

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS

DESENVOLVIMENTO DE CIMENTOS ÓSSEOS À BASE DE BIOSILICATO

Caroline Vital Rosa Machado

São Carlos
2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS

DESENVOLVIMENTO DE CIMENTOS ÓSSEOS À BASE DE BIOSILICATO

Caroline Vital Rosa Machado

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

Orientador: Prof. Dr. Edgar Dutra Zanotto

Coorientador: Prof. Dr. Murilo Camuri Crovace

São Carlos

2020

DEDICATÓRIA

Aos meus pais e à minha irmã.

VITAE DA CANDIDATA

Bacharelado em Bacharelado em Química com Habilitação em Química de
Materiais pela Universidade de São Paulo (2016)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Caroline Vital Rosa Machado, realizada em 27/03/2020.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Edgar Dutra Zanotto (UFSCar)

Profa. Dra. Ana Candida Martins Rodrigues (UFSCar)

Prof. Dr. Eduardo Bellini Ferreira (USP)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais (Jonas, Zilma e Marcia) por terem se esforçado tanto para me oferecer a ótima educação que juntamente com minha irmã Maria Fernanda, acreditarem nos meus sonhos e me apoiarem todo o tempo.

Ao LaMaV/UFSCar e todos os colegas de trabalho, doutorandos, mestrandos e alunos de iniciação científica que de alguma forma contribuíram para as discussões e auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos LaMaVianos pelas conversas agradáveis, apoio e discussões.

Ao Professor Dr. Rafael Salomão pelas dicas e discussões.

Ao Professor Dr. Oscar Peitl pelas discussões, dicas e preparo de moldes dispositivos que foram essenciais para o andamento desta tese.

Aos Professores Dr. Edgar Dutra Zanotto e Dr. Murilo Camuri Crovace pela orientação e apoio concedidos durante a realização deste trabalho.

Aos funcionários do LaMaV/PPGCEM em especial à assistente administrativa Laurie Leonardo e o técnico José da Silva pela inestimável assistência e colaboração em todos os momentos que precisei.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

E aos que me auxiliaram e me apoiaram e que porventura eu não tenha citado!

Obrigada!

RESUMO

Enxertos sintéticos têm importante papel nos cuidados da saúde humana, especialmente em cirurgias de reconstrução óssea. Além de serem usados em ortopedia, enxertos ósseos também são utilizados em cirurgias bucomaxilofaciais. No final da década de 1980, cimentos ósseos, na forma granulada ou de blocos, surgiram como uma alternativa para enxertos. Os cimentos ósseos apresentam vantagens como moldabilidade à região da fratura ou lesão e possibilidade de tratamento de fraturas cominutivas, além de permitir um procedimento cirúrgico minimamente invasivo. Neste trabalho foram desenvolvidas novas composições de cimentos ósseos, que combinam boa resistência mecânica e bioatividade, com boa trabalhabilidade e tempo de cura entre 5 e 20 minutos. Para atingir esse objetivo, foram combinados o vitrocerâmico biotivo Biosilicato[®] (desenvolvido no LaMaV/UFSCar) e diferentes tipos de fosfatos. Análises de Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Infravermelho foram utilizadas como ferramentas de controle da formação de hidroxicarbonato apatita (HCA) após a exposição de amostras à uma solução de SBF-K9 (*Simulated Body Fluid*). As fases cristalinas formadas foram identificadas por Difração de Raios X. Adicionalmente, ensaios de flexão biaxial foram conduzidos para caracterizar a resistência à fratura dos compósitos. A bioatividade dos cimentos foi avaliada por testes de bioatividade *in vitro*, baseada em análises por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (*FTIR*), que confirmaram a formação da camada bioativa de HCA, indicando a boa bioatividade *in vitro* do material. Além disso, verificou-se que a adição de aditivos aceleradores de pega influenciou diretamente na reação dos cimentos, sendo que os corpos de prova contendo ácido clorídrico apresentaram os melhores resultados (~30 MPa após 14 dias de secagem). Notou-se também que a exposição à solução SBF-K9 não afetou drasticamente a resistência mecânica à flexão. Dessa forma, obtivemos um novo tipo de cimento com significativo potencial para uso como enxerto ósseo. Testes *in vivo* e clínicos serão necessários para a utilização em humanos.

Palavras-chave: enxerto ósseo; cimento ósseo; bioatividade; Biosilicato.

ABSTRACT

DEVELOPED OF BIOSILICATE BASED BONE CEMENT

Synthetic grafts have an important contribution to modern health care, especially in bone reconstruction surgeries. In addition orthopedics, bone grafts can also be used in maxillofacial surgery. In 1980s, bone cements emerged as an alternative to grafts in granular or block form. Bone cements have advantages, such as moldability to the fracture or injury region and possibility of treating comminuted fractures, in addition to allowing minimally invasive surgical procedures. In this work, new compositions were prepared to obtain a bone cement that combines good fracture strength and bioactivity, in addition to a good workability and setting time between 5 and 20 minutes. To achieve this goal, a bioactive glass-ceramic Biosilicate[®] (developed at LaMaV/UFSCar) and different types of phosphates were used. Scanning Electron Microscopy (SEM) analyses were used as a tool to control the formation of hydroxycarbonate apatite (HCA) after exposing the samples to a SBF-K9 (Simulated Body Fluid) solution. The crystalline phases formed were identified by X-ray Diffraction. Additionally, biaxial flexion tests were conducted to obtain the fracture resistance. The bioactivity of the cements was evaluated by *in vitro* bioactivity tests, followed by Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FTIR) analysis, confirmed the formation of a HCA bioactive layer, indicating the good *in vitro* bioactivity of the material. It was also found that the addition of additives influenced directly in the cement reactions, and that the sample containing hydrochloric acid showed the best results (~ 30 MPa after 14 days of setting). Exposure to the SBF-K9 solution did not drastically affect the fracture strength. Thus, a new cement with great potential for use as bone graft was developed in this work. *In vivo* and clinical tests will be necessary before commercial production and application in humans.

Key-words: bone graft; bone cement; bioactivity; Biosilicate.

ÍNDICE DE ASSUNTOS

	Pag.
FOLHA DE APROVAÇÃO	i
AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO.....	v
ABSTRACT	vii
ÍNDICE DE ASSUNTOS	ix
ÍNDICE DE TABELAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
SIMBOLOS E ABREVIATURAS	xvii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 Estrutura Óssea.....	5
2.2 Enxertos ósseos	8
2.3 Biomateriais.....	10
2.4 Cimentos ósseos	14
2.5 Vidros e vitrocerâmicas bioativos.....	15
2.6 O Biosilicato®	19
2.7 Cimento Fosfato de cálcio (CPC) contendo Biosilicato®	20
2.8 Novas composições contendo fosfato de sódio e potássio	21
2.9 Aspectos relevantes desta pesquisa.....	22
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivos específicos	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 Síntese e Caracterizações	26
4.1.1 Síntese do Biosilicato®	26
4.1.2 Tratamento térmico.....	26
4.1.3 Moagem da vitrocerâmica	27
4.1.4 Caracterização da Vitrocerâmica	28
4.1.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	28
4.1.4.2 Difração de raios-X (DRX).....	29
4.1.5 Medidas de distribuição de tamanho de partículas (DTP).....	30
4.1.6 Preparação do cimento.....	30
4.1.7 Tempo de pega (Vicat).....	34
4.2 Bioatividade in vitro	35
4.2.1 Preparação da solução de SBF-K9	35
4.2.2 Caracterização	38
4.2.2.1 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	38
4.2.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	39
4.3 Propriedades mecânica.....	39
4.3.1 Resistência mecânica biaxial – método Ball-on-Three-Ball (B3B)	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 Distribuição do tamanho de partículas (DTP)	44
5.2 Determinação do tempo de pega.....	47
5.3 Difração de raios X (DRX).....	52

5.4	Testes de bioatividade in vitro: análises de FTIR e MEV	55
5.5	Resistência Mecânica.....	64
6	CONCLUSÃO	71
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	73
8	REFERÊNCIAS	75

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1. Propriedades desejáveis para um cimento ósseo injetável.....	4
Tabela 4.1. Composições testadas.....	33
Tabela 4.2. Concentração de íons (mM) na solução SBF-K9 e no plasma sanguíneo humano.....	36
Tabela 4.3. Reagentes para preparação de 1 litro de solução SBF-K9.	38
Tabela 5.1. Tempos de pega inicial e final para as composições testadas	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1.(a) número de artigos e (b) patentes por ano relacionadas a cimentos ósseos à base de biovidro (Palavras-chave: bone cement; bioactive glass).	3
Figura 2.1.Corte longitudinal do osso longo.....	6
Figura 2.2. Propriedades mecânicas dos ossos cortical e trabecular.....	7
Figura 2.3. Sequência de reações interfaciais envolvidas na formação da ligação entre o osso e um vidro bioativo (Adaptado de Gehardt & Boccaccini)	16
Figura 2.4. Diagrama ternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O}$ mostrando a relação existente entre composição e índice de bioatividade.	18
Figura 4.1. Fluxograma esquemático de apresentação da metodologia.	25
Figura 4.2. Tempo de duração do tratamento térmico em função da temperatura para o surgimento da fase secundária (identificação da fase secundária realizada através de FTIR).....	27
Figura 4.3. Representação esquemática do aparelho de Vicat.	35
Figura 4.4. Representação da montagem do ensaio de bioatividade (Adaptado de Peitl).....	36
Figura 4.5. a) Aparato utilizado para o teste de flexão biaxial esfera-sobre-três-esferas (B3B), com esferas de alumina de raio de 5 mm. b) Representação esquemática do teste B3B. Neste caso, a amostra tem formato de disco, com raio R e espessura t. O raio de carga R_a é definido como a distância entre o centro da amostra e os pontos de contato com as esferas de suporte. R_a é determinado pelo raio das esferas R_B . A força F é aplicada através da esfera central, paralela ao eixo da amostra (Adaptado de Stroblet al.)	40
Figura 5.1. Ensaios realizados e amostras testadas.	43
Figura 5.2. Curva de DSC do vidro precursor do Biosilicato [®] (antes do tratamento térmico) em função da temperatura, na taxa de aquecimento de 10 °C/min (preto) e do Biosilicato [®] após tratamento térmico (vermelho).....	44

Figura 5.3. Distribuição de tamanho de partículas para Biosilicato®.....	45
Figura 5.4. Distribuição de tamanho de partículas para fosfato de potássio dibásico.....	45
Figura 5.5. Distribuição de tamanho de partículas para fosfato de potássio monobásico.....	46
Figura 5.6. Distribuição de tamanho de partículas para fosfato de sódio dibásico.....	46
Figura 5.7. Distribuição de tamanho de partículas para fosfato de sódio monobásico.....	47
Figura 5.8. Difratoograma do Biosilicato® contendo fases secundárias de $\text{Na}_6\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{18}$ e NaCaPO_4	53
Figura 5.9. Difratoogramas do sistema Biosilicato® + fosfato de sódio dibásico contendo (a) fosfato de amônio dibásico, (b) ácido cítrico, (c) hidróxido de cálcio e (d) ácido clorídrico. Para o tempo de teste de 7 e 14 dias.	54
Figura 5.10. Difratoograma da amostra contendo Biosilicato® e fosfato de sódio dibásico.....	54
Figura 5.11. Difratoograma das matérias primas puras (a) fosfato de amônio dibásico, (b) hidróxido de cálcio e (c) fosfato de sódio dibásico.....	55
Figura 5.12. Espectros de FTIR para amostras contendo ácido clorídrico como aditivo, quando expostas à solução SBF-K9 durante períodos entre 0 e 7 dias.	56
Figura 5.13. Espectro de FTIR para amostra contendo ácido clorídrico como aditivo, quando exposta à solução SBF-K9 durante período de 1 hora.	57
Figura 5.14. Espectro de FTIR para amostra contendo ácido clorídrico como aditivo, quando exposta à solução SBF-K9 durante período de 7 dias.	58
Figura 5.15. Espectros de FTIR para a amostra contendo ácido cítrico como aditivo de pega.	59
Figura 5.16. Espectros de FTIR para a amostra contendo hidróxido de cálcio como aditivo de pega.	60

- Figura 5.17. Espectros de FTIR para a amostra contendo fosfato de amônio dibásico como aditivo de pega.60
- Figura 5.18. Micrografia computadorizada da amostra contendo fosfato de amônio dibásico como aditivo para (a) 0 e (b) 7 dias de exposição à solução de SBF-K9.61
- Figura 5.19. Micrografia computadorizada da amostra contendo ácido cítrico como aditivo para (a) 0 e (b) 7 dias de exposição à solução de SBF-K9.62
- Figura 5.20. Micrografia computadorizada da amostra contendo hidróxido de cálcio como aditivo para (a) 0 e (b) 7 dias de exposição à solução de SBF-K9.62
- Figura 5.21. Micrografia computadorizada da amostra contendo ácido clorídrico como aditivo para (a) 0 e (b) 7 dias de exposição à solução de SBF-K9.63
- Figura 5.22. Resistência à flexão a temperatura ambiente dos cimentos de Biosilicato® e fosfato de sódio dibásico contendo diferentes aditivos aceleradores de pega (fosfato de amônio dibásico, ácido cítrico, hidróxido de cálcio e ácido clorídrico) para os tempos de secagem 0,7 e 14 dias.65
- Figura 5.23. Resistência à compressão de CPCs compilada a partir de diferentes estudos em função da porosidade. No gráfico menor, a curva vermelha representa uma curva de ajuste dos dados experimentais de resistência dos CPCs contendo brushita como fase principal; neste mesmo gráfico, a curva preta representa dados de resistencia dos CPCs de contendo a fase apatita; já a curva verde representa os dados de resistência dos CPCs de apatita contendo macroporos.67
- Figura 5.24. Resistência mecânica biaxial – BFS (método *pin-on-disc*) antes e depois da secagem (24h sob vácuo, à temperatura ambiente) para um cimento à base de brushita, um cimento à base de apatita e os cimentos osseos comerciais chronOS™ e Norian® SRS® (todos estes cimentos são CPC's).....68

Figura 5.25. Resistência à flexão a temperatura ambiente dos cimentos de Biosilicato® e fosfato de sódio dibásico contendo diferentes aditivos aceleradores de pega (fosfato de amônio dibásico, ácido cítrico, hidróxido de cálcio e ácido clorídrico) para os tempos de secagem de 7 dias com e sem exposição à solução SBF-K9.....69

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A: área da sombra da amostra

A_0 : área inicial da sombra da amostra

ABC: cimento acrílico

ASTM: American Society for Testing and materials

B3B: esfera-sob-três-esferas (do inglês *ball-on-three-balls*)
electron)

CIC: cimento composto

CPC: cimento de fosfato de cálcio

CSC: cimento de sulfato de cálcio

d: comprimento médio da diagonal da impressão (mm)

DEMa: Departamento de Engenharia de Materiais

DRX: Difração de Raios X

DSC: Calorimetria Diferencial Exploratória (do inglês *Differential Scanning Calorimetry*)

EDS: espectroscopia de energia dispersiva (do inglês *Energy Dispersive Spectroscopy*)

FTIR: Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

h : altura da amostra

HA: Hidroxiapatita

HCA: Hidroxicarbonato apatita

I(T): taxas de nucleação

I_B : índice de bioatividade

ISO: International Organization for Standardization

JCPDS: *Joint Committe on Power Diffraction Standards*

K_{1c} : tenacidade à fratura

LaMaV: Laboratório de Materiais Vítreos

LCE: Laboratório de Caracterização Estrutural

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

m_s : massa da amostra seca

m_{st} : massa da amostra saturada

PMMA: polimetilmetacrilato

R: raio

R_B: raio de carga

S_{fb}: resistência à flexão

SBF: fluido corporal simulado (do inglês *Simulated Body Fluid*)

T: temperatura

t: tempo

TBS: tris(hidroximetil) aminometano

TCP: fosfato de tricálcio

T_g: Temperatura de transição vítrea

TG: Termogravimetria

T_{melt}: Temperatura de fusão (do inglês *melting point*)

UFSCar: Universidade Federal de São Carlos

VC: Vitrocerâmicas

1 INTRODUÇÃO

Biomateriais têm sido utilizados há milhares de anos para tratar e aumentar a eficiência ou substituir sistemas biológicos do corpo humano. Biomateriais são definidos como "materiais destinados a interagir com sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo"^[1].

Com a Revolução Industrial, as técnicas de desenvolvimento desses materiais foram aprimoradas. Atualmente, esse é um campo que tem uma importante contribuição nos cuidados de saúde modernos, especialmente, nas doenças músculo-esqueléticas, tais como a osteoporose ou microfraturas, associadas ao envelhecimento da população. Os biomateriais são muito utilizados na cirurgia de reconstrução óssea, visto que, sob a perspectiva da saúde, biomateriais possuem algumas propriedades que os tornam adequados para ficarem em contato com tecidos vivos sem provocar rejeição, inflamação ou necrose^[2]. Contudo, além de serem usados na ortopedia, os enxertos ósseos também podem ser utilizados em cirurgias bucomaxilofaciais^[3].

Desde a descoberta dos biomateriais, tem havido um crescente progresso nesta área, com constante desenvolvimento das tecnologias médicas terapêuticas e dispositivos de implante ^[2,4]. Com o passar das décadas, a pesquisa e o desenvolvimento dos materiais passaram a considerar aqueles que interagem com o ambiente biológico. De 1950 a 1975, o desenvolvimento dos biomateriais foi dominado pela obtenção de materiais destinados a próteses e dispositivos médicos, levando-se em consideração apenas a integridade do material a longo prazo. As interações biológicas, ou seja, a possível toxicidade do material a reposta inflamatória decorrente de sua implantação e sua interferência no processo de cicatrização, não eram priorizadas^[5]. Atualmente, os métodos tradicionais para reparação de defeitos ósseos incluem autoenxerto (proveniente do próprio paciente) e aloenxerto (proveniente de um doador) do osso esponjoso, com remoção de enxertos vascularizados da fíbula ou da crista ilíaca. Muitas complicações pós-cirúrgicas estão associadas à utilização de enxertos autógenos e alógenos, tais como a morbidade da área doadora, aumento do risco de infecção e transmissão de doenças^[6].

Cimentos ósseos, também utilizados como enxertos, são biomateriais sintéticos que têm por função preencher pequenos defeitos da estrutura óssea. Atualmente, existem quatro classes de cimentos ósseos: cimentos acrílicos (ABCs), cimentos de fosfato de cálcio (CPCs), cimentos de sulfato de cálcio (CSCs) e cimentos compostos (CICs). Todos estes são eficientes em termos de preenchimento, porém existe uma série de limitações, como a toxicidade do material, a reação exotérmica durante a pega, o que pode gerar necrose no local implantado, e a diminuição da resistência mecânica, devido à degradação do material, visto que os materiais disponíveis são pouco resistentes ao ataque químico sofrido, em contato com os fluidos corporais. Além disso, esses cimentos apresentam baixa bioatividade.

Para suprir estas necessidades, cimentos injetáveis compostos à base de biovidros (altamente bioativos) estão sendo desenvolvidos para uso como enxertos ósseos. Devido à similaridade química com a estrutura óssea, o vidro bioativo tem a capacidade de reagir com os fluidos corporais e converter a hidroxiapatita, proveniente do osso, e, assim, formar uma forte ligação entre o osso e os tecidos moles^[7]. O biovidro revolucionou a área da saúde e o avanço dos biomateriais com o aumento do campo de aplicação dos vidros e suas respectivas vitrocerâmicas. O Bioglass® 45S5 foi descoberto por Larry L. Hench, e este foi o primeiro material vítreo a formar ligação química com o tecido ósseo^[8]. Este biomaterial, à base de cálcio, fosfato de sódio e sílica, estimula a formação de hidroxiapatita, que cresce como aglomerados policristalinos, vinculando a superfície inorgânica do implante aos constituintes orgânicos do tecido. A velocidade de formação da hidroxiapatita é diretamente dependente do nível de bioatividade do material^[9].

Quando comparados com outras cerâmicas bioativas baseadas em fosfatos de cálcio (por ex.: Hidroxiapatita – HA ou Fosfato de Tricálcio – β -TCP), vidros e vitrocerâmicas bioativas possuem uma maior capacidade de regenerar o tecido ósseo. Esse fato é atribuído à composição química, que possui sílica solúvel e íons de cálcio e fósforo, que tornam o material não apenas da interface osso/implante, mas também osteoindutor, que induz a diferenciação de células estimulando o desenvolvimento de novas células no interior do implante^[8,10].

Com o aumento das possibilidades de aplicações clínicas dos vidros bioativos, as limitações desses materiais estão se tornando aparentes, em especial as propriedades mecânicas. O Bioglass® 45S5, apesar de demonstrar excelentes propriedades bioativas, apresenta baixa resistência mecânica. Por exemplo, o módulo elástico (50 GPa) é superior ao do osso cortical humano (7-30 GPa), enquanto que a tenacidade à fratura ($K_{IC} = 0,5 \text{ MPa m}^{1/2}$) é bem inferior à do osso cortical (2-12 $\text{MPa m}^{1/2}$). Esses fatores tornam o Bioglass® 45S5 inadequado na substituição de tecidos ósseos que suportam altas cargas, como os ossos tibiais e femorais^[11]. Como consequência, novas composições de biovidros estão sendo desenvolvidas^[12]. Como pode ser observado na Figura 1.1, esta é uma área com um futuro promissor, apresentando crescente número de trabalhos publicados. Phillips et al.^{[13],[14]}, identificaram as principais propriedades desejadas para cimentos ósseos injetáveis (Tabela 1.1). Porém, é de comum acordo que as mais importantes são fácil injetabilidade, alta radiopacidade, coesão apropriada, taxa de reabsorção nem muito alta ou muito baixa e resistência à compressão similar a do osso cortical humano (aproximadamente 120 MPa).

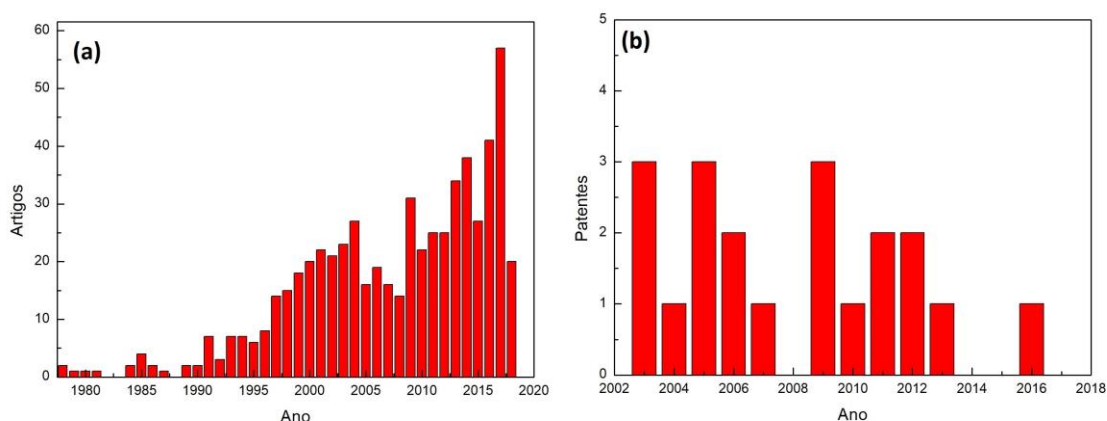


Figura 1.1 - (a) Número de artigos e (b) patentes por ano relacionadas a cimentos ósseos à base de biovidro ^[9] (Palavras-chave: bone cement; bioactive glass).

