

Anderson Camargo Moreira

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA MORFOLOGIA POROSA DE  
IMPLANTES DE TITÂNIO NO PROCESSO DE CRESCIMENTO  
ÓSSEO**

Tese submetida ao Programa de Pós  
Graduação em Ciências e Engenharia  
de Materiais da Universidade Federal  
de Santa Catarina para a obtenção do  
Grau de Doutor em Engenharia  
Orientador: Prof. Dr. Celso Peres  
Fernandes  
Coorientadora: Dra. Marize Varella de  
Oliveira

Florianópolis  
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Moreira, Anderson Camargo

Análise da influência da morfologia porosa de implantes  
de titânio no processo de crescimento ósseo / Anderson  
Camargo Moreira ; orientador, C Fernandes ; co-  
orientadora, Marize Varella de Oliveira. - Florianópolis,  
SC, 2013.  
157 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em  
Ciência e Engenharia de Materiais.

Inclui referências

1. Ciência e Engenharia de Materiais. 2.  
Microtomografia de Raios X. 3. Metalurgia do Pó. 4.  
Caracterização de Meios Porosos. I. Fernandes, C. II.  
Oliveira, Marize Varella de . III. Universidade Federal de  
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência e  
Engenharia de Materiais. IV. Título.

Anderson Camargo Moreira

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA MORFOLOGIA POROSA DE  
IMPLANTES DE TITÂNIO NO PROCESSO DE CRESCIMENTO  
ÓSSEO**

Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de “Doutor em Engenharia”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais.

Florianópolis, 28 de Julho de 2013.

---

Prof. Antonio Pedro Novaes de Oliveira, Dr.  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup> Mônica Talarico Duailibi, Dr.<sup>a</sup>

---

Prof. Carlos Roberto Appoloni, Dr.

---

Alexandre Antunes Ribeiro, Dr.

---

Prof. Guilherme Mariz se Oliveira , Dr.

---

Prof. José Antônio Bellini da Cunha Neto, Dr.





Ao meu pai Genésio Moreira  
(*in memoriam*)



## AGRADECIMENTOS

A minha família; Ignês, Rafael, Karina, Raul, Iago, Neuza e João.

A Iara e Bruce.

Ao meu orientador Dr. Celso Peres Fernandes.

A minha coorientadora Dra. Marize Varella de Oliveira.

Àqueles que diretamente contribuíram com este trabalho:

-Dr. Alexandre Antunes Ribeiro e Dra. Roseli Marins Balestra (INT-RJ).

-Dra. Mônica Talarico Duailibi e Dr. Silvio Eduardo Duailibi (CTCMol-UNIFESP).

-Dr. Flávio de Àvila Kfourri e Dra. Tatiana Pinotti Guirao (CTCMol-UNIFESP).

-Dr. Keijo Mattila (LMPT-UFSC).

Ao Dr. Carlos Rogério Tonussi (CEUA-UFSC).

Ao Dr. José Manoel dos Reis Neto (LAMIR-UFPR).

Ao Dr. Carlos Roberto Appoloni (GFNA-UEL).

Aos amigos do Laboratório de Meios Porosos e Propriedades Termofísicas.



## RESUMO

O tecido ósseo está sempre suscetível a lesões, causadas por agentes externos ou patologias, onde em alguns casos a intervenção cirúrgica para instalação de implantes se faz necessária. Dentre os biomateriais utilizados como sustentação para a regeneração óssea, os implantes porosos processados a base de titânio apresentam uma combinação de fatores que viabilizam o seu emprego, entre eles, apropriadas propriedades químicas e mecânicas. Além da biocompatibilidade, a caracterização estrutural desses materiais é de relevante importância, pois suas características morfológicas também influenciam o processo de regeneração óssea. Este projeto tem como objetivo principal a caracterização de dois grupos de implantes de titânio com morfologias porosas distintas, além da avaliação do crescimento ósseo em suas fases porosas, uma vez que as amostras foram implantadas em tecidos ósseos de coelhos. As análises estruturais e de quantificação óssea foram realizadas por meio da análise de imagens tridimensionais adquiridas com a microtomografia de raios X. As amostras foram processadas por meio da técnica da metalurgia do pó, usando Titânio puro grau 1 como matéria prima e bicarbonato de amônio como agente gerador de poros. Diferentes granulometrias e proporções dos pós utilizados asseguraram diferenças morfológicas entre os dois grupos de implantes. As amostras foram implantadas em tíbias de coelhos, onde os períodos de permanência no tecido ósseo de 7, 14, 21, 28 e 35 dias foram respeitados para a avaliação do processo osseointegrativo. Foram analisados os parâmetros estruturais de porosidade, tamanho de poros e conexões, número de coordenação, permeabilidade, área superficial e grau de esfericidade dos poros de cada grupo. As correlações investigadas entre a fração de poros ocupada por osso e os parâmetros físicos indicaram a influência da morfologia porosa no processo de reparação óssea. Os resultados encontrados contribuirão para a otimização de biomateriais porosos direcionando o seu processamento para atingir propriedades que melhorem o desempenho dos implantes.

**Palavras-Chave:** Microtomografia de Raios-X, Titânio, Osseointegração, Meio Poroso, Metalurgia do Pó.



## ABSTRACT

Bone tissue is susceptible to injuries induced by pathologies or accidents. In some cases, a surgical intervention to implant devices is necessary. Biomaterials are often used as scaffolds to bone recuperation. To be applied as a scaffold, porous titanium implants are a good choice due to their chemical and mechanical properties. Besides the biocompatibility, biomaterial implants must to offer other structural parameters which permit the bone ingrowth process. In this work, two groups of porous titanium implants were processed by powder metallurgy with distinct pore morphology. Pure titanium and ammonium bicarbonate (as pore former) were used in the samples processing. Different quantities and grain sizes of the powders provided different pore morphology for the groups. The implants were introduced into rabbits bone tissues for 7, 14, 21, 28 and 35 days. Therefore, the aim of this work is to characterize the pore phase of the titanium porous implants, and also to quantify the pore fraction occupied by neo-bone formation. The measurements were accomplished by means of X-ray microtomography image analysis. Structural parameters such as porosity, pore size, throat size, interconnectivity, permeability, surface area and pore sphericity were analyzed. The correlations between bone neoformation data and structural parameters indicate the influence of the pore shape on osseointegration process. The results of this work can be useful to improve the porous biomaterial processing.

**Keywords:** X Ray Microtomography, Titanium, Osseointegration, Porous Medium, Powder Metallurgy.





## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografia de uma espuma cerâmica (a) e comparação de imagens 3D e 2D (b) capturadas com microCT [adaptado de MAIRE et al., 2007].....	31
Figura 2. Microestrutura de uma amostra do grupo controle (a) e uma amostra do grupo experimental (b). .....	32
Figura 3. Ilustração da estrutura de um osso (adaptado de <a href="http://www.medes.fr">www.medes.fr</a> ). .....	40
Figura 4. Esquema ilustrativo da aquisição de imagem 3D em um sistema microtomográfico [LANDIS e KEANE, 2010].....	49
Figura 5. Efeito de <i>beam hardening</i> em uma amostra de rocha cilíndrica. ....	51
Figura 6. Espectro de energias de fótons de raios X com e sem a aplicação de filtros [KRUTH et al., 2011]. .....	52
Figura 7. Correção do efeito de <i>beam hardening</i> em uma amostra de rocha cilíndrica com a aplicação de filtro físico.....	52
Figura 8. Projeções paralelas dadas pelo arranjo de raios paralelos para diferentes ângulos [KAK e SLANEY, 1999]. .....	54
Figura 9. Representação esquemática do feixe cônico e das distâncias fonte-amostra (a) e amostra-detector (b) [adaptado de LANDIS e KEANE, 2010]. .....	55
Figura 10. Esquema do processo de reconstrução de imagens a partir de projeções, retroprojeção filtrada [adaptado de <a href="http://www.impactscan.org">www.impactscan.org</a> ]. .	57
Figura 11. Ilustração do processo de binarização de uma imagem com 256 tons de cinza. ....	61

Figura 12. Processos de operação aritmética em imagens [retirado de FERREIRA e RASBAND, 2010]. .....	62
Figura 13. Máscaras de chanfro para o domínio 2D. ....	63
Figura 14. Bolas de raios $r = 1, 2$ e $3$ da métrica $d_{3-4-5}$ . ....	64
Figura 15. Ilustração do procedimento de erosão [adaptado de GONZALES e WOODS, 1992]. .....	65
Figura 16. Ilustração do procedimento de dilatação [adaptado de GONZALES e WOODS, 1992]. .....	65
Figura 17. Ilustração da operação de abertura [adaptado de FERNANDES, 2002]. .....	66
Figura 18. Ilustração do preenchimento da fase porosa com esferas na rede poros gargantas [adaptado de CUNHA, 2012]. .....	68
Figura 19. Grandezas associadas às esferas e à garganta [adaptado de CUNHA, 2012]. .....	69
Figura 20. Volume binário (a), formação da rede (b) e sua rede poros garganta (c) de uma das amostras utilizadas neste trabalho. ....	70
Figura 21. Ilustração de uma terceira fase em meio poroso. ....	72
Figura 22. Etapas do processamento das amostras de titânio. ....	78
Figura 23. Imagens capturadas com MEV de uma das amostras utilizadas do grupo controle com aumentos de (a) 50X, (b) 100X, (c) 500X e (d) 1000X. ....	79
Figura 24. Imagens capturadas com MEV de uma das amostras utilizadas do grupo experimental com aumentos de (a) 50X, (b) 100X, (c) 500X e (d) 2500X. ....	80
Figura 25. Estágio de incisão do processo operatório (a) e exposição do osso (b). .....	84

Figura 26. Colocação do gabarito (a) e perfuração do osso (b) para alojamento dos implantes. ....	84
Figura 27. Colocação dos implantes (a) nas perfurações superior e inferior (b). ....	85
Figura 28. Processo de corte da tíbia (a) para retirada da secção óssea com implante (b). ....	86
Figura 29. Amostragem do osso da tíbia (a) (escala graduada em mm); outra amostragem com o titânio implantado em evidência na região trabecular central do osso (b) e lâmina delgada preparada para análise histológica com osso em vermelho e titânio em cinza (c). ....	86
Figura 30. Identificação do osso neoformado, osso e células. ....	92
Figura 31. Constatação da neoformação óssea nas duas primeiras semanas de ensaio. Imagens com aumento de 10X e 5X. ....	93
Figura 32. Constatação do depósito de tecido ósseo sobre o titânio. ....	94
Figura 33. Constatação do contato do osso com o implante das amostras de ambos os grupos, controle e experimental. ....	95
Figura 34. Imagens 3D das amostras do grupo controle. ....	97
Figura 35. Imagens 3D das amostras do grupo experimental. ....	98
Figura 36. Detalhe do posicionamento dos implantes ME14, ME21 e ME28 dentro dos ossos. ....	99
Figura 37. Detalhes da formação óssea trabecular. ....	100
Figura 38. Fases porosas dos implantes MC7 em vermelho (a) e ME7 em azul(b) (dimensões dos volumes 1,4x1,4x0,8 mm). ....	100
Figura 39. Sobreposição de intensidades [adaptado de LANDIS e KEANE 2010]. ....	102
Figura 40. Etapas do processo de segmentação binária. ....	104

Figura 41. Continuação das etapas do processo de segmentação binária. .....	105
Figura 42. Seção 2D da amostra ME35 (a), em vermelho seleção de ROI irregular (b) e quadrado (c). .....	106
Figura 43. Seleção de poros na circularidade.....	107
Figura 44. Ilustração de seleção de poro (amarelo), separado de suas conexões (cinza) e uma esfera (azul) com mesmo volume. ....	108
Figura 45. Histomorfometria com grade de intersecção [adaptado de MACHADO 2008].....	109
Figura 46. Gráfico da recuperação óssea. ....	110
Figura 47. Seleção de ROI para análise de recuperação óssea do centro às bordas. ....	111
Figura 48. Análise da recuperação óssea em ROIs concêntricos para grupo controle (a) e grupo experimental (b). ....	111
Figura 49. Distribuição de tamanho de poros grupo controle (métrica $d_{3-4-5}$ ). .....	113
Figura 50. Distribuição de tamanho de poros grupo experimental (métrica $d_{3-4-5}$ ). ....	113
Figura 51. Distribuição do tamanho de poros do grupo controle (rede de poros e gargantas). ....	115
Figura 52. Distribuição do tamanho de poros do grupo experimental (rede de poros e gargantas). ....	115
Figura 53. Distribuição de raios de conexões do grupo controle (rede de poros e gargantas). ....	117
Figura 54. Distribuição de raios de conexões do grupo experimental (rede de poros e gargantas). ....	117
Figura 55. Análise do número de coordenação, grupo controle.....	118

Figura 56. Análise do número de coordenação, grupo experimental. .	118
Figura 57. Correlação entre número de coordenação e tamanho de poro, grupo controle. ....	119
Figura 58. Correlação entre número de coordenação e tamanho de poro grupo experimental.....	119
Figura 59. Função de correlação normalizada do grupo controle (a) e experimental (b). ....	120
Figura 60. Perfil de porosidade dos implantes do grupo controle. ....	122
Figura 61. Perfil de porosidade dos implantes do grupo experimental. ....	122
Figura 62. Ilustração da subamostragem das imagens 3D.....	123
Figura 63. Análise dos subvolumes com número de poros específico, respectivamente para controle e experimental em (a) e (b), número de conexões específico em (c) e (d). ....	123
Figura 64. Análise dos subvolumes com média do número de coordenação em (a) e (b) e porosidade em (c) e (d). ....	124
Figura 65. Coeficiente de absorção total do chumbo, mostrando as contribuições da absorção fotoelétrica, espalhamento Compton e formação de pares [KAPLAN, 1978].....	144
Figura 66. Ilustração dos efeitos de interação da radiação eletromagnética com a matéria.....	148



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporções dos pós de titânio e aditivo orgânicos utilizados.	78
Tabela 2. Parâmetros físicos das amostras de titânio. ....	81
Tabela 3. Delineamento experimental para implante das amostras.....	83
Tabela 4. Resoluções espaciais das amostras. ....	87
Tabela 5. Dimensões dos volumes de interesse utilizados. ....	106
Tabela 6. Dados de circularidade e esfericidade. ....	108
Tabela 7. Dados para determinação da recuperação óssea $\phi_{osso}$ . ....	109
Tabela 8. Dados estruturais dos implantes de titânio. ....	112
Tabela 9. Parâmetros determinados com a rede de poros e gargantas.	116
Tabela 10. Porosidade. ....	121
Tabela 11. Parâmetros adotados nos testes para processamento das amostras de titânio.....	149





## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

microCT – Microtomografia de Raios X

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

Ti – Titânio

CAT – *Computed Axial Tomography* – Tomografia de Raios X

2D – Bidimensional

3D – Tridimensional

CCD – *Charge Coupled Device* – Sistema de Detecção Fotônica

LBM – *Lattice Boltzmann Method* – Método de Lattice Boltzmann

ROI – *Region of Interest* – Região de Interesse



## LISTA DE SÍMBOLOS

$R_a$  – Rugosidade Média

$\mathfrak{S}$  – fração de Fase

$\phi$  – Porosidade

$A$  – Área

$A_s$  – Área Superficial

$V$  – Volume

$\phi_{osso}$  – Fração da Fase Osso

$k$  – Permeabilidade

$\gamma$  – Viscosidade

$S_{sa}$  – Área Superficial Específica

$N$  – Número de Pixels

$C(u)$  – Função de Correlação

$f(\%)$  – Função Distribuição de Tamanhos

$circ$  – Circularidade

$esf$  – Esfericidade



## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>29</b>
1.1. INTRODUÇÃO .....	29
1.2. OBJETIVOS .....	33
1.3. DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO.....	33
1.4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	35
1.4.1. Histórico da Pesquisa .....	35
1.4.2. Revisão da Literatura.....	36
<b>CAPÍTULO 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>39</b>
2.1. TECIDO ÓSSEO .....	39
2.2. OSSEOINTEGRAÇÃO .....	40
2.3. BIOMATERIAIS .....	41
2.4. EMPREGO DO TITÂNIO COMO BIOMATERIAL .....	43
2.4.1. Titânio .....	43
2.4.2. Titânio Poroso .....	44
2.5. PROCESSAMENTO VIA METALURGIA DO PÓ .....	45
2.6. TOMOGRAFIA DE RAIOS X.....	46
2.6.1. Surgimento da Técnica.....	46
2.6.2. Princípios da Técnica de Tomografia de Raios X.....	48
2.6.3. Microtomografia de Raios X.....	48
2.6.4. Fonte de Raios X.....	49
2.6.5. Interação da Radiação com a Matéria.....	52
2.6.6. Sistema de Detecção e Projeções.....	53
2.6.7. Reconstrução de Imagens .....	56
<b>CAPÍTULO 3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>59</b>
3.1. PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE IMAGENS.....	59

3.1.1. Segmentação Binária .....	60
3.1.2. Operações Aritméticas .....	61
3.1.3. Morfologia Matemática .....	62
3.1.4. Operação Erosão .....	64
3.1.5. Operação Dilatação .....	65
3.1.6. Operação de Abertura .....	66
3.1.7. Operação Despeckle .....	66
3.2. REDE DE POROS E GARGANTAS .....	67
3.3. DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS .....	70
3.3.1. Circularidade .....	70
3.3.2. Esfericidade .....	71
3.3.3. Área Superficial Específica .....	71
3.3.4. Fração de Fase .....	72
3.3.5. Distribuição de Tamanho de Poros .....	73
3.3.6. Função de Correlação .....	74
3.3.7. Permeabilidade .....	75
<b>CAPÍTULO 4. EXPERIMENTAL .....</b>	<b>77</b>
4.1. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE TITÂNIO .....	77
4.1.1. Processamento .....	77
4.1.2. Amostras .....	78
4.2. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO .....	82
4.2.1. Animais .....	82
4.2.2. Delineamento experimental .....	82
4.2.3. Técnica Operatória .....	83
4.2.4. Eutanásia e Remoção dos Espécimes .....	85
4.3. AQUISIÇÕES MICROTOMOGRÁFICAS .....	86
4.4. SOFTWARES E CÓDIGOS UTILIZADOS .....	87
4.4.1. Imago .....	87
4.4.2. CT Analyser .....	88
4.4.3. ImageJ .....	88

4.4.4. Rede de Poros e Gargantas .....	88
4.4.5. Lattice Boltzmann .....	88
<b>CAPÍTULO 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>91</b>
5.1. ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	91
5.2. ANÁLISE QUALITATIVA DAS IMAGENS MICROTOMOGRÁFICAS .....	96
5.3. ANÁLISE QUANTITATIVA DAS IMAGENS MICROTOMOGRÁFICAS .....	101
5.3.1. Segmentação Binária .....	101
5.3.2. Região de Interesse.....	105
5.3.3. Análise da Morfologia dos Poros .....	107
5.3.4. Recuperação Óssea.....	108
5.3.5. Caracterização Estrutural dos Implantes.....	110
5.3.6. Poros e Gargantas.....	114
5.3.7. Análise da Homogeneidade da Fase Porosa .....	120
5.4. DISCUSSÃO .....	124
5.5. CONCLUSÃO .....	128
5.6. TRABALHOS FUTUROS.....	129
 REFERÊNCIAS.....	 131
 ANEXO I. Interação da Radiação Com a Matéria .....	 144
ANEXO II. Testes Realizados para o Processamento das Amostras .....	149
ANEXO III. Comitê de Ética .....	155
ANEXO IV. Publicações .....	156





## **CAPÍTULO 1. Introdução**

No primeiro capítulo, além do texto introdutório, os objetivos pretendidos pelo trabalho são apresentados. Uma explanação sobre como se deu o desenvolvimento do projeto, que contou com três diferentes grupos de pesquisa em quatro etapas do trabalho, também é abordado, além de uma breve revisão bibliográfica que mostra a motivação para a escolha do tema da Tese.

