósitos de hidrogel/HAp.

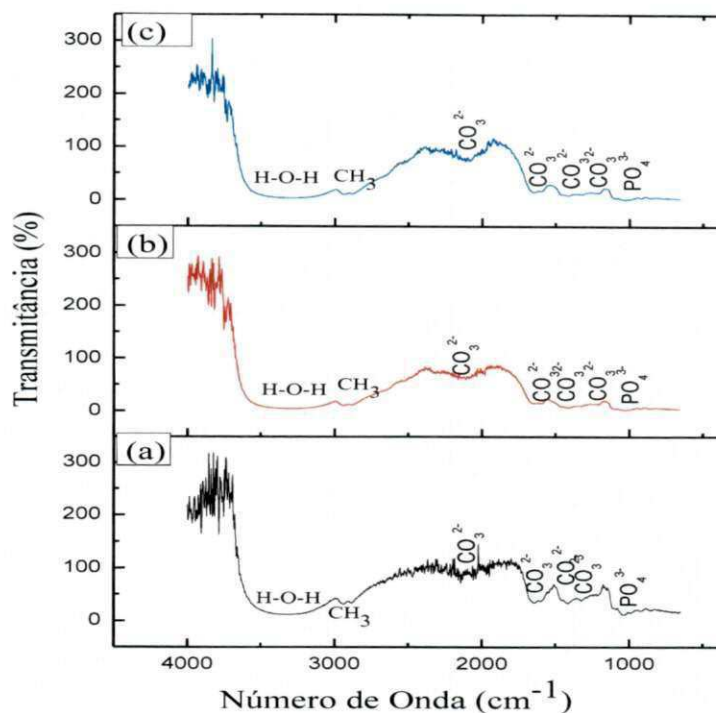
| RD | | |
|---|-----------|----------------|
| Óxidos | % Teórica | % Experimental |
| P ₂ O ₅ | 42,38 | 39,21 |
| CaO | 55,83 | 58,42 |
| H ₂ O | 1,79 | n.d. |
| SiO ₂ | - | 2,38 |
| Relação CaO/P ₂ O ₅ | 1,32 | 1,49 |
| GHC | | |
| Óxidos | % Teórica | % Experimental |
| P ₂ O ₅ | 42,38 | 25,32 |
| CaO | 55,83 | 68,90 |
| H ₂ O | 1,79 | n.d. |
| SiO ₂ | - | 1,92 |
| Na ₂ O | - | 3,62 |
| SrO | - | 0,13 |
| Fe ₂ O ₃ | - | 0,06 |
| CuO | - | 0,03 |
| Relação CaO/P ₂ O ₅ | 1,32 | 2,72 |
| GHC9 | | |
| Óxidos | % Teórica | % Experimental |
| P ₂ O ₅ | 42,38 | 24,45 |
| CaO | 55,83 | 69,45 |
| H ₂ O | 1,79 | n.d. |
| SiO ₂ | - | 2,06 |
| Na ₂ O | - | 3,51 |
| K ₂ O | - | 0,27 |
| SrO | - | 0,13 |
| Fe ₂ O ₃ | - | 0,11 |
| Relação CaO/P ₂ O ₅ | 1,32 | 2,84 |

Fonte: PRÓPRIA, 2013.

A Figura 4.13 ilustra os espectros de FTIR obtidos para o compósito hidrogel/HAp comercial (RD), e para os compósitos hidrogel/HAp preparados com a HAp sintetizada (GHC) e calcinada a 900°C (GHC9).

Verifica-se mediante os espectros para os compósitos de hidrogel/HAp (RD, GHC e GHC9) que foram observadas além das bandas identificadas nas amostras de HAp, a banda correspondente à ligação H–O–H da água livre adsorvida na superfície da HAp e bandas correspondentes à ligação C–H do grupo CH₃, as quais são provenientes do hidrogel composto de água, carboximetilcelulose e glicerina.

Figura 4. 13 - Espectros de FTIR dos compósitos hidrogel/HAp comercial e experimental: (a) RD, (b) GHC, (c) GHC9.



Fonte: PRÓPRIA, 2013.

A Tabela 4.6 apresenta os grupamentos químicos e suas respectivas vibrações para os compósitos hidrogel/HAp comercial, e para os compósitos hidrogel/HAp sintetizada (GHC) e calcinada a 900° C (GHC9) obtidos a partir dos espectros de FTIR das amostras estudadas.

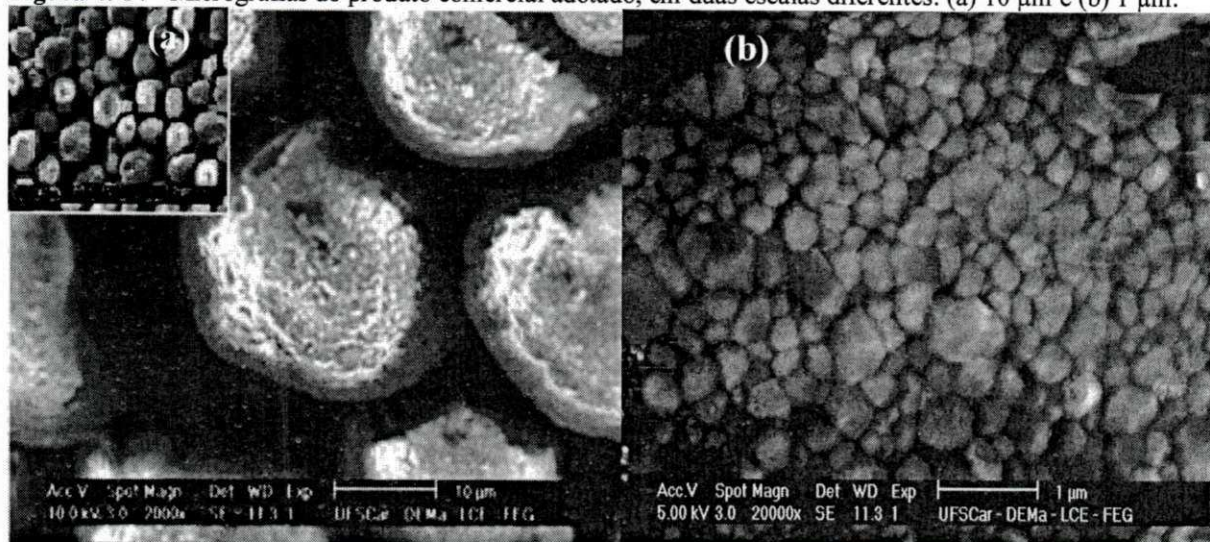
Tabela 4. 6 - Grupamentos químicos e suas respectivas vibrações observadas nas amostras dos compósitos de hidrogel/HAp comercial (RD) e experimentais (GHC e GHC9).

| Amostra | Grupamentos químicos | Vibração (cm ⁻¹) |
|---------|-------------------------------|------------------------------|
| RD | H-O-H | 3341 |
| | -CH ₃ | 2939 e 2887 |
| | CO ₃ ²⁻ | 1648, 1411, 890 e 850 |
| | PO ₄ ³⁻ | 1035 e 950 |
| GHC | H-O-H | 3317 |
| | -CH ₃ | 2959 e 2870 |
| | CO ₃ ²⁻ | 1615, 1451, 887, 850 |
| | PO ₄ ³⁻ | 1067 e 944 |
| GHC9 | H-O-H | 3447 |
| | -CH ₃ | 2951 e 2887 |
| | CO ₃ ²⁻ | 1647, 1447, 855 |
| | PO ₄ ³⁻ | 1031 e 919 |

Fonte: PRÓPRIA, 2013.

As Figuras 4.14 a 4.16 ilustram as micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura para as amostras para os compósitos hidrogel/HAp comercial (RD), e os experimentais (GHC) e (GHC9).

Figura 4. 14 - Micrografias do produto comercial adotado, em duas escalas diferentes: (a) 10 μm e (b) 1 μm .