Com o objetivo de investigar possíveis candidatos para uma nova formulação de um cimento ósseo injetável à base de biovidro, foi proposta neste

trabalho de mestrado uma avaliação de diferentes composições não patenteadas e que satisfaçam as propriedades citadas na Tabela 1.1. Para atingir estes objetivos, diferentes composições vítreas baseadas no sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ foram preparadas e analisadas quanto ao tempo de pega seguindo uma adaptação da norma ASTM C191-92 (*AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS*) – *Standard Test Methods for Time of Setting of Hydraulic Cement by Vicat Needle*. A cristalização da vitrocerâmica foi controlada por meio de tratamentos térmicos, visando o aumento da resistência mecânica e da tenacidade à fratura, além de melhor bioatividade em relação às vitrocerâmicas bioativas comerciais.

A bioatividade das vitrocerâmicas foi avaliada por meio de testes de bioatividade *in vitro*, realizados com uma solução de SBF-K9 (*Simulated Body Fluid*). A caracterização das fases cristalinas resultantes da reação química foi analisada empregando-se difratometria de raios X (DRX).

Tabela 1.1 - Propriedades ideais de um cimento ósseo injetável.

• Alta radiopacidade	• Fácil preparação e manuseio	• Fácil injetabilidade	• Temperatura de pega abaixo de 43°C
• Tempo de pega final de ~ 15 minutos	• Trabalhabilidade de ~ 10 minutos	• Macroporosidade (>50nm)	• Microporosidade (< 2nm)
• Atóxico	• Excelente osteocondutividade	• Excelente osteoindução	
• Ser gradualmente substituído pelo novo tecido ósseo formado, ou seja, ser absorvível		• Resistência à compressão similar ao osso cortical humano (120 MPa)	

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Estrutura Óssea

A formação do tecido esquelético inicia-se durante as primeiras semanas de vida intra-uterina e continua se desenvolvendo, remodelando-se e desempenhando funções estruturais e metabólicas durante toda a vida do indivíduo. O tecido ósseo tem como funções a sustentação do corpo, proteção dos órgãos internos, produção de células sanguíneas, locomoção e armazenamento de minerais e íons. Os ossos do corpo humano, cerca de 208 em um corpo adulto, estão interligados gerando alavancas para o sistema muscular, possibilitando que diversos movimentos sejam executados^[15].

Cerca de 35% do tecido ósseo é de origem orgânica (sendo 30% de colágeno do tipo I e 5% de fibras não colagenosas) e 65% de origem inorgânica. A fração orgânica é responsável pela flexibilidade esquelética e a inorgânica pela rigidez e resistência. A matriz inorgânica é composta, basicamente, por íons fosfato, cálcio, citrato, magnésio, potássio, sódio e, principalmente, cristais de hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 \leq x \leq 2$). Esta rigidez e flexibilidade estão relacionados com a associação entre os cristais de hidroxiapatita e o colágeno. Uma deficiência do componente inorgânico torna o osso descalcificado e extremamente flexível; por outro lado, se houver deficiência da fração orgânica, ele se torna extremamente frágil^[16].

Um corte transversal ao longo da estrutura óssea, evidencia duas partes: uma compacta, sem espaços internos, e outra, com muitas cavidades, denominadas, respectivamente, por osso compacto (ou cortical) e esponjoso (ou trabecular). Como pode ser visto na Figura 2.1, a principal diferença entre ambos está na disposição espacial e elementar, apresentando os mesmos tipos de células, fibras e substâncias intercelular. A fração esponjosa apresenta porosidade entre 50 e 90%, apresentando maior atividade metabólica, visto que possui maior quantidade de células por unidade de volume. O osso esponjoso é menos denso do que o cortical e ocorre nas extremidades dos ossos^[17]. Devido à sua menor densidade, o osso esponjoso tem um menor módulo de elasticidade e maior deformação antes da fratura que o osso cortical. Ambos possuem maior módulo de elasticidade que os tecidos macios, como tendões e ligamentos. Essa

diferença de rigidez (módulo de elasticidade) garante um gradiente suave no estresse mecânico entre os vários tipos de tecidos conjuntivos^[18].

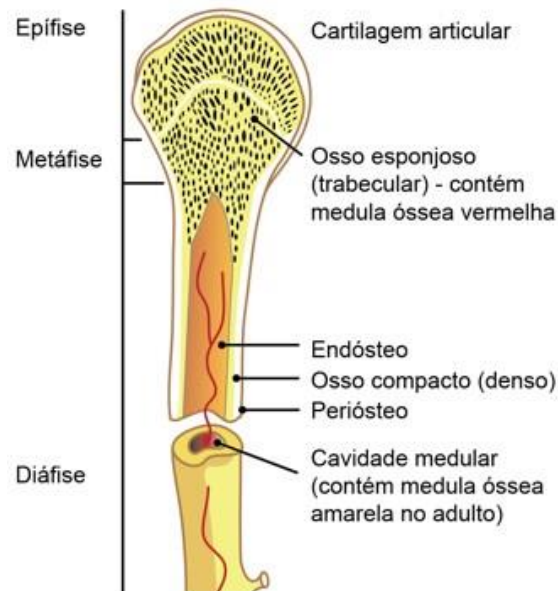


Figura 2.1 - Corte longitudinal de um osso longo^[19].

As propriedades do tecido ósseo variam entre cada região, em decorrência da proporção das diversas substâncias que o constituem, e mudam de acordo com as diferentes partes do esqueleto, assim como, com a idade do indivíduo, visto que ao longo da vida, há a remodelação do tecido ósseo, permitindo que ele seja continuamente renovado^[20]. Esse processo ocorre por dois ciclos, a reabsorção e a formação, determinados pela sequência “ativação–reabsorção–formação”. A Figura 2.2 apresenta as principais propriedades mecânicas de ossos cortical e trabecular.

Propriedades	Osso cortical	Osso trabecular
Resistência a compressão (MPa)	100-230	2-12
Resistência a tração (MPa)	50-150	
Resistência a flexão (MPa) (4 pontos)	50-150	10-20
Deformação após a fratura (%)	1-3	5-7
Módulo Elástico (GPa)	7-30	0,05-0,5
Tenacidade à fratura (K_{Ic}) (MPa.m ^{1/2})	2-12	0,1
Densidade (g/cm ³)	1,6-2,1	1

Figura 2.2 - Propriedades mecânicas dos ossos cortical e trabecular ^[21].

A melhoria da escolaridade, do sistema de saúde e das redes de saneamento básico afetaram diretamente a vida da população mundial. Estas transformações têm impactado a estrutura etária e a distribuição da morbimortalidade populacional. A queda da mortalidade e o aumento da expectativa de vida resultam no envelhecimento da população e aumento das taxas de doenças crônico-degenerativas, entre as quais, a osteoporose. A osteoporose é uma doença sistêmica progressiva caracterizada pela diminuição da massa óssea e deterioração da microarquitetura, levando à fragilidade do osso e aumento do risco de fratura. Fisiologicamente, o osso é continuamente formado pela deposição de osteoblastos (células responsáveis pela síntese orgânica da matriz óssea) e absorvido nos locais onde os osteoclastos (células cuja função é a reabsorção da matriz óssea, além da regeneração e da remodelação do tecido ósseo) estão ativos. Normalmente, há equilíbrio entre a deposição e a absorção óssea, entretanto, na osteoporose existe uma desproporção entre a atividade osteoblástica e osteoclástica, com predomínio da última. Estudos de metabologia mostraram que a densidade óssea aumenta até os 30 anos de idade e declina conforme uma rede complexa de fatores^[22].

A Fundação Internacional de Osteoporose cita a osteoporose como uma grande ameaça à saúde pública, atingindo 55% das pessoas acima dos 50 anos de idade, e é responsável por mais de 9 milhões de fraturas por ano no mundo, sendo que mais da metade dessas fraturas, ocorrem na coluna vertebral. Além da dor causada, a alteração da forma do corpo vertebral que se segue à fratura, altera o centro de gravidade do corpo. Fraturas vertebrais múltiplas podem afetar o alinhamento de toda a coluna vertebral. Com o tempo, essa alteração pode

levar à redução de movimento e força, bem como a deformidade da coluna vertebral visível conhecido como cifose severa, que provoca uma pressão nos órgãos internos, comprometendo a capacidade respiratória do paciente. Deve também salientar-se que o doente osteoporótico apresenta grande risco de fraturas adicionais, reforçando a relevância do tratamento para a osteoporose para reduzir consideravelmente o risco de fraturas no futuro.

Os traumatismos incidentes sobre os ossos com forças superiores a sua capacidade de deformação são as principais causas de fraturas. Contudo, existem aquelas que ocorrem espontaneamente, chamadas fraturas patológicas, as quais se devem a um enfraquecimento anormal dos ossos. Além da osteoporose, tumores ósseos também são muito comuns. Falhas no tratamento, assim como a demora na instituição terapêutica são as principais causas de deterioração neurológica nos pacientes, acarretando metástases na coluna vertebral e, conseqüentemente, a fratura da mesma. Estudos mostram que 30-90% dos pacientes com câncer em estágio terminal apresentam metástases comprometendo, principalmente, a coluna vertebral^[23].

Traumas faciais são muito frequentes e exigem rápido tratamento devido às conseqüências funcionais e à possibilidade de deformidades. Estas lesões requerem uma abordagem multidisciplinar envolvendo várias especialidades como cirurgia bucomaxilofacial, oftalmologia, cirurgia plástica e neurocirurgia. O tratamento facial requer a combinação os princípios: estético e funcional, que estes tiveram grandes progressos nas últimas décadas^[24].

2.2 Enxertos ósseos

O osso é um tecido conjuntivo especializado, vascularizado e dinâmico que se modifica ao longo da vida do organismo. Quando lesado, possui uma capacidade única de regeneração e reparação. Entretanto, em algumas situações, devido ao grande tamanho do defeito, o tecido ósseo não se regenera por completo. Faz-se, assim, necessária a realização de um procedimento de enxertia óssea^[25].

Com o objetivo de reduzir a morbidade dos procedimentos cirúrgicos, há uma grande procura por substitutos que apresentem as mesmas propriedades que o osso autógeno. Os principais tipos de enxertos ósseos são classificados em autógeno, alógeno, xenógeno e sintético. Os enxertos autógenos, também conhecidos por autoenxertos, são aqueles em que o doador é o próprio paciente, neste procedimento, uma parte do tecido ósseo é retirado de um local de baixa solicitação mecânica e, posteriormente, transplantado para o local do defeito. Os enxertos alógenos e xenógenos são os principais métodos utilizados hoje. O enxerto alógeno são aqueles doados por outra pessoa, contudo grande parte da proteína óssea morfogenética, que induz a formação do osso, é destruída e o enxerto perde parte do potencial osteoindutor. Os enxertos xenógenos são aqueles provindo de outras espécies, o mais utilizado é de origem bovina, porém há risco de rejeição ou transmissão de doenças. Portanto, para contornar a problemática dos enxertos naturais, enxertos sintéticos, também conhecidos por aloplásticos, foram desenvolvidos^[6].

O material de enxerto ideal deve obedecer os seguintes requisitos: 1) fornecimento ilimitado sem comprometer a área doadora; 2) promover a osteogênese (formação óssea); 3) não apresentar resposta imunológica do hospedeiro; 4) revascularizar rapidamente; 5) estimular a osteoindução; 6) promover a osteocondução; 7) ser substituído completamente por osso em quantidade e qualidade semelhante ao do hospedeiro^{[26],[27]}.

Não existe o material para enxertia dito ideal, mas o osso autógeno é consagrado na literatura mundial como o que consegue reunir características mais próximas do ideal. Além destes, destacam-se os enxertos provenientes de materiais sintéticos, ou aloplásticos, que pela grande disponibilidade e por dispensarem o procedimento cirúrgico de um sítio doador são amplamente utilizados. Dentre os materiais sintéticos utilizados, encontram-se as biocerâmicas à base de hidroxiapatita, os vidros bioativos, além de polímeros à base de polietileno e as telas de titânio. Contudo, estes materiais apresentam uma série de limitações como a impossibilidade de fixação ao leito receptor, a baixa radiopacidade, baixa bioatividade, alto risco de infecção e dificuldade de

remoção do enxerto, devido à formação de tecidos fibrosos e pontes ósseas, quando há queixa de desconforto pelos pacientes^[25].

2.3 Biomateriais

Embora, em termos científicos, o campo dos biomateriais tenha se desenvolvido rapidamente nas últimas décadas, há registro da utilização de materiais para o tratamento da saúde desde 4000 a.C. Por exemplo, o ouro vem sendo utilizado pelos romanos, chineses e astecas no tratamento de dentes desde a Idade Média. Lentes de vidro usados na reposição do globo ocular e dentes de madeira têm sido uso comum durante grande parte da história ^[28]. Durante essa fase, não havia preocupação estética e, sim, apenas com a funcionalidade do material. No entanto, durante séculos, por possuírem poucas alternativas, a única opção viável para médicos e cirurgiões era a amputação de um membro ou extirpação do tecido ou órgão doente. A partir século XIX, adquiriu-se um maior conhecimento nas áreas de anatomia e fisiologia e, assim, foi possível o aprimoramento de técnicas e materiais mais eficientes para tratamento médico. Atualmente, emprega-se conceitos de biomimética e bioengenharia para o desenvolvimento de biomateriais. Durante o período inicial de desenvolvimento da bioengenharia, houve a introdução de terapias e tratamentos, que estabeleceram uma nova indústria nas áreas de ortopedia, doenças cardiovasculares e distúrbios neurológicos. A bioengenharia tem como finalidade aplicar os princípios da ciência dos materiais e da engenharia, de forma a melhorar a interação dos materiais e dispositivos com os tecidos vivos, dessa forma, utiliza-se das tecnologias para projetar e desenvolver novos dispositivos como instrumentos terapêuticos, ou formulação de novos biomateriais para aplicações médicas, *design* de tecidos ou órgãos artificiais^[2,4]. No entanto, apesar dos avanços na área de biomateriais e bioengenharia, a complexidade dos tecidos humanos e interações entre eles são, ainda hoje, um desafio^[29].

Entre 1960 e 1970, foi desenvolvida uma primeira geração de biomateriais para uso no corpo humano, o objetivo inicial era adequar as propriedades físicas do biomaterial com a do tecido, com uma resposta tóxica mínima. Esta geração é caracterizada pelo uso de metais e ligas metálicas resistentes à corrosão utilizadas nas cirurgias dentárias e ortodontárias. Uma característica comum da maioria desses materiais era serem considerados biologicamente “inertes”, o princípio básico desses biomateriais foi reduzir a um mínimo a resposta imune do corpo ao material^[30]. A primeira geração também é fortemente associada aos implantes ósseos, com a primeira articulação artificial do quadril desenvolvida em 1961.

As propriedades ideais dos biomateriais de primeira geração são: (i) propriedades mecânicas apropriadas; (ii) resistência à corrosão em ambiente aquoso; e (iii) não provocar toxicidade ou carcinogenicidade em tecidos vivos^[2,29].

A segunda geração de biomateriais surgiu entre 1980 e 2000 e foi definida pelo desenvolvimento da capacidade de interação dos materiais bioativos com o meio biológico, para melhorar a resposta biológica e a ligação tecido/implante^[31]. Foi nesta geração, em que se determinou a definição de biomaterial mais aceita atualmente (Conferência de Consenso sobre Definição em Biomateriais - Reino Unido, 1986 e 1991), na qual conceituou-se biomaterial como “toda substância ou combinação de substâncias, exceto fármacos, de origem natural ou sintética, que podem ser usadas durante qualquer período de tempo, como parte ou como sistemas que tratam, aumentam ou substituem quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo”^[32]. Diferentes campos da ciência, como a nanotecnologia, engenharia de materiais ou engenharia de tecidos, vêm desenvolvendo, em conjunto, importantes avanços no ramo de biomateriais. O processo de fabricação engloba várias etapas importantes, como a seleção do material e o estudo de possíveis reações com o organismo.

A bioatividade refere-se a qualquer interação ou efeito entre o material e a célula, em que os materiais entram em contato com as células com o objetivo de guiar ou ativar respostas específicas. A mineralização e a ligação entre o

tecido ósseo e o implante são processos mais conhecidos atualmente para aumentar a bioatividade nas aplicações de reparação e fixação óssea^[31].

Enquanto os biomateriais de segunda geração foram projetados para serem reabsorvíveis ou bioativos, a terceira geração, coincide com o surgimento do conceito de engenharia de tecidos. Introduzindo a ideia da medicina regenerativa e se caracterizando pelo aprimoramento dos biomateriais combinando as duas propriedades, além de ter a capacidade de estimular respostas celulares específicas ao nível molecular. Composta por sistemas adaptáveis inteligentes, a preocupação não é apenas na biocompatibilidade, mas também na biofuncionalidade do sistema. Em vez de substituir os tecidos danificados do corpo humano por implantes, os biomateriais da terceira geração são capazes de estimular respostas celulares específicas no nível molecular. Vidros bioativos de terceira geração e espumas cerâmicas macroporosas vêm sendo projetados para ativar genes que estimulam a geração de tecidos vivos^[30].

Apesar de o desgaste e a redução das propriedades e atividades dos tecidos e órgãos que constituem o corpo humano serem processos inerentes ao envelhecimento, os constantes avanços obtidos pela medicina vêm conduzindo a um evidente aumento da expectativa de vida e com maior qualidade. Apesar de existirem diversos materiais utilizados como matéria prima, estes podem ser divididos em quatro grupos, sendo que existem alguns pré-requisitos que o biomaterial deve preencher. O implante deve ser resistente ao ataque dos sistemas biológicos sem sofrer degradação ou perda de função e sem liberar substâncias tóxicas. Deve também apresentar propriedades compatíveis com as requeridas pelo corpo humano.

Dependendo do tipo de material implantado no corpo de um indivíduo, o tecido local reage de forma diferente. O tipo de interação tecido-implante depende da resposta do tecido à superfície do implante. Assim, os biomateriais podem ser classificados em quatro classes:

- Biotolerante: implantes separados do osso adjacente por uma camada de tecido mole ao longo da interface. Não há contato na osteogênese. A camada é induzida pela liberação por parte do implante de monômeros,

íons e/ou produtos de corrosão. Praticamente todos os polímeros sintéticos e a grande maioria dos metais se enquadram nesta categoria.

- Bioinertes: materiais tolerados pelo organismo, mas em que a formação de tecido envoltório fibroso é mínima, praticamente inexistente. O material não libera nenhum tipo de componente ou o faz em quantidades mínimas. Os materiais bioinertes mais utilizados são alumina, zircônia, titânio, ligas de titânio e carbono.
- Bioativos: materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre material e tecido ósseo (osteointegração). Em função da similaridade química entre estes materiais e a parte mineral óssea, os tecidos se ligam a eles, permitindo a osteocondução por meio do recobrimento por células ósseas. Os principais materiais desta classe são os vidros e vitrocerâmicas à base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita e compostos de fosfato de cálcio.
- Bioreabsorvíveis: após implantação, o biomaterial começa a se dissolver (ser absorvido) e lentamente é substituído por tecido fibroso. Exemplos: poliácido láctico, polímeros biodegradáveis, sais de fosfato de cálcio.

Atualmente existem dois métodos principais de utilização destes biomateriais:

i) Engenharia de tecidos: As células progenitoras são semeadas em *scaffolds* reabsorvíveis. As células crescem fora do corpo e se diferenciam e imitam os tecidos que ocorrem naturalmente. Esses materiais são, então, implantados nos pacientes para substituir os tecidos doentes ou danificados. Os *scaffolds* se adaptam ao ambiente fisiológico e devem proporcionar um reparo duradouro. Com o tempo, são reabsorvidos e substituídos por tecidos do hospedeiro. As aplicações clínicas incluem o reparo da cartilagem articular, pele e sistema vascular^[30].

ii) Regeneração de tecido *in situ*: envolve o uso de biomateriais sob a forma de pós, suspensões ou micropartículas para estimular o reparo local do tecido. Os materiais bioativos liberam substâncias químicas na forma de produtos de dissolução iônica a taxas controladas, por difusão ou distribuição da

rede, que ativam as células em contato com os estímulos. As células produzem fatores de crescimento adicionais que, por sua vez, estimulam múltiplas gerações de células em crescimento para automontagem do tecido. As formas de aplicação clínica incluem partículas de biovidro usadas para preencher um defeito ósseo^[30].

2.4 Cimentos ósseos

O imenso campo de aplicação de biomateriais nas áreas médica e odontológica, e as necessidades da vida moderna têm conduzido a diversas inovações tecnológicas e mantido uma necessidade crescente de desenvolvimento de novos biomateriais. Os principais avanços nesta área têm ocorrido, principalmente, devido ao aumento do número de pacientes em função do aumento da população e da expectativa de vida. As patologias que mais comumente necessitam de enxertos ósseos são as fraturas ou cirurgias de remoção de tumor ósseo, as quais, muitas vezes, por ausência de consolidação desses ossos, necessitam serem fixadas cirurgicamente com placas e parafusos e terem a osteogênese estimulada pelo uso do enxerto.

O uso de cerâmicas avançadas, principalmente a base de fosfatos de cálcio, têm tido grande evolução para preenchimento ósseo na indústria biomédica mundial. Cimentos de fosfato de cálcio são preparados misturando-se um sal de fosfato de cálcio com uma solução aquosa para que se forme um cimento que possa reagir à temperatura ambiente ou corporal, dando lugar a um precipitado que contenha fosfatos de cálcio, normalmente, hidroxiapatita, ocorrendo a cura pelo intercruzamento dos cristais deste precipitado. Este biomaterial pode, então, ser absorvido pelo organismo, com a particularidade de seus produtos de degradação não causarem uma resposta negativa por parte do tecido vivo. A similaridade química entre a composição do cimento e a parte mineral dos tecidos ósseos permite a osteocondução, sendo o cimento substituído por tecido ósseo^[33].

Além dos cimentos injetáveis, *scaffolds* também podem ser utilizados. Estes novos biomateriais da medicina moderna devem ser fabricados a partir de materiais inertes ou funcionais, que também participam da regeneração. Eles

têm por função hospedar componentes biológicos, assegurando a permanência no local da lesão. Existem inúmeras vantagens para que se priorize o uso de cimentos injetáveis ao invés de *scaffolds*. A principal delas é que o uso de cimentos injetáveis permite a realização de cirurgias minimamente invasivas, enquanto que, ao se utilizar *scaffolds*, o mesmo procedimento não é possível. Cirurgias minimamente invasivas apresentam menores taxas de complicações pós-operatórias, visto que minimiza a probabilidade de infecções e a exposição do enxerto com o meio externo.

Atualmente, a maioria dos cimentos ósseos no mercado são baseados em fosfatos de cálcio (CPC's), sulfato de cálcio ou polimetilmetacrilato (PMMA), também conhecido por cimentos acrílicos. Os CPC's, os cimentos bioativos mais conhecidos, são muito frágeis, o que limita seu uso em cirurgias craniofaciais; além disso, apresentam bioatividade insatisfatória e baixa taxa de reabsorção^[28]. De forma a melhorar a bioatividade dos CPC's, a incorporação de vidro e vitrocerâmicas bioativos tem sido considerada.

2.5 Vidros e vitrocerâmicas bioativos

Em 1969, Larry Hench, na Universidade da Flórida, desenvolveu o primeiro vidro bioativo, o "gold-standard" Bioglass[®] 45S5, de composição 46,1 (mol.) % SiO₂, 24,4% Na₂O, 26,9% CaO e 2,6% de P₂O₅. Em contato com fluidos corporais, este biovidro libera íons que proporcionam a formação de hidroxicarbonatoapatita (HCA), que cresce como aglomerados policristalinos; a HCA é a responsável pela ligação química com tecidos vivos^[34]. Após o desenvolvimento, outras inúmeras composições foram desenvolvidas, incluindo silicatos, fosfatos e boratos. Apesar de o Bioglass[®] 45S5 apresentar grandes limitações, como a baixa tenacidade à fratura e alta tendência à cristalização, em 50 anos de pesquisa, nenhum outro material o superou em termos de bioatividade.