### **1.1. INTRODUÇÃO**

Os materiais porosos ganham destaque na pesquisa científica envolvendo temas multidisciplinares. Estudos de diferentes técnicas de processamento e aplicação na indústria e construção civil, desenvolvimento de biomateriais com aplicações na engenharia tecidual, caracterização de rochas reservatório de petróleo são exemplos das diferentes áreas de pesquisa em que o mote “meio poroso” é empregado.

Uma aplicação relativamente recente de materiais porosos surgiu com a disseminação dos biomateriais na medicina e na bioengenharia. Biomateriais porosos vêm sendo empregados como suportes na regeneração de tecidos ósseos no caso de patologias e traumas. Sua arquitetura porosa favorece a irrigação sanguínea, a migração e proliferação de células, permitindo o crescimento do tecido para dentro dos poros, fornecendo assim apoio estrutural para a regeneração do osso [PILLIAR, 2003; DUNAND, 2004]. Nestas situações, em que o emprego de implantes com elevada resistência mecânica se faz necessário, torna-se apropriado o uso de estruturas metálicas biocompatíveis. Como matéria prima para o processamento desses materiais, o titânio apresenta uma combinação de propriedades que torna o seu emprego viável. Além de ser um metal biocompatível, possui boa resistência à corrosão, baixa dilatação térmica, além de elevada resistência mecânica e baixa densidade [BUDDY e HOFFMAN 1996].

A morfologia dos implantes porosos, a exemplo do titânio, deve apresentar características estruturais bem definidas para que o crescimento do tecido ósseo seja favorecido. Uma das técnicas que se destaca no processamento de implantes de titânio porosos é a metalurgia

do pó [PILLIAR 1983]. A vantagem deste tipo de processamento está justamente no manuseio do pó, que possibilita o manejo de tamanho de particulados, assim como proporções de misturas, que resultam em materiais com resistência mecânica desejada, composição química controlada e geometria complexa com refinamento microestrutural, entre outras vantagens [FROES e EYLON, 1985; SCHWANKE e SCHAEFFER, 1997; OLIVEIRA, 2003].

Além da resistência mecânica, as propriedades estruturais podem garantir bom desempenho aos implantes porosos. As mais importantes são: porosidade, tamanho de poro, superfície específica, interconectividade, anisotropia, espessura média da estrutura matricial, área da seção transversal, permeabilidade e raio de conexão porosa. Neste contexto, a caracterização estrutural de meios porosos ganha destaque. São as técnicas de caracterização que, por exemplo, auxiliam no aprimoramento do processamento de materiais mais eficientes em suas aplicações e no entendimento dos fenômenos de transporte de fluidos no ambiente poroso. São muitas as técnicas com desempenho conhecido capazes de avaliar os parâmetros citados, como picnometria a gás, ensaios para a determinação de isotermas de adsorção-dessorção de gases e intrusão-extrusão de mercúrio, no entanto, por meio de análise de imagens, os parâmetros mencionados acima podem ser estimados de modo direto e não destrutivo [FERNANDES, 2002; HO e HUTMACHER, 2006; OTSUKI et al., 2006].

A análise de imagens evoluiu junto com os avanços conquistados nas áreas computacional e das técnicas de imageamento, se mostrando uma ferramenta poderosa para a descrição da geometria microestrutural, permitindo acessar e medir diretamente características da morfologia e da topologia de microestruturas. Um atributo importante associado a estes avanços são as simulações numéricas de fenômenos físicos em imagens 3D. As simulações são capazes de prover estimativas confiáveis dos parâmetros como permeabilidade, pressão capilar, resistência mecânica e proliferação celular em implantes porosos [SANTOS et al., 2005; SENGERS et al., 2007; SONG et al., 2009; HEE et al., 2012].

A microtomografia de raios X é uma técnica que vem sendo amplamente usada em análise de imagens por seu principal atributo, imageamento de amostras no domínio tridimensional (3D). As imagens 3D aumentam a fidedignidade das informações que podem ser extraídas de um meio poroso, esta é uma de suas vantagens em relação às técnicas

de imageamento bidimensional (2D). Como exemplo, na Figura 1 é mostrado o imageamento de uma amostra porosa nos domínios 2D e 3D juntos.

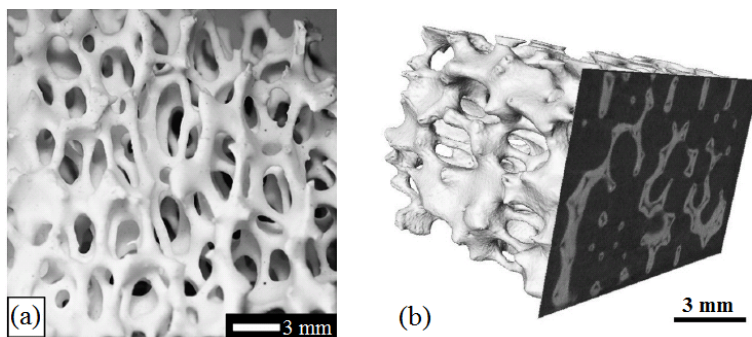


Figura 1. Fotografia de uma espuma cerâmica (a) e comparação de imagens 3D e 2D (b) capturadas com microCT [adaptado de MAIRE et al., 2007].

Vantagens e limitações relacionadas à tomografia, quando comparada às conhecidas técnicas de aquisição de imagens 2D são amplamente discutidas. Possivelmente, a maior desvantagem atribuída à microtomografia esteja no campo da resolução espacial. A maioria dos tomógrafos comerciais geram imagens com  $\sim 1 \mu\text{m}$  de resolução, alguns nanotomógrafos atingem a resolução de  $\sim 50 \text{ nm}$ , estando ainda bem longe dos 2 a 5 nm oferecidos pela microscopia eletrônica de varredura (MEV). Mas considerando a existência uma gama de meios porosos com tamanho de poros que não requerem altíssimas resoluções para sua descrição, e ainda que, a despeito da adequação de tamanho, as amostras a serem medidas com tomografia não necessitam de nenhum tipo de preparação, a microtomografia de raios X se torna uma interessante alternativa para a caracterização estrutural de materiais no domínio 3D [STOCK, 2009; LANDIS e KEANE, 2010]. No que tange análise de implantes porosos, a resolução oferecida pela microtomografia é suficiente para mensurar a estrutura de implantes de titânio [MOREIRA, 2006; OLIVEIRA et al., 2006; 2008].

As pesquisas relacionadas à caracterização de implantes porosos, em sua maioria, estudam a influência na regeneração óssea ligada aos parâmetros físicos citados anteriormente (porosidade, tamanho de poros, permeabilidade,...). No entanto, a influência da forma dos poros no

processo de osseointegração pode ser mais explorada. Com o intuito de verificar se a geometria dos poros é um fator a ser considerado em implantes porosos, dois grupos de implantes de titânio, com morfologias de poro diferentes, foram processados por meio da metalurgia do pó e foram inseridos em tecidos ósseos. O grupo controle apresenta poros irregulares enquanto que o grupo experimental tem poros mais arredondados, como pode ser observado nas imagens de microCT da Figura 2.

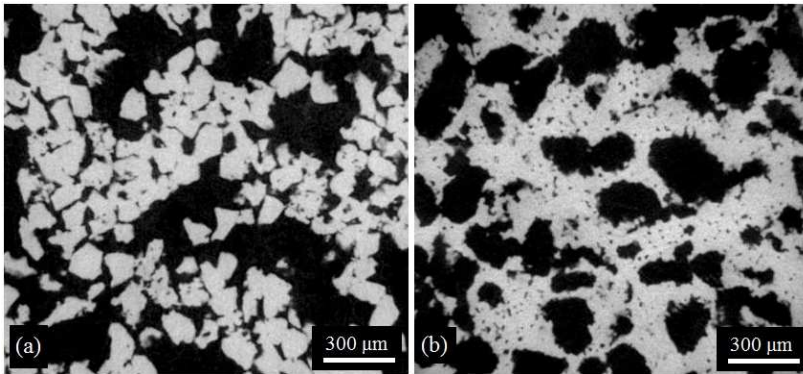


Figura 2. Microestrutura de uma amostra do grupo controle (a) e uma amostra do grupo experimental (b).

Os dois grupos de implantes foram inseridos em tecidos de coelhos para a verificação do crescimento ósseo em suas fases porosas. A microtomografia de raios X foi utilizada para imagear os implantes retirados dos animais em períodos de 7, 14, 21, 28 e 35 dias. Os implantes foram caracterizados e correlações foram traçadas entre seus parâmetros físicos e o resultado da quantificação óssea. Por meio das determinações realizadas neste trabalho, a morfologia porosa como um parâmetro influente na regeneração óssea em implantes de titânio foi avaliada.

## **1.2. OBJETIVOS**

O objetivo geral deste trabalho é a análise da influência da morfologia porosa de implantes de titânio no processo de crescimento ósseo a partir da técnica de análise de imagens obtidas por microtomografia de raios X.

Através da inserção dos implantes de titânio em tecidos ósseos de coelhos, buscam-se correlações entre a morfologia das amostras e o crescimento do tecido nos implantes que indiquem fatores que exerçam influência no processo de osseointegração.

Com este propósito, pretende-se contribuir com futuros projetos de implantes porosos oferecendo elementos para sua otimização, direcionando o seu processamento para atingir propriedades que melhorem seu desempenho.

## **1.3. DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO**

O presente trabalho envolveu três diferentes áreas de pesquisa que podem ser sumarizadas em: metalurgia do pó, ciências biológicas e caracterização de materiais. O foco do trabalho é a análise comparativa do crescimento ósseo em implantes de titânio com morfologias de poro diferentes através de análise de imagens com microtomografia de raios X. Portanto, é um trabalho essencialmente de caracterização estrutural.

Como o projeto utiliza de elementos oriundos da biologia tecidual e do processamento de materiais, o documento traz detalhamentos sobre as técnicas e metodologias empregadas, além da caracterização.

O projeto se divide em quatro principais estágios; processamento das amostras, procedimento cirúrgico em animais, aquisição de imagens com microtomografia de raios X e caracterização por meio de análise de imagens. Para isso, o desenvolvimento do trabalho se deu em três unidades de pesquisa:

1. LATEP/INT - Laboratório de Tecnologia de Pós do Instituto Nacional de Tecnologia, Rio de Janeiro-RJ.

2. CTCMol/UNIFESP - Centro de Terapia Celular e Molecular, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, São Paulo-SP.
3. LMPT/UFSC - Laboratório de Meios Porosos e Propriedades Termofísicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Pós-INT. O LATEP é coordenado pela Dra. Marize Varella de Oliveira, que é coorientadora do doutorando autor do trabalho, e contou ainda com os pesquisadores Dr. Alexandre Antunes Ribeiro e Dra. Roseli Marins Balestra para o processamento das amostras utilizadas.

O procedimento cirúrgico, para implante e explante das amostras de titânio em tecidos ósseos de coelhos, foi realizado no Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais em Medicina (Cedeme) da Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP, sob supervisão do coordenador Dr. Silvio Eduardo Duailibi, pelos pesquisadores Dra. Monica Talarico Duailibi, Dr. Flávio de Ávila Kfour e a veterinária Dra. Tatiana Pinotti Giraó (CRMV – 18448).

A realização das aquisições microtomográficas foi realizada em dois centros, no Laboratório de Análises de Minerais e Rochas do Depto. de Geologia da Universidade Federal do Paraná, coordenado pelo Prof. Dr. José Manoel dos Reis Neto, e no Laboratório de Análises por Raios X da Universidade Estadual de Londrina, com supervisão do Prof. Dr. Carlos Roberto Appoloni, coordenador do Grupo de Física Nuclear Aplicada daquela universidade.

O desenvolvimento do trabalho, abrangendo a caracterização estrutural por meio de análise de imagens e pesquisa científica sobre o tema, foi realizado no Laboratório de Meios Porosos e Propriedades Termofísicas-UFSC sob orientação do Prof. Dr. Celso Peres Fernandes.

## 1.4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.4.1. Histórico da Pesquisa

O tema principal do presente trabalho não aborda a pesquisa de processamento de materiais, explorando diferentes rotas para produzir amostras que atendam a propriedades particulares. No entanto, faz uso do conhecimento adquirido para analisar o desempenho de propriedades físicas de implantes de titânio, processados a partir da metalurgia do pó com rotas conhecidas.

A pesquisa do biomaterial poroso utilizado teve início com OLIVEIRA (2003), que apresentou rotas de processamento para revestimentos de titânio puro e de liga Ti-6Al-7Nb, com diversos níveis de porosidade, utilizando técnicas de metalurgia do pó. Aplicou diferentes metodologias de caracterização estrutural nas amostras processadas para conferir que suas estruturas atendiam aos pré-requisitos estruturais necessários a implantes cirúrgicos.

REIS (2005) avaliou a fase porosa de espumas de titânio, variando no processamento as quantidades de aditivo e de pó de titânio. O aditivo utilizado como material gerador de poros foi a uréia. No trabalho, a faixa granulométrica do aditivo também foi variada (cinco grupos de faixas granulométricas, com tamanho de partículas variando de 125 µm a 350 µm) e a faixa granulométrica do pó de titânio foi fixa (149 -177 µm). O trabalho concluiu que as faixas granulométricas têm pouca influência quando se adota quantidades de 25% e 30% de aditivo. Com estas porcentagens de aditivo, as morfologias porosas dos materiais processados foram as que mais atenderam aos requisitos para implantes cirúrgicos.

VASCONCELLOS (2005) avaliaram a osseointegração em espumas de titânio, com processamento e características similares às espumas processadas por REIS (2005). As amostras de titânio poroso e titânio denso, fabricadas por metalurgia do pó, foram submetidos a ensaios *in vivo*, por meio da implantação em tíbias de coelhos para avaliação da biocompatibilidade e fixação ao tecido ósseo. A maior eficácia das amostras porosas em comparação a implantes densos com superfície rugosa foi verificada. Os resultados da análise histomorfométrica mostraram que ocorreu neoformação óssea nas amostras porosas, com poros preenchidos por tecido ósseo e sem a ocorrência de tecido fibroso. Este aspecto contribuiu para a

osseointegração do implante devido ao aumento da superfície de contato da interface.

OLIVEIRA et al. (2009) processaram espumas de titânio com duas categorias de aditivos formadores de poros, uréia e bicarbonato de amônio. Variaram quantidades de aditivos e tamanhos de partículas. Observaram que os materiais processados com tamanho de partícula de titânio < 67  $\mu\text{m}$ , a morfologia porosa foi distinta das amostras processadas com tamanho de partícula maior (149-177  $\mu\text{m}$  e 125-149  $\mu\text{m}$ ). O aditivo utilizado não apresentou grande influência no formato dos poros. Enquanto a morfologia porosa apresentada pelas amostras processadas com tamanho de partícula maior apresentou poros de formato “angular”, os poros das outras amostras apresentaram formato arredondado, entre outras características diferenciadas.

As rotas de processamento utilizadas na fabricação dos implantes utilizados neste trabalho foram baseadas em OLIVEIRA et al. (2009). Um dos grupos de implantes apresenta similar morfologia porosa das amostras analisadas por VASCONCELLOS (2005). Com desempenho conhecido no processo de regeneração óssea em tecidos de coelhos, este grupo foi denominado como “controle”, enquanto o grupo com morfologia arredondada é o “experimental”.

#### **1.4.2. Revisão da Literatura**

Foram encontradas na literatura publicações com temas análogos aos tratados neste trabalho, onde biomateriais com diferentes morfologias foram avaliadas, e também publicações que apresentam rotas de processamento para produção de poros com formatos similares aos do osso trabecular. Algumas delas serviram como norte para os tipos de análises quantitativas aqui desenvolvidas, caso dos trabalhos de JONES et al. (2007) e (2009). Em seu primeiro artigo, os autores utilizaram a microtomografia de raios X para caracterizar implantes de hidroxiapatita e alumina, além de quantificar a fração de poros ocupados por osso, uma vez que os implantes foram inseridos em tecidos ósseos. A dificuldade de segmentação é abordada e correlações entre parâmetros físicos dos implantes e fração de poros ocupada são traçados. O complemento do trabalho é realizado na publicação de 2009 com a aplicação de um código de poros e conexões onde as constrições e poros acessíveis ao tecido ósseo são avaliados.



TANCREDO et al. (1998) apresentaram uma rota de processamento de implantes a base de hidroxiapatita e fosfato de cálcio para a produção de meios porosos macroscopicamente idênticos à morfologia do osso trabecular. KARAGEORGIU e KAPLAN (2005) realizaram uma revisão acerca de implantes utilizados como suporte para formação óssea *in vivo* e *in vitro*. Foram avaliadas as influências dos parâmetros físicos da fase porosa no processo de osseointegração. Os autores sugerem implantes porosos que reproduzam a morfologia porosa apresentada pelo osso trabecular.

LI et al. (2006) realizaram ensaios de proliferação celular *in vitro* em amostras porosas processadas a base de titânio com estruturas diferenciadas. Uma delas apresentou estrutura esponjosa, similar à estrutura trabecular, e a outra estrutura foi produzida a partir de deposição de fibras. Os autores encontraram maior proliferação celular na estrutura esponjosa.