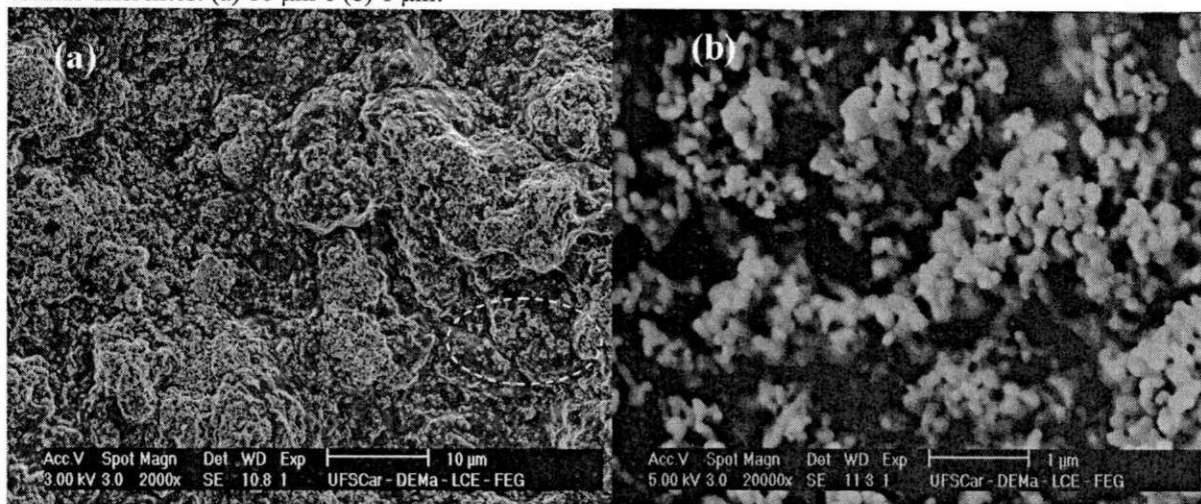


Fonte: PRÓPRIA, 2013.

Para a amostra do hidrogel/HAp comercial, pode-se observar pela Figura 4.14a, que a amostra é constituída de “*pellets*” esféricos do gel polimérico de carboximetilcelulose e glicerina, homogêneos bem definidas, e com uma estreita distribuição de tamanho, variando de 26 a 37 μm e tamanho médio de 30 μm . Em face da micrografia da Figura 4.14b, verifica-se que os “*pellets*” são compostos por partículas de formato aproximadamente esféricos, com uma estreita distribuição de tamanhos e uniformes, variando entre 0,032 a 0,66 μm e tamanho médio de 0,31 μm .

A morfologia do hidrogel/HAp comercial, conhecido por Radiesse[®] foi reportado por Jacovella (2006), quando relatou em seu trabalho as indicações, técnicas e resultados clínicos do uso do Radiesse[®] como preenchedor facial. O autor afirma que o Radiesse[®] é formado por microesferas com partículas de 25 a 45 μm . No entanto em seu trabalho, as micrografias não indicam escala de aumento, que possa fornecer uma indicação do tamanho dos aglomerados de hidroxiapatita observados. Apenas, é indicado que o mesmo é formado pela adição de uma pequena quantidade de carboximetilcelulose, glicerina e água, resultando em um hidrogel.

Figura 4. 15 - Micrografias para o hidrogel/HAp utilizando HAp experimental sem calcinar (GHC), em duas escalas diferentes: (a) 10 μm e (b) 1 μm .

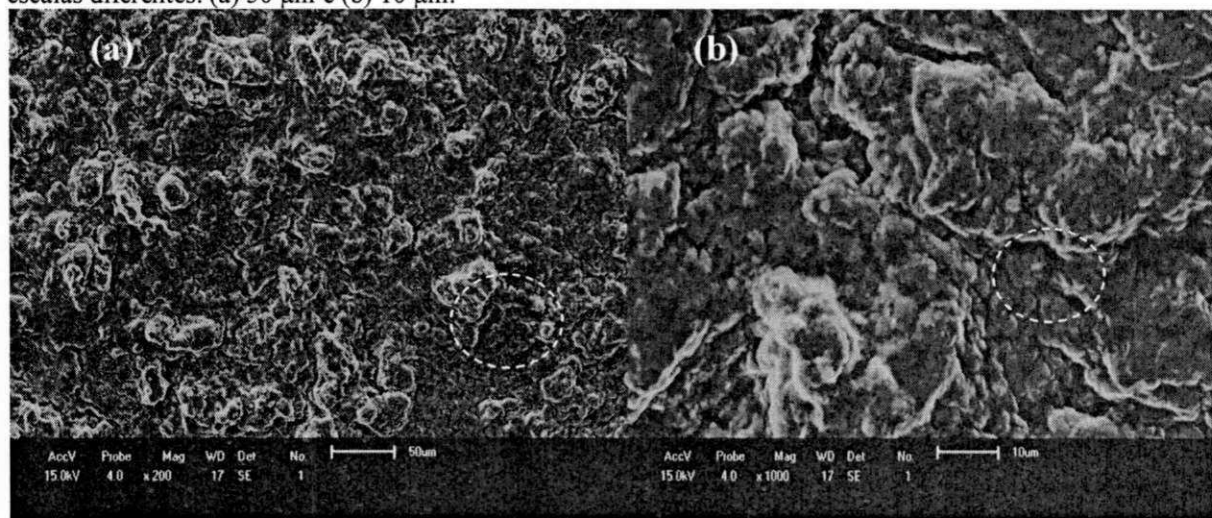


Fonte: PRÓPRIA, 2013.

Analisando-se a Figura 4.15a, observa-se que no hidrogel/HAp utilizando HAp experimental sem calcinar (GHC), as partículas de HAp estão envolvidas pelo hidrogel, resultando em uma morfologia com formato de agregado denso e compacto (sem porosidade interpartícula), ou seja, as partículas parecem coladas ao hidrogel. Na Figura 4.15b, observa-se que este agregado é constituído de micropartículas, de tamanho inferior a 0,5 μm .

Analisando a Figura 4.16a, observa-se que o hidrogel/HAp utilizando HAp experimental calcinada a 900°C resultou na mesma morfologia do hidrogel/HAp da amostra sem calcinar, isto é, verifica-se um agregado das partículas de HAp envolvidas no hidrogel. Estudando a Figura 4.16b, verifica-se que o agregado é também formado por micropartículas de HAp, interconectadas, com tamanho inferior a 5 μm .

Figura 4. 16 - Micrografias do gel experimental utilizando HAp experimental calcinada a 900°C, em duas escalas diferentes: (a) 50 μm e (b) 10 μm .



Fonte: PRÓPRIA, 2013.

Comparando-se os hidrogéis/HAp experimentais com o comercial, observa-se que ambos apresentaram uma morfologia de micropartículas de HAp envolvidas em um hidrogel polimérico, diferenciando-se apenas que o hidrogel/HAp comercial possivelmente deve ter sido submetido a um processo de otimização, que resulta em microesferas de agregados de HAp em forma de “*pellets*”.

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados, conclui-se que:

- A hidroxiapatita (HAp) foi sintetizada com sucesso, monofásica, utilizando o método da precipitação por via úmida direta e que a calcinação interferiu em alterações estruturais e morfológicas.
- O produto comercial foi caracterizado e foi comprovado que suas características avaliadas experimentalmente estão em concordância com as características indicadas pelo fabricante.
- Os compósitos experimentais foram obtidos com sucesso sem e após calcinação de 900°C e apresentaram entre si, apenas mudanças com relação ao tamanho de cristalito e tamanho de partículas avaliadas pelo MEV; com relação às demais caracterizações, o comportamento foi semelhante.
- Os compósitos experimentais apresentaram características semelhantes ao produto comercial padrão adotado, podendo ser avaliados em estudos *in vivo* e *in vitro* para verificar seus comportamentos biológicos.