Gerhardt & Boccaccini^[35] propuseram que a ligação do osso aos vidros bioativos envolve 12 estágios de reação (Figura 2.3). Os cinco primeiros ocorrem muito rapidamente na superfície da maioria dos vidros bioativos devido: (1) à

troca rápida de íons alcalinos com íons de hidrogênio dos fluidos corporais, (2) dissolução da rede, (3) polimerização de sílica-gel, (4) quimissorção e (5) cristalização da camada de hidroxicarbonatoapatita (HCA). As reações superficiais levam à (6) adsorção bioquímica de fatores de crescimento e à (7 - 12) sequência sincronizada de eventos celulares que resultam na rápida formação de um novo tecido ósseo.

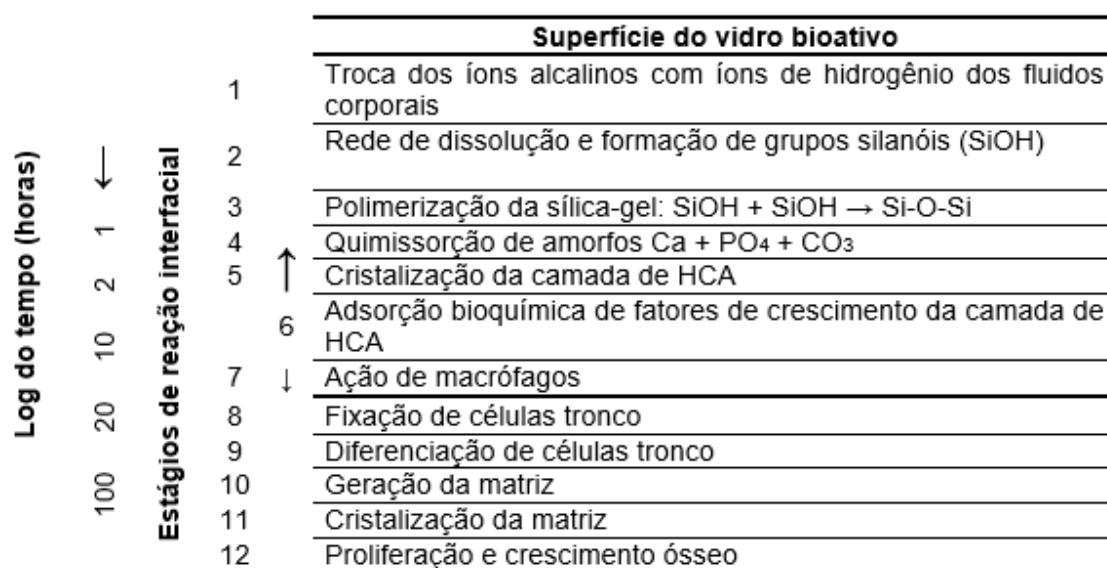
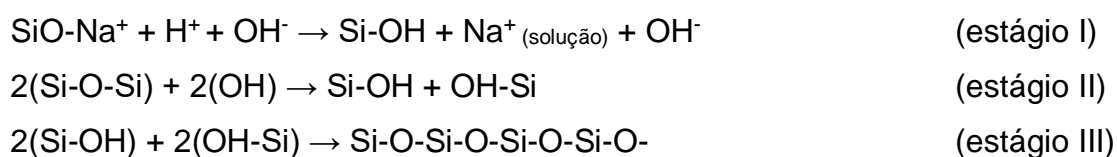


Figura 2.3 - Sequência de reações interfaciais envolvidas na formação da ligação entre o osso e um vidro bioativo (Adaptado de Gerhardt & Boccaccini) ^[21].

Quando em contato com os fluidos corporais, o biovidro segue uma sequência de reações cuja cinética é determinada pela composição do vidro bioativo. No primeiro estágio, os íons alcalinos e alcalinos terrosos são liberados no fluido e, então, substituídos na estrutura de vidro por íons H^+ ou H_3O^+ do fluido. Essa reação leva ao aumento do pH local, resultando na ruptura das ligações Si-O-Si. Então, o silício é liberado no fluido em forma de silanóis ($\text{Si}(\text{OH})_4$) (estágio II). Caso o pH local seja menor que 9,5, o $\text{Si}(\text{OH})_4$ se condensará, formando uma camada de sílica gel polimerizada na superfície do vidro (estágio III). A estrutura aberta de sílica gel permite a continuidade da troca iônica entre o vidro e o fluido. Os íons de cálcio e fosfato se difundem no vidro e, em conjunto com os íons de cálcio e fosfato do fluido, formam a camada de fosfato de cálcio amorfo sobre a sílica gel (estágio IV). Após o aumento da

espessura, devido à sílica gel e à camada de fosfato de cálcio amorfo, as espécies de carbonato incorporadas no último começam a cristalizar em HCA (estágio V). A sequência cinética das reações dos estágios 3 a 5, pode ser acompanhada usando Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)^[36]. A HCA é química e estruturalmente semelhante à fase de apatita mineral encontrada no tecido ósseo. A formação de uma camada de HCA na interface material/tecido é aceita como condição necessária para a formação de uma ligação química entre o material e o osso. O desenvolvimento de HCA é uma característica desejada em todos os materiais inorgânicos utilizados na reparação do tecido ósseo, na substituição óssea e nos implantes ortopédicos. Além disso, a formação de HCA está intimamente associada à osteocondução.



Vitrocerâmicas (VC) são materiais policristalinos obtidos por cristalização controlada de vidros e podem conter uma ou mais fases cristalinas e vítreas^[37]. Adicionalmente, suas propriedades são fortemente influenciadas pela distribuição do tamanho e fração volumétrica dos cristais^[38]. É possível encontrar na literatura diversos estudos que visaram desenvolver materiais vítreos bioativos parcialmente cristalizados com potencial para aplicações biomédicas^[39-42]. No entanto, desenvolver materiais bioativos com boas propriedades mecânicas ainda é um desafio para a Engenharia de Materiais. As vitrocerâmicas bioativas^[38] proporcionam a formação da fase cristalina de hidroxicarbonatoapatita na interface implante/tecido, induzindo uma boa ligação química. A ligação interfacial é suficientemente forte para que seja necessário um polimento abrasivo com papel lixa de SiC para remover os cristais de hidroxiapatita da superfície.

As diferenças na taxa de adesão ao tecido podem ser estimadas, quantitativamente, através do índice de bioatividade (I_B). O índice de bioatividade

de um material pode ser definido como o inverso do tempo para que mais de 50% da interface esteja ligada às células do tecido vivo. As células de colágeno, constituintes dos tecidos macios, podem aderir fortemente a vidros bioativos que apresentam $I_B > 8$. Sendo que, neste caso, as fibrilas do colágeno entremeiam na interface pelo crescimento da camada de HCA. Estes aglomerados de HCA-colágeno mimetizam a natureza da ligação entre tendões e ligamentos, cuja composição é, basicamente, fibrilas de colágeno e o osso, o qual é composto por cristais de HCA e colágeno^[43-45].

Levando em consideração apenas vidros e vitro-cerâmicas bioativas, observa-se que existe uma série de concentrações limitadas que exibe alto índice de bioatividade. A relação entre a bioatividade e a composição para os vidros do sistema $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ é exibida na Figura 2.4, com uma concentração em peso fixa de 6% de P_2O_5 .

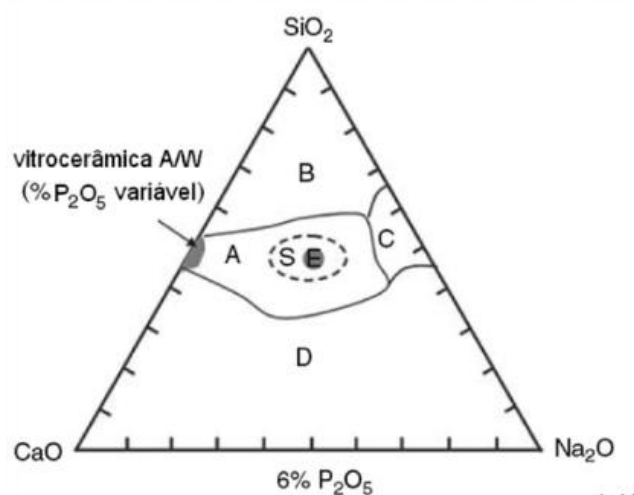


Figura 2.4 - Diagrama ternário $\text{SiO}_2-\text{CaO}-\text{Na}_2\text{O}$ mostrando a relação existente entre composição e índice de bioatividade^[46].

Na região central do diagrama, designada pela letra E, se encontram as composições dos vidros que exibem o I_B mais elevado para esse sistema ($I_B > 8$). Os vidros bioativos são capazes de se ligarem mais rapidamente ao tecido ósseo do que as cerâmicas bioativas, como a hidroxiapatita e os CPCs. A razão para isso tem sido longamente relacionada à taxa de formação de HCA. No entanto, o mecanismo de osteoindução parece ser mais complicado. Visto que, conforme o biovidro degrada, íons como silício (na forma de ácido silícico),

cálcio, sódio e fosfatos são liberados no meio fisiológico. Acredita-se que uma combinação destes íons estimula células a produzir novo tecido ósseo, especialmente os íons cálcio e silício^[47].

Em meados da década de 90, surgiu a preocupação de melhorar a resistência mecânica dos biovidros através de sua cristalização controlada^[48]. Desde então foram desenvolvidas as seguintes vitrocerâmicas: Cerabone[®], Bioverit[®] e Ceravital[®]. Embora apresentem maior resistência mecânica, as vitrocerâmicas citadas anteriormente possuem bioatividade bastante inferior ao Bioglass[®] 45S5. De forma a contornar este problema, foi desenvolvida uma vitrocerâmica do sistema $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ denominada Biosilicato[®], que possui propriedades mecânicas comparáveis às cerâmicas e, ao mesmo tempo, alta bioatividade (similar ao Bioglass[®] 45S5).

2.6 O Biosilicato[®]

O Biosilicato[®] é a designação de um conjunto de vitrocerâmicas totalmente cristalinas. O desenvolvimento deste material, na década de 1990, ocorreu no LaMaV-UFSCar como um desafio de criar um novo material que pudesse combinar alta bioatividade, como observado no Bioglass[®] 45S5, e a boa resistência mecânica de algumas vitrocerâmicas, como o A/W Cerabone[®]. Isso foi realizado através da cristalização controlada de um vidro com composição próxima ao Bioglass[®] 45S5. Uma das grandes preocupações era que a bioatividade fosse prejudicada quando o biovidro fosse cristalizado. Entretanto, a rápida formação de uma camada de hidroxiapatita no Biosilicato[®] foi atribuída à presença de uma fase cristalina solúvel ($20\text{Na}_2\text{O}-22.5\text{CaO}-48\text{SiO}_2-9.5\text{P}_2\text{O}_5$ (peso%)) contendo íons de fósforo em solução sólida, que são rapidamente liberados para o meio líquido, de forma semelhante ao Bioglass[®] 45S5.

Peitl et al.^[46] mostraram que a cristalização controlada desses biovidros poderia aumentar a resistência à flexão, o módulo de elasticidade e a tenacidade à fratura, exibindo, então o melhor desempenho em termos de bioatividade entre as vitrocerâmicas bioativas comerciais. Além disso, o Biosilicato[®] exibe boa

usinabilidade, o que é uma característica importante que permite a fabricação de implantes com formas diferentes para fins específicos.

Diversos estudos *in vitro* foram realizados para testar a eficiência do Biosilicato[®]. Os testes de bioatividade utilizando a solução SBF comprovaram que a cristalização do vidro original Biosilicato[®] não afeta significativamente a formação de hidroxiapatita, e ela pode ser aprimorada dependendo das fases cristalinas presentes. Ao longo de 20 anos de pesquisa, diversos estudos *in vitro*, *in vivo* e clínicos demonstraram a eficiência do Biosilicato[®] na regeneração do tecido ósseo^[46]. De forma monolítica, ele é resistente e usinável. Suas bioatividades *in vitro* e *in vivo* são comparáveis ao Bioglass[®] 45S5. Portanto, o Biosilicato[®] tem demonstrado ser um biomaterial muito versátil e multifuncional.

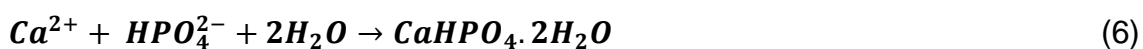
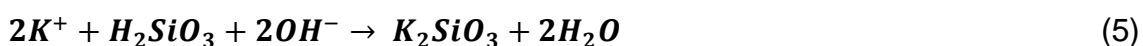
Em estudos recentes^[49], o Biosilicato[®] e o Bioglass[®] 45S5 foram submetidos a uma cultura osteogênica de células ósseas com a finalidade de avaliar comparativamente suas propriedades. Observou-se que, embora ambos os materiais tenham favorecido a osteogênese *in vitro*, áreas significativamente maiores de matriz óssea calcificada foram formadas na superfície do Biosilicato[®]. Os autores sugeriram ainda que estes resultados indicam que o Biosilicato[®] é um material osteoindutor, possuindo um nível de bioatividade maior do que as vitrocerâmicas de apatita comerciais.

2.7 Cimento Fosfato de cálcio (CPC) contendo Biosilicato[®]

Visando o aumento da bioatividade, Rennó^[50] et al. investigaram a incorporação do Biosilicato em cimentos de fosfato de cálcio (CPCs). Os autores demonstraram que a adição do Biosilicato (até 50% em peso) aumenta a taxa de degradação do cimento CPC, melhorando sua bioatividade *in vitro* e *in vivo*. Por outro lado, os tempos de pega inicial e final do cimento CPC contendo Biosilicato praticamente dobraram; além disso, a resistência mecânica não foi alterada, ou seja, os cimentos continuaram friáveis.

2.8 Novas composições contendo fosfato de sódio e potássio

A hipótese de que é possível desenvolver um cimento à base de Biosilicato utilizando-se fosfatos de sódio ou de potássio é baseada nos cimentos desenvolvidos por Arun S. Wagh e Carolyn Primus (patente nº US 7,083,672 B2)^[51]. Estes autores descobriram que silicatos com baixa solubilidade, por exemplo a wollastonita (CaSiO_3), são ligeiramente alcalinos e quando combinados com água, tornam-se ionizados, liberando cátions metálicos. Na presença de ácidos, ocorrem várias reações que iniciam a formação de fosfatos de cálcio hidratados e de outros silicatos que conferem boa resistência mecânica aos cimentos. Por exemplo, a wollastonita dissolvida em água ácida, como soluções de H_3PO_4 , KH_2PO_4 , $\text{Al}(\text{H}_2\text{PO}_4)_3$, etc., libera íons Ca^{2+} e grupos silicatos SiO_3^{2-} . Os cátions de cálcio reagem com os fosfatos para formar fosfatos de cálcio. O ânion do silicato forma o ácido metasilícico (H_2SiO_3), que reage com os cátions disponíveis para formar K_2SiO_3 . Neste exemplo específico, os autores propuseram a seguinte sequência de reações:



Como mencionado anteriormente, os vidros e vitrocerâmicas bioativos (do tipo silicatos) liberam íons Ca^{2+} (estágio I de formação da HCA) e grupos silanóis – $\text{Si}(\text{OH})_4$ – quando em contato com o meio aquoso (estágio II de formação da HCA). Desta forma, o Biosilicato deve cumprir a mesma função da wollastonita nos cimentos desenvolvidos por Wagh e Primus, com a vantagem de se obter um cimento de maior bioatividade devido à presença de Biosilicato não reagido.

2.9 Aspectos relevantes desta pesquisa

Atualmente, os cimentos ósseos são empregados em cirurgias bucomaxilofaciais e cirurgias de vertebroplastia ou cifoplastia. Estas são técnicas percutâneas, minimamente invasivas, e muito úteis no alívio da dor, consistindo na introdução de uma cânula através da pele até a região do corpo vertebral fraturado, efetuando-se, então, a injeção de cimento ósseo que preenche a zona da fratura.

Cimentos ósseos à base de polimetilmetacrilato (PMMA) foram um dos primeiros biomateriais utilizados na ortopedia contemporânea e, desde sua criação, têm sido amplamente utilizados, visto que permitem que o material distribua uniformemente as tensões e as cargas a partir da prótese para o osso, apresentando assim, boa resistência mecânica. Porém sua formulação apresenta uma série de limitações relacionadas à reação extremamente exotérmica do polímero. Dentre elas estão: necrose do local implantado; toxicidade do produto químico, devido ao monômero residual; além da ausência de bioatividade no sistema cimento-tecido ósseo. Apesar de existirem vários cimentos ósseos comerciais à base de sulfato de cálcio (CSCs), a capacidade regenerativa deste material é muito controversa. Vários estudos têm demonstrado que estes cimentos apresentam rápida reabsorção, podendo ocorrer antes que o tecido ósseo seja formado no defeito. Os CPCs podem ser categorizados de diferentes formas, baseado nas taxas de reabsorção do material, mas em geral apresentam baixa resistência mecânica e capacidade de regeneração óssea insatisfatória devido à baixa taxa de absorção.

Para tentar contornar os problemas apresentados pelos cimentos ósseos convencionais, novas formulações estão sendo desenvolvidas. Por exemplo, para aumentar a bioatividade dos cimentos ósseos já existentes (principalmente CPCs), muitos trabalhos estão considerando a incorporação de vidros e vitrocerâmicas bioativos. Neste trabalho, tentou-se obter pela primeira vez um cimento ósseo à base de Biosilicato, utilizando o fosfato de sódio ou fosfato de potássio ao invés de fosfato de cálcio.

3 OBJETIVOS

O objetivo desta dissertação foi o desenvolvimento e caracterização de cimentos ósseos à base de Biosilicato® com tempo de pega controlado, utilizando diferentes tipos de fosfatos de sódio e potássio como aditivos.

3.1 Objetivos específicos

- ✓ Realizar um controle de tempo de trabalhabilidade do material por meio de diferentes formulações;
- ✓ Obter cristais de HCA, por meio do ensaio de bioatividade, utilizando a solução SBF-K9 (*Solution Body Fluid*);
- ✓ Obter material que visa aplicações compatíveis com tecidos ósseos onde há maior solicitação mecânica, como por exemplo, enxerto ósseo, além de ser utilizado como agente dessensibilizante no tratamento da hipersensibilidade dentinária.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

No fluxograma representado na Figura 4.1 encontram-se as etapas que foram desenvolvidas neste trabalho.

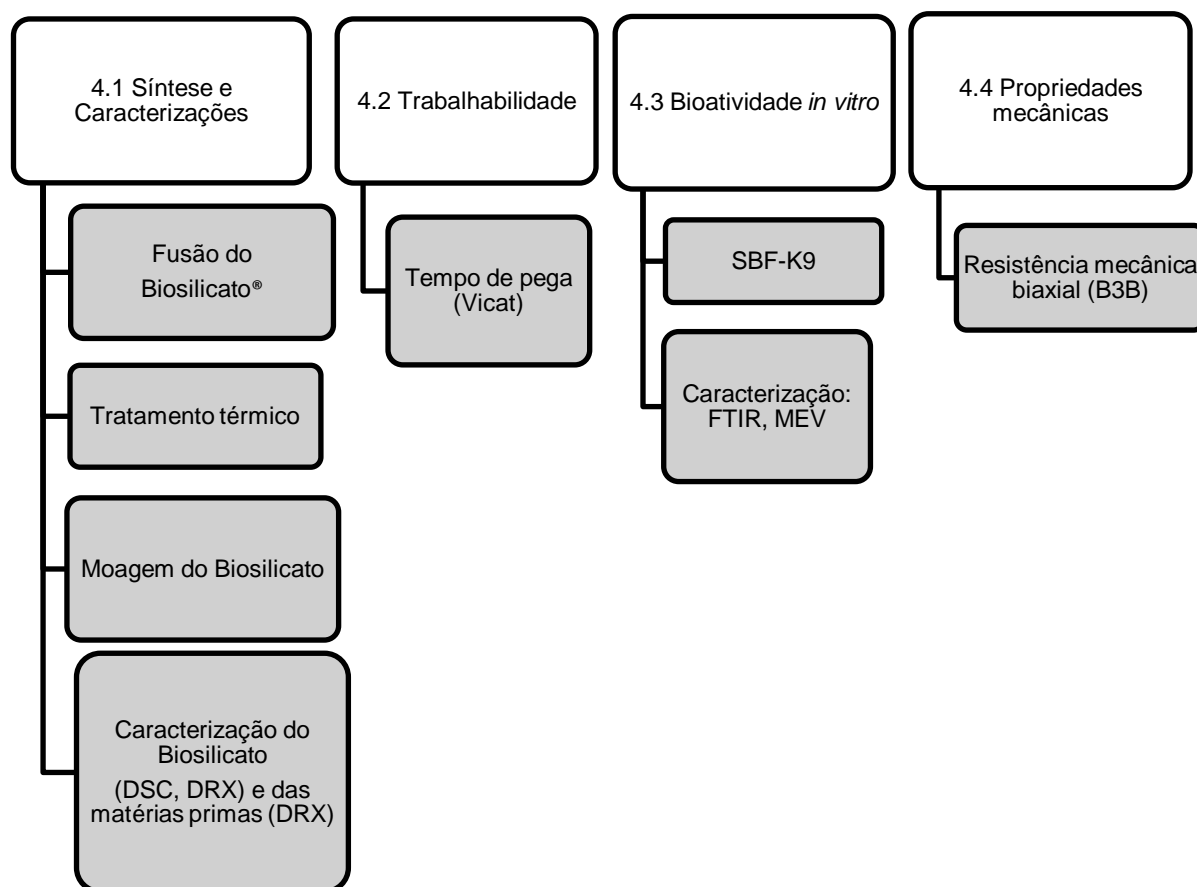


Figura 4.1. Fluxograma esquemático de apresentação da metodologia.

A maior parte dos experimentos deste trabalho, incluindo a preparação das novas composições de cimentos, foi realizada no Laboratório de Materiais Vítreos (LaMaV/UFSCar – SP). Os testes de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para caracterização microestrutural da fase HCA foram realizados em parceria com o Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) da UFSCar.

4.1 Síntese e Caracterizações

4.1.1 Síntese do Biosilicato[®]

Todos os reagentes utilizados para o preparo do vidro precursor do Biosilicato possuíam grau analítico P.A., sendo eles: carbonato de cálcio (Vetec, 99%), carbonato de sódio (Vetec, 99,5%), fosfato de sódio dibásico anidro (Mallinckrodt, 99%), e dióxido de silício (Zetasil 3, 99,9%). Os reagentes foram previamente secados por um período de 24 h a 100 °C para eliminação de água, e posteriormente pesados e homogeneizados em um girador de jarros por 12 h (400 RPM). Em seguida, a mistura obtida foi inserida em um forno elétrico (Deltech Inc., DT-33-RS-812C, Denver, Colorado, USA) em cadinho de platina (Pt) a temperatura elevada até 1350 °C mantida por 4 h. O líquido foi vertido em água e, com o objetivo de garantir a homogeneidade, refundido por mais duas vezes e vertido em água.

4.1.2 Tratamento térmico

Os procedimentos empregados na fusão do vidro e tratamento térmico para obtenção do Biosilicato[®] podem ser realizados de duas formas^[48]:

- 1) TT duplo (nucleação e crescimento) – biosilicato monofásico ($\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$)
- 2) TT simples (crescimento) – biosilicato bifásico ($\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$ e NaCaPO_4)

O primeiro, além de ser um procedimento longo, gera um Biosilicato monofásico. Já o segundo leva à uma mistura das fases $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$ e NaCaPO_4 , apresentando maior reatividade^[48]. As amostras vítreas foram submetidas a tratamento térmico em um forno tipo mufla a uma temperatura de 250 °C acima da temperatura de transição vítrea ($T_g - 550$ °C), por um tempo de 6 h. A programação utilizada foi: aquecimento à taxa de 5 °C/min e, após o tratamento de 6 h, resfriamento até 30 °C. Este tratamento térmico tem o objetivo de cristalizar de forma controlada, gerando uma vitrocerâmica, a fim de eliminar

tesões residuais no vidro, e possibilitar melhorias nas propriedades mecânicas. Segundo Ravagnani^[52], quando o Biosilicato[®] é tratado termicamente a temperaturas superiores a 700 °C, ocorre o aparecimento de uma fase cristalina secundária (NaCaPO₄), como pode ser observado na Figura 4.2.