Van BAEL et al. (2012) analisaram o efeito da geometria de implantes de liga de titânio celulares na proliferação celular *in vitro*. Os implantes foram processados a partir de sinterização a laser, e apresentam seis diferentes formas retangulares de poros. A análise qualitativa por meio do processamento de imagens mostrou a formação celular circular, independente da forma ou do tamanho do poro.

LIU et al. (2013) avaliaram a regeneração óssea em implantes de biovidro com porosidades e tamanhos de poros distintos, além da forma dos poros. Enquanto um dos implantes apresenta poros com morfologia trabecular, o outro tem poros orientados com formatos de dutos. A histomorfometria, que foi realizada com testes mecânicos e por meio de análise de imagens da microscopia eletrônica de varredura, apontou favorecimento ao crescimento ósseo mais acentuado para a amostra com poros orientados.

Os trabalhos acima, e outras referências citadas ao longo do texto, foram os indicativos encontrados de que a forma geométrica “arredondada” dos poros de implantes pode exercer influência no processo de crescimento ósseo.



## **CAPÍTULO 2. Fundamentação Teórica**

Neste capítulo, uma resenha aborda a formação estrutural do tecido ósseo e como se dá o seu processo de regeneração e integração com biomateriais. Os biomateriais também são discutidos, dentre os quais o titânio se destaca como matéria prima favorável para o processamento de biomateriais poroso. São apresentadas as técnicas de processamento das amostras e de imageamento tridimensional, respectivamente a metalurgia do pó e a microtomografia de raios X.

### **2.1. TECIDO ÓSSEO**

O osso é um tecido conjuntivo altamente vascularizado e mineralizado responsável por ligar, nutrir, proteger e sustentar outros tecidos e que sofre constantes modificações em sua estrutura celular. Este processo dinâmico de renovação celular, que visa a renovação óssea ao longo da vida, é chamado de remodelação óssea.

Composto por células com específicas funcionalidades, como os osteoclastos e osteoblastos, o osso é constituído aproximadamente de 20 % de água e 80 % de matriz extracelular, que por sua vez é constituída por 30 % de material orgânico e de 70 % de material inorgânico (variando de indivíduos conforme tipo e idade).

Macroscopicamente, o osso é dividido em duas partes características: uma camada externa compacta e bastante rígida denominada por “Osso Cortical”; e pela camada interna menos espessa e bastante porosa denominada “Osso Trabecular”.

O osso trabecular é formado por lâminas ósseas dispostas em diferentes sentidos conferindo-lhe uma característica esponjosa. Em seus poros encontra-se a medula óssea. Externamente, o osso cortical é revestido pelo perióstio, uma membrana resistente, fibrosa e bastante vascularizada. A vascularização interna é menor e realizada por pequenos capilares formados por lamelas concêntricas, os ósteons. A canalização interna dos ósteons também é conhecida como canais de Havers. Na Figura 3 pode-se encontrar um esquema ilustrativo do tecido ósseo.

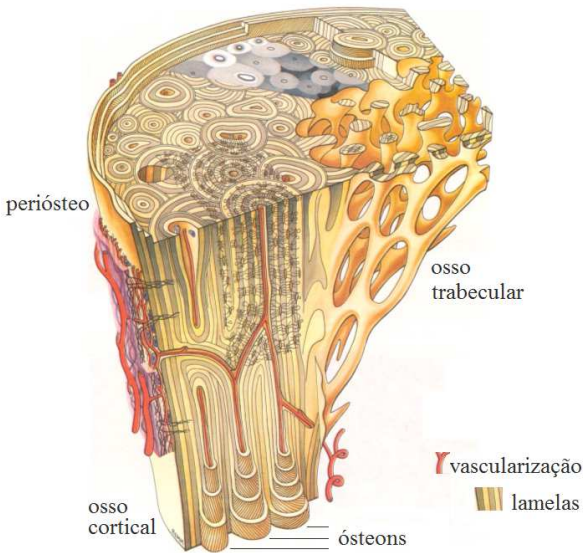


Figura 3. Ilustração da estrutura de um osso (adaptado de [www.medes.fr](http://www.medes.fr)).

## 2.2. OSSEOINTEGRAÇÃO

Quando o tecido ósseo sofre algum tipo de fratura ou trauma, ou mesmo quando recebe um implante via processo cirúrgico, dá início a uma série de respostas no organismo com o objetivo de restituir o tecido ao seu estado natural, assim como controlar os efeitos do agente lesivo.

No caso de um implante, a primeira ação do organismo é do sistema imunológico que inicia o processo inflamatório, enviando ao local neutrófilos e macrófagos, que são células capazes de fagocitar um corpo estranho. A fagocitose é um processo de digestão de partículas sólidas. Os macrófagos também liberam citocinas neste procedimento, que são agentes emissores de sinais capazes de atrair células osteoprogenitoras. As progenitoras, provenientes da medula óssea e da camada periosteal, migram para o sítio de implantação e começam a se diferenciar em osteoblastos, produzindo novo tecido ósseo.

A diferenciação dos osteoblastos se caracteriza pela regeneração do tecido ósseo, que principia o processo de osseointegração (também conhecido como osteointegração), que foi definido por BRANEMARK (1983) como sendo a “conexão direta, estrutural e funcional do osso estruturado e vivo com a superfície de um implante submetido a uma carga funcional”.

As primeiras fases do processo de osseointegração estão diretamente relacionadas com a adesão e o espalhamento das células. Primeiramente é depositado um tecido ósseo imaturo, que usualmente se origina do tecido adjacente em direção à superfície do implante. Logo após um tecido ósseo lamelar é depositado e então o estágio de remodelação óssea se inicia com eventos simultâneos de reabsorção óssea pelos osteoclastos e de formação através dos osteoblastos. Osteoclastos são células móveis, multinucleadas, com linhagem comum às das células sanguíneas e os osteoblastos são células capazes de concentrar fosfato de cálcio e sintetizar a parte orgânica da matriz óssea [KASEMO, 1983; ROBERTSON et al., 1976; ANSELME, 2000; JONES, 2001; OLIVEIRA, 2003; MACHADO, 2008].

O processo de osseointegração pode ser avaliado por meio de estudos *in vivo* em animais. Sua avaliação deve levar em conta a superfície óssea preexistente, o tecido ósseo neoformado na interface implante/osso e a superfície do implante [SCHROEDER, 1981; OLIVEIRA et al., 2004]. Outra questão a ser avaliada, que desempenha papel importante na neoformação óssea, é o grau de biocompatibilidade do material introduzido no tecido como implante.

### **2.3. BIOMATERIAIS**

O corpo humano está sempre suscetível a lesões, causadas por agentes externos ou patologias, que exigem a intervenção medicamentosa e/ou cirúrgica. Em alguns casos, devido à gravidade do dano, a inserção de um agente material no corpo humano se faz necessária, seja superficial ou internamente. Estes agentes materiais são os “implantes cirúrgicos”.

A confecção dos implantes é feita a partir de materiais especiais que possam ser inseridos no corpo humano causando o mínimo de

reações adversas ou rejeições no sistema biológico, chamados de “biomateriais”. Em suma, implantes cirúrgicos são definidos como “qualquer dispositivo médico que é intencionalmente implantado no corpo humano abaixo da superfície da epiderme, por um período de tempo, podendo ser constituído por um ou mais biomateriais” [RAVAGLIOLI e KRAGEWSKI, 1992; OLIVEIRA, 2003;].

Materiais vivos constituídos de células, órgãos e tecidos são considerados biomateriais, no entanto, grande parte dos biomateriais é sintética, com duração transitória ou permanente no corpo humano [VITAL et al., 2006], podendo ser classificados quanto à sua composição química, sendo pertencentes à categoria dos polímeros, cerâmicas e metais.

Cada órgão ou tecido em particular apresenta uma necessidade específica. Enquanto tecidos moles requerem o implante de polímeros flexíveis, o sistema esquelético carece da aplicação de metais e cerâmicas duras e rígidas para o reestabelecimento do tecido ósseo. O termo que designa a habilidade de um implante em executar uma função específica é conhecido como biofuncionalidade. A biofuncionalidade e a biocompatibilidade de um dispositivo biomaterial regem o sucesso de um implante cirúrgico [BLANCHARD, 1995; OLIVEIRA, 2003; REIS, 2005].

O grau de biocompatibilidade dos materiais pode ser analisado por meio do comportamento celular na interface tecido-implante [WILLIANS 1992; SYKARAS et al., 2000], e podem ser classificados como biotolerantes, bioinertes ou bioativos. Os biotolerantes não são rejeitados pelo organismo, porém podem causar uma pequena irritabilidade na interface com o meio biológico e podem ser isolados por um tecido fibroso. Em se tratando de implantes em tecidos ósseos, os bioinertes permitem a proliferação celular por sua superfície, o que permite o processo chamado de osteogênese, que é o crescimento do tecido ósseo. Os materiais bioativos também permitem a proliferação celular, no entanto, com troca de íons entre tecido e implante, formando ligações químicas ao longo da interface [WILLIANS, 1992]. Há ainda a classe dos bioabsorvíveis, que são implantes passíveis de algum tipo de degradação, solubilização ou fagocitose quando em contato com tecido vivo, acabam sendo diluídos pelo ambiente biológico.

A osteocondutividade é a propriedade que alguns biomateriais possuem de suportar o crescimento ósseo em sua superfície, mesmo sem atuar na formação do novo osso. Quando um material tem a habilidade

de estimular ou promover a formação óssea, este é chamado de osteoindutor. Alguns biomateriais osteocondutores podem se tornar osteoindutores com a adição de agentes como proteínas e fatores de crescimento [FUJIBAYASHIA et al., 2004]. A osseointegração é caracterizada pela conexão estrutural e funcional direta entre o osso e a superfície do implante [ANSELME, 2000].

Alguns biomateriais exercem, como implante, a biofuncionalidade de reparação óssea. Os metais são preferencialmente utilizados para implantes em situações que requerem uma combinação especial de propriedades mecânicas: tenacidade, ductilidade, resistência à corrosão e resistência à fadiga, aliada as características de biocompatibilidade e toxicidade [OLIVEIRA, 2003].

## **2.4. EMPREGO DO TITÂNIO COMO BIOMATERIAL**

### **2.4.1. Titânio**

Algumas lesões causadas em tecidos ósseos requerem a aplicação de implantes capazes de suportar as altas cargas recebidas pelo sistema esquelético e ainda que permitam o crescimento ósseo em sua superfície. Para tal empenho, biomateriais com apropriada resistência mecânica são solicitados. Biomateriais produzidos a partir de cerâmicos como hidroxiapatita e biovidros, e alguns polímeros têm sido usados para este fim [HENCH, 1991; CRANIN et al., 1987; OHTSUKI et al., 2007; PANSERI et al., 2012], no entanto, o emprego do titânio (Ti) é viabilizado por uma combinação de fatores.

Os biomateriais de titânio (e ligas de titânio) são os mais utilizados entre os biomateriais metálicos, devido às suas propriedades químicas e mecânicas. O titânio apresenta alta razão resistência/massa, com baixa densidade e elevada resistência mecânica, é resistente à corrosão e possui estabilidade termodinâmica. É um metal inerte e tem baixas taxas de liberação iônica, o que assegura sua estabilidade química no organismo humano. A oxidação superficial apresentada pelo titânio e suas ligas tem extrema importância no processo da osseointegração, pois gera rugosidade superficial favorecendo a adesão e proliferação celular, definindo o seu alto grau de biocompatibilidade [BUDDY e HOFFMAN, 1996; KANAGARAJA et al., 2001; MOMOSE, 2003;

REIS, 2005; WIRSCHING et al., 2011]. Alguns trabalhos mostram plena osseointegração entre implantes de titânio e tecido ósseo, sem a formação de tecido fibroso na interface [SUL et al., 2002; STEINEMANN, 1998].

Tratamentos químicos à base de deposição de hidroxiapatita na superfície de implantes de titânio são capazes de transformá-lo num biomaterial osteoindutor [PILLIAR, 1999; KURODA e OKIDO, 2012], no entanto, a respeito da biocompatibilidade, o titânio é considerado um material bioinerte e ostecondutor.

#### **2.4.2. Titânio Poroso**

O titânio e suas ligas têm sido muito empregados como fixador de placas ortopédicas, do mesmo modo como base para a sustentação de próteses dentárias no formato de parafusos [BRANEMARK, 1983; BUDDY e HOFFMAN, 1996; ACOCELLA et al., 2012]. O tratamento superficial de parafusos no caminho de aumento de rugosidade local teve sua eficácia comprovada no processo osseointegrativo [BAGNO e BELLO, 2004].

Como método de fixação alternativo ao uso de parafusos em implantes ortopédicos os biomateriais com superfície porosa, ou totalmente porosa, têm sido pesquisados e aplicados como implantes em tecidos ósseos [OLIVEIRA, 2003; RYAN et al., 2006; TAKEMOTOA et al., 2005; VASCONCELLOS, 2012]. O melhor desempenho do titânio poroso em relação ao titânio com superfície rugosa foi analisado e verificado por SCHENK e BUSER (1998) e VASCONCELLOS et al. (2008).

A característica porosa dos implantes beneficia a irrigação sanguínea, a migração e proliferação de células fazendo com que o osso neoformado invada os poros criando uma forte conexão [PILLIAR, 2003; DUNAND, 2004]. A ligação estrutural entre tecido e implante não acontece apenas na interface, mas também internamente ao longo de toda a estrutura porosa. Este tipo de conexão é o grande diferencial dos biomateriais porosos em relação aos demais, além de favorecer a regeneração óssea apresenta melhor ancoragem dos implantes.

O titânio é altamente reativo, com afinidade a metais e gases (oxigênio, nitrogênio e hidrogênio). O design para sua aplicação como biomaterial muitas vezes exige precisão dimensional associada com a alta integridade estrutural do implante. Tais fatores requerem técnicas



precisas de processamento. Na literatura encontram-se técnicas alternativas para processamento de titânio poroso, *tape casting* [RAK e WALTER, 2006], sol-gel [ADVINCULA et al., 2006; RIBEIRO et al., 2012], dissolução eletro química [KWOK et al., 2008], *gelcasting* [LI et al., 2008], fusão por feixe de elétrons [PARTHASARATHY, 2009] e impressão 3D [XIONG et al., 2012] são alguns exemplos. No entanto, as técnicas consideradas economicamente viáveis para fabricação de implantes cirúrgicos de formas complexas são a fundição de precisão e a metalurgia do pó [SCHWANKE e SCHAEFFER, 1997; OLIVEIRA, 2003,].

Implante de titânio poroso processado a partir da metalurgia do pó foi o tipo de amostra analisada neste trabalho. Mesmo com desempenho biofuncional em tecidos ósseos já pesquisados [VASCONCELLOS, 2005; MACHADO, 2008], a morfologia porosa diferenciada pode ser um fator osteocondutivo importante a ser analisado e é o objetivo central desta pesquisa.

## **2.5. PROCESSAMENTO VIA METALURGIA DO PÓ**

A metalurgia do pó é uma opção entre os processos metalúrgicos convencionais no que tange à fabricação de materiais com geometrias complexas, incluindo porosidade controlada. Em síntese, é feita uma combinação de pós que são misturados e conformados para posterior tratamento térmico, em condições controladas, visando o estabelecimento de uma continuidade de matéria entre as partículas. O atributo da mistura de pós específicos, associado a baixas temperaturas de processamento, permite o controle da composição química dos materiais processados, particularidade de grande valia na produção de metais com extrema suscetibilidade de contaminação como o titânio. Além do controle químico e geométrico, vantagens como a não necessidade de usinagem posterior, baixo custo e reprodutibilidade podem ser citadas.

Uma metodologia de processamento de materiais porosos consiste na adição de um agente formador de poros ao pó metálico. O agente é um aditivo orgânico ou inorgânico, com granulometria definida, que é removido da amostra por meio de tratamento térmico. Esse processo permite o controle da estrutura da fase porosa, podendo

ser aplicado em implantes com formatos variados, além de permitir uma boa resistência a verde (antes do tratamento térmico), possibilitando o seu manuseio durante as etapas de processamento.

A conformação mecânica da mistura é realizada por meio de compactação, que pode ser de modo uniaxial ou isostático a frio. Para a retirada do material gerador de poros e formação da fase porosa do material, a mistura compactada é aquecida a temperaturas suficientes apenas para a combustão do aditivo. O compactado então é submetido à sinterização, que é o tratamento térmico em condições adequadas para a consolidação e união das partículas do pó metálico.

As propriedades químicas e geométricas desejadas do material processado dependem diretamente das características do pó, tais como: composição química, tamanho, forma e distribuição de partículas. Destas características dependem a temperatura e o tempo de sinterização. Durante a operação de sinterização as partículas metálicas se ligam umas às outras por difusão no estado sólido e evaporação/condensação [PILLIAR 1983; 1987; OLIVEIRA, 2003].

## **2.6. TOMOGRAFIA DE RAIOS X**

### **2.6.1. Surgimento da Técnica**

Qualquer tentativa em abordar historicamente o surgimento da tomografia de raios X, sem que a própria descoberta dos “Raios X” seja devidamente citada, pode ser considerada insuficiente. Tal radiação é a espinha dorsal da técnica da tomografia. Além do fato que foi uma imagem (a radiografia de uma das mãos da esposa do descobridor da radiação X) que deu verdadeira notoriedade aos raios X, uma vez que a tomografia de raios X é essencialmente uma técnica avançada de captura de imagens.

Os Raios X foram descobertos pelo físico experimental alemão Wilhelm Conrad Röntgen (1845-1923) em 1895, na Universidade de Würzburg. Röntgen estudava fenômenos luminescentes em tubos de raios catódicos. No aparato, uma corrente elétrica colidia contra uma tela causando o efeito da luminescência. Para melhor visualização, o experimento foi encerrado em uma caixa escura. O que chamou a

atenção do experimentador foi observar o fenômeno também do lado de fora da caixa. A luminescência, que só era possível devido ao vácuo no aparato, uma vez que os raios catódicos não tinham a capacidade nem de atravessar uma camada fina de ar, estava contradizendo o óbvio e atravessando além do ar, as paredes da caixa. Aquilo aguçou a curiosidade de Röntgen, que estudou mais profundamente o que parecia se tratar de uma nova categoria de radiação. Em seguida percebeu que a nova radiação era capaz de ionizar gases e não era afetada por campos elétricos ou magnéticos. Logo testou o efeito em uma chapa fotográfica: o resultado mudou o mundo da medicina. Por se tratar de um tipo desconhecido de radiação, Röntgen atribuiu-lhes o símbolo matemático usado para denotar uma quantidade desconhecida, chamando-os de raios “X”. A grafia “complicada” do nome de Röntgen (ou Roentgen) causava certa confusão, aliada à escolha da imprensa na época, confirmou a denominação da descoberta como “raios X”, sem menção ao nome de seu descobridor [STRATHERN, 2000].