6 SUGESTÕES FUTURAS

- Aperfeiçoar tecnicamente o hidrogel CMC+ GL.
- Comparar se há diferenças comportamentais quanto ao tamanho das partículas de HAp empregadas: nanométricas como obtidas ou micrométricas em forma de pellets como as do RD quando acrescidas ao hidrogel polimérico.
- Estudar técnicas de uniformização da HAp por Atomizador, Spray-dry e verificar seu papel nas caracterizações citadas.
- Estudar análises térmicas da HAp sintetizada, calcinada em temperaturas superiores e comercial fornecida pela JHS Biomateriais.
- Caracterizar e comparar compósito gel polimérico/HAp sintetizada e/ou sinterizada em temperaturas superiores e compósito gel polimérico/HAp comercial.
- Avaliar *in vitro* a citotoxicidade dos compósitos gel polimérico/HAp sintetizada e/ou sinterizada em temperaturas superiores e o gel polimérico/HAp comercial.
- Avaliar *in vivo* a capacidade de preenchimento e durabilidade dos compósitos gel polimérico/HAp sintetizada e/ou sinterizada em temperaturas superiores e o gel polimérico/HAp comercial.
- Indicar um produto nacional, baseados nos resultados *in vitro* e *in vivo*, que seja tanto ou mais eficiente do que o produto comercial padrão adotado com relação ao preenchimento facial subdérmico.

REFERÊNCIAS

AHN, M. S. "Calcium Hydroxylapatite: Radiesse". *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, v. 15, p. 85–90, 2007.

ALAM, M.; HAVEY, J.; PACE, N.; PONGPRUTTHIPAN, M.; YOO, S. "Large-particle calcium hydroxylapatite injection for correction of facial wrinkles and depressions". *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 65, n. 1, p. 92–96, 2011.

ALAM, M.; HAVEY, J.; PACE, N.; PONGPRUTTHIPAN, M.; YOO, S. "Large-article calcium hydroxylapatite injection for correction of facial wrinkles and depressions". *Dermatology Surgery*, v. 65, n. 1, p. 92-96, 2011.

ALBUQUERQUE, J. S. V. "Produção de cerâmicas bioativas porosa de apatitas nanométricas para aplicações biomédicas". Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Materiais, Universidade Federal do Ceará – UFC, 2004.

ATLAS DE DERMATOLOGIA, SBD, RGR Publicações S.A., 2012. Disponível em: <http://www.rgrpublicacoes.com.br/>. Acesso em: 05/08/2012.

AZÁROFF, L. V. "X-ray diffraction studies of crystal perfection". *Progress in Solid State Chemistry*, v. 1, p. 347-379, 1964.

BATISTUZZO, J.A.O.; ITAYA, M.; ETO, Yukiko. Formulário Médico Farmacêutico, 2ª edição, São Paulo, Tecnopress, 2002.

BELDA JR, W; CHIACCHIO, N. D.; CRIADO, P. R. Tratado de Dermatologia, São Paulo: Editora Atheneu. 2010.

BERLIN, A.LL; HUSSAIN,M.;GOLFBERG,D.J. "Calcium hydroxylapatite for facial filler rejuvenation: a histologic and immunohistochemical analysis". *Dermatologic Surgery*, 2008;34(supplement 1): S64-7.

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

BEZZI, G.; CELOTTI, G.; LANDI, E.; LA TORRETTA, T. M. G.; SOPYAN, I.; TAMPIERI, A. "A novel sol-gel technique for hydroxyapatite preparation". *Materials Chemistry and Physics*, v. 78, p. 816–824, 2003.

BILGAINYA, R.; KHAN, F.; MANN, S. "Spontaneous patterning and nanoparticle encapsulation in carboxymethylcellulose/alginate/dextran hydrogels and sponges". *Materials Science and Engineering C*, v. 30, p. 352–356, 2010.

BIOFORM MEDICAL. “Radiesse® Volumizing Filler”. Disponível em: www.radiesse.com. Acesso em 13/06/2012.

BUCK, D. W.; ALAM, M.; KIM, J. Y. S. “Injectable fillers for facial rejuvenation: a review”. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, v. 62, p. 11–18, 2009.

CALLISTER, W. D. “Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução”. 7º ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora. 2008.

CARRODEGUAS, R. G.; S. De AZA, “ α -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications”. *Acta Biomaterialia*, v. 7, n. 10, p. 3536-3546, 2011.

CARRUTERS, A.; LIEBESKIND, M.; CARRUTERS, J.; FOSTER, B.B. Radiographic and computed tomographic studies of calcium hydroxylapatite for treatment of HIV-associated facial lipoatrophy and correction of nasolabial folds. *Dermatol Surg* 2008;34(suppl 1):S78-84.

CASEY, G. “The physiology of the skin”. *Nursing Standard*, v. 16, n. 34, p. 47-51, 2002.

CASTELLÓ, M. L. “Estudo da glicerina por Análises Térmicas”. 99f. Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Tecnologias de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal Do Rio De Janeiro, 2009.

CATO, T. L.; LAKSHMI, S. N. “Polymers as Biomaterials for Tissue Engineering and Controlled Drug Delivery”. *Advanced Biochemistry Engineering/Biotechnology* (2006) v.102, p.47–90, 2006.

CENTENO, R. F. “Combination Volume Rejuvenation Therapy of the Face: Fat, Fillers, and Botox”. *Aesthetic Surgery Journal*, v. 26, n. 4, p. 460-464, 2006.

CLARKE, S. A.; WALSH, P.; MAGGS, C. A.; BUCHANAN, F. “Designs from the deep: Marine organisms for bone tissue engineering”. *Biotechnology Advances*, v. 29, n. 6, p.610-617, 2011.

COHEN, J. L.; BERLIN, A.; GOLDBERG, D. J. “Calcium Hydroxylapatite for Facial Rejuvenation”. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, p. 132-137, 2006.

DEFATTA, R. A.; CHOWDHURY, F. R.; SATALOFF R. T. “Complications of Injection Laryngoplasty Using Calcium Hydroxylapatite”. *Journal of Voice*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvoice.2011.08.005>, 2011.

DOURADO, E. R. “Preparação e caracterização de hidroxiapatita nanoestruturada dopada com estrôncio”. Dissertação apresentada ao centro Brasileiro de Pesquisas Físicas. Rio de Janeiro, 2006.

E'GUES, M. A. M. "Compósito de colágeno com silicato e hidroxiapatita como material para endodontia". Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia da Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo. São Carlos, 2005.

FDA – United States Food and Drug Administration. Department of Health & Human Services. P050037: Radiesse, 2006.

FERREIRA, P.; GIL, M. H. "Polissacarídeos como biomateriais". *Química* 100, p. 72-74, 2006.

FONSECA, F. M. "Biocerâmicas porosas bifásicas e trifásicas à base de hidroxiapatita produzidas por gelcasting". Dissertação apresentada ao Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro/RJ, 2007.

FREEDBERG, I.M.; EISEN, A. Z.; WOLFF, K.; AUSTEN, K. F.; GOLDSMITH, L. A y FITZPATRICK'S. *Dermatology in General Medicine*. Sexta edición, v. 1, McGraw Hill, 2003.

GHOSH, S. K.; ROY, S. K.; KUNDU, B.; DATTA, S.; BASU, D. "Synthesis of nano-sized hydroxyapatite powders through solution combustion route under different reaction conditions". *Materials Science and Engineering B*, v. 176, p. 14–21, 2011.

GLOGAU, R. G. "Fillers: From the Past to the Future". *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, v. 31, n. 2, p. 78-87, 2012.

GRANT, N.; SULICA, L.; DeCORATO, D. "Calcium hydroxylapatite vocal fold injectable enhances on positron emission tomography". *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, v. 138, n. 6, p. 807-808, 2008.

GRUMEZESCU, A. M.; ANDRONESCU, E.; FICAI, A.; BLEOTU, C.; MIHAIESCU, D. E.; CHIFIRIUC, M. C. "Synthesis, characterization and in vitro assessment of the magnetic chitosan-carboxymethylcellulose biocomposite interactions with the prokaryotic and eukaryotic cells". *International Journal of Pharmaceutics*, v. 436, p. 771–777, 2012.

GUO, R.; DU, X.; ZHANG, R.; DENG, L.; DONG, A.; ZHANG, J. "Bioadhesive film formed from a novel organic-inorganic hybrid gel for transdermal drug delivery system". *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 79, n. 3, p. 574-583, 2011.