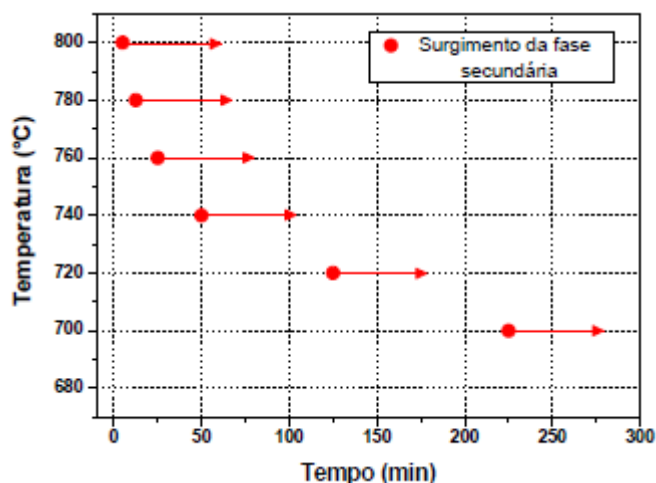


Figura 4.2 - Tempo de duração do tratamento térmico em função da temperatura para o surgimento da fase secundária (identificação da fase secundária realizada através de FTIR)^[52].

Através deste gráfico, pode-se observar que o aparecimento da fase NaCaPO₄ depende do tempo e da temperatura de tratamento térmico. Por exemplo, à temperatura de 720 °C, são necessários 125 minutos de tratamento térmico para o surgimento da fase secundária. A 740 °C, a fase secundária pode ser identificada com 50 minutos de tratamento térmico.

4.1.3 Moagem da vitrocerâmica

Após a obtenção do Biosilicato[®], o vidro obtido na fusão foi quebrado e, em seguida, pulverizado em um moinho planetário Pulverisette - Fritsch, com jarro e bolas de ágata. A ágata é uma espécie mineral constituída por várias formas cristalinas da sílica (SiO₂), desta forma o uso de meios de moagem de ágata minimiza a contaminação do vidro bioativo com elementos estranhos, uma vez que a sílica está presente na sua composição.

Estudos^[53,54] mostraram que variando o tamanho dos meios de moagem e o tempo, é possível obter pós muito finos, com distribuição de tamanho de partículas relativamente larga. Para melhorar o empacotamento foram utilizados diferentes tamanhos de partícula, variando assim os tempos e a rotação de moagem, utilizando os seguintes procedimentos:

1. Moagem inicial a 450 rpm por 30 min com três esferas de ágata de 30 mm de diâmetro;
2. Moagem a 450 rpm por 70 min com 10 esferas de ágata de 20 mm de diâmetro;
3. Moagem a 550 rpm por 120 min com 50 esferas de ágata de 10 mm de diâmetro.
4. Moagem a 550 rpm por 120 min com 70 esferas de ágata de 10 mm de diâmetro.

Este procedimento visa à obtenção de um pó com tamanho médio de partículas em torno 5 μm . O tamanho médio e a distribuição de tamanho de partículas do Biosilicato em pó foi determinado em um analisador de partículas (LA-930 Horiba). Foi utilizado o álcool etílico como meio líquido, sem adição de defloculante.

4.1.4 Caracterização da Vitrocerâmica

4.1.4.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Esta técnica consiste no acompanhamento das transições de fase ou reações químicas por observação do calor absorvido ou liberado. É utilizada para estudo de transformações estruturais no interior de um sólido a temperaturas elevadas. Inicialmente, a técnica de calorimetria exploratória diferencial foi utilizada como ferramenta para o controle da existência de fase vítrea nas amostras sinterizadas de Biosilicato®. As medidas foram realizadas no calorímetro diferencial de varredura DSC 404 (Netzsch). As amostras foram aquecidas desde a temperatura ambiente até 900 °C a uma taxa de 10 °C/min.

As curvas de DSC foram analisadas através do *software* Proteus®. Estas medidas foram conduzidas ao ar, com fluxo de gás nitrogênio para proteger a balança de precisão Netzsch modelo STA F3 Jupiter. Todos os experimentos foram realizados em cadinhos de platina.

4.1.4.2 Difração de raiosX (DRX)

A caracterização das fases cristalinas resultantes das reações químicas envolvidas foi realizada empregando-se a técnica de difratometria de raios X (DRX). Para isso, a partir dos cilindros vítreos, amostras com as faces paralelas de aproximadamente 10 mm de diâmetro e 7,5 mm de espessura foram cortadas e analisadas.

Os difratogramas foram coletados à temperatura ambiente em um difratômetro da marca Siemens Ultimate IV com radiação de CuK α . Os experimentos foram realizados na faixa de 2θ entre 10° e 90° , com um passo angular de $0,02^\circ/s$ e modo contínuo a $1^\circ/min$. Os dados obtidos foram tratados através de *software* Crystallographica Search Match, e da base de dados do sistema JCPDS (*Joint Committee on Powder Diffraction Standards*).

Para realização do experimento, os pós de Biosilicato® e fosfato (sódio ou potássio), assim como, 40 g de bolas ágata de 5 mm de diâmetro foram adicionados a um recipiente de polietileno e submetidos ao girador de jarros por 15 min. Após a retirada as bolas de ágata, o pó foi, então, vertido em água, contendo o aditivo acelerador/retardante de pega. As amostras foram moldadas em gabinete úmido e testadas para 7 e 14 dias de tempo de secagem. Também foram testadas as matérias primas sólidas puras e uma amostra contendo somente Biosilicato® e fosfato de sódio dibásico.

4.1.5 Medidas de distribuição de tamanho de partículas (DTP)

O tamanho médio e a distribuição de tamanho de partículas do Biosilicato em pó e das demais matérias primas foram determinados em um analisador de partículas (LA-930 Horiba). Álcool etílico foi utilizado como meio líquido, sem adição de defloculante. O procedimento foi empregado da seguinte forma:

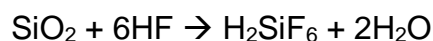
1. Alimentação do equipamento com o meio líquido de interesse;
2. Realização do alinhamento do eixo ótico;
3. Acionamento do modo ultrassom interno para remoção de bolhas;
4. Realização do “branco”;
5. Adição de aproximadamente 75 mg do pó em 30 mL do meio líquido, mantendo a mistura por 1 minuto em limpador ultrassônico externo ao equipamento;
6. Acionamento do *spindle* de rotação, mantendo-o no nível de velocidade 10 até o término das medidas;
7. Acionamento do ultrassom interno do equipamento, mantendo no nível 5;
8. Adição da suspensão com conta-gotas até que a transmissão (%T) seja de aproximadamente 90%;
9. Desligamento do ultrassom interno;
10. Realização da medida logo após a adição da suspensão.

4.1.6 Preparação do cimento

O estudo dos cimentos bioativos foi assim realizado com Biosilicato® como matéria prima principal visando as propriedades de interação entre o sistema vidro-tecido ósseo. Visto que, quando implantado no organismo, uma camada de HCA é formada na superfície do vidro, promovendo uma interface ligada ao

tecido. Além disso, Peitl et al.^[46] mostraram que esta vitrocerâmica apresenta melhor desempenho em termos de bioatividade e resistência mecânica quando comparada com as vitrocerâmicas bioativas os demais biovidros comerciais. Já a utilização dos fosfatos de sódio ou potássio (como dito no item 2.8) auxiliam na continuidade da troca iônica entre o vidro e o fluido que atuaram na formação da camada de fosfato de cálcio amorfo que, posteriormente, se cristalizará em HCA. Também foram utilizados 5 tipos de aditivos aceleradores de pega, sendo três deles de caráter ácido – HF, HCl e H₃PO₄ - e dois de caráter básico - Ca(OH)₂ e (NH₄)₂HPO₄.

- **Ácido fluorídrico (HF):** o ataque químico de vidros (ou vitrocerâmicas) silicatos por soluções aquosas contendo ácido fluorídrico é muito conhecido e utilizado em diferentes campos tecnológicos^[55]. Em solução, o HF promove a quebra da ligação Si-O, havendo a liberação de íons que antes pertenciam à estrutura do vidro para a solução. De uma forma simples, o mecanismo de reação pode ser descrito por:



- **Ácido clorídrico (HCl):** assim como o ácido fluorídrico, o ácido clorídrico também é conhecido por atacar quimicamente vidros silicatos; entretanto, é mais eficiente na remoção de álcalis da estrutura do vidro^[56].
- **Ácido cítrico (C₆H₈O₇):** em baixas concentrações (< 1% em peso), o ácido cítrico atua como acelerador de pega em cimentos à base de fosfato de cálcio (α-TCP). Em concentrações superiores a 1,5% em peso, o ácido cítrico aumenta os tempos de pega inicial e final, ou seja, aumenta a trabalhabilidade; isto ocorre porque o ácido cítrico retarda a formação da fase hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA;

$\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$)^[57]. Além disso, o ácido cítrico também reduz a quantidade de água necessária e melhora a fluidez do cimento.

- **Fosfato de de amônio dibásico ((NH₄)₂HPO₄):** o fosfato de de amônio dibásico possui caráter básico (pH na faixa de 7.7-8.1 – solução aquosa a 5%, 25°C) e é um aditivo utilizado com frequência para controlar o tempo de pega de cimentos à base de fosfato de cálcio. Chen et al.^[58] descobriram que este aditivo diminui o tempo de pega em cimentos do tipo TTCP/DCEPA (Fosfato de Tetracálcio/Fosfato de dicálcio), atuando como defloculante.
- **Hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂):** a adição do hidróxido de cálcio pode diminuir ou aumentar o tempo de pega, dependendo da composição química do cimento de fosfato de cálcio. Por exemplo, Takagi et al.^[59] descobriram que não há reação de pega quando o Ca(OH)₂ é misturado ao α-TCP. Entretanto, quando misturado com DCPD (Fosfato de dicálcio dihidratado), a pega pode ocorrer entre 10 e 21 minutos. O hidróxido de cálcio também atua como defloculante.

Para a preparação do cimento de Biosilicato[®] foram estabelecidas formulações contendo 80% em peso de sólidos e 20% em peso de líquidos. Como principal componente da fase sólida foi utilizado o Biosilicato[®], como componente secundário da fase sólida foi utilizado um fosfato de sódio ou potássio. As composições testadas estão apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Composições testadas

Composição (%)			
Biosilicato	Na₂HPO₄	H₂O	Aditivo
45,2	34,8	20	-
65	8	27	-
70	8	22	-
72	8	20	-
72	8	19	1 H ₃ PO ₄
72	8	19	1 HF
72	8	19	1 HCl
72	8	19	1 C ₆ H ₈ O ₇
72	8	19	(NH ₄) ₂ HPO ₄
72	8	19	Ca(OH) ₂
Composição (%)			
Biosilicato	NaH₂PO₄	H₂O	Aditivo
45,2	34,8	20	-
65	8	27	-
70	8	22	-
72	8	19	1 H ₃ PO ₄
Composição (%)			
Biosilicato	K₂HPO₄	H₂O	Aditivo
45,2	34,8	20	-
65	8	27	-
70	8	22	-
72	8	19	1 H ₃ PO ₄
Composição (%)			
Biosilicato	KH₂PO₄	H₂O	Aditivo
45,2	34,8	20	-
65	8	27	-
70	8	22	-
72	8	19	1 H ₃ PO ₄

Os pós de Biosilicato® e fosfato (sódio ou potássio), assim como, 40 g de bolas ágata de 5 mm de diâmetro foram adicionados a um recipiente de polietileno e submetidos ao girador de jarros por 15 min. Após a retirada das bolas de ágata, o pó foi, então, vertido em água, contendo o aditivo acelerador/retardante de pega.

4.1.7 Tempo de pega (Vicat)

O termo pega é utilizado para descrever o período de início do enrijecimento da pasta de cimento, ou, em outras palavras, o momento em que a pasta deixa de ser plástica e passa a apresentar um estado rígido^[60]. Posteriormente a este enrijecimento, ocorre um aumento de temperatura e, neste momento, a pasta de cimento solidifica e se torna não mais trabalhável, podendo ser chamada de início de pega. O tempo final da pega é dado, no momento, em que a pasta de cimento passa a não mais sofrer deformações e se solidifica por completo^[61]. Ou seja, o tempo de pega é definido como aquele em que o material está completamente endurecido e pode ser separado do molde sem sofrer deformação permanente. Este é determinado observando-se a penetração de uma agulha num cimento de consistência normal até o momento em que atinge um valor determinado.

Para a determinação do tempo de pega dos cimentos, foi utilizada uma adaptação da norma ASTM C191-92 (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS) – Standard Test Methods for Time of Setting of Hydraulic Cement by Vicat Needle. Segundo a norma, para realização do teste, deveria ser utilizado um suporte cônico de 40 mm de altura e diâmetros interno de 70 mm e externo de 60 mm. Contudo, foi utilizado um suporte cônico de 4 mm de altura e diâmetros interno de 4 mm e externo de 5 mm. Esta adaptação foi realizada, visto que a quantidade de produto necessária para a realização do ensaio seguindo a norma é extremamente elevada, sendo inviável a produção desta quantidade de matéria prima.

Para realização do teste, a amostra foi moldada e colocada em um gabinete úmido para iniciar a fixação. Testes de penetração periódica foram realizados no cimento, de forma a permitir que a agulha Vicat de 1 mm de diâmetro se assentasse neste cimento. O tempo inicial de fixação de Vicat é dado pelo tempo decorrido entre o contato inicial do cimento com a água e o tempo em que a penetração é medida ou calculada como sendo de 2,5 mm. O tempo final de ajuste do Vicat é aquele em que o tempo decorrido entre o contato inicial do cimento com a água e o tempo em que a agulha não deixa uma impressão

circular completa na superfície do cimento. Alguns fatores, como tamanho de partículas, composição da amostra, proporção sólido/líquido, podem interferir no tempo de pega de um cimento. A Figura 4.3 apresenta uma representação esquemática do aparelho de Vicat utilizado na determinação do tempo de pega das amostras.

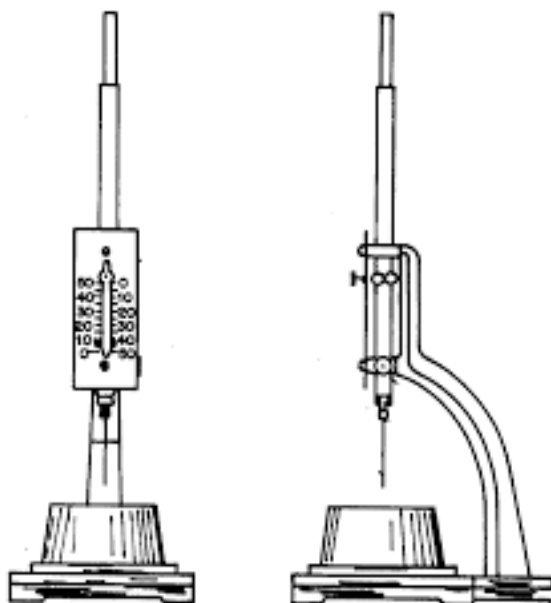


Figura 4.3 – Representação esquemática do aparelho de Vicat.

4.2 Bioatividade *in vitro*

4.2.1 Preparação da solução de SBF-K9

A bioatividade *in vitro* das amostras foi avaliada pela imersão das amostras na forma de pastilhas (12 x 2 mm) em fluido corporal simulado (SBF-K9 – do inglês *simulated body fluid*), em um frasco de polietileno, como representado na Figura 4.4. A razão entre a área superficial teórica das pastilhas e o volume da solução SBF (A_s/V) foi padronizada em $0,1 \text{ cm}^{-1}$, pois valores acima de 0,1 levam a um aumento excessivo da velocidade das reações devido ao aumento do pH da solução durante a reação^[62]. Devido à alta porosidade dos corpos de prova, a solução foi trocada a cada 72 h, evitando dessa forma a alteração do pH durante a reação. As amostras foram mantidas em banho-Maria

a 36,7 °C (a mesma temperatura do corpo humano), onde permaneceram por períodos entre 0 a 24 horas. Para tal, foi utilizado o banho-Maria Nova Técnica modelo CT 269 com controle rigoroso de temperatura (controlador Gefran 500), em que a variação de temperatura é de somente 0,1 °C.

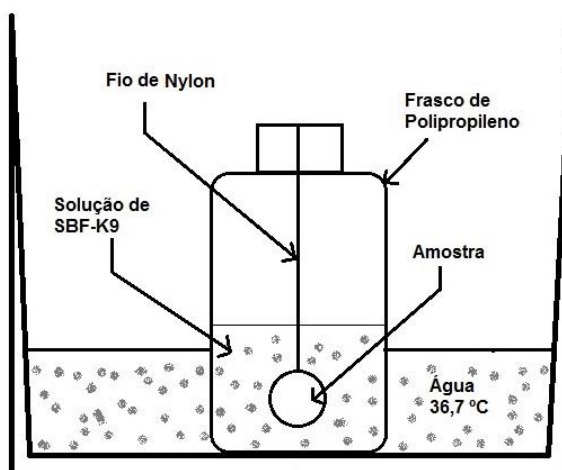


Figura 4.4. Representação da montagem do ensaio de bioatividade (Adaptado de Peitl^[62]).

A solução de SBF foi preparada pela dissolução de reagentes de grau analítico P.A. em água deionizada, adaptando a norma ISO 10993:14^[63] como descrito por Kokubo *et al.*^[64]. O pH da solução foi mantido a 7,25 a 36,7 ± 0,5 °C e tamponada com trishidroximetil-aminometano e ácido clorídrico. Esta solução simula as condições dos fluidos corporais, contendo os íons presentes em concentrações muito próximas às encontradas no plasma sanguíneo humano, como indicado na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Concentração de íons (mM) na solução SBF-K9 e no plasma sanguíneo humano^[64].

Íon	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
SBF-K9	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1,0	0,5
Plasma Humano	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5

A preparação da solução seguiu a metodologia descrita a seguir:

1. Inicialmente toda a vidraria e recipientes para preparo e armazenamento da solução, foram lavados com solução de 1 N de HCl, detergente neutro e água deionizada, nesta ordem;
2. Todos os utensílios foram secos em estufa;
3. Em um béquer de 1 L, adicionou-se 500 ml de água deionizada e cobriu com vidro de relógio;
4. Com o auxílio de um agitador magnético a água foi agitada e adicionaram-se os reagentes na mesma ordem descrita na Tabela 4.3 (quantidades de reagentes para o preparo de 1 L de solução). Atentando-se que um reagente só deveria ser adicionado quando houvesse completa dissolução do anterior.
5. A temperatura foi, então, ajustada em banho aquecido, para 36,7 °C.
6. Posteriormente adicionou-se solução de HCl (1 N) o ajuste do pH para 7,25 foi feito. Em seguida, retirou-se o eletrodo do pHmetro, adicionando à solução a água deionizada empregada na sua lavagem;
7. Após o resfriamento da solução até a temperatura ambiente, a solução do béquer foi transferida para um balão volumétrico de 1 L. Ao balão volumétrico, adicionou-se a água utilizada na lavagem do béquer.
8. Ajustou-se o volume total da solução para um litro, adicionando-se água deionizada.
9. A solução foi transferida para um frasco de polietileno e armazenada em refrigerador entre 5 e 10 °C.

Tabela 4.3. Reagentes para preparação de 1 litro de solução de SBF^[63,64].

Ordem	Reagente	Quantidade (g)
1	NaCl	7,996
2	NaHCO ₃	0,35
3	KCl	0,224
4	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,228
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,305
6	HCl (1 N)	40 mL
7	CaCl ₂	0,278
8	Na ₂ SO ₄	0,071
9	NH ₂ C(CH ₂ OH) ₃	6,057

As amostras coletadas após cada período de incubação foram enxaguadas em água destilada para certificar-se de que não haveria solução residual de SBF nas amostras, e, posteriormente, enxaguadas com acetona, e em seguida foram secas e armazenadas em dessecador.

A formação e o crescimento da camada de hidroxicarbonato apatita (HCA) na superfície da amostra foi caracterizada por FTIR e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

4.2.2 Caracterização

4.2.2.1 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Após a exposição ao SBF-K9, as amostras foram analisadas em ambos os lados paralelos através de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). De acordo com a norma ISO 10993-14:2001^[65], foram utilizadas amostras na forma de disco. Através dessa técnica, foi possível

detectar a formação da camada de hidroxicarbonato apatita na superfície das amostras.

Os espectros de FTIR foram coletados através do modo de reflectância difusa, com varredura de 370 a 4000 cm^{-1} e resolução de 4,5 cm^{-1} . Para isso, utilizou-se o espectrômetro Spectrum GX FTIR System (Perkin Elmer, EUA).

4.2.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Ensaio de microscopia eletrônica de varredura foram utilizados com o propósito de verificar a formação da camada de hidroxicarbonato apatita após os ensaios de bioatividade. As análises de MEV-EDS foram realizadas em um equipamento FEG Philips (XL-30) do Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE-DEMa/UFSCar). Antes da análise, a superfície de todas as amostras foi recoberta com uma fina camada de Au.

4.3 Propriedades mecânicas

4.3.1 Resistência mecânica biaxial – método *Ball-on-Three-Ball* (B3B)

Os ensaios para obtenção da resistência a flexão são, normalmente, realizados com carga uniaxial, porém na prática, a maioria dos materiais cerâmicos são submetidos a carga biaxial. Além disso, as condições de estresse da carga biaxial são muito mais severas do que as condições uniaxiais. Assim, a utilização de ensaios biaxiais pode nos levar a resultados mais confiáveis para o *design* do material. A flexão biaxial é livre dos efeitos de borda da amostra que afetam substancialmente as medidas de resistência em testes de flexão de três ou quatro pontos. Na tensão biaxial, um maior número de falhas é submetido a tensão de tração do que na uniaxial, sendo que esta última poderia fornecer uma caracterização parcial da capacidade de carga do material. Outro ponto positivo da resistência mecânica biaxial é a geometria da amostra, que permite maior facilidade de preparação e reduz o seu custo^[66,67].

Vários tipos de testes têm sido empregados para avaliar a resistência à flexão biaxial utilizando amostras na forma de placas finas e planas, que são suportadas por um anel ou três esferas, e um pistão ou esfera no centro superior da amostra, são eles: esfera-sobre-anel (*ball-on-ring*), pistão-sobre-três-esferas (*piston-on-3-balls*) ou esfera-sobre-três-esferas (*ball-on-three-balls*– B3B) e anel-sob-anel (*ring-on-ring*)^[67,68]. Dentre esses testes, o de esfera-sobre-3-esferas se caracteriza por ser o mais frequente, sendo portanto adotado neste trabalho, uma representação esquemática do mesmo é mostrada na Figura 4.5.