No século seguinte, em 1972, o engenheiro eletrônico inglês Godfrey Newbold Hounsfield (com a colaboração de James Ambrose e Allan Cormack) apresentou um novo método de utilização da radiação X para medir descontinuidades de densidades na forma de imagens, a Tomografia Computadorizada de Raios X. Conhecida como *Computed Axial Tomography* – CAT [TESEI et al., 2005], a nova técnica permitia a observação 3D de órgãos internos de pacientes, e não apenas a leitura 2D oferecida pelas já conhecidas radiografias. A *Unidade de Hounsfield-HU* é uma escala de medida de densidades radiológicas adotada na tomografia médica. Para uma leitura complementar e mais compreensiva sobre a história da microtomografia de raios X aconselha-se CARVALHO (2007).

Uma das evoluções da técnica de CAT foi a sua adequação para a análise de amostras com pequenas dimensões. Obedecendo ao conceito básico da tomografia, porém com capacidade de prover imagens com melhores resoluções espaciais, a derivação da técnica permite atualmente a investigação de amostras nas escalas micro e nanométrica. Aliadas a técnicas de caracterização estrutural de materiais por meio de análise de imagens, Micro e Nanotomografia de Raios X são importantes ferramentas que encontram aplicabilidade em diferentes linhas de pesquisa.

### **2.6.2. Princípios da Técnica de Tomografia de Raios X**

O princípio básico da Tomografia de Raios X é bem parecido com o procedimento descoberto por Röntgen ao radiografar uma mão. A mão foi iluminada por um feixe de radiação e sua sombra foi projetada na chapa fotográfica. Nesta “sombra projetada”, denominada apenas por “projeção”, está contida a informação da atenuação parcial que o feixe sofreu ao atravessar a mão. O que a Tomografia faz é repetir a projeção várias vezes, girando e iluminando a amostra em diferentes ângulos. Por meio da aplicação de um algoritmo numérico na informação contida nas projeções, a imagem 3D da amostra é reconstruída (assim como suas seções bidimensionais).

A Tomografia de Raios X, desde sua criação, já apresentou seis diferentes gerações que evoluíram no caminho de minimizar a dose de radiação nos pacientes aliadas a melhorias nas imagens geradas [KALANDER 2006]. Até mesmo suas derivações aplicadas à pesquisa de materiais têm diferenciações, principalmente quanto à fonte e formato do feixe de radiação. O que vale ressaltar é que o princípio básico da técnica em todos os casos é o mesmo, resumindo-se em uma fonte de radiação, uma amostra, um sistema de detecção das projeções e a aplicação do algoritmo de reconstrução de imagens.

### **2.6.3. Microtomografia de Raios X**

A microCT é uma técnica de imageamento 3D baseada na leitura das variações de densidades da estrutura de uma amostra. Quando uma amostra é exposta à radiação eletromagnética de determinada energia, ela a absorve parcial ou totalmente. Um dos parâmetros que vai definir a taxa de absorção radiativa pela matéria é o coeficiente de atenuação linear. Este coeficiente é uma propriedade intrínseca de cada material, com densidade e número atômico definidos, relacionando propriedades físicas de uma amostra com a energia dos fótons. A projeção de uma amostra irradiada no detector é um mapeamento dos coeficientes de atenuação linear presentes em sua estrutura.

Para a geração das imagens, são necessárias informações dos coeficientes de atenuação linear sob diferentes ângulos de exposição. Com este intuito, a amostra é girada em pequenos passos angulares, e a cada passo uma projeção é realizada. O algoritmo de reconstrução é provido com as informações contidas nas projeções, gerando uma série de seções bidimensionais da amostra. A imagem 3D é elaborada por meio do empilhamento de todas as seções 2D de forma ordenada. Para

isso o, algoritmo faz uso do método conhecido como renderização. Renderização é o processo pelo qual se pode obter o produto final de um processamento qualquer, em imageamento microtomográfico isso pode ser entendido como a tradução de uma linguagem visual em outra, ou seja, 2D para 3D. Na Figura 4 a seguir o processo de aquisição de imagens microtomográficas está esquematicamente ilustrado.

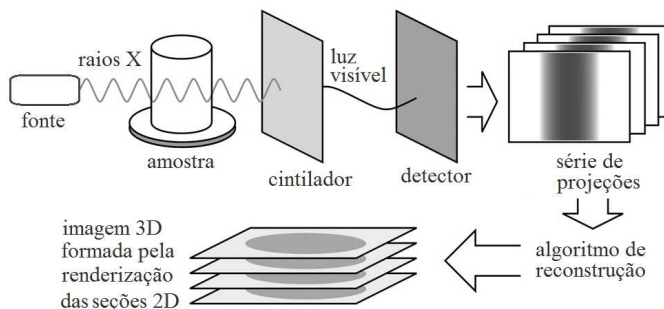


Figura 4. Esquema ilustrativo da aquisição de imagem 3D em um sistema microtomográfico [LANDIS e KEANE, 2010].

#### 2.6.4. Fonte de Raios X

Uma fonte de radiação X que tem sido bastante usada na técnica de microCT é proveniente de aceleradores cíclicos de partículas, conhecidos como síncrotron. Uma alternativa que possibilitou a montagem de sistemas microtomográficos em laboratórios foi dada pelo uso de tubos de raios X microfoco. Além da escala, do preço e complexidade de operação, a principal diferença entre as duas fontes está no espectro energético da radiação emitida. Enquanto tubos de raios X emitem feixes policromáticos, aceleradores síncrotrons emitem um feixe monocromático que possibilita a aquisição de imagens com menor quantidade de artefatos e ruídos. Artefatos são estruturas visualizadas na imagem reconstruída que não estão presentes na amostra analisada, uma vez que a formação ruidosa é uma distribuição granulosa que se faz presente em toda a imagem. Em contrapartida, alguns tubos de raios X empregados em modernos sistemas nanotomográficos emitem feixes de radiação monoenergéticos com o uso de condensadores de radiação e

filtros avançados, mas nunca atingem a intensidade de feixe de um sincroton, onde a medida é por isso muito mais rápida.

O processo de emissão de raios X é o mesmo nas duas categorias citadas; conversão de energia cinética de elétrons desacelerados em fótons, chamado de *Bremsstrahlung*. Os tubos são formados basicamente por um filamento (cátodo), um alvo (ânodo) e uma janela para liberação da radiação. O filamento é usado como fonte eletrônica, pois quando aquecidos, elétrons se desprendem dele, e devido uma diferença de potencial aplicada entre o cátodo e o ânodo eles são acelerados. O feixe eletrônico sofre uma frenagem abrupta ao se chocar contra o alvo, quase toda energia cinética ganha na aceleração é convertida na emissão de fótons, ou raios X.

A radiação X é proveniente do rearranjo de elétrons em transições decorrentes nos diferentes níveis orbitais de um átomo, ocasionadas por perturbações ou absorção de energia. A intensidade e a energia da radiação gerada variam com a tensão aplicada no tubo. O espectro emitido esperado seria o de um feixe de radiação monoenergético, pois os elétrons acelerados estão submetidos ao mesmo potencial, mas o choque destes contra o alvo não se dá da mesma maneira. Há grande possibilidade de ocorrer interação de elétrons em pontos mais profundos no alvo, assim o feixe sofre múltiplas colisões, formando raios X de diferentes energias (feixe policromático).

Um feixe policromático cria artefatos nas imagens reconstruídas devido a um efeito conhecido como *beam hardening*. Basicamente, os fótons de baixas energias tendem a ser absorvidas nas primeiras camadas da amostra, passando para o algoritmo de reconstrução a informação errônea de que há uma concentração de densidade nas extremidades a amostra. Na Figura 5 pode ser observada uma seção 2D de uma amostra rochosa cilíndrica, que apresenta o efeito de *beam hardening*, juntamente com um gráfico de tons de cinza *versus* distância em pixel da amostra, que quantifica o efeito com dois picos relativos acentuados às extremidades da amostra. A curva amarela no gráfico é dada em relação a uma linha que atravessa, de lado a lado, o centro da amostra.

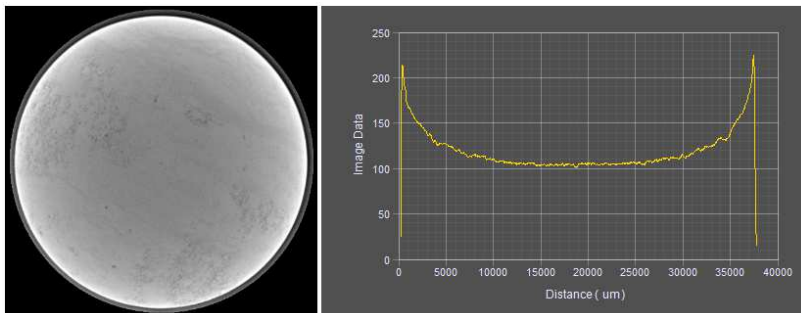


Figura 5. Efeito de *beam hardening* em uma amostra de rocha cilíndrica.

Duas ações podem ser tomadas para contornar o problema, a correção da imagem reconstruída com algoritmos e/ou filtros físicos. O filtro físico é usado para absorver a faixa de energia indesejada. Este tem que ser constituído de um material com descontinuidade fotoelétrica no valor da energia que se deseje, dessa maneira ele absorverá boa parte das baixas energias do espectro original. Um gráfico que mostra o espectro de energia de um tubo de raios X (alvo de Cobre) pode ser observado na Figura 6, assim como o resultado da aplicação de filtros físicos para absorção dos fótons de baixa energia.

Na Figura 7 pode ser observada uma seção 2D da mesma amostra presente na Figura 5, porém agora com a aplicação de um filtro físico apropriado. Como se pode notar, a aplicação do filtro físico corrigiu o efeito de *beam hardening*. O gráfico neste caso apresenta uma curva suavizada que oscila em torno de uma média, de um lado a outro da amostra. Como leitura complementar sobre artefatos de imagem em microCT aconselha-se VINEGAR e WELLINGTON (1987), KETCHAM e CARLSON (2001) e KRUTH et al. (2011)

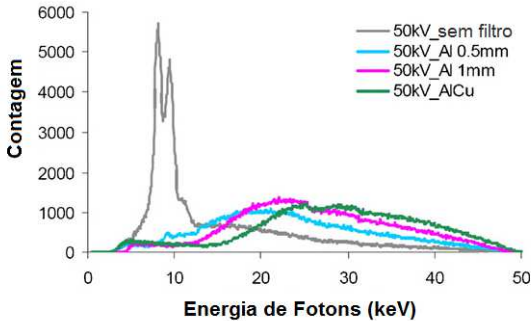


Figura 6. Espectro de energias de fótons de raios X com e sem a aplicação de filtros [KRUTH et al., 2011].

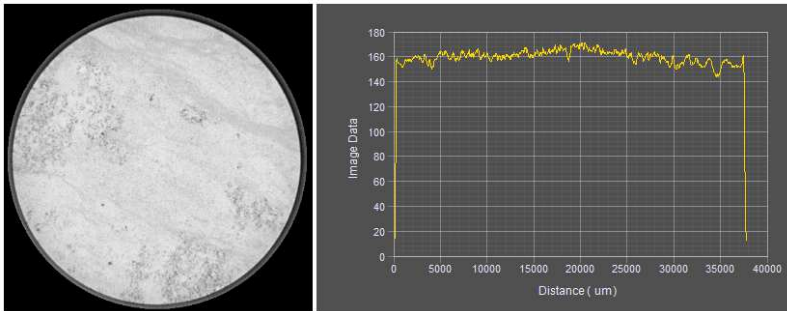


Figura 7. Correção do efeito de *beam hardening* em uma amostra de rocha cilíndrica com a aplicação de filtro físico.

### 2.6.5. Interação da Radiação com a Matéria

A taxa de absorção da radiação pela matéria é dada pelo coeficiente de atenuação linear ( $\mu$ ). Este coeficiente é determinado a partir da soma das contribuições de diferentes processos de interação da radiação com a matéria, que são: Efeito Fotoelétrico, Espalhamento Rayleigh, Espalhamento Compton, Espalhamento Thomson e Formação de Pares (se  $E_{\text{raios-X}} > 1,02\text{MeV}$ ). Detalhes a respeito dos processos de interação podem ser encontrados no ANEXO I.

A absorção radiativa por um corpo material é dada de forma exponencial, caracterizada por:



$$I = I_0 \exp(-\mu l) \quad (1)$$

onde  $l$  representa a espessura da amostra (cm),  $\mu$  é o coeficiente de atenuação linear ( $\text{cm}^{-1}$ ),  $I_0$  é a intensidade do feixe incidente na amostra e  $I$  é a intensidade do feixe emergente da amostra, as intensidades são dadas em contagens por unidade de tempo.

No caso de materiais não homogêneos, cada diferente densidade representada por um  $\mu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ), que constitui a amostra, será responsável pelas diferentes tonalidades de cinza que compõem a sua projeção. Assim, a Eq. 1 pode ser escrita da seguinte maneira:

$$I = I_0 \exp\left[\sum_i (-\mu_i l_i)\right] \quad (2)$$

onde o índice  $i$  reflete um volume elementar com coeficiente de atenuação  $\mu_i$  e extensão linear  $l_i$  atravessado pelo feixe.

### 2.6.6. Sistema de Detecção e Projeções

A câmera CCD (*charge-coupled device*) é o dispositivo responsável pela captura das projeções em equipamentos tomográficos. No caso de microtomógrafos, trata-se de um arranjo matricial de pequenos detectores (geralmente de silício). A Projeção é a leitura feita pela CCD da atenuação sofrida pelo feixe ao atravessar a amostra.

O método de detecção (geração da imagem) consiste em aproximar uma solução considerando que a atenuação do feixe é uniforme sobre todo o trajeto do raio no interior da amostra, de forma que a atenuação calculada é proporcional à atenuação medida. Considerando o feixe como uma linha que atravessa a amostra, o objeto é modelado a partir de uma distribuição da atenuação do feixe de raios X ao longo desta linha, a integral sobre ela representa a atenuação total sofrida pelo feixe que atravessa o objeto. A Eq. 1 pode ser escrita como:

$$I = I_0 \exp\left(-\int_L \mu(x, y) dl\right) \quad (3)$$

onde  $\mu(x, y)$  é o coeficiente de atenuação linear pontual e  $L$  denota o caminho atravessado pelo feixe desde a fonte até o sistema de detecção [SALES, 2010].

A projeção é formada pela combinação de um arranjo de integrais de linha de uma coleção de raios paralelos denotada por  $P_\theta(t)$  para um  $\theta$  constante, como se pode observar na Figura 8.

No caso em que sistemas tomográficos empregam feixe cônico de radiação, como foi adotado neste trabalho, não se pode trabalhar com a função  $f(x, y)$  usada para feixes paralelos. Uma modificação no seu formato deve ser realizada para se obter o algoritmo de projeção adequado [KAK e SLANEY, 1999].

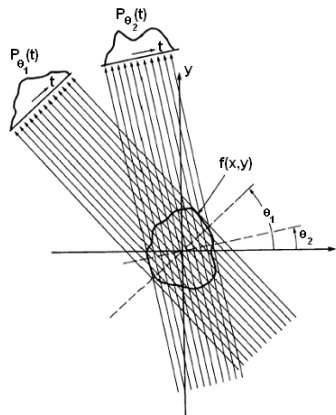


Figura 8. Projeções paralelas dadas pelo arranjo de raios paralelos para diferentes ângulos [KAK e SLANEY, 1999].

Onde:

$$P_\theta(t) = \int_{(L)} \mu(x, y) dl = \int_{(\theta, t)} f(x, y) ds \quad (4)$$

onde a função  $f(x,y)$  a pode ser descrita pelos parâmetros  $(\theta,t)$ , por meio da relação:

$$x \cos \theta + y \sin \theta = t \quad (51)$$

O feixe cônico é a geometria mais usada em sistemas microtomográficos comerciais. Como o próprio nome sugere, o feixe surge da fonte e abre conicamente, iluminando grande parte ou totalmente a amostra, como pode ser observado no esquema da Figura 9.

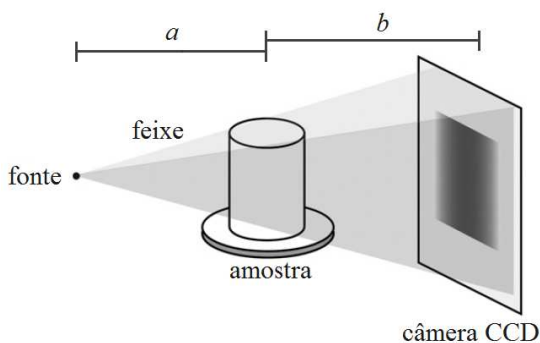


Figura 9. Representação esquemática do feixe cônico e das distâncias fonte-amostra ( $a$ ) e amostra-detector ( $b$ ) [adaptado de LANDIS e KEANE, 2010].

O tamanho de píxel da imagem reconstruída, ou seja, a resolução espacial da imagem ( $R$ ) é dada por uma relação entre o tamanho de cada detector ( $d$ ) da CCD (também chamado de píxel da câmera) e do fator de magnificação ( $M$ ), descrita da seguinte maneira:

$$R = \frac{d}{M} \quad (6)$$

O fator de magnificação é determinado segundo a geometria que o sistema adota, assumindo as posições ocupadas pela fonte, amostra e CCD, como se segue:

$$M = \frac{a+b}{a} \quad (7)$$

onde  $a$  é a distância fonte-amostra e  $b$  é distância amostra-câmera CCD, como pode ser observado na Figura 9.

O fator de magnificação geométrico ( $M$ ) é o método mais amplamente usado para obter a resolução de imagem desejada. No entanto, alguns microtomógrafos tem um arranjo de lentes objetivas acoplados ao sistema, usando um método de junção de magnificação geométrica com magnificação óptica para a definição da resolução.

### 2.6.7. Reconstrução de Imagens

O método de reconstrução de imagens mais utilizado é chamado de “Retroprojeção Filtrada” [FELDKAMP et al., 1984]. Este método utiliza um algoritmo de reconstrução que consiste em realizar a junção de todas as informações contidas nas projeções para a geração das imagens tomográficas (seções 2D).