GUO, Y. P.; YAO, Y. B.; GUO, Y. J.; NING, C. Q. "Hydrothermal fabrication of mesoporous carbonated hydroxyapatite microspheres for a drug delivery system". *Microporous and Mesoporous Materials*, v. 155, p. 245–251, 2012.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. *Tratado de Fisiologia Médica*. Elsevier, 2006- 4ª tiragem.

HAMERSCHMIDT, R. "Utilização de hidroxiapatita de cálcio no preenchimento de defeitos ósseos criados em mastóides de ratos". Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica, setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. Curitiba/PR, 2010.

HAMILTON, T. K. "Skin augmentation and correction: the new generation of dermal fillers—A dermatologist's experience". *Clinics in Dermatology*, v. 27, S13–S22, 2009.

HENCH, L.; WILSON, J. "An introduction to bioceramics". Advanced Series in Ceramics, volume 1. World Scientific Publishing Co. Pte. Lt., Singapore, 1999.

IAFISCO, M.; VARONIA, E.; DI FOGGIAC, M.; PIETRONAVEA, S.; FINI, M.; ROVERIB, N.; RIMONDINIA, L.; PRAT, M. "Conjugation of hydroxyapatite nanocrystals with human immunoglobulin G for nanomedical applications". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 90, p. 1–7, 2012.

IOKU, K.; YAMAUCHI, S.; FUJIMORI, H.; GOTO, S.; YOSHIMURA, M. "Hydrothermal preparation of fibrous apatite and apatite sheet". *Solid State Ionics*, v. 151, p. 147–150, 2002.

JACOVELLA, P. S. "Calcium Hydroxylapatite Facial Filler (Radiesse®): Indications, Technique, and Results". *Clinics in Plastic Surgery*, v. 33, p.511–523, 2006.

JONES, D. "Volumizing the Face With Soft Tissue Fillers". *Clinics in Plastic Surgery*, v. 38, n. 3, p. 379–390, 2011.

JONES, D. H. "Semipermanent and Permanent Injectable Fillers". *Dermatologic Clinics*, v. 27, n. 4, p. 433-444, 2009.

KALITA, S. J.; VERMA, S. "Nanocrystalline hydroxyapatite bioceramic using microwave radiation: Synthesis and characterization". *Materials Science and Engineering C*, v. 30, p. 295–303, 2010.

KOVACH, B. T.; SENNELMANN, R. D. "Soft Tissue Augmentation". *Advances in Dermatology*, v. 23, p. 1–31, 2007.

KUNGLER, H.; ALEXANDER, L. In "X-ray diffraction procedures", Wiley, New York, EUA, p. 495, 1962.

LANCTIN, M.; NKENGNE, A.; BERTIN, C.; ROURE, R. "Bugrane, tetrahydroxypropyl ethylenediamine, and glycerin: Association of three active ingredients to fight against facial sagging in a placebo-controlled study". *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 62, n. 3, p.AB61, 2010.

LAYROLLE, P.; FELLAH, B. H. "Sol-gel synthesis and characterization of macroporous calcium phosphate bioceramics containing microporosity". *Acta Biomaterialia*, v. 5, n. 2, p.735-742, 2009.

LEEKE, G. A.; SALIMI, M. N.; BRIDSON, R. H.; GROVER, L. M. "Effect of processing conditions on the formation of hydroxyapatite nanoparticles". *Powder Technology*, v. 218, p. 109–118, 2012.

LIMA, R. B. "Preenchimento cutâneo". Disponível em: http://dermatologia.net/novo/basc/estetica/est_preench.shtml. Acesso em: 13/10/2012.

LIU, L.; LIU, D.; WANG, M.; DU, G.; CHEN, J. "Preparation and characterization of sponge-like composites by cross-linking hyaluronic acid and carboxymethylcellulose sodium with adipic dihydrazide". *European Polymer Journal*, v. 43, p. 2672–2681, 2007.

LOUER, D.; ROISNEL, T. "Dicvol91 For Windows". Laboratoire de Cristalochimie, Université de Rennes I, Campus de Beaulieu, France, 1993.

MA, J.; XU, Y.; FAN, B.; LIANG, B. "Preparation and characterization of sodium carboxymethylcellulose/poly(N-isopropylacrylamide)/clay semi-IPN nanocomposite hydrogels". *European Polymer Journal*, v. 43, p. 2221–2228, 2007.

MANSUR, H. S.; COSTA, H. S.; MANSUR, A. A. P.; PEREIRA, M. "3D-macroporous hybrid scaffolds for tissue engineering: Network design and mathematical modeling of the degradation kinetics". *Materials Science and Engineering: C*, v. 32, n. 3, p. 404-415, 2012.

MAVROPOULUS, E.; ROSSI, A. M.; COSTA, A. M. "Studies on the Mechanisms of Lead Immobilization by Hydroxyapatite". *Environmental Science and Technology*, v. 36, p. 1630-1635, 2002.

MAYER, R.; LIGHTFOOT, M.; JUNG, T. "Preliminary evaluation of calcium hydroxylapatite as a transurethral bulking agent for stress urinary incontinence". *Urology*, v.57, p.434–438, 2001.

MINH, D. P.; LYCZKO, N.; SEBEL, H.; NZIHOU, A.; SHARROCK, P. "Synthesis of calcium hydroxyapatite from calcium carbonate and different orthophosphate sources: A comparative study". *Materials Science and Engineering: B*, v. 177, n. 13, p. 1080-1089, 2012.

MOBASHERPOUR, I.; SOULATI HESHAJIN, M.; KAZEMZADEH, A.; ZAKERI, M. "Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method". *Journal of Alloys and Compounds*, v. 430, p. 330–333, 2007.

MOCHALES, C.; BRIAK-BENABDESLAM, H. E.; GINEBRA, M. P.; TEROL, A.; PLANELL, J. A.; BOUDEVILLE, P. "Dry mechanochemical synthesis of hydroxyapatites from DCPD and CaO: influence of instrumental parameters on the reaction kinetics". *Biomaterials*, v. 25, p. 1151–1158, 2004.

MOERS-CARPI, M.; VOGT, S.; SANTOS, B. M.; PLANAS, J.; VALLVE, S. R.; HOWELL, D. J. "A multicenter, randomized trial comparing calcium hydroxylapatite to two hyaluronic

acids for treatment of nasolabial folds”. *Dermatologic Surgery Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery*, v. 33, p. 144-151, 2007.

MURRAY, C. A.; ZLOTY, D.; WARSHAWSKI, L. “The Evolution of Soft Tissue Fillers in Clinical Practice”. *Dermatologic Clinics*, v. 23, p. 343 – 363, 2005.

NATHANAEL, A. J.; HONG, S. I.; MANGALARAJ, D.; CHEN, P. C. “Large scale synthesis of hydroxyapatite nanospheres by high gravity method”. *Chemical Engineering Journal*, v. 173, p. 846– 854, 2011.

NETO, F. A. D. “Avaliação do cimento de alfa-fosfato tricálcico em artrodeses tarsocrurais experimentais em cães”. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal UNESP, Jaboticabal/SP, 2007.

NETO, J. M. M. “Compósitos”. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí, p.1-2, 2006.

NETTER, F. H. “Atlas de Anatomia Humana”. Editora Artmed, 2ª edição, Porto Alegre, 2000.

NIE, H.; LIU, M; ZHAN, F.; GUO, M. Factors on the preparation of carboxymethylcellulose hydrogel and its degradation behavior in soil. *Carbohydrate Polymers*, v. 58, 2004.

ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. “Biomateriais: Fundamentos e Aplicações”. 538p. Editora Cultura Médica, 2005.

OWENS, J. M. “Soft Tissue Implants and Fillers”. *Otolaryngologic Clinics of North America*, v. 38, p. 361–369, 2005.

PARK, J. B.; LAKES, R. S. “Biomaterials: an introduction”. 561p. 3ª edition, Springer, 2007.

PARREIRA, P. S. “Metodologia de EDXRF e aplicações com um sistema portátil”. Publicação Técnica do Laboratório de Física Nuclear Aplicada, Universidade Estadual de Londrina – PR, ISSN 2178-4507, v. 10, n. 1, p.1-17, 2006.