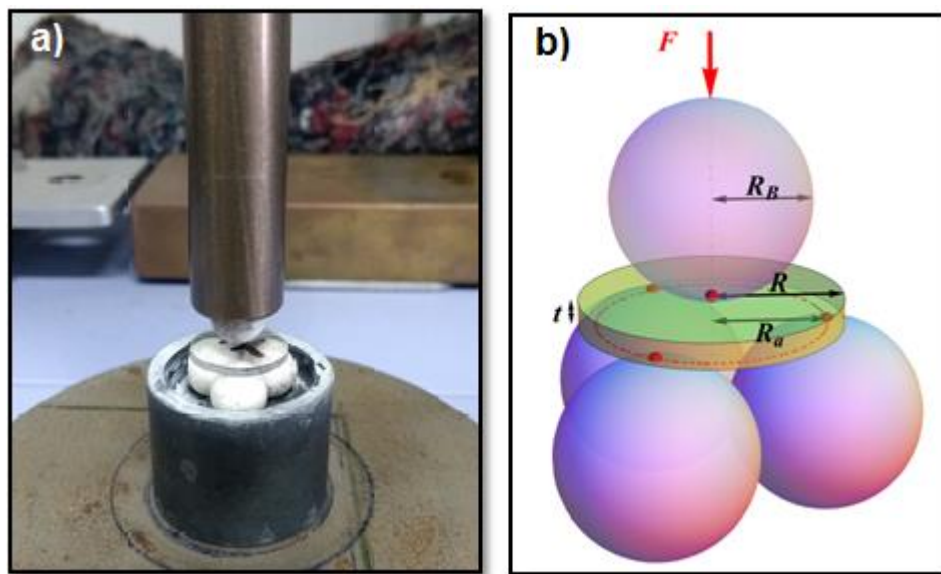


Figura 4.5. a) Aparato utilizado para o teste de flexão biaxial esfera-sobre-três-esferas (B3B), com esferas de alumina de raio de 5 mm. b) Representação esquemática do teste B3B. Neste caso, a amostra tem formato de disco, com raio R e espessura t . O raio de carga R_a é definido como a distância entre o centro da amostra e os pontos de contato com as esferas de suporte. R_a é determinado pelo raio das esferas R_B . A força F é aplicada através da esfera central, paralela ao eixo da amostra (Adaptado de Stroblet *al.*^[69]).

Como mostrado na Figura 4.5 as amostras são posicionadas sobre três esferas de alumina de 5 mm de diâmetro dispostas a 120° uma da outra se

tangenciando, e a carga é aplicada no centro da amostra por uma quarta esfera de mesmo tamanho^[67].

Os ensaios de flexão foram conduzidos ao ar e em temperatura ambiente (27°C), utilizando uma máquina de ensaios universal da marca MTS Criterion (model 43) controlada por um computador usando um software Trapezium Lite X.

As amostras foram confeccionadas com dimensões seguindo a norma ISO 6872^[69] na forma de discos com 12 mm de diâmetro e, aproximadamente, 1,5 mm de espessura. Foi adotada a taxa de carregamento de $1,0 \pm 0,5$ mm/min e foram utilizadas 3 amostras de cada espécime para desenvolver os cálculos dos respectivos desvios-padrão. Este teste também foi realizado para amostras submetidas à solução SBF-K9 durante 7 dias, seguindo os procedimentos descritos no item 4.2.1.

A resistência à flexão (S_{fb}) é dada por:

$$S_{fb} = f \frac{F}{t^2} \quad (4.1)$$

onde, F é a força aplicada e t é a espessura da amostra com formato de disco. O fator adimensional f depende da razão entre t e o raio R da amostra (t/R), da razão dentre o raio da esfera (R_B) e o raio da amostra R (R_B/R), e do coeficiente de Poisson, ν . Em que os parâmetros para c_0 a c_6 dependem de ν .

$$f\left(\frac{t}{R}, \frac{R_B}{R}, \nu\right) = c_0 + \frac{\left(c_1 + c_2 \frac{t}{R} + c_3 \left(\frac{t}{R}\right)^2 + c_4 \left(\frac{t}{R}\right)^3\right)}{1 + c_5 \frac{t}{R}} \left(1 + c_6 \frac{R_B}{R}\right) \quad (4.2)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 5.1 apresenta um resumo detalhado dos ensaios realizados para cada amostra, assim como os agentes retardantes/aceleradores de pega. Como dito no item 4.1.6, as formulações foram preparadas contendo 80% em peso de sólidos e 20% em peso de líquidos (água + aditivo de pega).

Amostra	Vicat	DRX	SBF	MEV	RM
72%Biosilicato-8%Na ₂ HPO ₄	X				
72%Biosilicato-8%Na ₂ HPO ₄ -1%H ₃ PO ₄	X				
72%Biosilicato-8%Na ₂ HPO ₄ -1%HF	X				
72%Biosilicato-8%Na ₂ HPO ₄ -1%HCl	X	X	X	X	X
72%Biosilicato-8%Na ₂ HPO ₄ -1%C ₆ H ₈ O ₇	X	X	X	X	X
72%Biosilicato-8%Na ₂ HPO ₄ -1%(NH ₄) ₂ HPO ₄	X	X	X	X	X
72%Biosilicato-8%Na ₂ HPO ₄ -1%Ca(OH) ₂	X	X	X	X	X
45,2%Biosilicato-34,8%Na ₂ HPO ₄	X				
65%Biosilicato-8%Na ₂ HPO ₄	X				
70%Biosilicato-8%Na ₂ HPO ₄	X				
72%Biosilicato-8%NaH ₂ PO ₄	X				
72%Biosilicato-8%NaH ₂ PO ₄ -1%H ₃ PO ₄	X				
45,2%Biosilicato-34,8%NaH ₂ PO ₄ -20%H ₂ O	X				
65%Biosilicato-8%NaH ₂ PO ₄ -27%H ₂ O	X				
72%Biosilicato-8%K ₂ HPO ₄	X				
72%Biosilicato-8%K ₂ HPO ₄ -1%H ₃ PO ₄	X				
45,2%Biosilicato-34,8%K ₂ HPO ₄	X				
65%Biosilicato-8%K ₂ HPO ₄ -3%H ₃ PO ₄	X				
72%Biosilicato-8%KH ₂ PO ₄	X				
72%Biosilicato-8%KH ₂ PO ₄ -1%H ₃ PO ₄	X				
45,2%Biosilicato-34,8%KH ₂ PO ₄	X				
65%Biosilicato-8%KH ₂ PO ₄ -1,5%H ₃ PO ₄	X				

Figura 5.1 - Ensaios realizados e amostras testadas.

Para fins de controle da formação da fase vítrea nas amostras sinterizadas de Biosilicato[®], realizaram-se medidas de calorimetria exploratória diferencial (DSC). A Figura 5.2 mostra as curvas típicas de DSC obtidas para o vidro quando aquecidos desde a temperatura ambiente até o aparecimento completo dos picos de cristalização a 10 °C/min.

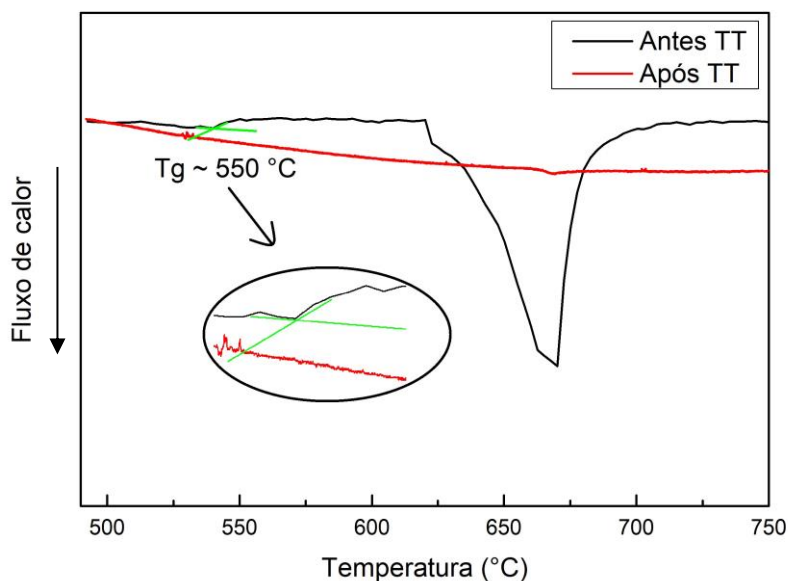


Figura 5.2 - Curva de DSC do vidro precursor do Biosilicato[®] (antes do tratamento térmico) em função da temperatura, na taxa de aquecimento de 10 °C/min (preto) e do Biosilicato[®] após tratamento térmico (vermelho).

Como mostrado na Figura 5.2, a curva de DSC para a vitrocerâmica Biosilicato[®] exibiu uma mudança na curva no sentido endotérmico na temperatura de 550 °C, atribuída à transição vítrea, confirmando, então, a presença de fase vítrea no precursor do Biosilicato[®]. O mesmo comportamento não é observado na amostra após a realização do tratamento térmico descrito no item 4.1.2, indicando a cristalização do vidro.

5.1 Distribuição do tamanho de partículas (DTP)

A distribuição e o tamanho de partícula têm influência direta no tempo de pega dos cimentos (como será descrito no item 5.2). Para tal, o pó da vitrocerâmica de Biosilicato[®] e dos fosfatos (de sódio e potássio) foram moídos, seguindo o procedimento descrito no item 4.1.3 e obtidos em analisador de partículas Horiba LA-930 (Figuras 5.3 a 5.7).

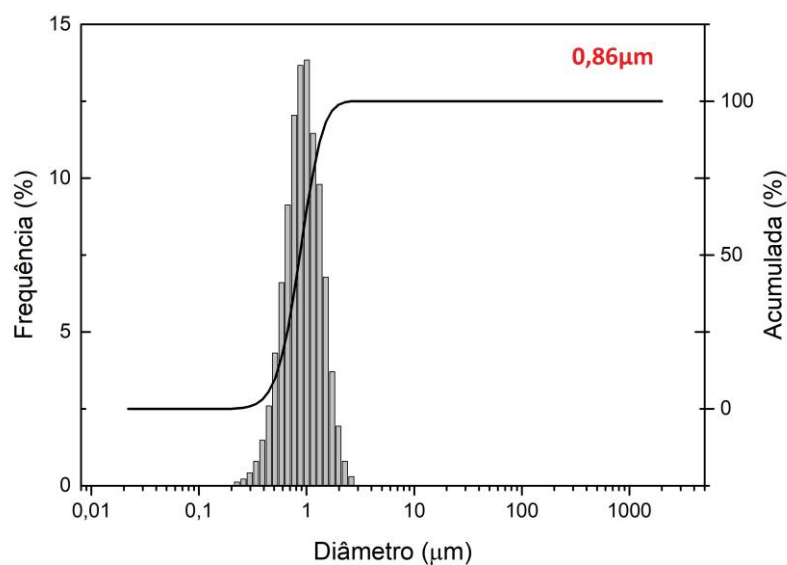


Figura 5.3 – Distribuição do tamanho de partícula para Biosilicato®.

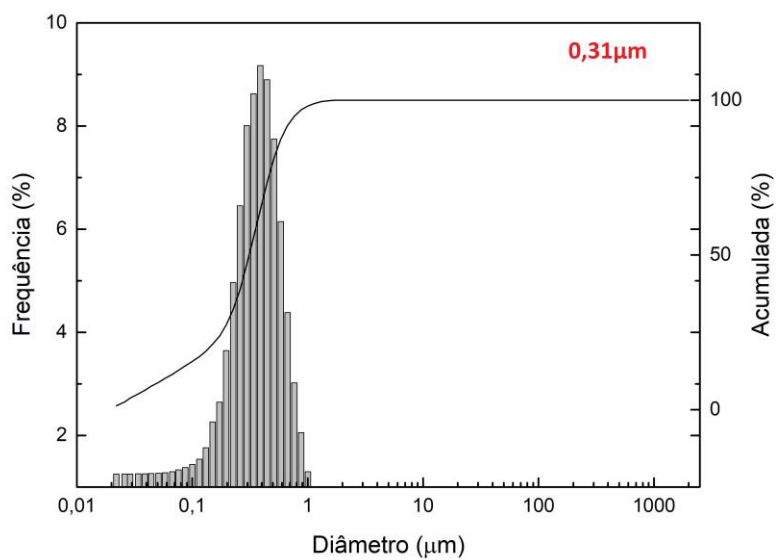


Figura 5.4 – Distribuição do tamanho de partícula para fosfato de potássio dibásico.

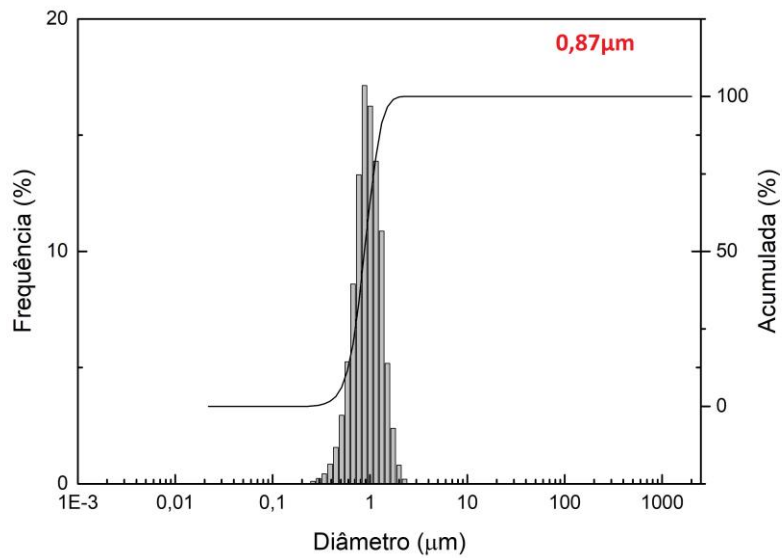


Figura 5.5 – Distribuição do tamanho de partícula para fosfato de potássio monobásico.

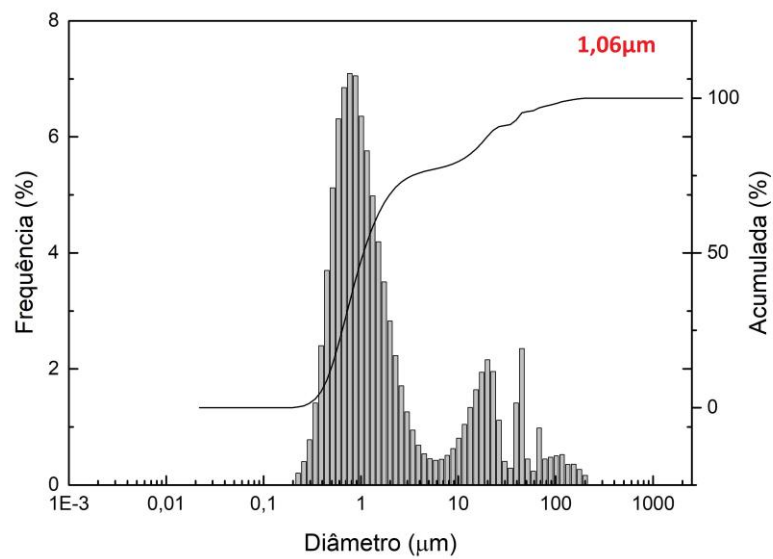


Figura 5.6 – Distribuição do tamanho de partícula para fosfato de sódio dibásico.

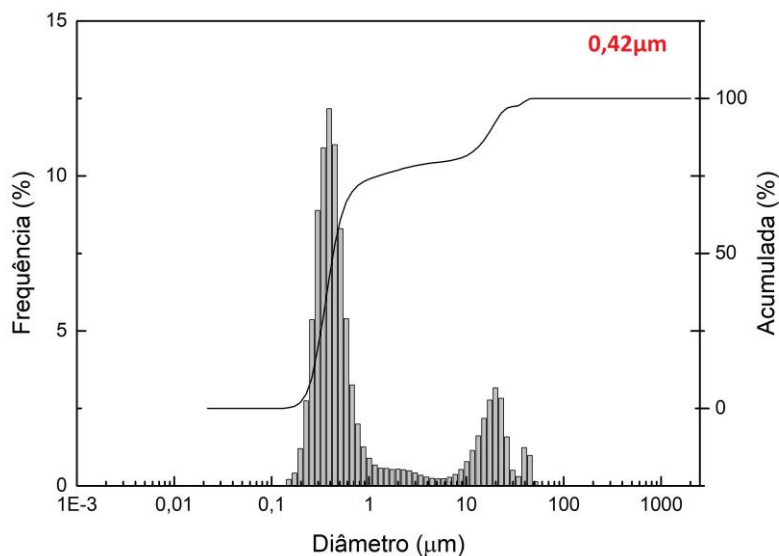


Figura 5.7 – Distribuição do tamanho de partícula para fosfato de sódio monobásico.

Como pode ser observado, as partículas de Biosilicato® possuem uma distribuição larga (Figura 5.3), variando entre 0,2 e 12 μm , com tamanho médio de partículas de 0,86 μm . As partículas do fosfato de potássio dibásico possuem uma distribuição larga (Figura 5.4), variando entre 0,02 e 1 μm , com tamanho médio de partículas de 0,31 μm . O fosfato de potássio monobásico também possui uma distribuição larga (Figura 5.5), variando entre 0,03 e 2 μm , com tamanho médio de partículas de 0,87 μm . Já os fosfatos de sódio dibásico e monobásico (Figuras 5.6 e 5.7, respectivamente) apresentam uma distribuição bimodal variando entre 0,2 e 200 μm para o fosfato de sódio dibásico (tamanho médio de 1,06 μm) e 0,2 e 50 μm para o fosfato de sódio monobásico (tamanho médio de partícula de 0,42 μm).

5.2 Determinação do tempo de pega

A partir do instante em que a água entra em contato com o cimento na mistura, ocorrem às reações de pega que levam ao enrijecimento. Estas reações podem ser de hidratação, tendo uma fase hidratada como produto final, ou uma reação do tipo ácido-base. Mesmo no caso da reação ácido-base, é comum que

haja a formação de uma fase hidratada como produto. O termo pega é utilizado para descrever o período desde o início do enrijecimento da pasta de cimento até o instante em que a pasta se solidifica por completo e não fica mais trabalhável.

Dentre os fatores mais importantes que influenciam o tempo de pega podemos citar: (1) umidade relativa do ar, (2) quantidade de líquido adicionado, (3) adição ou não de aditivos aceleradores ou retardantes de pega, (4) composição química, (5) tamanho de partícula dos componentes sólidos, (6) pH do meio e (7) temperatura.

Como descrito no item 4.1.7, para a determinação dos tempos de pega inicial e final, foi utilizado o aparelho de Vicat. O procedimento de mistura dos componentes do cimento foi descrito no mesmo item.

Tendo por base o trabalho de Wagh e Primus^[51], inicialmente foram realizados testes com quatro fosfatos diferentes, sendo eles dois fosfatos de sódio (Na_2HPO_4 – fosfato de sódio dibásico e NaH_2PO_4 – fosfato de sódio monobásico) e dois fosfatos de potássio (K_2HPO_4 – fosfato de potássio dibásico e KH_2PO_4 – fosfato de potássio monobásico), como descrito na Figura 5.1.

Wagh e Primus^[51] descobriram que fosfatos como os descritos acima são capazes de reagir com o silicato de sódio através de um conjunto de reações do tipo ácido-base, como as descritas no item 2.7.

O Na_2HPO_4 apresenta um caráter básico, com pH na faixa de 8.7-9.3 (solução aquosa a 5%, 25°C), enquanto que o NaH_2PO_4 apresenta um caráter ácido, com pH na faixa de 4.0-4.5 (solução aquosa a 5%, 20°C). Da mesma forma, o K_2HPO_4 apresenta um caráter básico, com pH na faixa de 8.5-9.6 (solução aquosa a 5%, 25°C), enquanto que o KH_2PO_4 apresenta um caráter ácido, com pH na faixa de 4.1-4.5 (solução aquosa a 5%, 25°C).

Os tempos de pega inicial e final das composições testadas estão apresentados na Tabela 5.1. Todas as composições apresentaram pega, embora com tempos iniciais e finais variados.

Tabela 5.1 - Tempos de pega inicial e final para as composições testadas.

Composição (%)				Tempo de pega	
Biosilicato	Na ₂ HPO ₄	H ₂ O	Aditivo	Inicial	Final
45,2	34,8	20	-	>1440	>1440
65	8	27	-	>300	>300
70	8	22	-	40	45
72	8	20	-	26	28
72	8	19	1 H ₃ PO ₄	>300	>300
72	8	19	1 HF	13	15
72	8	19	1 HCl	6	11
72	8	19	1 C ₆ H ₈ O ₇	4	10
72	8	19	(NH ₄) ₂ HPO ₄	8	12
72	8	19	Ca(OH) ₂	6	10
Composição (%)				Tempo de pega	
Biosilicato	NaH ₂ PO ₄	H ₂ O	Aditivo	Inicial	Final
45,2	34,8	20	-	>1440	>1440
65	8	27	-	>240	>240
70	8	22	-	>300	>300
72	8	19	1 H ₃ PO ₄	>300	>300
Composição (%)				Tempo de pega	
Biosilicato	K ₂ HPO ₄	H ₂ O	Aditivo	Inicial	Final
45,2	34,8	20	-	>2880	>2880
65	8	27	-	>240	>240
70	8	22	-	>1440	>1440
72	8	19	1 H ₃ PO ₄	>240	>240
Composição (%)				Tempo de pega	
Biosilicato	KH ₂ PO ₄	H ₂ O	Aditivo	Inicial	Final
45,2	34,8	20	-	>2880	>2880
65	8	27	-	>240	>240
70	8	22	-	>1440	>1440
72	8	19	1 H ₃ PO ₄	8	15

Como pode-se notar, das composições contendo menos de 72% de Biosilicato®, a única composição que apresentou trabalhabilidade dentro dos limites pré-determinados foi a 65%Biosilicato-8%KH₂PO₄ -1,5%H₃PO₄, contudo também apresentou-se extremamente quebradiça. As demais composições (com menos de 72% de Biosilicato®) apresentaram tempo de pega e trabalhabilidade considerados acima do ideal (tempo final de pega de ~ 15

minutos, com trabalhabilidade de ~ 10 minutos) e por isso não foram consideradas nos ensaios subsequentes.

A reação de pega da composição 72%Biosilicato-8%Na₂HPO₄ iniciou-se após cerca de 26 minutos. Apenas dois minutos depois, foi observada a pega final, caracterizada por uma reação notadamente exotérmica. A reação de pega da composição 72%Biosilicato-8%NaH₂PO₄ iniciou-se com tempo de pega acima de 5 horas, não sendo possível a determinação precisa dos tempos inicial e final de pega.

A reação de pega da composição 72%Biosilicato-8%K₂HPO₄ apresentou cinética muito mais lenta, com tempo de pega superior a 24 horas. Neste caso, também não foi possível determinar com precisão os tempos inicial e final de pega. Comportamento similar foi observado para a composição 72%Biosilicato-8%KH₂PO₄, embora o K₂HPO₄ e o KH₂PO₄ levem a um pH distinto quando dissolvidos em água.

Apesar de ter apresentado trabalhabilidade dentro do limite de tempo ideal, a composição contendo ácido fluorídrico (HF) não foi considerada para os testes posteriores, visto que a amostra apresentou-se completamente friável.

Com o objetivo de diminuir o tempo de pega, foi testado o ácido fosfórico (H₃PO₄) como aditivo. O ácido fosfórico foi utilizado com sucesso por Wagh e Primus^[51] no controle da pega; os autores descobriram que este ácido maximiza a remoção de íons Ca²⁺ e SiO₃²⁻ do silicato de cálcio, aumentando a quantidade destes elementos disponíveis para a reação.

Ao ser adicionado na composição 72%Biosilicato-8%K₂HPO₄, o tempo final de pega foi reduzido de 24h para aproximadamente 4h. O ácido fosfórico foi ainda mais eficiente como acelerador de pega no caso da composição 72%Biosilicato-8%KH₂PO₄, onde o tempo de pega final foi reduzido de 24h para apenas 15 minutos, com tempo de pega inicial de 8 minutos. Apesar da composição 72%Biosilicato-8%KH₂PO₄-1%H₃PO₄ ter apresentado trabalhabilidade dentro da faixa considerada ideal, o cimento resultante mostrou-se extremamente friável. Para a composição 72%Biosilicato-8%Na₂HPO₄ o tempo final de pega aumentou de 28 para 300 minutos. Já para a composição 72%Biosilicato-8%NaH₂PO₄ o tempo de pega se manteve inalterado. O potássio

apresenta um raio iônico relativamente maior do que o sódio, portanto a reação ocorre mais rapidamente, devido à maior área superficial disponível para reação. O aumento de tempo de pega para a composição 72%Biosilicato-8%Na₂HPO₄-1%H₃PO₄ se deve à estabilização do sistema. Como dito anteriormente, este sistema apresenta um caráter básico, ao reagir com um aditivo ácido, haverá atração das partículas, fazendo com que a viscosidade do meio aumente e, dessa forma, a reação demore mais para acontecer. O mesmo não ocorre para a composição 72%Biosilicato-8%NaH₂PO₄-1%H₃PO₄ visto que o sistema apresenta caráter ácido, portanto a velocidade de reação mantém-se, praticamente, inalterada.