A retroprojeção usa o artifício de distribuir a projeção do objeto para o lado posterior e anterior da imagem, a fim de tentar localizar a sua posição original, como pode ser observado na Figura 10, que ilustra o caso da imagem de um objeto circular sendo reconstruída. A reconstrução de uma imagem com apenas uma projeção resultaria em um borrão, por isso, o algoritmo necessita de informações de projeções do objeto sob diferentes perspectivas. O termo “filtrado” designa a ação do algoritmo em “limpar” a imagem de resquícios das diversas projeções realizadas.

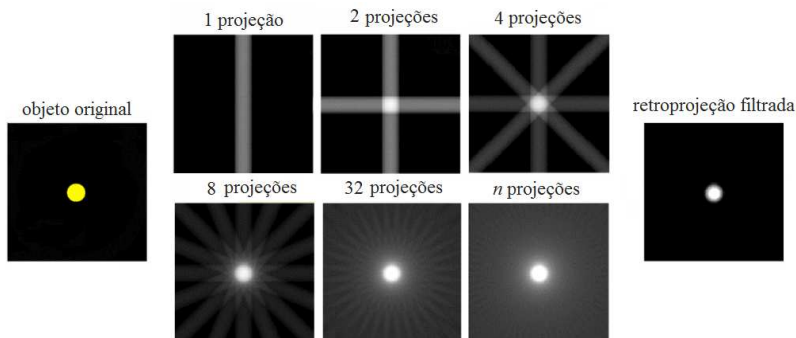


Figura 10. Esquema do processo de reconstrução de imagens a partir de projeções, retroprojeção filtrada [adaptado de [www.impactscan.org](http://www.impactscan.org)].

Com as seções 2D reconstruídas, a obtenção da imagem 3D da amostra é dada pelo processo de renderização. Maiores informações sobre soluções e adequações sobre projeção com feixe cônico, assim como detalhamentos matemáticos do algoritmo de reconstrução de imagens podem ser encontrados no trabalho de KAK e SLANEY (1999). Um apanhado geral sobre a técnica de microtomografia também pode ser encontrado em LANDIS e KEANE (2010).



## **CAPÍTULO 3. Materiais e Métodos**

Para que a determinação dos parâmetros físicos das amostras possa ser realizada por meio de análise de imagens, estas passam por processamentos que consistem em sua adequação para a posterior caracterização estrutural. Um importante item da fase de processamento de imagens é a segmentação binária, que realiza a separação das fases em questão para que as análises possam ser realizadas. Este capítulo apresenta as técnicas e metodologias empregadas no processamento das imagens microtomográficas, assim como foram efetuadas as determinações dos parâmetros físicos das amostras avaliadas.

### **3.1. PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE IMAGENS**

A aplicação de técnicas baseadas em ensaios físicos, entre elas a porosimetria de mercúrio, adsorção e dessorção de gases e método de Arquimedes, tem sido prática comum na caracterização estrutural de meios porosos, cada uma com suas vantagens e limitações. No entanto, com o progresso de tecnologias de observação e aquisição de imagens, podendo ser citadas a microscopia óptica, MEV e microCT, as pesquisas na área tiveram considerável aumento. Os progressos e avanços destas pesquisas atribuíram à Análise de Imagens a classe de importante técnica de caracterização microestrutural de meios porosos.

No processo de análise de imagens digitais, assume-se que a imagem é provida das características geométricas da amostra com representatividade estatística para descrevê-la. A partir dela, são extraídas informações estruturais tanto qualitativas quanto quantitativas. Uma importante etapa deste processo é a segmentação binária. A binarização discretiza a imagem nas fases de interesse, no caso da análise de materiais porosos, ela a separa em regiões associadas aos sólidos e regiões dos vazios (poros).

É comum a ocorrência de ruídos e artefatos, problemas inerentes às próprias técnicas de imageamento, ou de imprecisões no momento da aquisição. Uma gama de filtros e operações aritméticas, que tornam as

imagens mais adequadas para análise, está disponível para aplicação em diversos softwares de tratamento e processamento de imagens. Os filtros e operações podem ser aplicados à imagem em seu estado original (em tons de cinza ou coloridas), assim como às imagens binárias. Tornar uma imagem mais adequada, com a aplicação de filtros e operações matemáticas, é uma questão de interpretação do usuário, sendo importante a sua experiência [FERNANDES, 2002].

Além da segmentação binária, o emprego de morfologia matemática adequada tem sua relevância na determinação de parâmetros físicos. Segundo COSTER e CHERMANT (1989), a análise de imagens é dividida em dois grandes domínios; o domínio do reconhecimento de padrões, cujo objetivo é a identificação de formas, comparando-as com formas conhecidas; e o domínio da quantificação das imagens, com o objetivo de uma análise quantitativa da morfologia e da topologia de estruturas.

No texto seguinte, são abordados os filtros e operações utilizados neste trabalho, além da técnica de binarização e morfologia matemática empregadas. Em paralelo, são mostrados como foram determinados os parâmetros físicos a partir das informações contidas nas imagens.

### **3.1.1. Segmentação Binária**

A segmentação é definida como um processo de separação de uma imagem em regiões homogêneas de acordo com um critério estabelecido. Neste contexto, a segmentação binária é o processo de conversão de imagens, originalmente coloridas ou em tons de cinza, em imagens constituídas apenas por pixels pretos e brancos, definindo regiões relacionadas às fases em questão.

Imagens microtomográficas são formadas por tons de cinza distribuídos em um histograma. A binarização consiste em encontrar um limiar neste histograma que melhor separa as fases associadas às fases que compõem a imagem. Como exemplo, pode ser observado na Figura 11 a ilustração da conversão binária de uma imagem com 256 tons de cinza com limiar 125.



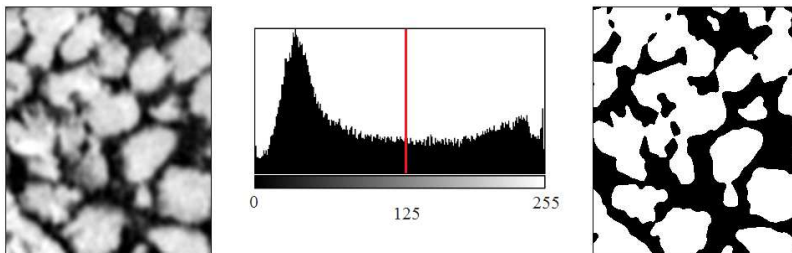


Figura 11. Ilustração do processo de binarização de uma imagem com 256 tons de cinza.

A imagem digital é constituída por pixels na forma de uma matriz  $(i, j)$ . A partir de uma função imagem  $Im(i, j)$ , a imagem binária  $Im(i, j)_{bin}$  será dada por:

$$Im_{bin}(i, j) = \begin{cases} 0, & \text{se } Im(i, j) \leq l \\ 1, & \text{se } Im(i, j) > l \end{cases} \quad (8)$$

onde  $l$  é o limiar escolhido.

Uma alternativa à escolha de um limiar assistida pelo usuário são os códigos numéricos de limiarização ótima [OTSU, 1979; SEZGIN e SANKUR, 2004; BARRON e BUTLER 2006]. A aplicabilidade de códigos é subordinada ao comportamento do histograma de níveis de cinza de cada imagem. Tanto a limiarização manual, quanto o uso de códigos, requer experiência do usuário na decisão da melhor aplicação baseado na separação das fases de interesse [MOREIRA et al., 2012].

### 3.1.2. Operações Aritméticas

Como as imagens digitais são associadas a matrizes de valores inteiros, a aplicação de operadores lógicos e aritméticos é possível. Estas operações podem ser efetuadas em termos dos pixels (*pixel - based*) ou em termos de conjuntos de pixels (*feature - based*). A aplicação de operadores é utilizada como

auxílio na adequação de imagens para segmentação binária, ou para eliminação de ruídos ou de objetos indesejados pós binarização. Os atributos e características de imagens diferentes, definidas por suas matrizes, serão operados com a definição de uma terceira imagem resultante. Foram utilizados neste trabalho apenas os operadores *Add*, *Subtract* e *OR*. Uma descrição bastante completa dos operadores e suas combinações é feita em RUSS (1999).

Para a aplicação dos operadores *Add* e *Subtract*, por exemplo, em duas imagens com matrizes de dimensões equivalentes, os valores dos pixels que correspondem à mesma localização  $Im(i,j)$ , serão somados ou subtraídos, o resultado é dividido pelo número N de imagens operadas. Já o operador *OR* é *feature-based* e faz uma soma de pixels, no entanto preservando as imagens operadas na imagem resultante. Na Figura 12 podem ser observados exemplos de aplicação das operações descritas.

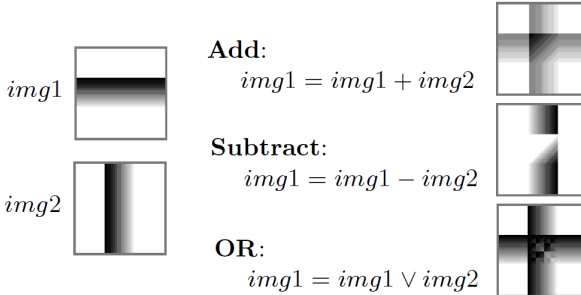


Figura 12. Processos de operação aritmética em imagens [retirado de FERREIRA e RASBAND, 2010].

### 3.1.3. Morfologia Matemática

Operações morfológicas podem ser usadas como filtros para a eliminação de ruídos, em determinação de parâmetros físicos como distribuição de tamanho de poros, e em processamentos de segmentação de formas e detecção de contornos de objetos. Para sua aplicação, faz-se uso do reconhecimento de padrões para identificação de formas. Isso é feito com base na morfologia matemática com métricas definidas.

A morfologia matemática compara objetos de uma imagem com um padrão, denominado elemento estruturante. As bolas de raio  $r$  no espaço discreto, que podem ser elementos estruturantes, são estabelecidas em função de métricas que definem sua forma, obedecendo a um critério de conexão entre pixels. Estes critérios estabelecem sua vizinhança direta ou indireta. Por exemplo, as vizinhanças  $v_4$  e  $v_8$ . Assim, as métricas  $d_4$  e  $d_8$ , que obedecem às vizinhanças  $v_4$  e  $v_8$ , respectivamente, seus vizinhos diretos e indiretos são iguais a 1. Nas bolas de raio  $r = 2$  o posicionamento da vizinhança 2, em relação ao pixel central, estabelece a diferença entre as métricas.

A partir das máscaras de chanfro de cada métrica são geradas as bolas (elementos estruturantes) do espaço discreto. Uma ponderação bastante utilizada é com os valores 3 e 4 para vizinhos diretos e indiretos, de onde vem a aproximação:  $(1, \sqrt{2}) \rightarrow (1, 3/4)$ . Esta aproximação dá origem à métrica  $d_{3-4}$ , que é a métrica mais próxima das distâncias da métrica euclidiana [FERNANDES, 2002]. Na Figura 13 podem ser observadas as máscaras de chanfro das métricas mencionadas para o domínio 2D.

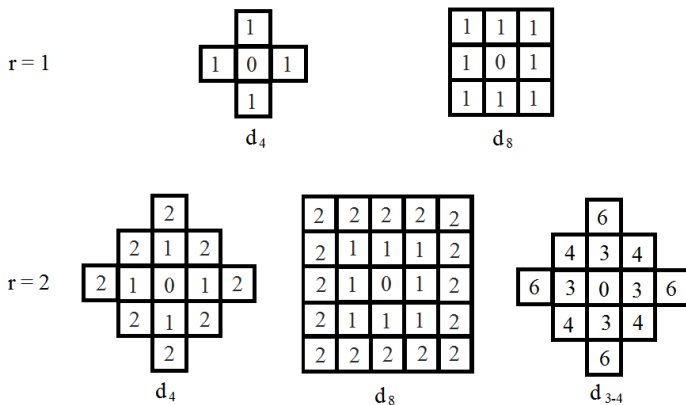


Figura 13. Máscaras de chanfro para o domínio 2D.

Como a métrica  $d_{3-4}$  é a que mais se aproxima da euclidiana, é uma das mais usadas. A adaptação desta métrica para o domínio 3D, que segue a mesma lógica de aproximação da métrica euclidiana, é a  $d_{3-4-5}$ . Esta foi a métrica adotada em parte das determinações tridimensionais

realizadas neste trabalho. Na Figura 14 podem ser encontradas ilustrações de bolas de raios  $r = 1, 2$  e  $3$  da métrica  $d_{3-4-5}$ .

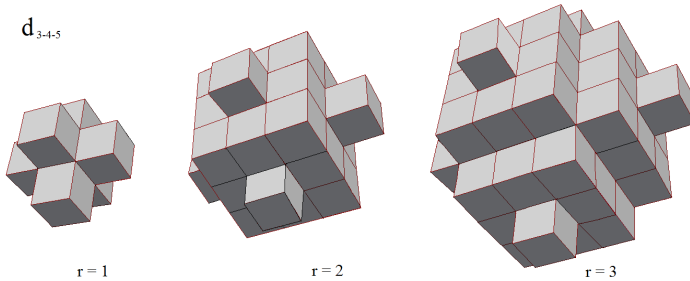


Figura 14. Bolas de raios  $r = 1, 2$  e  $3$  da métrica  $d_{3-4-5}$ .

### 3.1.4. Operação Erosão

A operação de erosão consiste na eliminação de pixels de uma imagem de maneira criteriosa pré-estabelecida. A partir da escolha de um elemento estruturante  $B$ , e considerando que  $X$  é um objeto contido no espaço  $R^2$ , o erodido  $X$  por  $B$ ,  $E^B(X)$  é dado por:

$$E^B(X) = \{X \in R^2 : B_x \subset X\} \quad (9)$$

onde  $B_x$  é o centro do elemento estruturante em cada ponto  $x$ .

Assim, para cada posição  $x$  em  $R^2$ , o centro do elemento estruturante é implantado, e são considerados pertencentes ao objeto erodido os pontos  $x$  tais que  $B_x$  fica completamente incluso em  $X$ . Ou seja, assim como pode ser observado na Figura 15, o pixel correspondente ao centro do elemento estruturante é conservado na imagem resultante [FERNANDES, 2002].

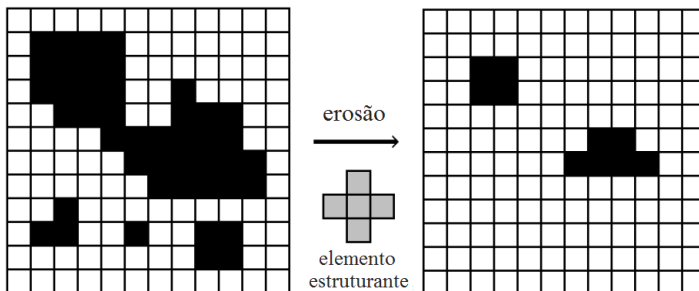


Figura 15. Ilustração do procedimento de erosão [adaptado de GONZALES e WOODS, 1992].

### 3.1.5. Operação Dilatação

A dilatação fundamenta-se na adição de pixels a uma imagem a partir de um critério pré-estabelecido. Da mesma maneira, o dilatado  $X$  por  $B$ ,  $D^B(X)$  é dado por:

$$D^B(X) = \{X \in R^2 : B_x \cap X \neq \emptyset\} \quad (10)$$

Assim, o objeto dilatado consiste do conjunto de pontos  $x$  tais que o centro do elemento estruturante implantado em  $x$  tem uma intersecção não nula com  $X$ . Na Figura 16 está ilustrado o processo de dilatação [FERNANDES, 2002].

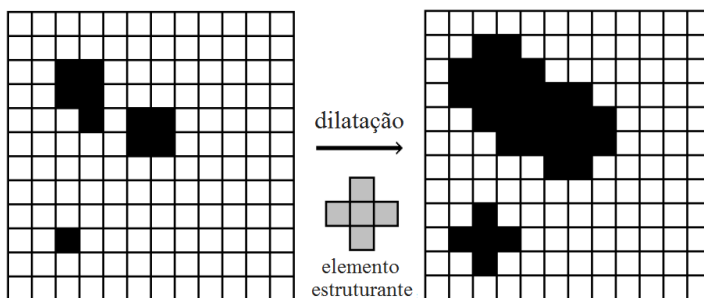


Figura 16. Ilustração do procedimento de dilatação [adaptado de GONZALES e WOODS, 1992].

### 3.1.6. Operação de Abertura

A operação de abertura é uma combinação das operações de erosão e dilatação. Uma das aplicações da operação de abertura é na determinação de distribuição de tamanho de poros, como será visto mais adiante. Pode ser aplicada como filtro, uma vez que elimina os objetos menores que o elemento estruturante adotado, assim como elimina rugosidades de objetos maiores que ele. No entanto, além de não restaurar os objetos originais, pode eliminar restrições que são ligações entre objetos constituintes da imagem. A ilustração desta operação pode ser encontrada na Figura 17.

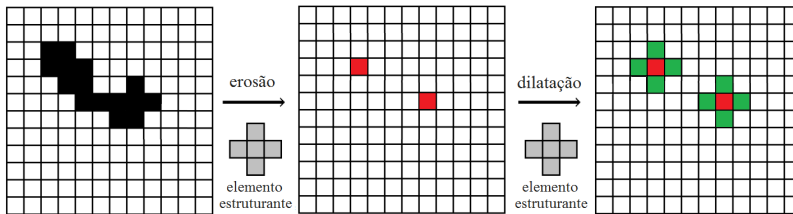


Figura 17. Ilustração da operação de abertura [adaptado de FERNANDES, 2002].

### 3.1.7. Operação Despeckle

A operação despeckle é usada como um filtro de pós-processamento eliminador de pixels. É similar ao processo de erosão, no entanto não conserva o pixel central. O critério de eliminação, neste caso, é a escolha de uma máscara de chanfro ou simplesmente a escolha de uma quantidade de pixels conectados. A operação despeckle é uma ferramenta de simples exclusão de objetos de uma imagem.

Alguns softwares denominam o despeckle como um filtro mediano, que tem outros princípios e aplicações. Neste trabalho esta opção foi utilizada com o intuito de eliminação de objetos para redução de ruídos nas imagens analisadas.

As operações morfológicas apresentadas aqui foram exemplificadas para o domínio 2D. Os mesmos princípios de erosão,

dilatação e despeckle são adotados para operações em três dimensões, a única diferença é que a aplicação é feita em um volume.