PASSLICK-DEETJEN, J.; BEDENBENDER-STOLL, E. “Why thermosensing? A primer on thermoregulation”. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 20, n, 9, p. 1784-1789, 2005.

PRAMANIK S, AGARWAL AK, RAI K, GARG A. “Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process”. *Ceram Int* 2007;33:419–26.

PÉREZ C. A. M., MONTELONGO J. G., CASILLAS P.E.G., MANCILLA J. F., ROMERO H.M. "Preparation of hydroxyapatite nanoparticles facilitated by the presence of β -cyclodextrin". *Journal of Alloys and Compounds* 536S (2012) S432– S436

QIU, B.; STEFANOS, S.; MA, J.; LALLOO, A.; PERRY, B. A.; LEIBOWITZ, M. J.; SINKO, P.J.; STEIN, S. "A hydrogel prepared by in situ cross-linking of a thiol-containing poly(ethylene glycol)-based copolymer: a new biomaterial for protein drug delivery". *Biomaterials*, v. 24, p. 11–18, 2003.

QUATELA, V. C.; CHOW, J. "Synthetic Facial Implants". *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, v. 16, p. 1–10, 2008.

RAMESHA S., AWB N, K.L, TOLOUEIC R., M.AMIRIYANC, TANB C.Y., HAMDIA M., PURBOLAKSONOA J., HASSANA M.A., TENG W.D. "Sintering properties of hydroxyapatite powders prepared using different methods". *Ceramics International* 39 (2013) 111–119

RAMLI, N. A.; WONG, T. W. "Sodium carboxymethylcellulose scaffolds and their physicochemical effects on partial thickness wound healing". *International Journal of Pharmaceutics*, v. 403, p. 73–82, 2011.

RATIER, A.; GIBSON, I. R.; BEST, S. M.; FRECHE, M.; LACOUT, J.L.; RODRIGUEZ, F. "Setting characteristics and mechanical behaviour of a calcium phosphate bone cement containing tetracycline". *Biomaterials*, v. 22, n. 9, p.897-901, 2001.

REIS, L. A.; CHIU, L. L.Y.; LIANG, Y.; HYUNH, K.; MOMEN, A.; RADISIC, M. "A peptide-modified chitosan–collagen hydrogel for cardiac cell culture and delivery". *Acta Biomaterialia*, v. 8, p. 1022–1036, 2012.

RIBEIRO, C. "Obtenção e caracterização de biocerâmicas porosas à base de fosfatos de cálcio processadas com a utilização de albumina". Tese apresentada ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

ROHR, T. G. "Estudo reológico da mistura carboximetilcelulose/amido e sua utilização como veículo de inoculação bacteriano". Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Tecnologia, Seropédica/RJ, 2007.

SANTOS, L. A. "Desenvolvimento de cimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras para uso na área médico-odontológica". Tese apresentada Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica da Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica. Campinas/SP, 2002.

SAERI, M. R.; AFSHAR, A.; GHORBANI, M.; EHSANI, N.; SORRELL, C. C. "The wet precipitation process of hydroxyapatite". *Materials Letters*, v. 57, p. 4064–4069, 2003.

SBCD – Sociedade Brasileira de Dermatologia. O que é Cirurgia Dermatológica? Disponível em: <http://www.sbcd.org.br/pagina/1610>. Acesso em: 13/10/2012.

SILVA, M. H. P. “Apostila de Biomateriais”, 2006.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. “Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos”. Editora LTC, 7ª edição, 2007.

SIMÕES, M. S. “Desenvolvimento e estudo *in vitro* de implante biorreabsorvível em poli (L-lactídeo) (PLLA) para artrodese de coluna lombar”. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, 2007.

SHONO, M.M; NIWA, A.B.M.; OSÓRIO, N.E.S. “Tratamento para rejuvenescimento das mãos com hidroxiapatita de cálcio”. *Surgical and Cosmetic Dermatology*, 2012; 4(2):186-8.

SKLAR, J. A.; WHITE, S. M. “Radiance FN: a new soft tissue filler”. *Dermatology Surgery*, v. 30, n. 5, p. 764-768, 2004.

SLOMINSKI, A.; WORTSMAN, J. “Neuroendocrinology of the skin”. *Endocrine Reviews*, v. 21, n. 5, p. 457-487, 2000.

SON, J. S.; APPLEFORD, M.; ONG, J. L.; WENKE, J. C.; KIM, J. M.; CHOI, S. H.; OH, D. S. “Porous hydroxyapatite scaffold with three-dimensional localized drug delivery system using biodegradable microspheres”. *Journal of Controlled Release*, v. 153, p. 133–140, 2011.

SONODA, K.; FURUZONO, T.; WALSH, D.; SATO, K.; TANAKA, J. “Influence of emulsion on crystal growth of hydroxyapatite”. *Solid State Ionics*, v. 151, p. 321–327, 2002.

SORREL, J. M.; CAPLAN, A. L. “Fibroblast heterogeneity: mere than skin deep”. *Journal of Cell Science*, v. 117, p. 667-675, 2004.

TAMIMI, F.; SHEIKH, Z.; BARRALET, J. “Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite”. *Acta Biomaterialia*, v. 8, n. 2, p. 474-487, 2012.

TZIKAS, T. L. “Autologous Fat Grafting for Midface Rejuvenation”. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, v. 14, p. 229–240, 2006.

VAZ, G. J. O. “Propriedades de biocerâmicas porosas de fosfato de cálcio obtidas com matérias-primas de origem orgânica e sintética”. Dissertação apresentada à rede temática em Engenharia de Materiais, UFOP/CETEC/UEMG, Belo Horizonte/MG, 2007.

WANG, J.; GAO, C.; ZHANG, Y.; WAN, Y. "Preparation and in vitro characterization of BC/PVA hydrogel composite for its potential use as artificial cornea biomaterial". *Materials Science and Engineering C*, v. 30, p. 214–218, 2010.

WILLIAMS, D. F. "Definitions in Biomaterials". *Journal of Biomechanics*, v. 22, n. 1, p. 79–151, 1989.

WOLRAICH, D.; ZUR, K. B. "Use of calcium hydroxylapatite for management of recalcitrant otorrhea due to a patulous eustachian tube". *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, v. 74, p. 1455–1457, 2010.

YE, F.; GUO, H.; ZHANG, H.; HE, X. "Polymeric micelle-templated synthesis of hydroxyapatite hollow nanoparticles for a drug delivery system". *Acta Biomaterialia*, v. 6, p. 2212–2218, 2010.

YOKOI, T.; KATO, H.; KIM, I. Y.; KIKUTA, K.; KAWASHITA, M.; OHTSUKI, C. "Synthesis of octacalcium phosphate with incorporated succinate and suberate ions". *Ceramics International*, v. 38, n. 5, p. 3815–3820, 2012.

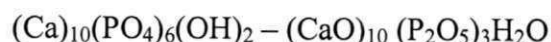
YU, J.; YANG, J.; LIU, B.; MA, X. "Preparation and characterization of glycerol plasticized-pea starch/ZnO–carboxymethylcellulose sodium nanocomposites". *Bioresource Technology*, v. 100, p. 2832–2841, 2009.

ZYMAN, Z.; ROKHMISTROV, D.; GLUSHKO, V. "Structural changes in precipitates and cell model for the conversion of amorphous calcium phosphate to hydroxyapatite during the initial stage of precipitation". *Journal of Crystal Growth*, v. 353, n. 1, p. 5–11, 2012.

APÊNDICE A - Cálculos do percentual teórico da hidroxiapatita de cálcio (HAp)

1ª Etapa:

Com base nos dados das massas molares de cada componente, calculou-se a massa molecular total da hidroxiapatita de cálcio $(Ca)_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, como descrito abaixo.



$$CaO = 1 \text{ mol } (40,078 + 15,999) \text{ g/mol} = 56,077 \times 10 = 560,77 \text{ g/mol.}$$

$$P_2O_5 = 1 \text{ mol } (2 \times 30,9737 + 5 \times 15,999) \text{ g/mol} = 141,9424 \times 3 = 425,8272 \text{ g/mol}$$

$$H_2O = 1 \text{ mol } (2 \times 1,00794 + 15,999) \text{ g/mol} = 18,0148 \text{ g/mol}$$

$$M_t = 1004,612 \text{ g/mol}$$

2ª Etapa:

Calcula-se o valor percentual de cada óxido que compõem a composição da hidroxiapatita de cálcio.