Como a composição à base de 72%Biosilicato-8%Na₂HPO₄ mostrou-se mais promissora, as demais composições foram excluídas dos testes subsequentes. Para o sistema 72%Biosilicato-8%Na₂HPO₄, também foram testados cinco tipos de aditivos, sendo três de caráter ácido e dois tipos de caráter básico.

A idéia de se introduzir os aditivos descritos anteriormente (item 4.1.6), sejam estes de caráter ácido ou básico, foi identificar quais destes são capazes de diminuir o tempo de pega. Os ácidos HF e HCl promovem o ataque químico da estrutura do Biosilicato, aumentando a quantidade de íons disponíveis para a reação de pega. Já o ácido cítrico, o fosfato de diamônio e o hidróxido de cálcio são aditivos que comprovadamente alteram o tempo de pega de cimentos à base de fosfato de cálcio.

A adição de ácido clorídrico diminuiu o tempo de pega inicial do cimento de 26 minutos para 6 minutos e tempo de pega final de 28 minutos para 11 minutos (Tabela 5.1).

O ácido cítrico também atuou como um eficiente acelerador de pega, reduzindo o o tempo de pega inicial do cimento de 26 minutos para 4 minutos e tempo de pega final de 28 minutos para 10 minutos (Tabela 5.1).

O fosfato de de amônio dibásico e o hidróxido de cálcio, que ao contrário dos dois aditivos anteriores apresentam caráter básico, também atuaram como aceleradores de pega (Tabela 5.1). O tempo de pega inicial foi reduzido para 8 e 6 minutos, respectivamente; o tempo de pega final foi reduzido para 12 e 10

minutos, respectivamente. Pode-se considerar que não houve variação significativa entre os tempos de pega inicial e final para os aditivos ácido clorídrico, ácido cítrico, fosfato de diamônio e hidróxido de cálcio.

Assim sendo, as composições 72%Biosilicato-8%Na₂HPO₄-[HCl, C₆H₈O₇, (NH₄)₂HPO₄ ou Ca(OH)₂] foram escolhidas para a realização dos testes subsequentes (difração de raios X, bioatividade *in vitro* e resistência mecânica biaxial pelo método B3B).

5.3 Difração de raios X (DRX)

Para uma melhor compreensão do complexo mecanismo envolvido na reação de pega de cimentos bioativos, comumente utiliza-se a técnica de difração de raios X para identificar a(s) fase(s) cristalina(s) resultante(s). A partir da identificação do(s) produto(s) da reação e conhecendo-se os reagentes iniciais, em muitos casos é possível determinar a reação química responsável pela pega do cimento.

Para o Biosilicato® (Figura 5.8), a identificação dos difratogramas mostrou a presença de duas fases cristalinas, o silicato de cálcio e sódio (Na₆Ca₃Si₆O₁₈ - JCPDS Card. n° 77-2189) e fosfato de cálcio e sódio (NaCaPO₄ – JCPDS Card. n°74-1950), assim como esperado. Estas fases apresentam grande influência na bioatividade do material, visto que, como mencionado anteriormente, os vidros e vitrocerâmicas bioativos (do tipo silicatos), liberam íons Ca²⁺ e Na⁺ (estágio I de formação da HCA) e grupos silanóis – Si(OH)₄ – quando em contato com o meio aquoso (estágio II de formação da HCA), formando a HCA.

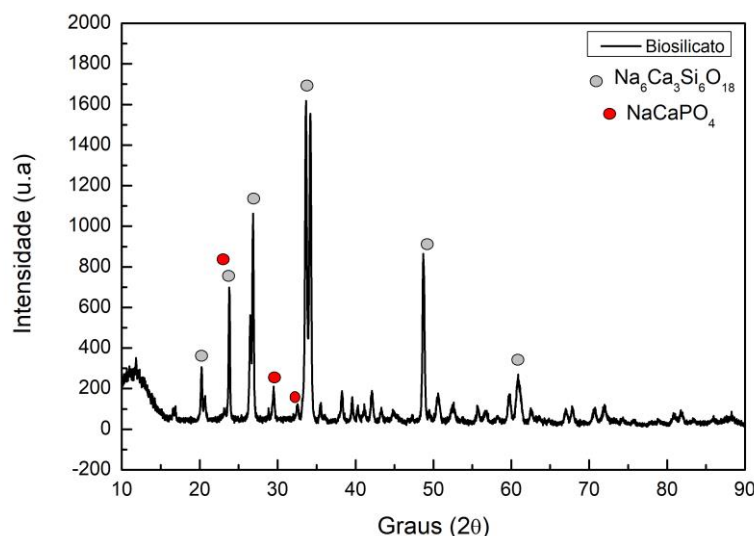


Figura 5.8 - Difratoograma do Biosilicato[®] contendo fases de $\text{Na}_6\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{18}$ e NaCaPO_4 .

O experimento foi realizado para todas amostras testadas para 7 e 14 dias de tempo de secagem (Figura 5.9). Também foi realizado o teste para o cimento contendo somente Biosilicato[®] e fosfato de sódio dibásico (Figura 5.10), além das matérias primas puras (Figura 5.11).

Na Figura 5.11, pode-se observar que toda matéria prima presente no cimento reagiu com o Biosilicato para formar as fases responsáveis pela bioatividade do material, o silicato de cálcio e sódio ($\text{Na}_6\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{18}$ - JCPDS Card. n° 77-2189) e fosfato de cálcio e sódio (NaCaPO_4 – JCPDS Card. n°74-1950) presente em todas as amostras (Figuras 5.9 e 5.10). Nota-se, também, a presença de uma fase adicional presente no cimento contendo ácido cítrico como agente acelerador de pega, o silicato de sódio e cálcio hidratado ($\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - JCPDS Card. n° 27-1247). Esta fase pode ser a responsável pela diminuição da resistência mecânica (que será falado adiante, no item 5.5).

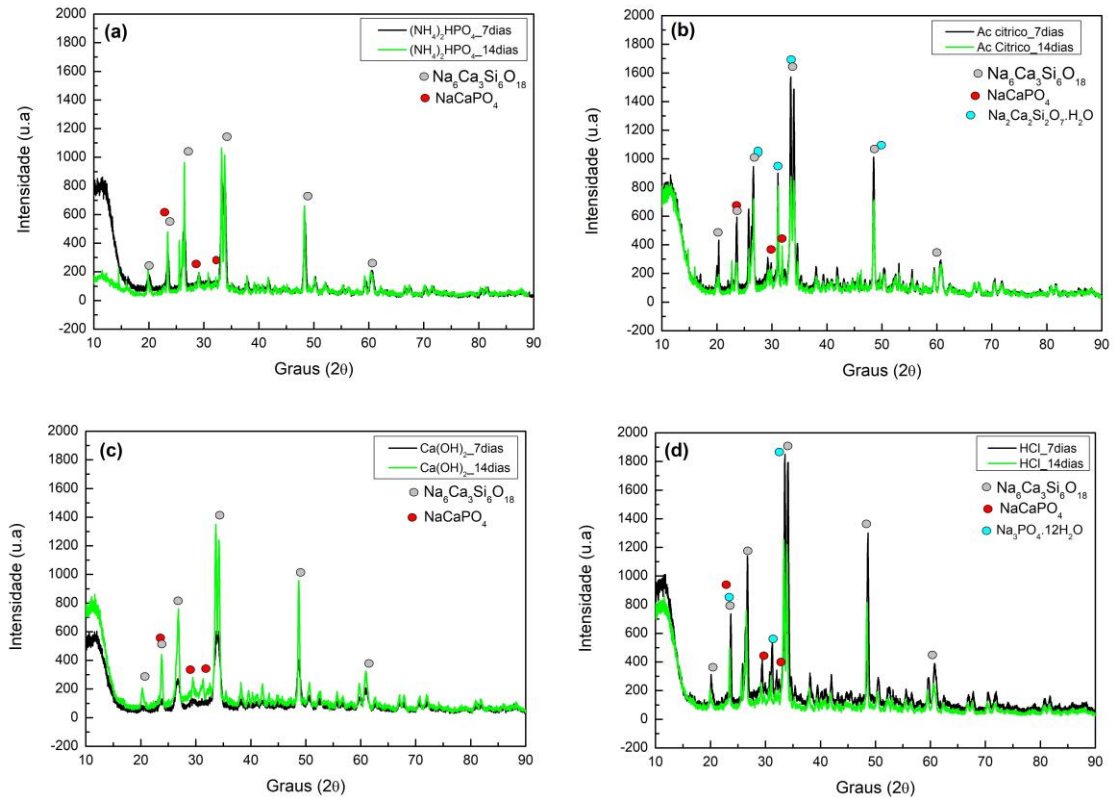


Figura 5.9 – Difratoformas do sistema Biosilicato® + fosfato de sódio dibásico contendo (a) fosfato de amônio dibásico, (b) ácido cítrico, (c) hidróxido de cálcio e (d) ácido clorídrico. Para o tempo de teste de 7 e 14 dias.

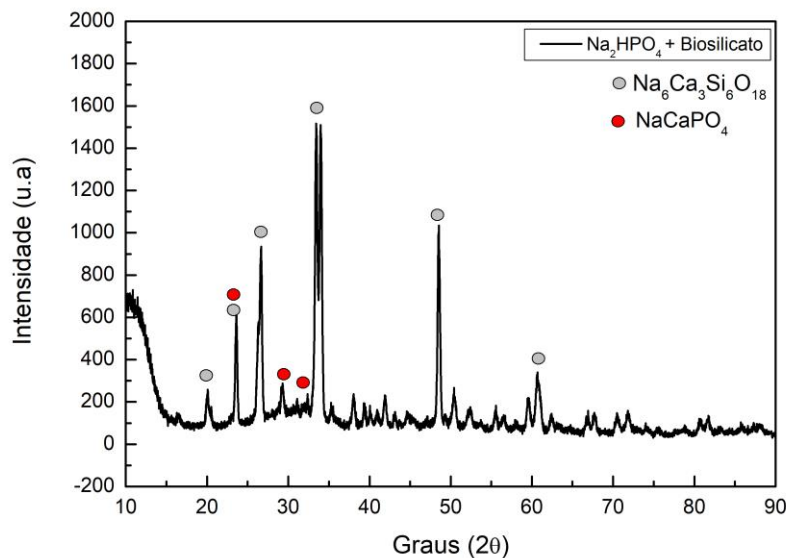


Figura 5.10 – Difratoforma da amostra contendo Biosilicato® e fosfato de sódio dibásico.

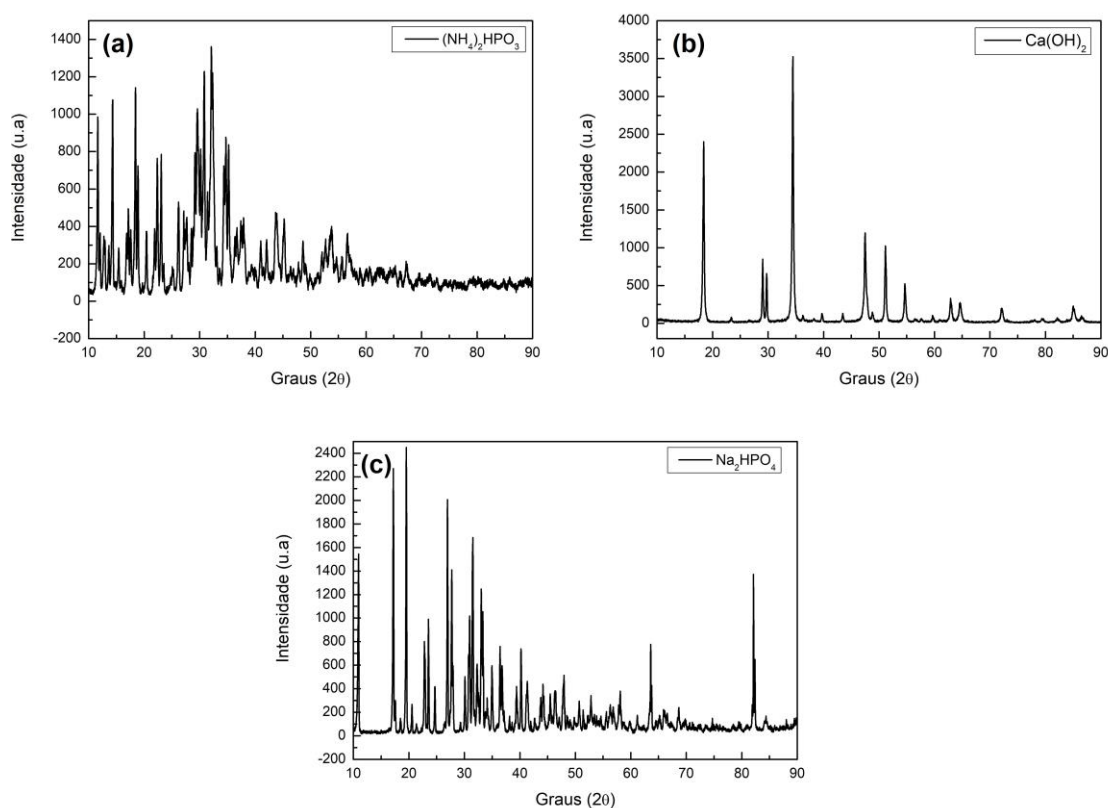


Figura 5.11 – Difratoogramas das matérias primas puras (a) fosfato de amônio dibásico, (b) hidróxido de cálcio e (c) fosfato de sódio dibásico.

O corpo de prova contendo ácido clorídrico como agente de pega também apresentou a formação de uma fase adicional, o fosfato de sódio hidratado ($\text{Na}_3\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ - JCPDS Card. nº 10-189). Esta fase pode ser a responsável pela resistência mecânica ligeiramente maior que as demais para 14 dias (item 5.5).

5.4 Testes de bioatividade *in vitro*: análises de FTIR e MEV

Os testes de bioatividade *in vitro* foram realizados a fim de verificar a cristalização de hidroxycarbonatoapatita (HCA) na superfície das amostras. Dessa forma, após os corpos de prova serem expostos em SBF-K9, as transformações superficiais foram acompanhadas por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Os picos de maior interesse são os de 560 e 602 cm^{-1} , que correspondem à ligação P-O, que atestam a

presença de HCA cristalina. Os testes foram realizados para tempos de exposição ao SBF variando de 0 e 7 dias.

Os espectros de FTIR (Figura 5.12) mostram a evolução das reações superficiais em função do tempo de exposição ao SBF que ocorreram no cimento contendo ácido clorídrico como aditivo.

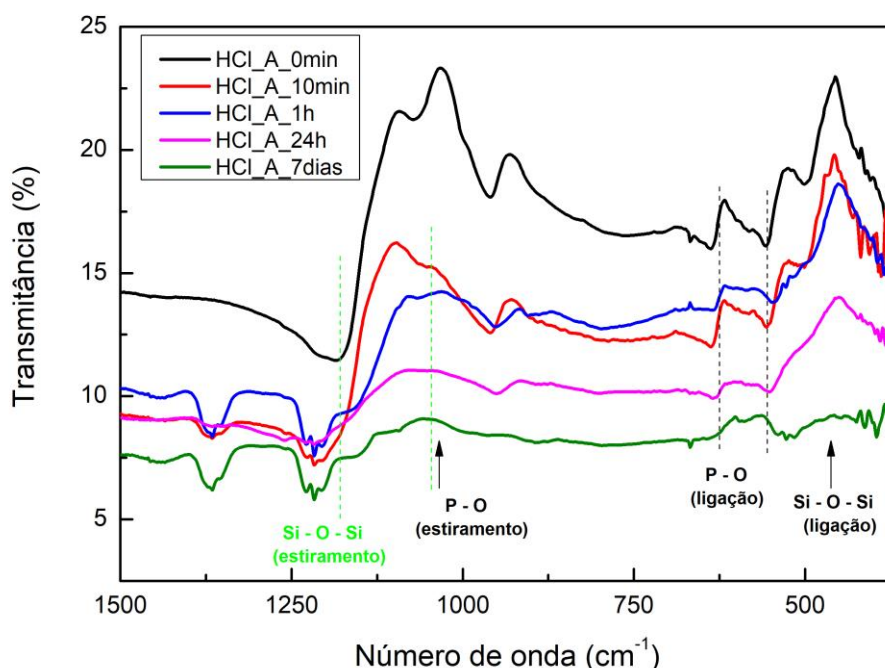


Figura 5.12 - Espectros de FTIR para amostras contendo ácido clorídrico como aditivo, quando expostas à solução SBF-K9 durante períodos entre 0 e 7 dias.

Como pode ser observado, a sequência de transformações superficiais na Figura 5.12 segue os principais estágios para a formação da HCA propostos por Hench^[70] e comprovados por Peitl et al.^[71] (sequências descritas no item 2.4). Dessa forma, o modo vibracional natural da superfície antes de ser submetida à reação (0h de exposição ao SBF) é alterado em função do tempo de exposição à solução de SBF-K9. A reação se inicia com uma troca de íons alcalinos, ou seja, a superfície da amostra sofre lixiviação e íons como sódio, fosfato e cálcio são retirados. Em seguida, há a repolimerização da sílica-gel, e a sílica reprecipita formando uma estrutura extremamente aberta. O meio encontra-se

saturado de fosfato de cálcio, então, este se depositará na superfície da sílica-gel, formando uma fase Ca-P amorfa.

Como observado na Figura 5.12, para os tempos de 0 e 10 minutos, ainda não nenhuma evidência de formação de HCA. Contudo, após apenas 1 hora (Figura 5.13), apesar de ainda ser evidente a presença de sílica (pico agudo em 455cm^{-1}), pode ser observado a formação de CO_3 em $890\text{-}800\text{cm}^{-1}$. Sendo que este pode ser indicativo do início da formação de HCA na amostra, entretanto, devido à presença de SiO_2 , a superfície ainda não está totalmente recoberta.

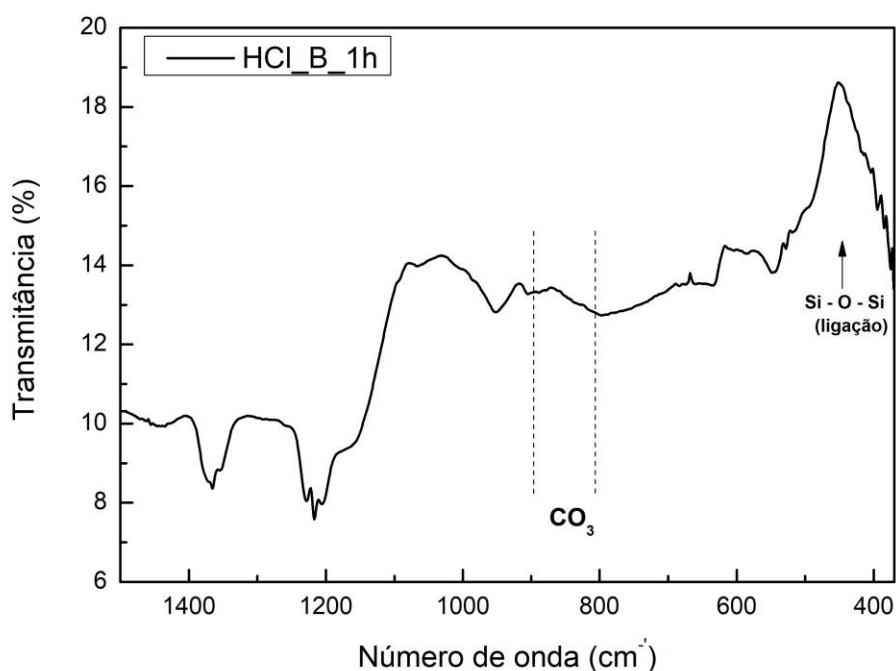


Figura 5.13 - Espectro de FTIR para amostra contendo ácido clorídrico como aditivo, quando expostas à solução SBF-K9 durante período de 1 hora.

A formação de HCA fica mesmo evidente após a exposição da amostra à solução por um período de 7 dias (Figura 5.14), no qual é possível notar a presença de uma camada de sílica gel. A existência da camada rica em SiO_2 é confirmada pelo duplo pico de estiramento da ligação Si-O-Si a, aproximadamente, 1120 e 1050 cm^{-1} , bem como o estreitamento do pico correspondente à ligação Si-O-Si a 470 cm^{-1} . Para este mesmo tempo de exposição ao SBF-K9 (7 dias), é possível observar também que a camada de

fosfato de cálcio ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5$) amorfo precipitou. A precipitação do fosfato de cálcio amorfo é caracterizada por um pico largo a 560 cm^{-1} , que se torna mais definida conforme o tempo de reação aumenta, sendo posteriormente dividido em dois modos de vibração, a 602 e 560 cm^{-1} . A divisão em dois picos indica que o fosfato de cálcio amorfo está se cristalizando, formando a HCA. Simultaneamente, a formação de HCA cristalina na superfície das amostras produz um pico relativo ao estiramento da ligação P-O a 1050 cm^{-1} . Conforme a camada cristalina de fosfato de cálcio cresce, os picos duplos referentes à ligação P-O (560 e 602 cm^{-1}) e ao estiramento da ligação P-O (1050 cm^{-1}) se tornam mais agudos e passam a “dominar” o espectro.

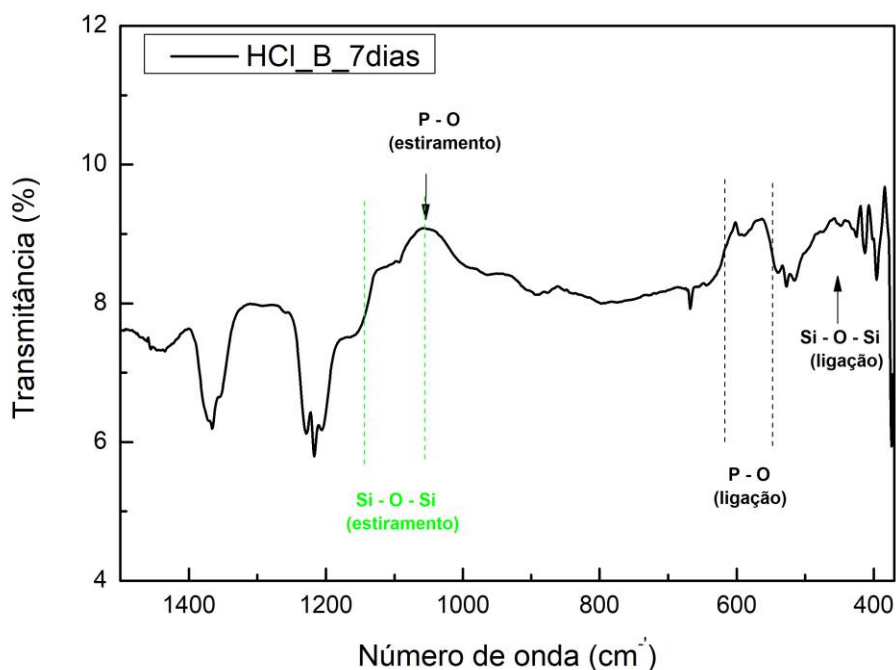


Figura 5.14 - Espectro de FTIR para amostra contendo ácido clorídrico como aditivo, quando expostas à solução SBF-K9 durante período de 7 dias.

Com base nestes resultados, pode-se afirmar que o cimento de Biosilicato[®] contendo ácido clorídrico como aditivo de pega é bioativo, pois o aparecimento da camada de HCA após 7 dias de exposição à solução de SBF indica essa condição.