### **3.2. REDE DE POROS E GARGANTAS**

Simulações de fluxo de fluidos em imagens, através de processos computacionais, podem se tornar inviáveis, dependendo da geometria do meio poroso estudado. Devido à capacidade computacional disponível, meios porosos com riqueza de detalhes, abrangendo várias escalas de tamanho de objetos, prejudicam o processo de simulação a ponto de torná-lo impraticável. No caminho de contornar esta dificuldade, redes simplificadas representativas do meio poroso têm sido desenvolvidas. As redes são representações do meio poroso, com geometria simplificada e que, no entanto, preservam suas características estruturais. Um desses códigos geradores de redes, e que foi adotado neste trabalho, é chamado Rede de Poros e Gargantas.

O intuito da aplicação da rede de poros e gargantas nos implantes de titânio é a propriedade que ela oferece de identificar e quantificar separadamente poros e conexões. Este atributo é interessante à vista da pesquisa em implantes porosos, uma vez que é pela conectividade entre poros que se dá a irrigação sanguínea, transportando osteoclastos e osteoblastos responsáveis pela neoformação óssea.

O código tem suas origens no trabalho de SILIN e PATZEK (2006), sendo modificado por AL-KHARUSI (2007) e em seguida por DONG (2007). Basicamente, o programa identifica os poros e as ligações de uma imagem 3D binária executando três etapas; preenche os espaços vazios com esferas; as agrega adequadamente e as transforma em poros esféricos e gargantas cilíndricas segundo um critério. Na Figura 18 está ilustrado o procedimento de preenchimento dos poros com esferas.

Na região onde há a ocorrência de aglomeração das maiores esferas o código identifica a maior (esfera máxima) e percorre o caminho até a aglomeração das menores esferas (como pode ser observado na Figura 18). Quando a esfera com raio de 60% do raio da maior esfera é encontrada, estabelece-se um limite. Este limite define o que é poro e o que é garganta (conexão). A definição de uma garganta é

atrelada à identificação de poros em suas extremidades, obrigatoriamente.

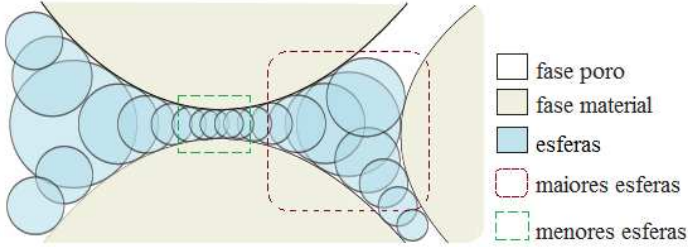


Figura 18. Ilustração do preenchimento da fase porosa com esferas na rede poros gargantas [adaptado de CUNHA, 2012].

As esferas maiores são agregadas para a formação de uma nova esfera, enquanto que as esferas menores serão agregadas para a formação de um cilindro. Em ambos os casos os volumes iniciais são respeitados para a nova formação geométrica. Assim, são definidos os raios do cilindro  $r_{ij}$  e da esfera  $r_{i,j}$ :

$$r_{ij}^g = \left( \frac{V^G}{4\pi l_{ij}} \right)^{1/2} \quad (11)$$

$$r_{i,j} = \left( \frac{3V^E}{4\pi} \right)^{1/3} \quad (12)$$

onde  $V^G$  e  $V^E$  são os volumes originais da conexão e do poro, respectivamente e  $l_{ij}$  é o comprimento entre os centros das esferas máximas, que é definido como se segue:

$$l_{ij}^g = l_{ij} - l_i - l_j \quad (13)$$



onde:

$$l_i = l_i^g \left( 1 - 0,6 \frac{R_{ij}}{R_i} \right) \quad (14)$$

$$l_j = l_j^g \left( 1 - 0,6 \frac{R_{ij}}{R_j} \right) \quad (15)$$

onde  $R_i$  e  $R_j$  denotam os raios das esferas máximas e  $R_{ij}$  é o raio da menor esfera na constricção. As grandezas estão ilustradas na Figura 19.

Com a rede de poros e gargantas é realizada a quantificação do volume e tamanho dos objetos, assim como torna possível a caracterização da esfericidade dos poros. Pode ser observado na Figura 20 uma rede gerada para um meio poroso de titânio. Melhores explicações sobre o código podem ser encontradas nos trabalhos de SILVA (2012) e CUNHA (2012).

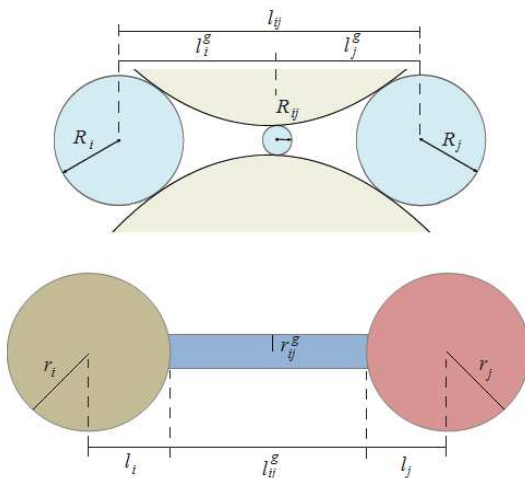


Figura 19. Grandezas associadas às esferas e à garganta [adaptado de CUNHA, 2012].

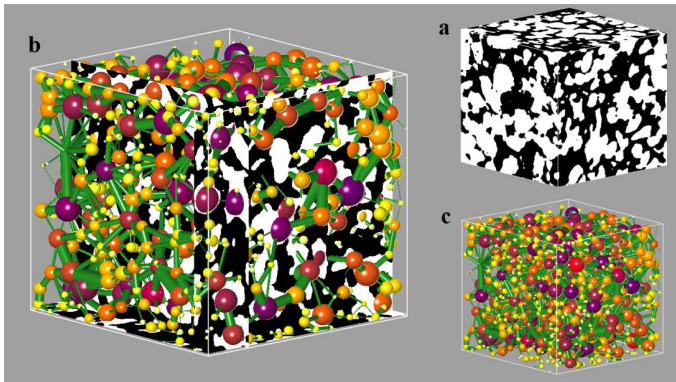


Figura 20. Volume binário (a), formação da rede (b) e sua rede poros garganta (c) de uma das amostras utilizadas neste trabalho.

### 3.3. DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS

Para uma descrição estrutural de meios porosos, segundo FERNANDES (2002), a porosidade, distribuição de tamanho de poros e função de correlação são importantes parâmetros a serem determinados. Neste trabalho serão avaliadas três fases, a fase osso, a fase titânio e a fase poro. Outra questão importante a ser avaliada diz respeito ao formato assumido pelos poros dos implantes avaliados. Para quantificar sua morfologia serão estimados os parâmetros circularidade e esfericidade dos poros. A permeabilidade dos implantes foi outro dado determinado para os implantes por meio de simulação matemática nas imagens 3D dos implantes de titânio.

#### 3.3.1. Circularidade

A circularidade é um parâmetro que mede o quanto um objeto se aproxima da forma circular. Esse parâmetro é medido, por exemplo, em seções retas de cilindros, tubos e outros artefatos. A determinação da circularidade é realizada com os dados da área  $A_{obj}$  e perímetro  $P_{obj}$  de um objeto, como se segue:

$$circ = \frac{4\pi A_{obj}}{P_{obj}^2} \quad (16)$$

Esta relação, baseada na técnica de MASON e MORROW (1991) para cálculo de fator de forma, assegura que o objeto de máxima circularidade é o próprio círculo, com  $circ=1$ . Em análise de imagens, essa quantificação é aplicada no domínio 2D. No caso de imagens 3D, o parâmetro é a esfericidade.

### 3.3.2. Esfericidade

Analogamente, a esfericidade define o grau de similaridade de um objeto a uma esfera. Pode ser determinada pela razão entre a área superficial de um objeto ( $S_{obj}$ ) e a área da superfície de uma esfera com mesmo volume ( $S_{esf}$ ), ou seja:

$$esf = \frac{S_{obj}}{S_{esf}} \quad (17)$$

Nesta definição também o grau de esfericidade é dado numa faixa entre 0 e 1 [WADELL, 1933].

### 3.3.3. Área Superficial Específica

A superfície específica de um material é definida pela relação entre a área superficial e o volume do material em questão:

$$S_{sa} = \frac{A_s}{V} \quad (18)$$

onde  $S_{sa}$  é a superfície específica de um material poroso,  $A_s$  é a área superficial total e  $V$  é o volume do material.

### 3.3.4. Fração de Fase

A fração da fase  $\mathfrak{S}$  de uma amostra pode ser dada pela seguinte relação:

$$\phi_{\mathfrak{S}} = \frac{A_{\mathfrak{S}}}{A_{total}} = \frac{V_{\mathfrak{S}}}{V_{total}} \quad (19)$$

onde  $\phi_{\mathfrak{S}}$  é a fração de fase,  $A$  e  $V$  são denotações espaciais de área e volume.

A porosidade  $\phi$  é um caso particular de fração de fases, adotada quando se analisa materiais porosos. Em análise de imagens, considerando que as fases poro e material são representadas por pixels brancos e pretos, respectivamente, a determinação da porosidade é dada por:

$$\phi = \frac{N_{brancos}}{N_{total}} \quad (20)$$

onde  $N$  denota o número de pixels, e  $N_{total} = N_{brancos} + N_{pretos}$  em uma imagem binária.

Para a determinação da fração de uma terceira fase em um meio poroso, por exemplo, a fase osso ocupando parte dos poros dos implantes de titânio, consideremos as duas condições ilustradas bidimensionalmente na Figura 21.

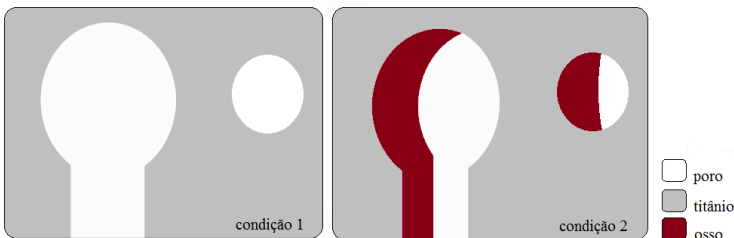


Figura 21. Ilustração de uma terceira fase em meio poroso.

Na primeira condição encontra-se titânio poroso com área da fase *titânio* e área da fase *poro* obedecendo  $A_{total1}=A_{titânio}+A_{poro1}$ . Na segunda condição uma fração do poro é ocupada por osso,  $A_{total2}=A_{titânio}+A_{osso}+A_{poro2}$ . Deste modo, temos as porosidades nas duas condições:

$$\phi_1 = \frac{A_{poro1}}{A_{total1}}, \phi_2 = \frac{A_{poro2}}{A_{total2}} \quad (21)$$

onde  $A_{total1}=A_{total2}$ .

A fração da fase *osso* pode ser dada por:

$$\phi_{osso} = \frac{A_{poro1} - A_{poro2}}{A_{poro1}} \quad (22)$$

Considerando as condições apresentadas, temos:

$$\phi_{osso} = 1 - \frac{\phi_2}{\phi_1} \quad (23)$$

onde  $\phi_{osso}$  é a fração de osso que ocupa a fase porosa dos implantes de titânio.

### 3.3.5. Distribuição de Tamanho de Poros

A determinação da distribuição de tamanho de poros é semelhante à técnica de peneiração física para separação de grãos. Analogamente à variação do tamanho das malhas das peneiras, são realizadas operações de abertura na imagem com sequência de elemento estruturante de tamanho crescente  $\delta_1, \delta_2, \delta_3, \dots, \delta_{max}$ . A operação é

realizada até a total eliminação dos objetos na etapa de erosão em  $\delta_{\max}$ . A função de distribuição acumulada normalizada  $F(x, \delta)$  será:

$$F(x, \delta) = \frac{M(x) - M(T_\delta)}{M(x)} \quad (24)$$

onde  $M(x)$  é a medida segundo a unidade de escolha (por exemplo porosidade),  $M(T_\delta)$  é o conjunto obtido após a operação de abertura, composto pelos objetos de tamanho superior a  $\delta$ .

Para a determinação da distribuição de poros em imagens binárias 2D, a unidade de medida consiste no volume dos poros. Assim, a distribuição de tamanho de poros será dada por:

$$f(r) = \frac{\phi - \phi(r)}{\phi} \quad (25)$$

onde  $\phi$  é a porosidade total da imagem de partida,  $f(r)$  é a função distribuição e  $\phi(r)$  é a porosidade da imagem após a abertura com uma bola de raio  $r$ .

### 3.3.6. Função de Correlação

A função correlação é uma descrição estatística da imagem que determina a probabilidade de dois pixels separados por uma distância arbitrária  $u$  pertencem à mesma fase  $\mathfrak{S}$  em questão. Em uma imagem binária, a função de fase é denominada por:

$$Z_{\mathfrak{S}}(x) = \begin{cases} 1, & \text{se } x \text{ pertence à fase } \mathfrak{S} \\ 0, & \text{se não} \end{cases} \quad (26)$$

onde  $x$  denota um vetor posição em relação a uma origem arbitrária, e  $\mathfrak{S}$  pode ser a fase 1 ou a fase 2. A porosidade é dada por:

$$\phi_{\mathfrak{S}} = \langle Z_{\mathfrak{S}}(x) \rangle \quad (27)$$

onde o símbolo  $\langle \rangle$  denota a média estatística para o domínio da imagem em consideração.

Com a hipótese de meio estatisticamente homogêneo, define-se a função de correlação para cada fase  $\mathfrak{S}$  como:

$$C_{\mathfrak{S}}(u) = \langle Z_{\mathfrak{S}}(x)Z_{\mathfrak{S}}(x+u) \rangle \quad (28)$$

Os parâmetros  $\phi_{\mathfrak{S}}$  e  $C_{\mathfrak{S}}(u)$ , que correspondem aos dois primeiros momentos da função de fase  $Z_{\mathfrak{S}}(x)$ , são respectivamente estatísticas de primeira e segunda ordem. A função correlação normalizada assume o valor 1, para deslocamento nulo e o valor 0 para deslocamentos grandes e é dada por:

$$R_{\mathfrak{S}}(u) = \frac{\langle [Z_{\mathfrak{S}}(i, j) - \phi_{\mathfrak{S}}][Z_{\mathfrak{S}}(i+u, j) - \phi_{\mathfrak{S}}] \rangle}{\langle [Z_{\mathfrak{S}}(i, j) - \phi_{\mathfrak{S}}]^2 \rangle} \quad (29)$$

### 3.3.7. Permeabilidade

A permeabilidade é a propriedade que se refere à capacidade de fluxo de fluidos através de um meio. Quando apenas um fluido permeia o espaço poroso a permeabilidade é chamada de intrínseca.

A permeabilidade intrínseca, com as considerações de escoamento permanente unidirecional e baixas velocidades de um fluido newtoniano, é definida pela Lei de Darcy:

$$k = \frac{Q\gamma}{A} \left( \frac{L}{\Delta P} \right) \quad (30)$$

onde  $k$  é a permeabilidade,  $Q$  é a vazão de um fluido com viscosidade  $\gamma$ ,  $A$  é a área da seção da amostra normal ao escoamento,  $L$  é o comprimento da amostra e  $\Delta P$  é a diferença de pressão entre a entrada e a saída do fluido. A permeabilidade intrínseca independe do fluido, está relacionada apenas às características geométricas da estrutura porosa. A unidade de permeabilidade no SI é  $\text{m}^2$ , mas usualmente pode ser dada em darcys (D), onde  $1 \text{ D} \approx 10^{-12} \text{ m}^2$ .

Neste trabalho foi realizada simulação de fluxo de fluidos nos meios porosos para numericamente medir a permeabilidade pelo método de Lattice Boltzman (LBM). O método é baseado no modelamento mesoscópico de fenômenos de transporte e utiliza a discretização da equação de Boltzmann para realizar simulações complexas de fluxo de fluidos em meios porosos. É um método que tem sido aplicado para simulação numérica de muitos fenômenos complexos sobre fluidos principalmente em regime com baixo número de Reynolds [SUCCI et al., 1989; CANCELLIERE et al., 1990; KOPONEN et al., 1998; WOLF, et al., 2009]. Para a aplicação do LBM nas simulações nas amostras de titânio foi utilizada uma força uniforme para empurrar o fluido. Isto corresponde a um gradiente de pressão constante sobre o meio poroso. Depois do fluxo atingir um estado estável, a velocidade média na direção apropriada foi medida, permitindo a computação da permeabilidade. Para estudo adicional sobre o método LBM sugere-se o trabalho de MATTILA (2010).



## **CAPÍTULO 4. Experimental**

Na rota de processamento adotada foram empregadas específicas técnicas de mistura e compactação de pós, além de tratamento térmico, para a fabricação dos implantes de titânio utilizados neste trabalho. O procedimento cirúrgico para instalação dos implantes em tecidos ósseos também seguiu critérios que são abordados neste capítulo. Os parâmetros adotados nas aquisições microtomográficas e os programas utilizados na análise das imagens também estão aqui apresentados.

### **4.1. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE TITÂNIO**

#### **4.1.1. Processamento**

A técnica de fabricação adotada para o processamento das amostras de Titânio foi a Metalurgia do Pó. Baseado no conhecimento adquirido em trabalhos já realizados no LATEP [OLIVEIRA, 2003; REIS, 2005; VASCONCELLOS, 2008; OLIVEIRA et al., 2006; 2008; 2009], foram processados dois lotes de amostras, a partir da mesma rota de processamento, porém com pontuais diferenças, visando a formação de distintas morfologias porosas. No lote das amostras controle, a geometria desejada foi irregular, com poros de características “retangulares”, dotados de cantos angulosos. Para as amostras experimentais, buscou-se a formação de poros “arredondados”, com cantos suavizados, tentando mimetizar a natureza da morfologia porosa dos ossos trabeculares. As etapas da rota de processamento estão descritas na Figura 22.

O pó de titânio utilizado é do tipo puro de grau 1 (Baoji First Titanium Industry Co., Ltd., China), densidade de  $4,51\text{g/cm}^3$ . O grau 1 designa a classe com mais alto teor de pureza, na qual a soma dos outros elementos constituintes é menor que 1% do volume total. Como material gerador de poros foi utilizado o aditivo orgânico bicarbonato de amônio. As quantidades (porcentagem em massa) e granulometrias ( $\mu\text{m}$ ) dos pós utilizados podem ser encontrados na Tabela 1.