Onde:

$$\% X_O = \frac{M_x}{M_t} \cdot 100$$

$\%X_O$ = percentual do óxido

M_x = massa do óxido

M_t = massa total da composição

Logo temos os seguintes resultados:

$$\text{Para CaO: } \% X_O = \frac{560,77 \text{ g/mol}}{1004,612 \text{ g/mol}} \cdot 100 = 55,83$$

$$\text{Para } P_2O_5: \% X_O = \frac{425,8272 \text{ g/mol}}{1004,612 \text{ g/mol}} \cdot 100 = 42,38$$

$$\text{Para } H_2O: \% X_O = \frac{18,0148 \text{ g/mol}}{1004,612 \text{ g/mol}} \cdot 100 = 1,79$$

ANEXO A – Figura A1-Descrição técnica do produto comercial padrão adotado.

MINIBULA RADIESSE®. Descrição: O implante injetável RADIESSE® consiste em um implante subdérmico e profundo, totalmente biodegradável. Apresentação: Seringa preenchida com 0,8 cc, 1,3cc ou 1,5cc de RADIESSE® implante injetável (uma unidade). RADIESSE® implante injetável consiste em aproximadamente 30% de hidroxapatita de cálcio por volume e 70% de gel como veículo por volume. Composto por: microesferas de hidroxapatita de cálcio (diâmetro: 25-45 micron), água estéril para injeção (USP), glicerina (USP), carboximetilcelulose de sódio (USP). Indicações: O implante injetável RADIESSE® é indicado para cirurgia plástica e reconstrutiva, incluindo o preenchimento profundo dos tecidos moles dérmicos e subdérmicos da área facial, e para o rejuvenescimento da mão. Contraindicações: RADIESSE® implante injetável é contraindicado nos seguintes casos: presença de inflamação ou infecção aguda e/ou crônica na área a ser tratada; para pacientes com hipersensibilidade a qualquer dos componentes da fórmula; pacientes com predisposição a desenvolver inflamações na pele ou em pacientes com tendência a cicatrizes hipertóricas; para pacientes com distúrbios de coagulação; não deve ser implantado na epiderme ou utilizado como substituto da pele; na correção de linhas glabellares; na presença de corpos estranhos tais como silicone líquido e outras partículas; em áreas com uma quantidade inadequada de tecido saudável e extensamente vascularizado; em pacientes com distúrbios sistêmicos que provoquem diminuição da cicatrização ou deterioração do tecido sobre o implante. Advertências: RADIESSE® implante injetável não deve ser injetado em vasos sanguíneos; em pacientes em uso de ácido acetilsalicílico ou outros medicamentos que possam inibir o processo de cicatrização; como qualquer material implantável, possíveis reações adversas podem ocorrer, incluindo, mas não se limitando a estes: inflamação, infecção, formação de fistulas, extrusão, hematoma, seroma, endurecimento, cicatrização inadequada, descoloração da pele e preenchimento inadequado ou excessivo. Precauções: Reações, incluindo eritema, edema, dor, prurido, descoloração ou sensibilidade, podem ocorrer no local da injeção. Esses sintomas normalmente desaparecem espontaneamente em um ou dois dias após a aplicação. Se o tratamento com laser, peeling químico, ou outros procedimentos com base na resposta dérmica ativa, for considerado após o tratamento com RADIESSE® existe um possível risco de estimular uma reação inflamatória no local do implante. O conteúdo da seringa é indicado para apenas um paciente e não pode ser reesterilizado. Armazenamento: A embalagem de RADIESSE® implante injetável deve ser armazenada em local com temperatura controlada, entre 15°C e 32°C. Não use o produto com a data de validade expirada. Esta data está impressa no rótulo do produto. Descarte: seringas e agulhas usadas ou parcialmente usadas podem ser potencialmente contaminantes e devem ser manuseadas e descartadas de acordo com as práticas médicas seguindo regulamentações oficiais. Fabricado por: Merz Aesthetics, Inc. 4133 Courtney Road, Suite 10 - Franksville, WI 53126 U.S.A. Importado e distribuído por: VR Medical Importadora e Distribuidora de Produtos Médicos Ltda Rua Batataes, 391, conj. 11, 13 e 8º andar, Jardim Paulista, São Paulo – SP- CEP 01423-010/ CNPJ: 04.718.143/0001-94 SAC 0800-7703661. Resp. Técnica: Cristiane Aparecida de Oliveira Aguirre - CRF/SP 21079. Reg. ANVISA 80102510765.

Contraindicações: RADIESSE® implante injetável é contraindicado nos casos de presença de inflamação ou infecção aguda e/ou crônica na área a ser tratada; pacientes com hipersensibilidade a qualquer componente da fórmula. Cuidados: RADIESSE® implante injetável não pode ser injetado em vasos sanguíneos; em pacientes em uso de ácido acetilsalicílico, ou outros medicamentos que possam inibir o processo de cicatrização.

Técnica: Cristiane Aparecida de Oliveira Aguirre

Contraindicações: RADIESSE® implante injetável é contraindicado nos casos de presença de inflamação ou infecção aguda e/ou crônica na área a ser tratada; pacientes com hipersensibilidade a qualquer componente da fórmula. Cuidados: RADIESSE® implante injetável não pode ser injetado em vasos sanguíneos; em pacientes em uso de ácido acetilsalicílico, ou outros medicamentos que possam inibir o processo de cicatrização.

SAC
0800-7703661
www.merzbiolab.com.br

Maio/2012

MERZ-BIOLAB
shaping the future

ANEXO B – Reagentes utilizados na obtenção da hidroxiapatita de cálcio (HAp)**1) Hidróxido de cálcio**

Fabricante: Vetec Química Fina

Nome: Hidróxido de cálcio PA

Fórmula química: Ca(OH)_2

Código: 363 ONU 3262

Especificações: Sólido Corrosivo, Básico, Orgânico, N.E.

Conteúdo: 1000 mg

Boletim de Garantia: Teor Ca(OH)_2 Min 95,0%

Teor de CaCO_3 Máx 3,0%

Insolúvel em HCl Máx 0,1%

Cloreto (Cl) Máx 0,03%

Compostos sulfurados com (SO_4) Máx 0,1%

Metais pesados Máx 0,003%

Ferro (Fe) Máx 0,05%

Magnésio e sais básicos (como sulfatos) Máx 1,0 %

2) Ácido fosfórico

Fabricante: Vetec Química Fina

Nome: Ácido Fosfórico PA ACS ISSO

Fórmula química: H_3PO_4

Código: 1529 ONU 1805

Especificações: Ácido, Líquido.

Conteúdo: 1000 mL

Boletim de garantia: Dosagem Min 85 %

Cloreto (Cl) Máx 0,0003%

Sulfato (SO_4) Máx 0,005%

Arsênio (As) Máx 0,0001%

Cádmio (Cd) Máx 0,0005%

Cobre (Cu) Máx 0,0005%

Ferro (Fe) Máx 0,001%

Chumbo (Pb) Máx 0,001%

Manganês (Mn) Máx 0,0005%

Níquel (Ni) Máx 0,0005%

Potássio (K) Máx 0,005%

Sódio (Na) Máx 0,05%

Zinco (Zn) Máx 0,001%

Ácidos voláteis (m Mol H⁺) Máx 0,02/100g

ANEXO C – Fichas cristalográficas e dados com o tamanho de cristalito para as amostras estudadas