O teste de bioatividade *in vitro* foi realizado para todas as amostras do sistema Biosilicato[®]/fosfato de sódio dibásico contendo aditivos de pega para os tempos 0 e 7 dias de exposição. Também foi realizado para o cimento excluindo a fase bioativa, ou seja, a amostra sem o Biosilicato[®]. Para esta amostra (sem adição de Biosilicato[®]), não foi possível a realização do teste de bioatividade *in vitro*, uma vez que a amostra se dissolveu na solução SBF-K9, o que confirma o fato de que a vitrocerâmica bioativa está reagindo com o fosfato presente no meio para formar a HCA.

As Figuras 5.15 a 5.17 apresentam os resultados obtidos da análise por FTIR para os cimentos contendo como aditivos o ácido cítrico, hidróxido de cálcio e fosfato de amônio dibásico, respectivamente.

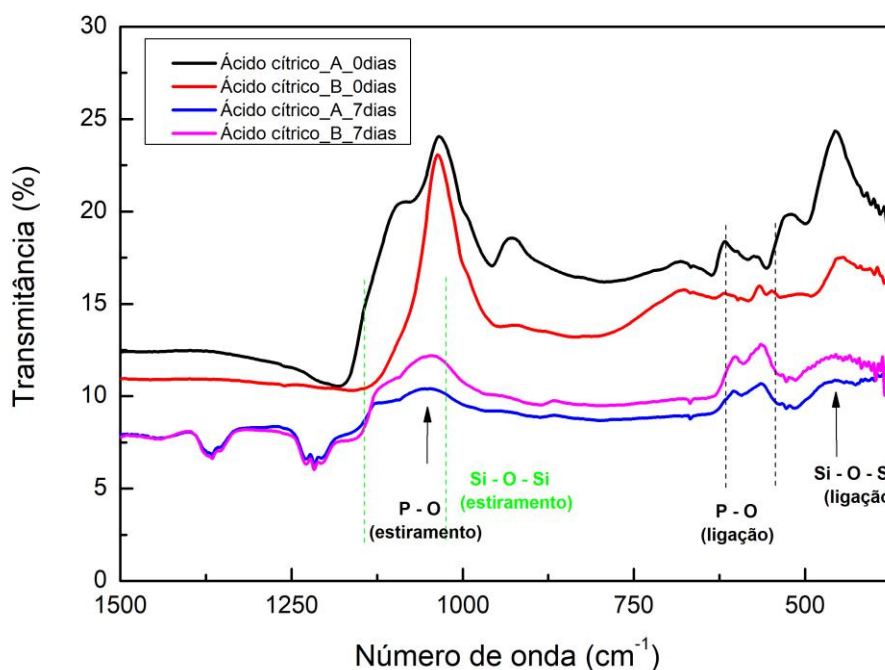


Figura 5.15 - Espectro de FTIR para a amostra contendo ácido cítrico como aditivo de pega.

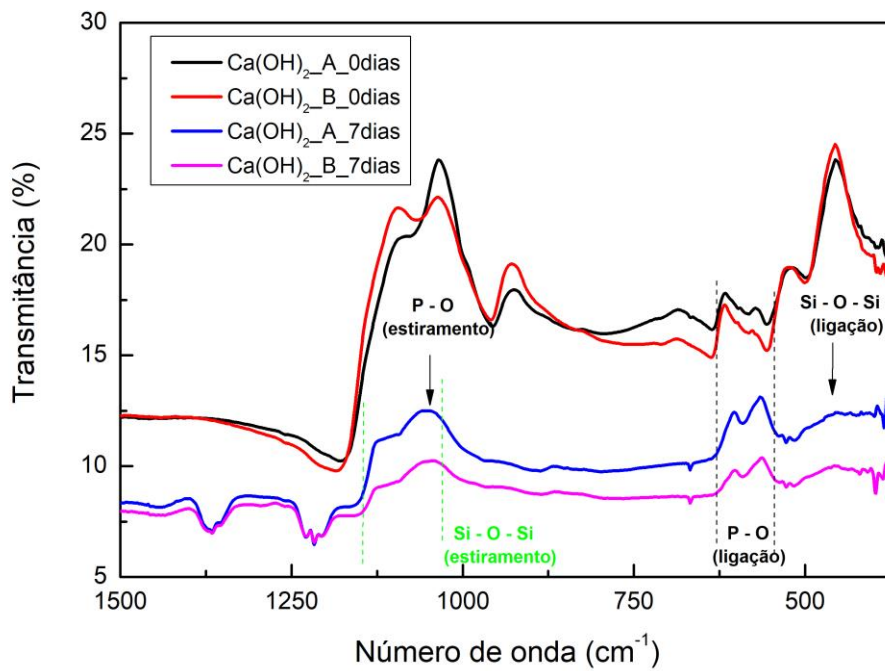


Figura 5.16 - Espectro de FTIR para a amostra contendo hidróxido de cálcio como aditivo de pega.

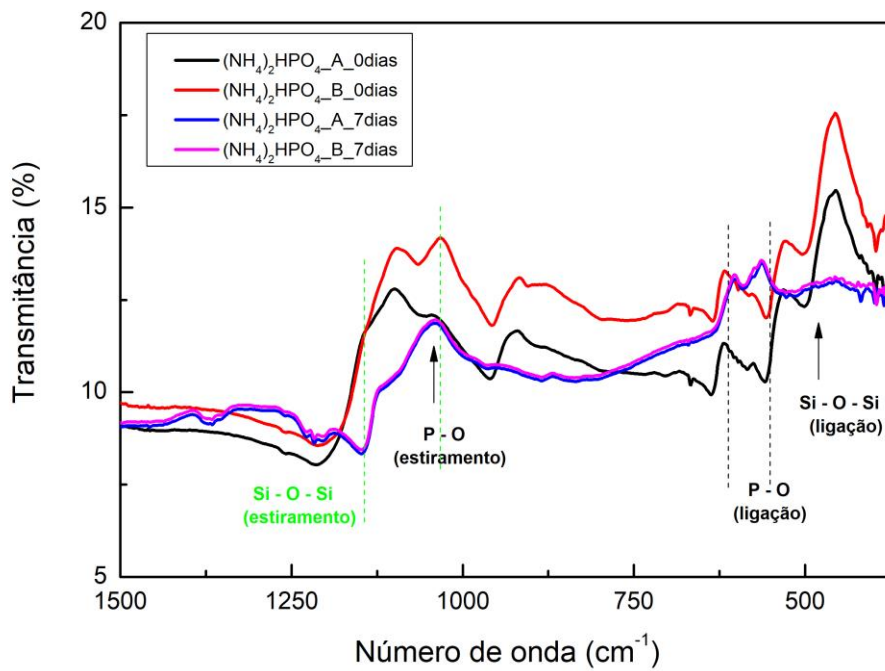


Figura 5.17 - Espectro de FTIR para a amostra contendo fosfato de amônio dibásico como aditivo de pega.

Assim como mencionado para a amostra contendo ácido clorídrico como aditivo de pega, pode-se afirmar que os cimentos contendo os demais aditivos de pega também são bioativos pois o aparecimento da camada de HCA indica essa condição.

Como pode ser observado, o modo vibracional natural da superfície antes de ser submetida à reação (0h de exposição ao SBF) também é alterado em função do tempo de exposição à solução de SBF-K9. Pode-se notar, a existência da camada rica em SiO_2 é confirmada pelo duplo pico de estiramento da ligação Si-O-Si a aproximadamente 1120 e 1050 cm^{-1} , bem como o estreitamento do pico correspondente à ligação Si-O-Si a 470 cm^{-1} . É possível observar também que a camada de fosfato de cálcio ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5$) amorfo começa a precipitar (602 e 560 cm^{-1}). A formação de HCA cristalina na superfície das amostras produz um pico relativo ao estiramento da ligação P-O a 1050 cm^{-1} . Conforme a camada cristalina de fosfato de cálcio cresce, os picos duplos referentes à ligação P-O (560 e 602 cm^{-1}) e ao estiramento da ligação P-O (1050 cm^{-1}) também se tornam mais agudos e mais evidentes no espectro.

Nas Figuras 5.18 a 5.21 podemos observar imagens de MEV das amostras após 0 e 7 dias de exposição em solução de SBF.

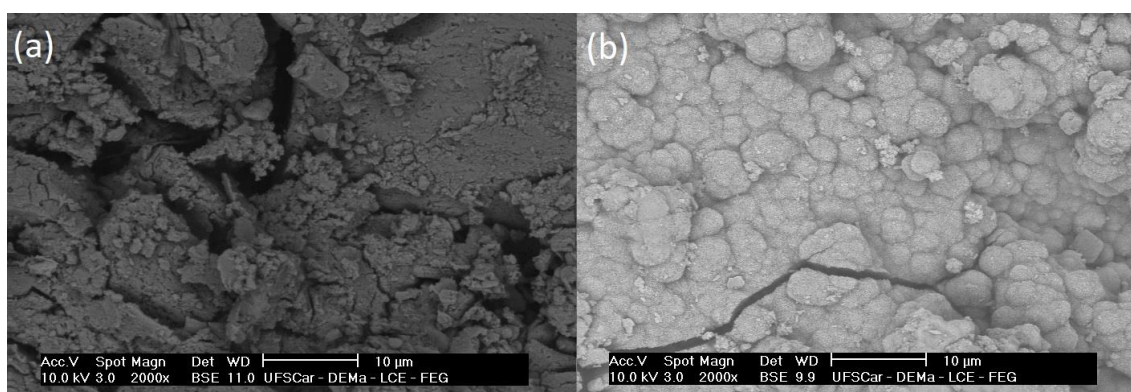


Figura 5.18 – Micrografia computadorizada da amostra contendo fosfato de amônio dibásico como aditivo para (a) 0 e (b) 7 dias de exposição à solução de SBF-K9.

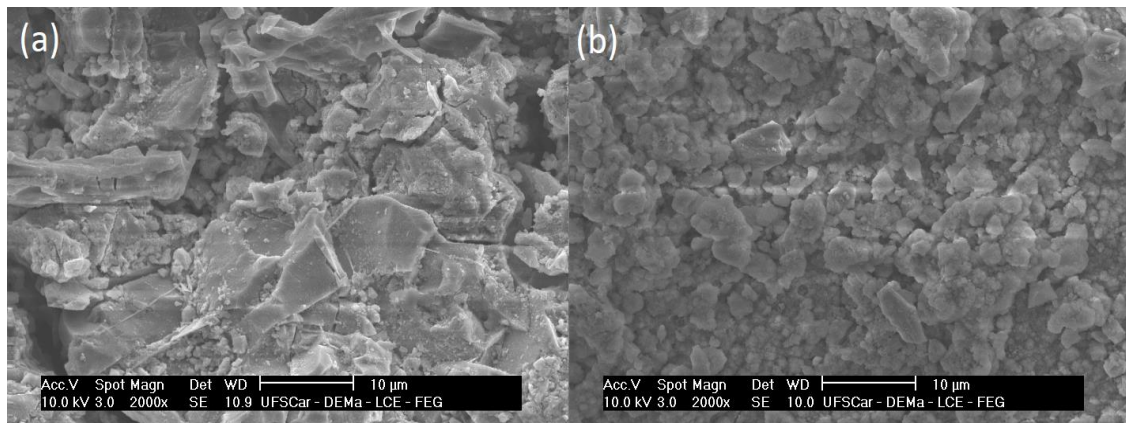


Figura 5.19 – Micrografia computadorizada da amostra contendo ácido cítrico como aditivo para (a) 0 e (b) 7 dias de exposição à solução de SBF-K9.

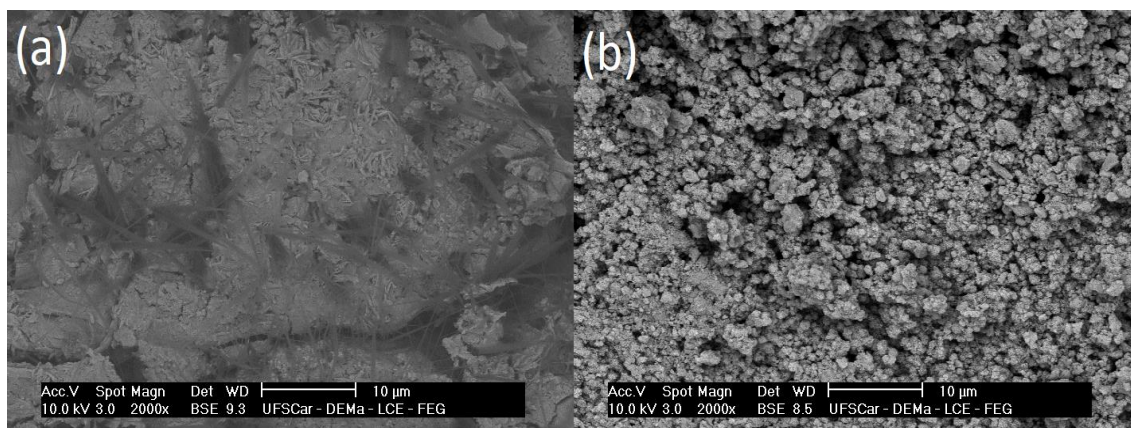


Figura 5.20 – Micrografia computadorizada da amostra contendo hidróxido de cálcio como aditivo para (a) 0 e (b) 7 dias de exposição à solução de SBF-K9.

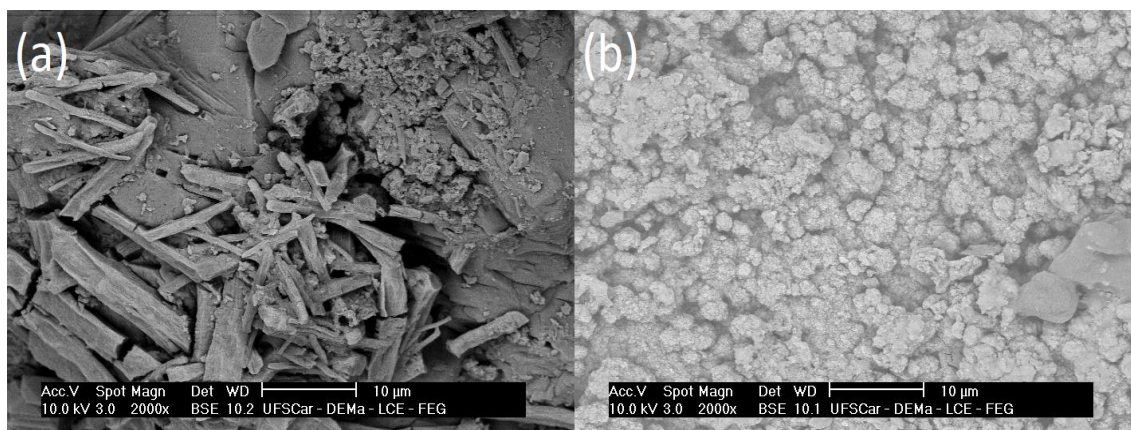


Figura 5.21 – Micrografia computadorizada da amostra contendo ácido clorídrico dibásico como aditivo para (a) 0 e (b) 7 dias de exposição à solução de SBF-K9.

Como já explanado no início da discussão, foi possível observar a formação de uma camada de HCA na superfície das amostras. As Figuras 5.18 a 5.21 evidenciam a formação da camada de hidroxicarbonato apatita com uma típica morfologia de agregados esféricos, para os cimentos obtidos. Assim como, houve uma nítida alteração da superfície dos corpos de prova quando comparados com aqueles que não foram expostos à solução SBF-K9. Como pode-se observar na Figura 5.19, a amostra contendo ácido cítrico como aditivo de pega apresentou uma variação no tamanho dos cristais de hidroxiapatita após a exposição à solução SBF-K9 por 7 dias, isso pode ser decorrente do fato de que após a reação com o Biosilicato® e o fosfato de sódio dibásico, houve a formação de uma fase de silicato de sódio e cálcio hidratado (como dito anteriormente no item 5.3). Nota-se também que o cimento contendo fosfato de amônio dibásico como aditivo acelerador de pega, foi a amostra em que, aparentemente, houve a maior formação de HCA, visto que os cristais globulares de HCA são maiores. Isso leva à suposição de que este é o cimento com maior bioatividade dentre as amostras testadas. As fases aciculares presentes da Figura 5.21, referente à amostra contendo ácido clorídrico como aditivo, pode ser decorrente do fato de que quando reagido com o Biosilicato® e o fosfato de sódio dibásico, a reação gerou como produto uma fase de fosfato de sódio hidratado (como descrito no item 5.3).

5.5 Resistência Mecânica

Para aplicações em enxertia óssea, as duas propriedades mais importante são bioatividade e resistência mecânica. Desta forma, estas duas propriedades devem ser levadas em consideração no desenvolvimento de um novo material bioativo.

Como já mencionado anteriormente no item 5.2, foram escolhidos cimentos baseados no melhor tempo de trabalhabilidade. As amostras foram cortadas e desbastadas até a lixa de 1200 μm , até a espessura de $1,2 \text{ mm} \pm 0,2$, seguindo a norma ISO 6872^[72]. Para a caracterização mecânica utilizou-se a técnica esfera-sobre-três-esferas (B3B) a uma taxa de carregamento de 1 mm/min. Foi considerada a média aritmética dos resultados obtidos para um conjunto de 3 amostras. Na Figura 5.22, observamos a resistência à flexão para as amostras contendo os aditivos aceleradores de pega (ácido cítrico, ácido clorídrico, fosfato de amônio dibásico e hidróxido de cálcio). Os testes foram realizados imediatamente após a pega ($t = 0$) e após 7, 14 e 60 dias.

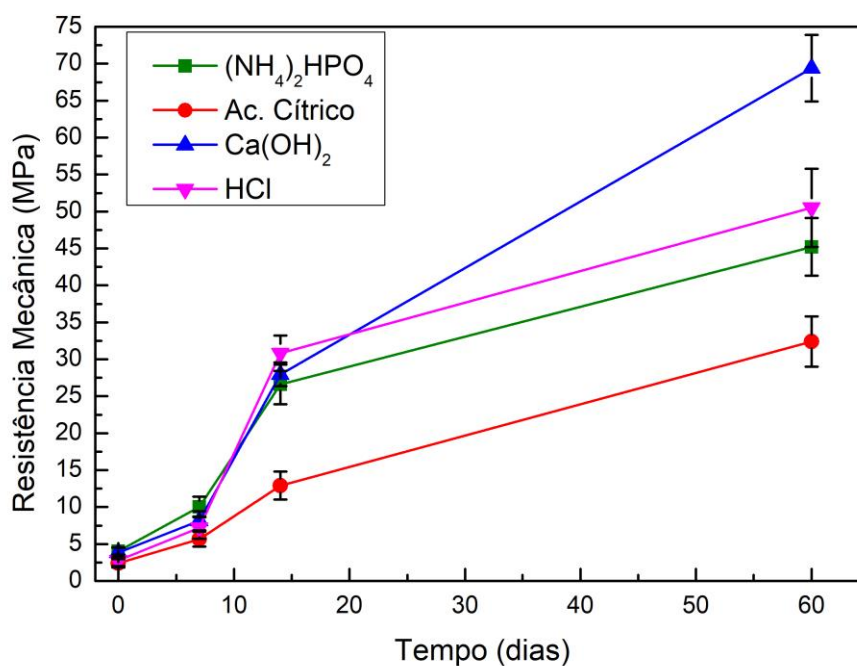


Figura 5.22 - Resistência à flexão a temperatura ambiente dos cimentos de Biosilicato® e fosfato de sódio dibásico contendo diferentes aditivos aceleradores de pega (fosfato de amônio dibásico, ácido cítrico, hidróxido de cálcio e ácido clorídrico) para os tempos de secagem 0, 7, 14 e 60 dias.

Para o tempo inicial 0 dias, ou seja, logo após o tempo final de pega, a resistência mecânica à flexão dos quatro cimentos não apresenta diferença significativa, apresentando uma resistência mecânica inferior à 5 MPa. Contudo, com o aumento do tempo, houve um aumento significativo; os cimentos contendo Ca(OH)₂, HCl e (NH₄)₂HPO₄, por exemplo, apresentaram uma resistência mecânica de aproximadamente 30 MPa após 14 dias.

Observa-se que para os cimentos contendo fosfato de amônio dibásico, ácido cítrico e hidróxido de cálcio não houve diferença significativa entre os valores de resistência à flexão após 7, 14 e 60 dias. Já o cimento contendo ácido cítrico apresentou um valor de resistência à flexão muito inferior aos demais para todos os tempos avaliados (aproximadamente 50% a menos).

Após 60 dias, o cimento contendo Ca(OH)_2 mostrou-se o mais resistente, atingindo uma resistência mecânica de aproximadamente 70 MPa. Estes resultados indicam que as complexas reações podem persistir por várias semanas.

As propriedades mecânicas dos cimentos à base de fosfato de cálcio variam largamente de acordo com a composição química e com os parâmetros de fabricação utilizados. É sempre necessário ter cautela ao compararmos valores absolutos de resistência mecânica com os dados reportados na literatura. Na maioria dos estudos, a resistência mecânica é avaliada em ensaios de compressão. Na Figura 5.23, é possível observar valores de resistência mecânica à compressão em função da porosidade obtidos por diversos autores^[73]. A resistência à compressão apresenta uma variação de quase três ordens de magnitude nos diferentes estudos, na faixa de 0,2 a 184 MPa para porosidades de 11-84%. Obviamente, estes valores dependem não apenas da porosidade, mas também do tipo, quantidade, tamanho e morfologia das fases que foram formadas.

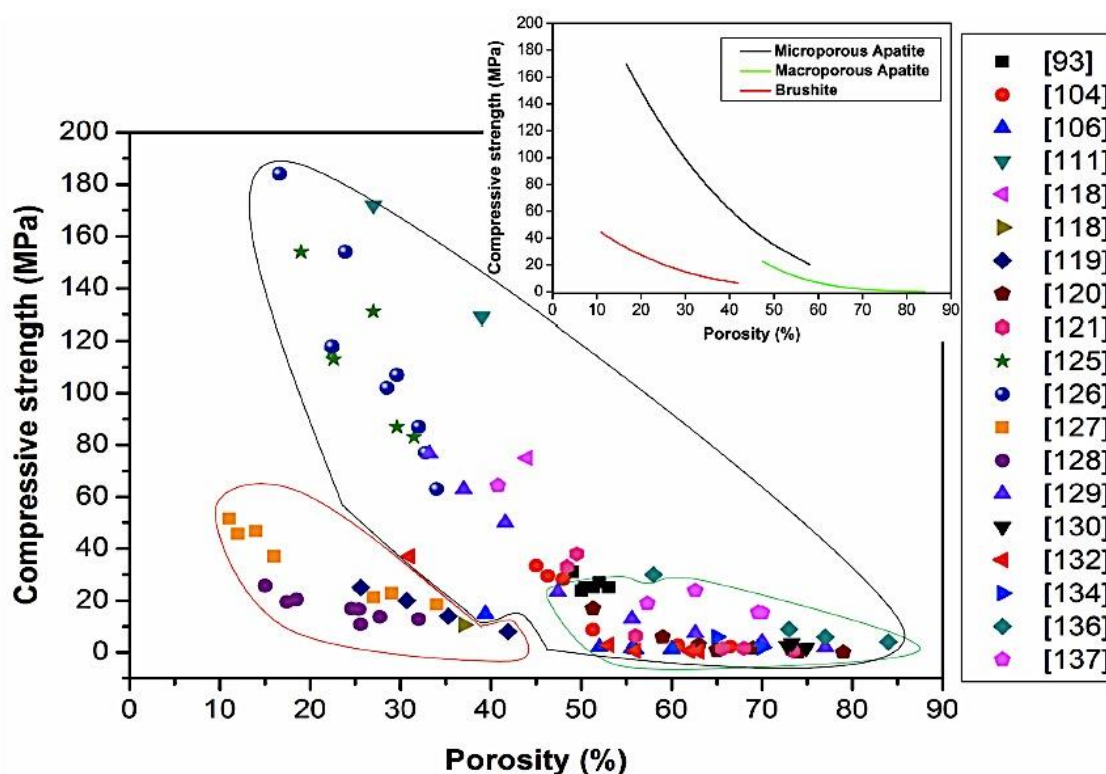


Figura 5.23. Resistência à compressão de CPCs compilada a partir de diferentes estudos em função da porosidade. No gráfico menor, a curva vermelha representa uma curva de ajuste dos dados experimentais de resistência dos CPCs contendo brushita como fase principal; neste mesmo gráfico, a curva preta representa dados de resistencia dos CPCs de contendo a fase apatita; já a curva verde representa os dados de resistência dos CPCs de apatita contendo macroporos.