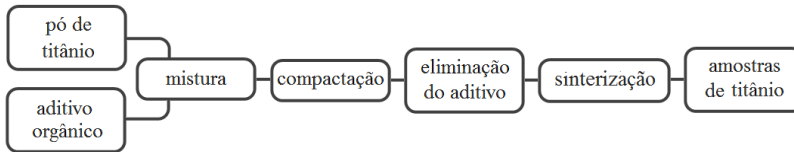


Figura 22. Etapas do processamento das amostras de titânio.

Tabela 1. Proporções dos pós de titânio e aditivo orgânico utilizados.

grupo	titânio		bicarbonato de amônio	
	granulometria ( $\mu\text{m}$ )	quantidade (em massa)	granulometria ( $\mu\text{m}$ )	quantidade (em massa)
controle	88-125	60 %	212-250	40 %
experim.	< 44	70 %	212-250	30 %

A mistura do pó de titânio com o aditivo foi manual, devido à pequena quantidade de material processado, o que inviabiliza o uso de misturadores. Uma pequena quantidade de álcool etílico utilizado como solvente foi adicionado à mistura para aumentar a adesão do titânio ao aditivo, formando um aglomerado. A mistura foi conformada via compactação uniaxial em Máquina Universal de Ensaio Mecânicos (EMIC DL3000), de forma a se obter um alto controle da carga aplicada durante a compactação e não danificar o ferramental de aço especial, composto por uma matriz e dois punções. A matriz de compactação utilizada tem 2 mm de diâmetro e a carga aplicada foi de 300 MPa. O compactado, neste estágio chamado de “verde”, foi então submetido a um tratamento térmico para eliminação do aditivo, 2 h a 170 °C em ar, utilizando forno sem atmosfera controlada (JUNG).

A sinterização das amostras foi realizada em forno (ASTRO/THERMAL TECH) de alto vácuo ( $\sim 10^{-6}$  Torr) em cadinho de titânio puro. O compactado de titânio (neste estágio livre do aditivo) foi submetido a 1200 °C por 2 h para a total consolidação das amostras.

#### 4.1.2. Amostras

As proporções e granulometrias dos pós de titânio e aditivo, apresentadas na Tabela 1, são resultado de um estudo experimental onde diferentes porcentagem em massa, granulometria e carga aplicada na conformação foram testados. Mesmo com o conhecimento da metodologia adequada para a produção das amostras porosas, o

propósito dos testes foi, além de uma boa resistência mecânica ao manuseio da mistura de pós conformada, o refino de parâmetros de processamento que aliasse as especificações de tamanho das amostras para o implante com as características morfológicas a serem avaliadas.

As dimensões das amostras estão atreladas ao diâmetro das ferramentas de furo utilizadas no procedimento cirúrgico e à relação altura/diâmetro que oferecesse boa resistência mecânica ao corpo de prova. No ANEXO II pode ser encontrado um resumo da etapa de testes para o processamento das amostras.

Foram sinterizadas 20 amostras de titânio, separadas nos grupos controle e experimental, 10 amostras cada. As amostras têm formato cilíndrico com diâmetro na faixa entre 2,1 mm e 2,6 mm, e altura na faixa entre 1,8 mm e 3,2 mm. Na Figura 23 e Figura 24 podem ser observadas imagens de MEV das amostras de cada grupo com aumentos diferentes.

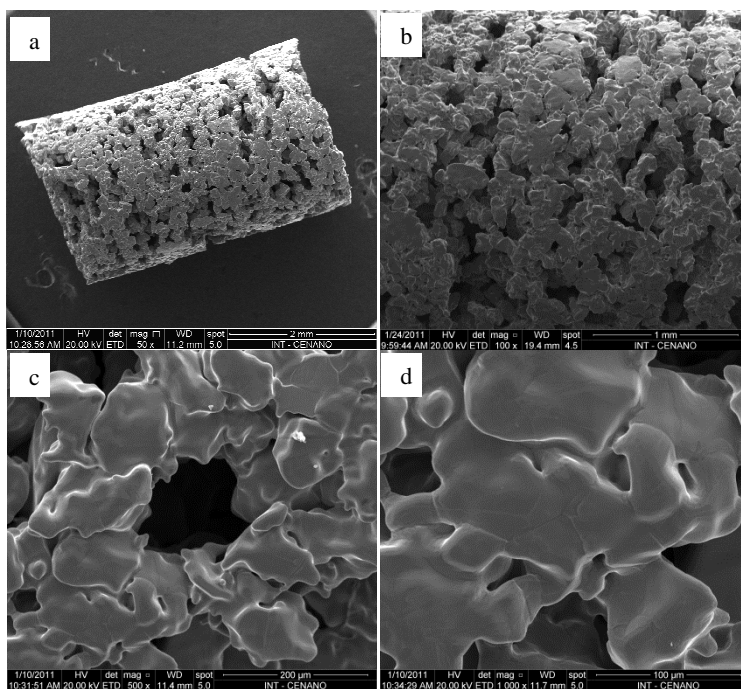


Figura 23. Imagens capturadas com MEV de uma das amostras utilizadas do grupo controle com aumentos de (a) 50X, (b) 100X, (c) 500X e (d) 1000X.

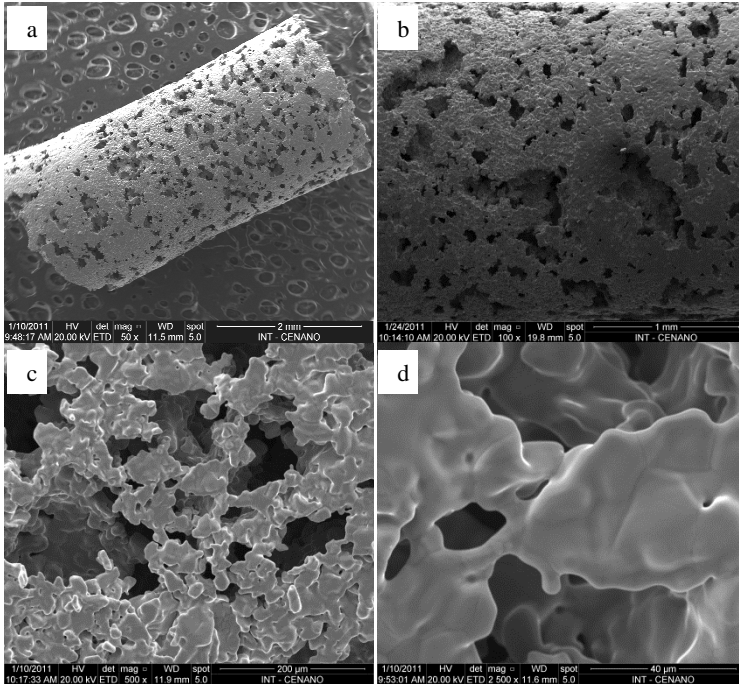


Figura 24. Imagens capturadas com MEV de uma das amostras utilizadas do grupo experimental com aumentos de (a) 50X, (b) 100X, (c) 500X e (d) 2500X.

Uma medição da rugosidade ( $R_a$ ) foi realizada em três regiões diferentes de uma amostra de cada grupo (Microscópio Confocal ZEISS – AXIO CSM 700) para avaliação da superfície das amostras sinterizadas. A amostra do grupo controle apresentou  $R_a=28,71\pm1,50$   $\mu\text{m}$ , a amostra do grupo experimental apresentou  $R_a=32,14\pm2,51$   $\mu\text{m}$ .

Antes da aplicação das amostras como implantes nos animais, elas foram medidas para determinação de suas dimensões e massa. Os resultados estão na Tabela 2. As amostras foram então enviadas ao Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais em Medicina da UNIFESP para o implante via procedimento cirúrgico.

Tabela 2. Parâmetros físicos das amostras de titânio.

amostra*	altura (cm)	diâmetro (cm)	massa (g)
MC7	0,320 ± 0,002	0,261 ± 0,001	0,0321
HC7	0,321 ± 0,020	0,260 ± 0,000	0,0315
MC28	0,358 ± 0,006	0,261 ± 0,005	0,0363
HC28	0,291 ± 0,006	0,257 ± 0,005	0,0289
MC21	0,261 ± 0,005	0,260 ± 0,002	0,0270
HC21	0,208 ± 0,003	0,261 ± 0,001	0,0226
MC14	0,254 ± 0,002	0,259 ± 0,001	0,0246
HC14	0,266 ± 0,004	0,255 ± 0,006	0,0252
MC35	0,215 ± 0,010	0,259 ± 0,005	0,0214
HC35	0,307 ± 0,006	0,260 ± 0,000	0,0380
ME7	0,321 ± 0,003	0,243 ± 0,008	0,0252
HE7	0,205 ± 0,008	0,218 ± 0,018	0,0168
ME28	0,175 ± 0,004	0,228 ± 0,012	0,0134
HE28	0,283 ± 0,010	0,231 ± 0,004	0,0229
ME21	0,179 ± 0,001	0,224 ± 0,002	0,0136
HE21	0,111 ± 0,005	0,236 ± 0,000	0,0089
ME14	0,145 ± 0,002	0,238 ± 0,019	0,0100
HE14	0,183 ± 0,009	0,229 ± 0,016	0,0132
ME35	0,218 ± 0,002	0,249 ± 0,002	0,0166

\*M=amostra analisada por microCT, H=amostra analisada por histologia, C=grupo controle, E=grupo experimental e a numeração refere-se ao período de permanência das amostra no tecido ósseo vivo.

## 4.2. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o ofício nº 109/CEUA/PRPE/2011. O ofício está disposto no ANEXO III.

### 4.2.1. Animais

Para o procedimento cirúrgico de implante das amostras, foram utilizados cinco coelhos brancos, machos, linhagem Nova Zelândia, com idade de doze semanas e massas entre 2,5 kg e 3,3 kg, procedentes do biotério do Cedeme. Os coelhos foram individualmente preservados em gaiolas especiais com 80 cm<sup>3</sup>, em área específica para manutenção e experimentação, com trocas de higienização e alimentação realizadas periodicamente pelo corpo técnico do Cedeme. Foram mantidos em temperatura e umidade controladas, ciclo de iluminação claro/escuro com período de 12 h, com ração (Nuvital R®) e água *ad libitum*.

### 4.2.2. Delineamento experimental

Vinte implantes de titânio foram instalados, previamente separados em duas categorias segundo sua morfologia porosa. Cada animal recebeu um total de quatro implantes, dois em cada tíbia. Uma amostra de cada categoria foi instalada na face medial da tíbia direita de cada animal, destinados ao estudo da microtomografia de raios X. O mesmo procedimento foi adotado para as amostras destinadas à histologia na tíbia esquerda (análise de lâminas com microscopia óptica). Cada coelho sofreu eutanásia em períodos diferentes, 7, 14, 21, 28 e 35 dias. Todos os coelhos foram identificados por meio de numeração tatuada na orelha esquerda. Na nomenclatura das amostras pode-se identificar o tempo de sacrifício e a técnica de análise, por exemplo; MC7 (microtomografia, grupo controle, 7 dias) e HE35 (histologia, grupo experimental, 35 dias). O delineamento do experimento pode ser encontrado na Tabela 3.

Tabela 3. Delineamento experimental para implante das amostras.

dados dos animais			dados das amostras			
			microCT		histologia	
identificação	período	massa	TDS <sup>a</sup>	TDI <sup>b</sup>	TES <sup>c</sup>	TEI <sup>d</sup>
346	7 dias	2,8 kg	MC7	ME7	HC7	HE7
349	14 dias	3,2 kg	MC14	ME14	HC14	HE14
350	21 dias	3,0 kg	MC21	ME21	HC21	HE21
347	28 dias	3,3 kg	MC28	ME28	HC28	HE28
348	35 dias	2,5 kg	MC35	ME35	HC35	HE35

<sup>a</sup>Tíbia direita superior; <sup>b</sup>Tíbia direita inferior; <sup>c</sup>Tíbia esquerda superior; <sup>d</sup>Tíbia esquerda inferior

#### 4.2.3. Técnica Operatória

Os animais foram privados de ração seis horas antes do ato operatório e pesados em balança de precisão. Os sedativos utilizados foram Anasedan 10 ml, Acepran 0,2 % pré anestésico 20 ml, Cetamin 10 ml, 10% de Cloridrato de Xilazina intramuscular, que possuem função tranquilizante e potencializadora dos agentes analgésicos. O uso prévio de Atropina subcutânea, 15 minutos antes da anestesia foi aplicado para se evitar os possíveis efeitos colaterais do anestésico, como desidratação, taquicardia e tirotoxicose (excesso de hormônio tireoidiano).

Foi administrado o analgésico e anti-inflamatório Niglumine (Flunixin – Neblumina) e uma dose diária, durante três dias, do antibiótico Terramicina LA 0,4 ml intramuscular, 2,5mg/kg.

As áreas operadas foram tricotomizadas e submetidas à antissepsia local com solução de álcool iodado e clorexidina a 0,12 %. Campos estéreis isolaram a região da tíbia operada. Os animais foram colocados na mesa operatória em decúbito dorsal com rotação cervical lateral direita, para manter livres as vias aéreas.

A incisão estendeu-se por 40 mm de comprimento, sendo realizada com lâmina de bisturi número 15, iniciando-se logo abaixo da articulação do joelho. Um retalho de espessura total deslocou a pele, músculo e periósteo, expondo o osso. Na Figura 25 pode ser observado o processo de incisão.

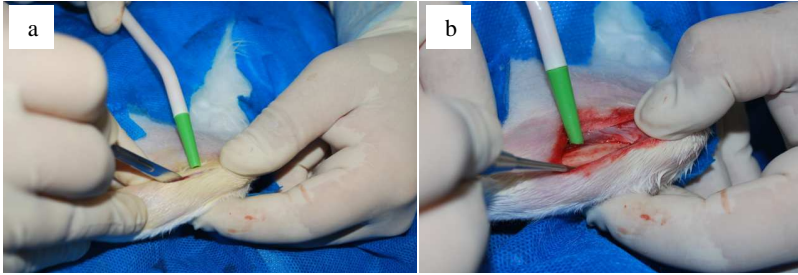


Figura 25. Estágio de incisão do processo operatorio (a) e exposição do osso (b).

Como pode ser observado na Figura 26, um gabarito de titânio perfurado com 2,5 mm foi utilizado para padronizar a distância entre os implantes. A sequência dos diâmetros das brocas convencionais obedeceu ao escalonamento existente e preconizado pela literatura: lança 2,0 mm, piloto  $\frac{2}{3}$  e 2,8 mm. Os instrumentos de perfuração foram aferidos pelo fabricante antes de cada procedimento. As lojas cirúrgicas foram realizadas com irrigação constante com soro fisiológico estéril 100%.

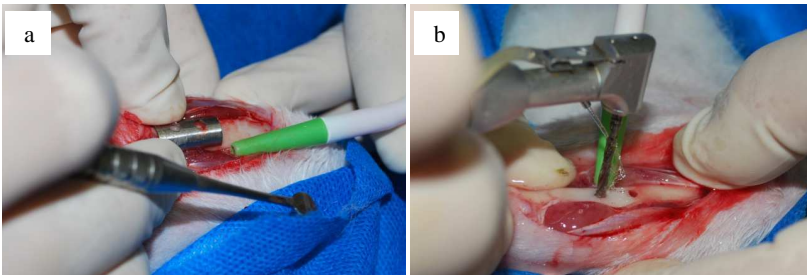


Figura 26. Colocação do gabarito (a) e perfuração do osso (b) para alojamento dos implantes.

O implante proximal foi instalado a 7 mm da epífise articular, e o distal a 10 mm do primeiro. Foi utilizada uma pinça cirúrgica para a instalação dos implantes. Na Figura 27 pode ser observada a colocação dos implantes nas perfurações. O periósteo e os tecidos foram suturados com fio mononilon 3.0 marca Ethicon® Johnson. A analgesia pós-operatória foi administrada com Tramadol 5 mg, por via intramuscular.





Figura 27. Colocação dos implantes (a) nas perfurações superior e inferior (b).

#### 4.2.4. Eutanásia e Remoção dos Espécimes

Após os períodos experimentais, os animais foram submetidos à eutanásia por meio de superdosagem anestésica barbitúrica de tiopental sódico (Thiopentax®) intramuscular.

Para a remoção das amostras, novamente foi realizada a incisão com lâmina número 15, para expor o tecido ósseo da região operada. As tíbias receberam marcas que delimitaram os 3 mm de distância do corte em relação às paredes laterais vizinhas aos implantes. As tíbias foram seccionadas com ferramenta de corte em aço diamantado, montado em mandril para peça reta de micromotor elétrico, Beltec® e irrigação constante com água destilada; assim como pode ser observado na Figura 28.

Cada amostra removida foi lavada em água corrente, e imediatamente inserida em recipiente plástico identificado pelo número e grupo do coelho, contendo formol a 10% (formaldeído). A identificação dos explantes se deu de acordo com a categoria da amostra de Ti implantada seguida de numeração que identifica a amostra de titânio e também da identificação de cada animal. Maiores detalhamentos sobre a técnica operatória utilizada neste trabalho pode ser encontrada em KFOURI (2011).

Na Figura 29 podem ser observadas as amostragens da tíbia com implante e osso neoformado, assim como uma lâmina delgada que foi preparada para análise histológica. As lâminas delgadas foram preparadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de

Ciências Biomédicas da USP. Foi utilizada a aplicação de contrastes específicos para uso em amostras biológicas.

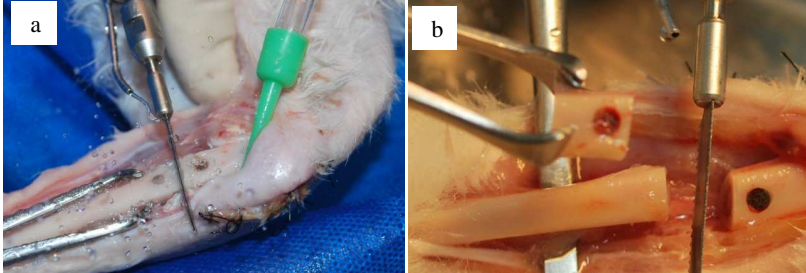


Figura 28. Processo de corte da tíbia (a) para retirada da secção óssea com implante (b).