a) Fichas cristalográficas das amostras **HC, HC9, RD, GHC e GHC9**

Ficha cristalográfica HAP

| 89-6437 | | Wavelength= 1.54060 | | | | | | | | | | C | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|---------------------|-----|---|---|---|------------|-----|---|---|---|---|--|--------|------|---|---|---|--------|-----|---|---|---|--|--|--|
| Ca ₁₀ O ₄₂ (PO ₄) ₅ OH ₂ 2.292 | | 2 θ | Int | h | k | l | 2 θ | Int | h | k | l | | | | | | | | | | | | | | | |
| Calcium Phosphate Hydroxide | | | | | | | | | | | | | | 10.850 | 187 | 1 | 0 | 0 | 46.729 | 278 | 2 | 2 | 2 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 16.840 | 35 | 1 | 0 | 1 | 48.120 | 109 | 1 | 3 | 2 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 18.850 | 35 | 1 | 1 | 0 | 48.674 | 39 | 2 | 3 | 0 | | | |
| Hydroxylapatite, syn | | | | | | | | | | | | | | 21.799 | 84 | 2 | 0 | 0 | 49.474 | 304 | 2 | 1 | 3 | | | |
| Rad.: CuK α λ : 1.54060 Filter: d-sp: Calculated | | | | | | | | | | | | | | 22.874 | 82 | 1 | 1 | 1 | 50.555 | 146 | 3 | 2 | 1 | | | |
| Cut off: 17.7 Int.: Calculated I/lor.: 1.08 | | | | | | | | | | | | | | 25.380 | 19 | 2 | 0 | 1 | 51.348 | 105 | 1 | 4 | 0 | | | |
| Ref: Calculated from ICSD using POWD-12++ | | | | | | | | | | | | | | 25.846 | 355 | 0 | 0 | 2 | 52.125 | 115 | 3 | 0 | 3 | | | |
| Ref: Wilson, R.M., Elliott, J.C., Dowker, S.E.P., Am. Mineral. 84, 1406 (1999) | | | | | | | | | | | | | | 28.104 | 85 | 1 | 0 | 2 | 52.125 | | 4 | 0 | 2 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 26.971 | 188 | 2 | 1 | 0 | 53.139 | 136 | 0 | 0 | 4 | | | |
| Sys.: Hexagonal S.G.: P6 ₃ /m (176) | | | | | | | | | | | | | | 31.804 | 999* | 2 | 1 | 1 | 53.139 | 136 | 4 | 1 | 1 | | | |
| a: 9.4081(5) b: c: 6.8887(4) A: C: 0.7322 | | | | | | | | | | | | | | 32.184 | 508 | 1 | 1 | 2 | 54.409 | 10 | 1 | 0 | 4 | | | |
| α : β : γ : Z: 1 mp: | | | | | | | | | | | | | | 32.954 | 585 | 3 | 0 | 0 | 55.923 | 49 | 3 | 2 | 2 | | | |
| Ref: Ibid. | | | | | | | | | | | | | | 34.059 | 201 | 2 | 0 | 2 | 56.421 | 1 | 6 | 0 | 0 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 35.501 | 36 | 3 | 0 | 1 | 56.890 | 2 | 1 | 1 | 4 | | | |
| Dx: 3.166 Dm: | | | | | | | | | | | | | | 38.235 | 2 | 2 | 2 | 0 | 57.144 | 29 | 3 | 1 | 3 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 39.210 | 41 | 2 | 1 | 2 | 58.124 | 20 | 2 | 0 | 4 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 39.861 | 216 | 1 | 3 | 0 | 58.124 | | 5 | 0 | 1 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 40.494 | 23 | 2 | 2 | 1 | 58.361 | 11 | 4 | 1 | 2 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 40.795 | 5 | 1 | 0 | 3 | 58.846 | 9 | 3 | 3 | 0 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 42.047 | 56 | 1 | 3 | 1 | 60.036 | 43 | 2 | 4 | 0 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 42.347 | 17 | 3 | 0 | 2 | 60.507 | 32 | 3 | 3 | 1 | | | |
| Peak height intensity. R-factor: 0.095. PSC: hP44.39. At least one TF missing. At least one SOf implausible. Mwt: 1006.73. Volume[CD]: 528.05. | | | | | | | | | | | | | | 43.838 | 44 | 1 | 1 | 3 | 60.731 | 17 | 4 | 0 | 3 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 44.441 | 11 | 4 | 0 | 0 | 61.658 | 62 | 1 | 2 | 4 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | 45.298 | 38 | 2 | 0 | 3 | 61.658 | 62 | 2 | 4 | 1 | | | |

Dados com o tamanho de cristalito **HC**

| No. | 2Theta | d | Cristalito | FWHM | Microdeformação |
|-----|---------|---------|------------|-------|-----------------|
| 01 | 10.7817 | 8.19910 | 0.3315 | 25.67 | 0.015015 |
| 02 | 16.8250 | 5.26525 | 0.2900 | 29.71 | 0.008328 |
| 03 | 21.7691 | 4.07932 | 0.2582 | 33.90 | 0.005656 |
| 04 | 22.8384 | 3.89068 | 0.2769 | 31.53 | 0.005800 |
| 05 | 25.8340 | 3.44593 | 0.2437 | 36.41 | 0.004448 |
| 06 | 26.4512 | 3.36690 | 0.3725 | 23.29 | 0.006796 |
| 07 | 28.0747 | 3.17578 | 0.2470 | 36.10 | 0.004134 |
| 08 | 28.9289 | 3.08392 | 0.2811 | 31.49 | 0.004603 |
| 09 | 30.1960 | 2.95734 | 0.2021 | 45.43 | 0.003060 |
| 10 | 31.1800 | 2.86621 | 0.2100 | 43.64 | 0.003087 |
| 11 | 31.7698 | 2.81434 | 0.3107 | 28.54 | 0.004634 |
| 12 | 32.1600 | 2.78107 | 0.2682 | 33.44 | 0.003909 |
| 13 | 32.8949 | 2.72060 | 0.3044 | 29.27 | 0.004368 |
| 14 | 34.0298 | 2.63242 | 0.2480 | 36.64 | 0.003377 |
| 15 | 35.4450 | 2.53049 | 0.2700 | 33.57 | 0.003542 |
| 16 | 39.2026 | 2.29616 | 0.3081 | 29.55 | 0.003652 |
| 17 | 39.8016 | 2.26297 | 0.3367 | 26.95 | 0.003946 |
| 18 | 41.9800 | 2.15044 | 0.3200 | 28.70 | 0.003522 |
| 19 | 43.7986 | 2.06528 | 0.2348 | 40.68 | 0.002386 |
| 20 | 45.2787 | 2.00115 | 0.2625 | 36.16 | 0.002601 |
| 21 | 46.6695 | 1.94470 | 0.2882 | 32.84 | 0.002783 |
| 22 | 48.0698 | 1.89127 | 0.2890 | 32.98 | 0.002695 |
| 23 | 48.5600 | 1.87332 | 0.3360 | 28.07 | 0.003136 |
| 24 | 49.4369 | 1.84212 | 0.2977 | 32.16 | 0.002692 |
| 25 | 50.4874 | 1.80623 | 0.2909 | 33.18 | 0.002558 |
| 26 | 51.2684 | 1.78053 | 0.3187 | 30.15 | 0.002776 |
| 27 | 52.0471 | 1.75571 | 0.2818 | 34.69 | 0.002379 |

| | | | | | |
|--|---------|---------|--------|-------|----------|
| 28 | 53.1190 | 1.72278 | 0.2643 | 37.55 | 0.002156 |
| 29 | 55.8504 | 1.64482 | 0.2542 | 40.03 | 0.001931 |
| 30 | 57.0875 | 1.61208 | 0.2250 | 46.84 | 0.001618 |
| 31 | 59.9614 | 1.54150 | 0.3571 | 28.05 | 0.002583 |
| 32 | 61.6106 | 1.50413 | 0.2863 | 36.37 | 0.001944 |
| 33 | 62.9760 | 1.47477 | 0.2960 | 35.37 | 0.001960 |
| 34 | 64.0069 | 1.45348 | 0.4111 | 24.72 | 0.002764 |
| 35 | 65.0538 | 1.43260 | 0.3610 | 28.70 | 0.002346 |
| 36 | 71.6523 | 1.31601 | 0.3526 | 31.05 | 0.001992 |
| 37 | 73.9263 | 1.28106 | 0.3007 | 38.30 | 0.001572 |
| 38 | 75.4755 | 1.25856 | 0.2824 | 42.15 | 0.001404 |
| 39 | 77.0264 | 1.23704 | 0.3772 | 30.16 | 0.001927 |
| 40 | 78.1783 | 1.22167 | 0.2767 | 44.72 | 0.001284 |
| 41 | 84.2130 | 1.14883 | 0.2740 | 49.33 | 0.001094 |
| Tamanho Médio de Cristalito $\langle D \rangle = 34.10 \text{ nm}$ | | | | | |
| Microdeformação Média $\langle \epsilon \rangle = 0.003475 \%$ | | | | | |