Outros métodos também tem sido empregados, como por exemplo, resistência à flexão, resistencia mecânica de tração diametral ou até mesmo a resistência mecânica biaxial. O teste de resistência mecânica biaxial, seja pelo método *ball-on-three-ball* ou *pin-on-disc*, é extremamente interessante pela maior facilidade na preparação de amostras. Na literatura, alguns autores utilizaram este método para caracterizar a resistência mecânica de cimentos ósseos.

Entre estes estudos, o mais relevante é o realizado por Luo et al. [74], que utilizaram o método *pin-on-disc* para caracterizar cimentos CPC's. O método *pin-*

on-disc é muito similar ao método B3B utilizado neste trabalho. Luo et al. compraram a resistência mecânica de dois cimentos comerciais (ChronOS™ e Norian® SRS®) com outros dois cimentos CPC's: um à base de brushita e outro à base de apatita. Os cimentos comerciais ChronOS™ e Norian® SRS® apresentaram uma resistência mecânica de 3 MPa e 11 MPa, respectivamente. Os cimentos desenvolvidos pelos próprios autores apresentaram uma resistência mecânica superior, de aproximadamente 31 MPa (cimento à base de brushita) e 16 MPa (cimento à base de apatita). Após a secagem à temperatura ambiente e sob vácuo por 24 horas, os cimentos à base de apatita e o cimento ChronOS™ apresentaram significativo aumento de resistência mecânica. Estes resultados são apresentados na Figura 5.24:

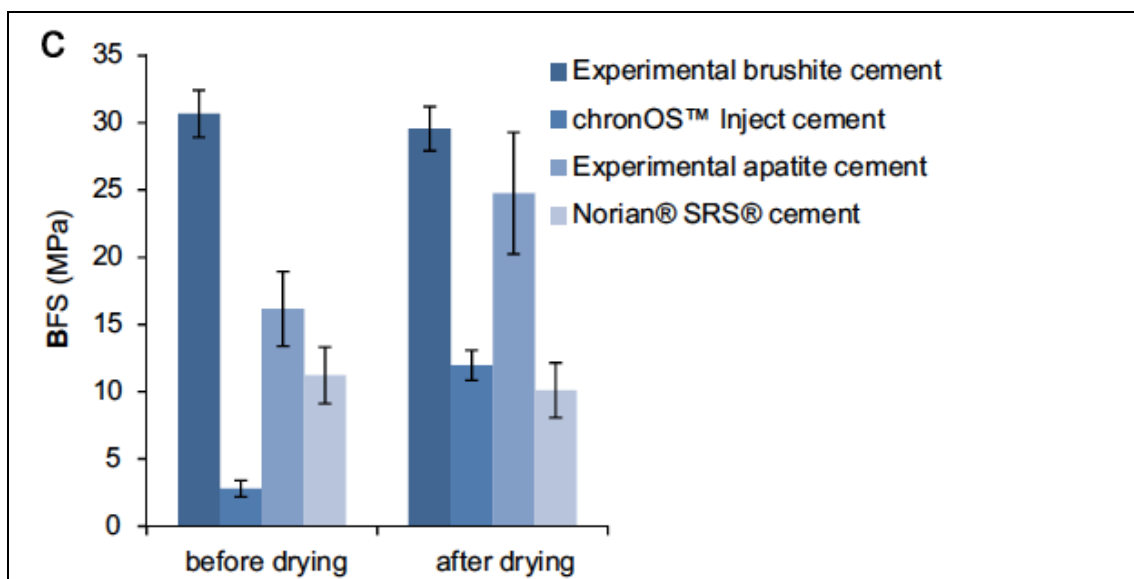


Figura 5.24: Resistência mecânica biaxial – BFS (método *pin-on-disc*) antes e depois da secagem (24h sob vácuo, à temperatura ambiente) para um cimento à base de brushita, um cimento à base de apatita e os cimentos osseos comerciais chronOS™ e Norian® SRS® (todos estes cimentos são CPC's) [74]

Também foi realizado o teste de resistência à flexão (B3B) para amostras expostas à solução SBF-K9 durante 7 dias (Figura 5.25).

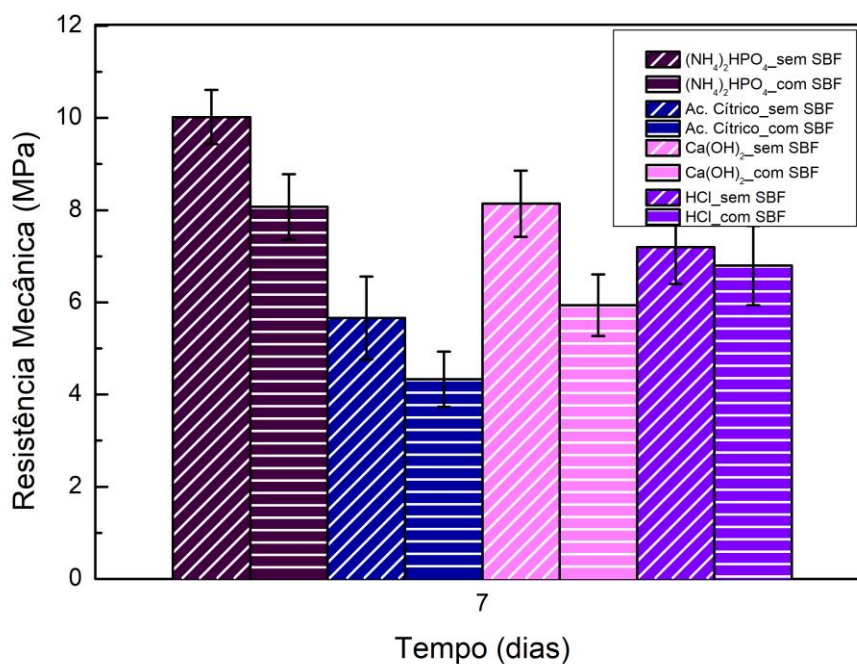


Figura 5.25 - Resistência à flexão a temperatura ambiente dos cimentos de Biosilicato® e fosfato de sódio dibásico contendo diferentes aditivos aceleradores de pega (fosfato de amônio dibásico, ácido cítrico, hidróxido de cálcio e ácido clorídrico) para os tempos de secagem de 7 dias com e sem exposição à solução SBF-K9

Assim como esperado, nota-se uma ligeira diminuição dos valores de resistência mecânica para as amostras expostas à solução SBF-K9, visto que a amostra está sendo atacada quimicamente por íons componentes do fluido corporal. Entretanto, ainda é possível notar um aumento entre 200-300% da resistência mecânica à flexão quando comparada à amostra em 0 dias de preparo e secagem (Figura 5.22). A amostra contendo ácido clorídrico como agente de pega apresentou valores significativamente idênticos para amostra com e sem a exposição à solução SBF-K9, o que corrobora o fato de que a fase de fosfato de sódio hidratado formada durante a reação de pega auxilia na estabilidade da amostra.

Os cimentos desenvolvidos neste trabalho apresentaram valores de resistência mecânica superior (45 a 69 MPa) à cimentos ósseos comerciais como ChronOS™ (3 MPa) e Norian® SRS® (11 MPa).

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho desenvolvemos diversas composições de cimentos à base de Biosilicato® a fim de utilizá-las como enxerto ósseo, mas apenas quatro delas demonstraram viabilidade de preparação. Estas amostras utilizaram Biosilicato®, fosfato de sódio dibásico e quatro aditivos aceleradores de pega (HCl, ácido cítrico, Ca(OH)_2 e fosfato de amônio dibásico).

A identificação dos difratogramas de raios-X mostrou a presença da mesma fase cristalina $\text{Na}_6\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{18}$ para todas as amostras. Nas formulações contendo ácido cítrico e ácido clorídrico, houve a formação de duas fases adicionais: $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e fosfato de sódio hidratado, respectivamente.

Foi possível produzir cimentos ósseos com alta bioatividade, nos quais a cristalização de hidroxicarbonato apatita em SBF foi observada por microscopia eletrônica de varredura. Em relação às propriedades mecânicas, pôde-se a adição de aditivos aceleradores de pega as influenciou diretamente. A formulação contendo ácido clorídrico apresentou uma resistência à flexão maior que as dos outros cimentos. Isso decorre da formação de uma camada de fosfato de sódio hidratado durante a reação de pega. Já o cimento contendo ácido cítrico, por ter formado uma fase hidratada de silicato de sódio e cálcio, apresentou um decréscimo de aproximadamente 50% quando comparado as demais. As propriedades mecânicas das amostras contendo fosfato de amônio dibásico e hidróxido de cálcio não apresentaram diferenças significativas, devido ao fato da formação de fases semelhantes durante a reação de pega. A resistência à flexão de todas as formulações aumentou significativamente com o aumento do tempo de secagem das amostras. Notou-se também que houve um leve decréscimo, já esperado, nas amostras expostas à solução SBF-K9, devido ao ataque químico desta.

Sumarizando, considerando os resultados obtidos, podemos dizer que há evidências suficientes que os cimentos desenvolvidos têm grande potencial na utilização de enxertos ósseos, tanto pelos resultados de resistência mecânica, quanto pela bioatividade do material.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Avaliar as propriedades de injetabilidade dos cimentos;
- ✓ Realizar ensaios biológicos in vitro e in vivo para avaliar a bioatividade do material ou sua potencial toxicidade.
- ✓ Avaliação da porosidade do cimento.

8 REFERÊNCIAS

- [1] O'Brien, F.J. **Biomaterials & scaffolds for tissue engineering**. Materials Today, v. 14, n. 3, p. 88–95, 2011.
- [2] Bhat, S.; Kumar, A. **Biomaterials and bioengineering tomorrow's healthcare**. Landes Bioscience, v. 3, n. September, p. 1–12, 2013.
- [3] Ramalho, A.C.A.; **Desenvolvimento e caracterização de cimentos ósseos inovadores**; 87f; tese mestrado – Faculdade das Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, 2009.
- [4] Citron, P.; Nerem, R.M. **Bioengineering: 25 years of progress-but still only a beginning**. Technology in Society, v. 26, n. 2–3, p. 415–431, 2004.
- [5] Anderson, J.M. **The future of biomedical materials**. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, v. 17, n. 11, p. 1025–1028, 2006.
- [6] Shen, F. H. et al.; **Coluna cervical**; 1 ed.; Rio de Janeiro; Elsevier, 2016.
- [7] Lewis, G.; **Injectable bone cements for use in vertebroplasty and kyphoplasty: State-of-the-Art Review**; 13 f; Department of Mechanical Engineering, The University of Memphis, 2004.
- [8] Jones, J.R.; Brauer, D.S.; et al. **Bioglass and bioactive glasses and their impact on healthcare**. International Journal of Applied Glass Science, v. 7, n. 4, p. 423–434, 2016
- [9] Bellon, P.A.; **Síntese do biovidro e sua caracterização**; 59f, Monografia - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo;2012.
- [10] T., A.; C., J. **Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration**.

European Spine Journal, v. 10, p. S96–S101, 2001.

[11] Kokubo, T.; Kim, H.-M.; et al. **Novel bioactive materials with different mechanical properties**. Biomaterials, v. 24, n. 13, p. 2161–2175, 2003.

[12] Vogel M., et al.; **In vivo comparison of bioactive glass particles in rabbits**; Biomaterials, 22:357-362; (2001).

[13] Phillips F.M. **Minimally invasive treatments of osteoporotic vertebral compression fractures**; Spine 2003;28:S45–S53.

[14] Heini P.F. et al; **Bone substitutes in vertebroplasty**; Eur Spine J 2001;10:S205–S213.

[15] Shimano, M. M.; **Microestruturas e propriedades mecânicas de osso cortical e trabecular de ratos, após período de sustentação pela cauda e exercício**; 154p. Tese Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

[16] Reis, F. H. S.; **Materiais bioengenheirados: cerâmicas a base de alumina incorporadas com biovidro**; 139f. Tese Doutorado. Escola de Engenharia de Lorena – Universidade de São Paulo, 2011.

[17] Mundstock, K. B.; **Obtenção e caracterização de biovitrocerâmicas celulares do sistema $\text{Na}_2\text{O-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$** ; 138f. Tese Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

[18] Hench, L.L., Wilson, J. **INTRODUCTION**. In: **An Introduction to bioceramics**. IMPERIAL COLLEGE PRESS, 2013, p. 1–26.

[19] Junqueira, Luiz Carlos Uchoa. **Histologia básica I**. L.C.Junqueira e José Carneiro. 12 .ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

[20] Khan, K. et al.; **Physical activity and bone health**; Champaign, IL: Human Kinetics, 2001.

[21] Silva, Laís Dantas. **Vitrocerâmica altamente bioativa, de boa resistência mecânica e baixo módulo elástico**. 2019. 181f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2019.

[22] Consensus Development Conference. **Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis**. Am J Med 1993; 94: 646-50.

[23] Hatrick NC, Lucas JD, Timothy AR, Smith MA. **The surgical treatment of metastatic disease of the spine**. Radiother Oncol 2000;56:335-9.

[24] Abdo FILHO, R.C.C; Oliveira T.M; Lourenço Neto, N; Gurgel, C; **Reconstruction of bony facial contour deficiencies with polymethylmethacrylate implants: case report.**; J Appl Oral Sci, Baurú, mar. 2010.

[25] Fardin, A. C. et al.; **Enxerto ósseo em odontologia: revisão de literatura**; Innov. Implant. J.; Biomater. Esthet. (Online) vol.5 no.3 São Paulo Set/Dez 2010.

[26] Artzi Z, Kozlovsky A, Nemcovsky CE, Weinreb M. **The amount of newly formed bone in sinus grafting procedures depends on tissue depth as well as the type and residual amount of the grafted material**. J Clin Periodontol. 2005;32(2):193-99).

[27] Boyne PJ, James RA. **Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone**. J Oral Surg. 1980;38(8):613-6.)

[28] Ambard, Alberto J.; Mueninghoff, Leonard. **Calcium phosphate cement: review of mechanical and biological properties**. Journal of Prosthodontics, v. 15, n. 5, p. 321-328, 2006. + Lewis, Gladius. **Injectable bone cements for use in vertebroplasty and kyphoplasty: State-of-the-art review**. Journal of Biomedical Materials Research Part B, v. 76, n. 2, p. 456-468, 2006. + Larsson, Sune; Bauer, Thomas W. **Use of injectable calcium phosphate cement for fracture fixation: a review**. Clinical Orthopaedics and Related Research®, v. 395, p. 23-32, 2002. ALVES, H.L.R.; **Cimento ósseo de fosfato tricálcico: Síntese e influência de aditivos na sua injetabilidade**; Tese Mestrado; Porto Alegre (2005).

[29] Gilbert Triplett, R.; Budinskaya, O. **New frontiers in biomaterials**. Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America, v. 29, n. 1, p. 105–115, 2017.

[30] Hench, L.L.; Polak, J.M. **Third-generation biomedical materials**. Science, v. 295, n. 5557, p. 1014–1017, 2000.

[31] Navarro, M.; Michiardi, A.; et al. **Biomaterials in orthopaedics**. Journal of The Royal Society Interface, v. 5, n. 27, p. 1137–1158, 2008.

[32] RATNER, B.D. et al.; **Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine**. Elsevier Academic Press. 2004.

[33] Shen, F. H. et al.; **Coluna cervical**; 1 ed.; Rio de Janeiro; Elsevier, 2016.

[34] JONES, J.R.; **Review of bioactive glass: from Hench to hybrids**; Acta Biomaterialia 9, p. 4457-4486; 2013.

[35] Gerhardt, L.-C.; Boccaccini, A.R. **Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering**. Materials, v. 3, n. 7, p. 3867–3910,

[36] Peitl, O.; Zanutto, E.D.; et al. **Highly bioactive $P_2O_5-Na_2O-CaO-SiO_2$**

glass-ceramics. Journal of Non-Crystalline Solids, v. 292, n. 1–3, p. 115–126, 2001.

[37] Maziar Montazerian, Shiv Prakash Singh, E.D.Z. **An analysis of glass – ceramic research**. American Ceramic Society Bulletin, v. 94 (4), n. MAY, p. 30–35, 2015.

[38] Hench, L.L.; Splinter, R.J.; et al. **Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials**. Journal of Biomedical Materials Research, v. 5, n. 6, p. 117–141, 1971.

[39] Rajendran, V.; Begum, A.N.; et al. **Effect of thermal treatment on elastic properties of $\text{SiO}_2\text{--Na}_2\text{O--CaO--P}_2\text{O}_5$ glasses for biomedical applications**. Materials Letters, v. 58, n. 1–2, p. 211–215, 2004.

[40] Szabó, I.; Nagy, B.; et al. **Structure, chemical durability and microhardness of glass-ceramics containing apatite and leucite crystals**. Journal of Non-Crystalline Solids, v. 272, n. 2–3, p. 191–199, 2000.

[41] Xiao, Z.; Zhou, J.; et al. **Microstructure and properties of $\text{Li}_2\text{O--Al}_2\text{O}_3\text{--SiO}_2\text{--P}_2\text{O}_5$ glass-ceramics**. The Open Materials Science Journal, v. 5, n. 1, p. 45–50, 2011.

[42] Zia, R.; Riaz, M.; et al. **The effect of K_2O on the microstructure of $\text{Na}_2\text{O--CaO--P}_2\text{O}_5\text{--SiO}_2$ based ceramic system**. Optik - International Journal for Light and Electron Optics, v. 129, p. 15–20, 2017.

[43] Hench, L.L.; **Bioceramics: from concept to clinics**. Journal of the American Ceramic Society, 1991 v. 74, n.7, p. 1487 – 1510.

[44] Wilson, J.; Noletti, D.; **Bonding of soft tissues to bioglass**. In: CHRISTEEL, A.; MEUNIER, A.C.J.L. (Ed). **Biological and biomechanical**

performance of biomaterials. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1986. P. 99-104.

[45] Hench, L.L.; Wilson, J. **An introduction to bioceramics.** Singapore: World Scientific, 1993.

[46] O. Peitl, E.D. Zanotto, F.C. Serbena, L.L. Hench, **Compositional and microstructural design of highly bioactive $P_2O_5-Na_2O-CaO-SiO_2$ glass-ceramics,** Acta Biomater. 8(2012) 321–332.

[47] Hench, L.L.; Polak, J.M.; **Third-generation biomedical materials.** Science, V. 295, 2002, p. 1014-1017.

[48] Crovace, M.C, et al.; **Biosilicate® - A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials;** 2016. Journal of Non-Crystalline Solids 432; 90-110.

[49] Moura, J. et al. **In vitro osteogenesis on a highly bioactive glass-ceramic (Biosilicate®).** Journal of Biomedical Materials Research A, v. 82, p. 545-557, 2007.

[50] Renno, A. C. M. et al. **Incorporation of bioactive glass in calcium phosphate cement: Material characterization and in vitro degradation.** Journal of Biomedical Materials Research Part A, v. 101, n. 8, p. 2365-2373, 2013. + RENNO, A. C. M. et al. **Incorporation of bioactive glass in calcium phosphate cement: An evaluation.** Acta biomaterialia, v. 9, n. 3, p. 5728-5739, 2013.

[51] Wagh, A.S.; Primus, C.; **Method and product for phosphosilicate slurry for use in dentistry and related bone cements.** US Pat. 7,083,672 B2. Aug, 1, 2006.

- [52] Ravagnani, C. **Desenvolvimento de processos de produção em escala piloto do biosilciato para dentes sensíveis**. 2007. 228f. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007
- [53] Soares, V. O. **Vitrocerâmicos do Sistema $\text{Li}_2\text{O-Al}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2$ (LAS) via sinterização com cristalização concorrente**. São Carlos. 2007. Dissertação de Mestrado em Eng. De Materiais – Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos. 2007
- [54] Crovace, M.C., **Obtenção de estruturas porosas altamente bioativas via sinterização do Biosilicato®**. 2010. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.
- [55] SPIERINGS, G. A. C. M. **Wet chemical etching of silicate glasses in hydrofluoric acid based solutions**. Journal of Materials science, v. 28, n. 23, p. 6261-6273, 1993.
- [56] JANG, H. K. et al. **Effects of chemical etching with hydrochloric acid on a glass surface**. Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films, v. 18, n. 5, p. 2563-2567, 2000.
- [57] SARDA, S. et al. **Kinetic study of citric acid influence on calcium phosphate bone cements as water-reducing agent**. Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, v. 61, n. 4, p. 653-659, 2002.
- [58] CHEN, Chang-Keng; JU, Chien-Ping; LIN, Jiin-Huey Chern. **Setting solution concentration effect on properties of a TTCP/DCPA-derived**

calcium phosphate cement. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, v. 23, n. 9, p. 2109-2114, 2012.

[59] TAKAGI, S.; CHOW, L. C.; ISHIKAWA, Kunio. **Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements.** Biomaterials, v. 19, n. 17, p. 1593-1599, 1998.

[60] Mehta, P. K., Monteiro, P. J. M. **Concreto: estrutura, propriedades e materiais**, São Paulo, *Ed. PINI*, 1994

[61] Kokubo, T.; Kushitani, H.; et al. **Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W3.** Journal of Biomedical Materials Research, v. 24, n. 6, p. 721–734, 1990.

[62] Peitl-Filho, O. **Vitrocerâmica bioativa de alto desempenho mecânico [tese]**. São Carlos (SP): Universidade Federal de São Carlos; 1995

[63] International Organization for Standardization (2009). ISO 10993:14. **Biological evaluation of medical devices - Identification and quantification of degradation products from ceramics.**

[64] Kokubo, T.; Takadama, H. **How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?** Biomaterials, v. 27, n. 15, p. 2907–2915, 2006.

[65] International Organization for Standardization (2009). ISO 10993:14. **Biological evaluation of medical devices - Identification and quantification of degradation products from ceramics.**

[66] Ohji, T. **Testing and evaluation of mechanical properties.** In: **Handbook of advanced ceramics.** Elsevier, 2013, p. 633–656.

[67] Shetty, D.K.; Rosenfield, A.R.; et al. **Biaxial flexure test for ceramics.**

Ceramic Bulletin, v. 59, n. 12, p. 1193–1197, 1980.

[68] Strobl, S.; Rasche, S.; et al. **Fracture toughness testing of small ceramic discs and plates**. *Journal of the European Ceramic Society*, v. 34, n. 6, p. 1637–1642, 2014.

[69] International Organization for Standardization (2015). ISO 6872:1995 (E): Dentistry - Ceramic materials. 28.

[70] Hench, L.L. **Bioceramics: from concept to clinic**. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 74, n. 7, p. 1487–1510, 1991.

[71] Peitl, O.; Zanutto, E.D.; et al. **Highly bioactive P_2O_5 - Na_2O - CaO - SiO_2 glass-ceramics**. *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 292, n. 1–3, p. 115–126, 2001.

[72] International Organization for Standardization (2015). ISO 6872:1995 (E): Dentistry - Ceramic materials. 28.

[73] ZHANG, Jingtao et al. **Calcium phosphate cements for bone substitution: chemistry, handling and mechanical properties**. *Acta biomaterialia*, v. 10, n. 3, p. 1035-1049, 2014.

[74] LUO, Jun et al. **Compressive, diametral tensile and biaxial flexural strength of cutting-edge calcium phosphate cements**. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, v. 60, p. 617-627, 2016