Dados com o tamanho de cristalito HC9

| No. | 2Theta | d | FWHM | Cristalito | Microdeformação |
|-----|---------|---------|--------|------------|-----------------|
| 01 | 10.6200 | 8.32357 | 0.1000 | 111.81 | 0.003499 |
| 02 | 10.7723 | 8.20623 | 0.2199 | 39.77 | 0.009698 |
| 03 | 13.5934 | 6.50884 | 0.1632 | 56.05 | 0.005458 |
| 04 | 16.8200 | 5.26680 | 0.2960 | 29.08 | 0.008513 |
| 05 | 16.9600 | 5.22364 | 0.3022 | 28.46 | 0.008627 |
| 06 | 21.7345 | 4.08573 | 0.1975 | 45.51 | 0.004220 |
| 07 | 22.7870 | 3.89934 | 0.1780 | 51.41 | 0.003565 |
| 08 | 25.8070 | 3.44947 | 0.1848 | 49.63 | 0.003266 |
| 09 | 27.8200 | 3.20428 | 0.2046 | 44.44 | 0.003389 |
| 10 | 28.0400 | 3.17963 | 0.1756 | 53.09 | 0.002815 |
| 11 | 28.8667 | 3.09043 | 0.1901 | 48.51 | 0.002994 |
| 12 | 31.1072 | 2.87276 | 0.3009 | 29.47 | 0.004581 |
| 13 | 31.7150 | 2.81907 | 0.1802 | 52.22 | 0.002537 |
| 14 | 32.1261 | 2.78393 | 0.1729 | 54.98 | 0.002380 |
| 15 | 32.8524 | 2.72402 | 0.1809 | 52.24 | 0.002451 |
| 16 | 34.0030 | 2.63443 | 0.1769 | 53.94 | 0.002295 |
| 17 | 34.3600 | 2.60788 | 0.1688 | 57.23 | 0.002142 |
| 18 | 34.5400 | 2.59470 | 0.1928 | 48.81 | 0.002498 |
| 19 | 35.3981 | 2.53374 | 0.2896 | 31.13 | 0.003826 |
| 20 | 39.1465 | 2.29932 | 0.1758 | 55.88 | 0.001934 |
| 21 | 39.7587 | 2.26532 | 0.1838 | 53.09 | 0.002006 |
| 22 | 41.9473 | 2.15205 | 0.1747 | 57.34 | 0.001764 |
| 23 | 43.7960 | 2.06539 | 0.1920 | 51.59 | 0.001882 |
| 24 | 45.2788 | 2.00114 | 0.1730 | 59.49 | 0.001581 |
| 25 | 46.4400 | 1.95377 | 0.1028 | 158.30 | 0.000580 |
| 26 | 46.6489 | 1.94551 | 0.1800 | 57.10 | 0.001601 |
| 27 | 47.1040 | 1.92777 | 0.1920 | 52.78 | 0.001717 |
| 28 | 48.0345 | 1.89257 | 0.1849 | 55.75 | 0.001595 |
| 29 | 48.5587 | 1.87336 | 0.2308 | 42.67 | 0.002064 |
| 30 | 49.4261 | 1.84250 | 0.1787 | 58.98 | 0.001468 |
| 31 | 50.4459 | 1.80761 | 0.1672 | 65.23 | 0.001303 |
| 32 | 51.2283 | 1.78183 | 0.1934 | 54.00 | 0.001551 |
| 33 | 52.0321 | 1.75618 | 0.1958 | 53.51 | 0.001543 |
| 34 | 53.1289 | 1.72248 | 0.2085 | 49.85 | 0.001624 |
| 35 | 55.8297 | 1.64538 | 0.2155 | 48.91 | 0.001581 |
| 36 | 57.0828 | 1.61220 | 0.1613 | 74.52 | 0.001017 |
| 37 | 59.8988 | 1.54296 | 0.1957 | 57.80 | 0.001255 |
| 38 | 61.5940 | 1.50450 | 0.2254 | 48.68 | 0.001453 |
| 39 | 62.9490 | 1.47533 | 0.1769 | 69.90 | 0.000992 |
| 40 | 63.9400 | 1.45484 | 0.1718 | 74.54 | 0.000917 |
| 41 | 64.1000 | 1.45159 | 0.2040 | 57.23 | 0.001192 |
| 42 | 64.9821 | 1.43400 | 0.1758 | 72.92 | 0.000924 |
| 43 | 66.3630 | 1.40747 | 0.1711 | 78.37 | 0.000844 |

| | | | | | |
|--|---------|---------|--------|--------|----------|
| 44 | 71.5822 | 1.31713 | 0.1956 | 68.07 | 0.000909 |
| 45 | 72.2373 | 1.30679 | 0.1746 | 85.37 | 0.000719 |
| 46 | 73.9791 | 1.28027 | 0.1868 | 77.51 | 0.000776 |
| 47 | 75.5483 | 1.25753 | 0.2021 | 69.18 | 0.000854 |
| 48 | 77.0000 | 1.23740 | 0.2436 | 52.58 | 0.001106 |
| 49 | 77.1600 | 1.23523 | 0.1622 | 122.30 | 0.000475 |
| 50 | 78.1689 | 1.22180 | 0.1902 | 82.54 | 0.000696 |
| 51 | 83.3605 | 1.15839 | 0.1669 | 159.82 | 0.000341 |
| 52 | 84.2546 | 1.14836 | 0.2147 | 74.79 | 0.000722 |
| Tamanho Médio de Cristalito $\langle D \rangle = 62.28$ nm | | | | | |
| Microdeformação Média $\langle e \rangle = 0.002303$ % | | | | | |

Dados com o tamanho de cristalito RD

| No. | 2Theta | d | FWHM | Cristalito | Microdeformação |
|--|---------|---------|--------|------------|-----------------|
| 04 | 25.9429 | 3.43171 | 0.1645 | 57.00 | 0.002830 |
| 06 | 29.0200 | 3.07445 | 0.1248 | 83.18 | 0.001737 |
| 07 | 31.8594 | 2.80663 | 0.1380 | 73.35 | 0.001798 |
| 08 | 32.2724 | 2.77164 | 0.1342 | 76.45 | 0.001704 |
| 09 | 33.0007 | 2.71212 | 0.1333 | 77.55 | 0.001644 |
| 10 | 34.1407 | 2.62412 | 0.1329 | 78.51 | 0.001571 |
| 13 | 39.9017 | 2.25753 | 0.1470 | 71.07 | 0.001493 |
| 19 | 46.7953 | 1.93976 | 0.1468 | 75.96 | 0.001200 |
| 20 | 48.1747 | 1.88739 | 0.1461 | 77.73 | 0.001141 |
| 22 | 49.5721 | 1.83741 | 0.1396 | 85.20 | 0.001014 |
| 23 | 50.5925 | 1.80272 | 0.1275 | 102.35 | 0.000828 |
| 24 | 51.3672 | 1.77734 | 0.1421 | 84.79 | 0.000985 |
| 25 | 52.1831 | 1.75145 | 0.1488 | 79.40 | 0.001037 |
| 26 | 53.2811 | 1.71792 | 0.1318 | 100.77 | 0.000801 |
| 33 | 63.1133 | 1.47189 | 0.1280 | 146.78 | 0.000471 |
| 34 | 64.0800 | 1.45200 | 0.1440 | 106.90 | 0.000638 |
| 36 | 65.1410 | 1.43089 | 0.1455 | 107.42 | 0.000626 |
| Tamanho Médio de Cristalito $\langle D \rangle = 87.32$ nm | | | | | |
| Microdeformação Média $\langle e \rangle = 0.001266$ % | | | | | |