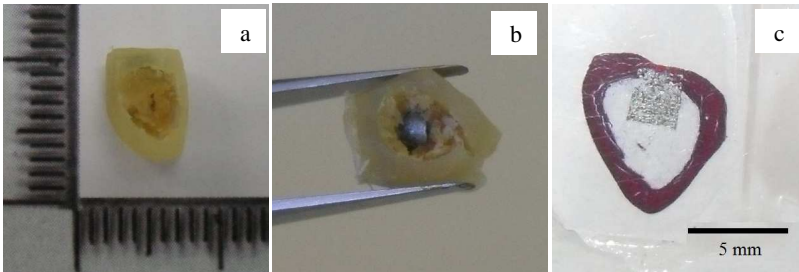


Figura 29. Amostragem do osso da tíbia (a) (escala graduada em mm); outra amostragem com o titânio implantado em evidência na região trabecular central do osso (b) e lâmina delgada preparada para análise histológica com osso em vermelho e titânio em cinza (c).

### 4.3. AQUISIÇÕES MICROTOMOGRÁFICAS

Foram utilizados dois equipamentos microtomográficos Skyscan modelo 1172, um que pertence ao Laboratório de Análises de Minerais e Rochas do Depto de Geologia-UFPR e outro do Laboratório de Análises por Raios X-UEL. Este modelo possui um tubo de raios X emissor de feixe cônico que opera na faixa 20-100 kV, com corrente entre 0-250  $\mu$ A que lhe conferem a potência máxima de 10 W. Dispõe de sistema de rotação e movimentação de amostra, trabalhando com magnificação

geométrica, capaz de gerar imagens com resoluções espaciais da ordem de 1  $\mu\text{m}$ . Conta com um conjunto de dois filtros físicos, Al (0,5 mm) e Al+Cu (0,5 mm + 40  $\mu\text{m}$ ) para correção do efeito de *beam hardening* e sistema de detecção CCD de 11 Mpixel.

Por se tratar de amostras com semelhantes dimensões e composição química, as condições adotadas para a aquisição das imagens foram praticamente as mesmas; tubo com potência máxima a 70 kV e 141  $\mu\text{A}$ ; filtro de Al; 0,25° de passo angular; tempo de exposição de 1000 ms e média de 3 frames por projeção. As resoluções de imagens de cada amostra podem ser encontradas na Tabela 4.

Segundo JONES et al. (2007), para se realizar a quantificação de tecido mineralizado no sistema poroso de implantes com faixa de tamanho de poros entre 50  $\mu\text{m}$  e 300  $\mu\text{m}$  é necessária resolução espacial de imagem da ordem de 10  $\mu\text{m}$ . Mesmo que a ocorrência de poros menores não seja descartada, a resolução das imagens analisadas neste trabalho, possuem resoluções espaciais melhores que a sugeridas pelo trabalho citado.

Tabela 4. Resoluções espaciais das amostras.

resolução espacial ( $\mu\text{m}$ )	amostras
4,00	ME7
4,38	MC7, ME14, ME21, ME28
4,9	MC14, MC21, MC28, MC35, ME35

## 4.4. SOFTWARES E CÓDIGOS UTILIZADOS

### 4.4.1. Imago

O IMAGO é um programa que foi projetado para estimar parâmetros petrofísicos usando informações microestruturais, visando sua aplicação no estudo de rochas reservatório. No entanto, sua capacidade de caracterização pode ser aplicada para o entendimento de outras microestruturas e materiais. O programa foi desenvolvido pelo Laboratório de Meios Porosos e Propriedades Termofísicas/UFSC com a parceria da PETROBRAS e da empresa ESSS especializada em

softwares científicos e simulações (Engineering Simulation and Scientific Software).

#### **4.4.2. CT Analyser**

O *CTan* é um software de visualização 2D e análises 2D e 3D, propriedade da empresa Bruker, que produz e comercializa equipamentos microtomográficos SkyScan. Possui ferramentas para processamento e segmentação de imagens microtomográficas, assim como códigos para quantificação de parâmetros e renderização de volumes.

#### **4.4.3. ImageJ**

ImageJ é um editor de imagens, desenvolvido no *National Institute of Mental Health, USA*. É um software livre que dispõe de uma gama de ferramentas para pré e pós processamento de imagens, possuindo desde códigos de limiarização ótima até algoritmos quantitativos de parâmetros. Com ferramental extenso de análises, aceita praticamente todas as extensões de arquivos, trabalhando tanto no domínio 2D como 3D.

#### **4.4.4. Rede de Poros e Gargantas**

A rede de poro e gargantas foi desenvolvida no laboratório LAPIX (Image Processing and Computer Graphics Lab)/UFSC, em parceria com o Laboratório de Meios Porosos e Propriedades Termofísicas/UFSC. Resultado das dissertações de SILVA (2012) e CUNHA (2012), possui uma interface de fácil acesso e permite a quantificação de poros e conexões de modo separado. Realiza também simulações de fluxo de fluidos para determinação de permeabilidade intrínseca e pressão capilar, assim como quantificação de porosidade aberta e fechada.

#### **4.4.5. Lattice Boltzmann**

O código utilizado, o mesmo adotado por MATTILA (2010), é de fácil paralelização e implementação com simples condições de contorno. É hábil para realizar simulações de fluxo de fluidos em sistemas porosos complexos e quantificação de parâmetros como porosidade e área

superficial, assim como realizar numericamente a determinação da permeabilidade.



## **CAPÍTULO 5. Resultados e Discussões**

Neste capítulo são apresentadas as análises quali-quantitativas, onde pode se observar as imagens dos implantes de titânio nos tecidos ósseos e a morfologia porosa dos dois grupos de implantes utilizados. Por meio das quantificações também realizadas neste capítulo, os dados dos parâmetros determinados são discutidos baseados em correlações com resultados da recuperação óssea nos poros dos implantes.

### **5.1. ANÁLISE HISTOLÓGICA**

Por meio das análises histológicas realizadas nas lâminas delgadas, verificou-se o processo de osseointegração na interface implantes de titânio e tecido ósseo. As análises quantitativas da regeneração óssea foram realizadas por meio das imagens microtomográficas. Para esta análise, na fase de preparação das lâminas, contrastes específicos foram utilizados para destacar o perióstio e o tecido mineralizado (azul de *Stevenel*). Na Figura 30 podem ser observadas duas imagens que identificam as fases em relação às cores utilizadas.

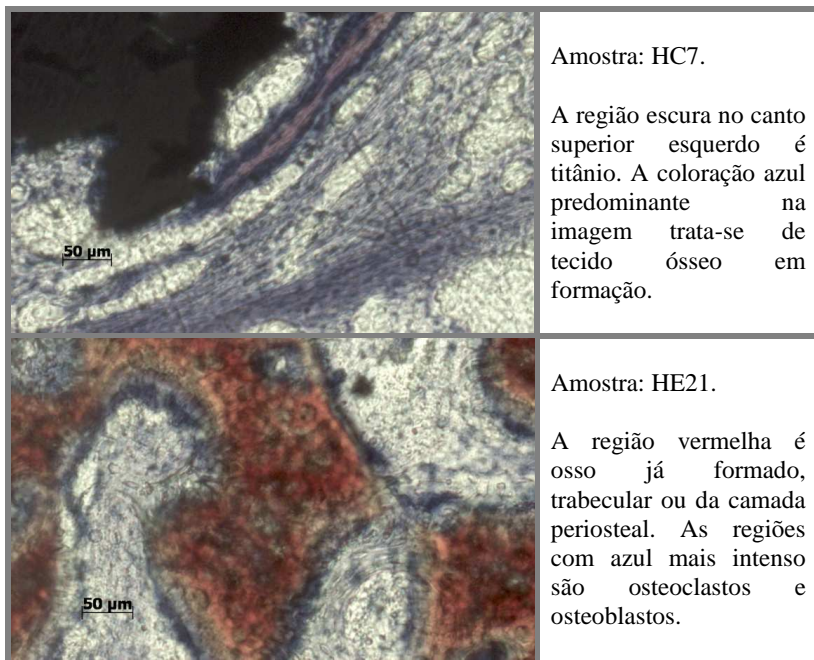


Figura 30. Identificação do osso neoformado, osso e células.

As amostras referentes aos dois primeiros períodos do experimento (7 e 14 dias), apresentam considerável proliferação de tecido ósseo neoformado (em azul), tanto na superfície como no interior do meio poroso, como pode ser observado na Figura 31. Isso indica que o remodelamento ósseo acontece a partir dos primeiros dias após o implante, para as duas categorias de amostras, com depósito direto sobre a superfície do titânio. Para o período de duas semanas já é possível constatar, além da neoformação, osso já consolidado (em vermelho) dentro dos poros da amostra HE14.

Foi constatado que, além do tecido em processo de formação evidenciado na Figura 31, houve também depósito de tecido ósseo consolidado diretamente sobre o titânio, como pode ser observado na Figura 32. Na mesma figura é possível a identificação dos canais de Haver, círculos brancos, distribuídos pelo osso em vermelho.



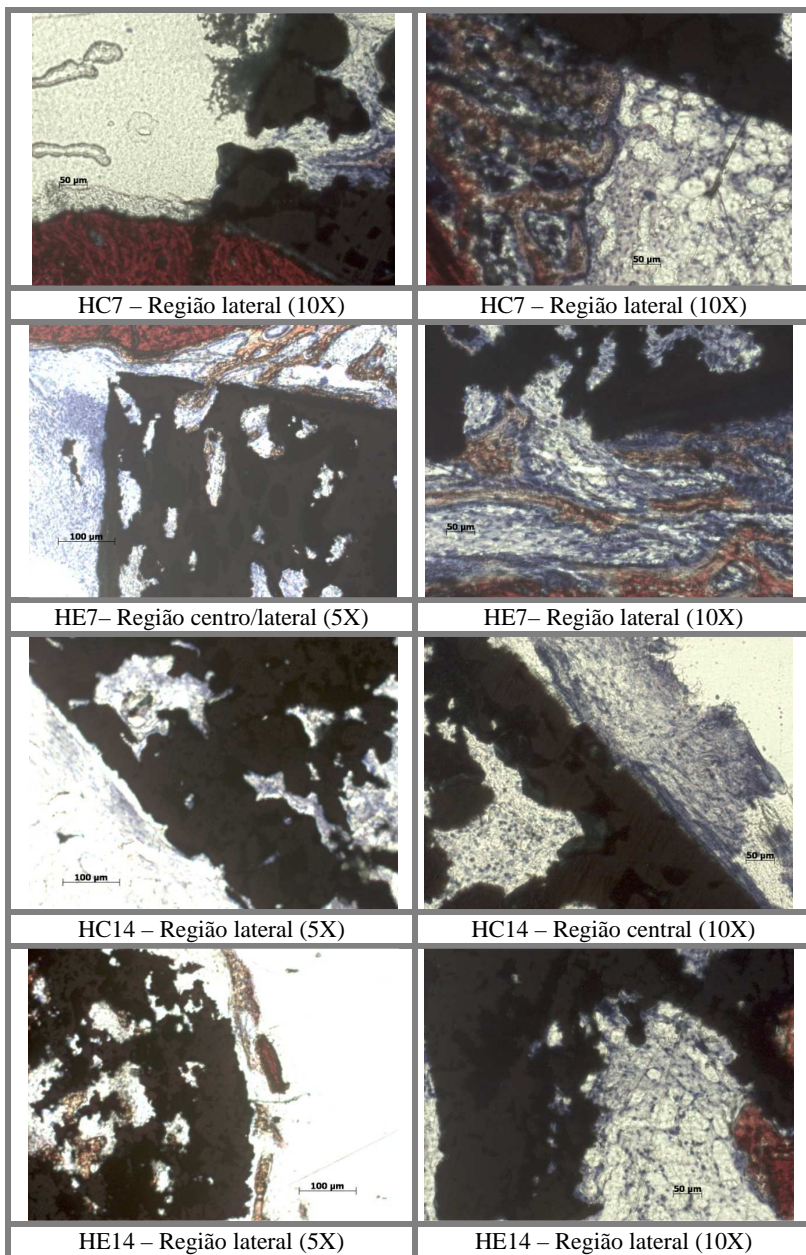


Figura 31. Constatação da neoformação óssea nas duas primeiras semanas de ensaio. Imagens com aumento de 10X e 5X.

A formação óssea em contato direto com o implante ratifica a biocompatibilidade das amostras de titânio poroso adotadas neste trabalho. Esse comportamento foi encontrado em todas as amostras analisadas, tanto na superfície como nos poros internos do titânio. Podem ser observados na Figura 33 regiões das amostras do grupo controle e experimental que evidenciam o contato na interface, ambas a partir da segunda semana de experimento. Com base nas imagens de lâminas delgadas que mostram contato do osso com o titânio, verifica-se que em relação à proliferação celular e adesão do osso neoformado às paredes internas e externas dos implantes, não foi verificada diferença entre os grupos controle e experimental.

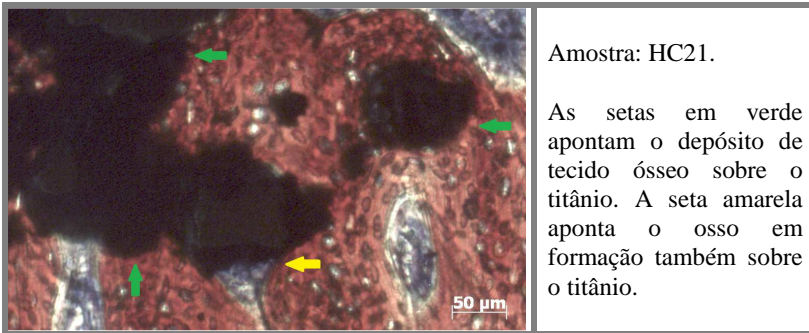


Figura 32. Constatação do depósito de tecido ósseo sobre o titânio.

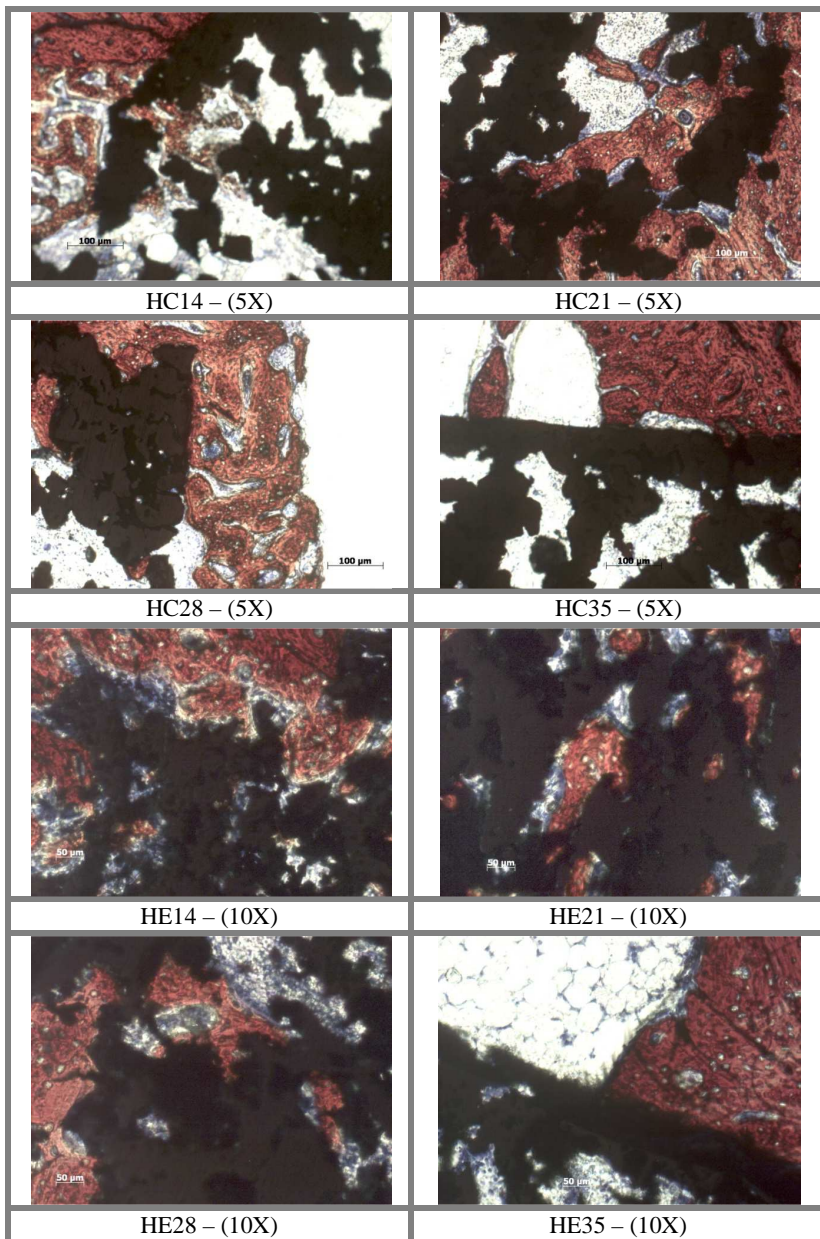


Figura 33. Constatação do contato do osso com o implante das amostras de ambos os grupos, controle e experimental.

## 5.2. ANÁLISE QUALITATIVA DAS IMAGENS MICROTOMOGRÁFICAS

Foram realizadas as renderizações das imagens de todas as amostras com o propósito da verificação geral do comportamento do crescimento ósseo em relação aos implantes de titânio. Na Figura 34 podem ser encontradas imagens 3D das amostras do grupo controle com o titânio no centro envolto pelo osso cortado das tíbias. As imagens são laterais, mesmo ângulo das fotografias apresentadas na Figura 29. No quadrante inferior direito podem-se observar as regiões onde foram realizados os furos nas tíbias para instalação dos implantes de titânio. O mesmo pode ser encontrado na Figura 35 para as amostras do grupo experimental.

Nas figuras também se pode perceber o fechamento gradual do osso superficial (região que foi furada para o implante) das amostras MC7 e ME7 para as amostras MC35 e ME35, indicando a regeneração óssea quase completa para um período de 35 dias.

Como pode ser, os implantes das amostras ME14, ME21 e ME28 não condizem em tamanho com os demais implantes de titânio. Esses implantes sofreram fratura e romperam antes do procedimento cirúrgico e não puderam ser substituídos. Por não apresentarem dimensões ideais, além da fratura, os implantes giraram dentro da cavidade do osso, como pode ser notado na Figura 36. No entanto, todos eles tiveram contato com o osso cortical, como ocorrido nos demais casos, e o processo de remodelamento ósseo ocorreu em todas as amostras.

No primeiro período, como já verificado e destacado na análise histológica (Figura 31), ocorreu proliferação de tecido ósseo neoformado no entorno e dentro dos implantes. É possível verificar o mesmo fenômeno nas imagens 3D. Pode se notar que os implantes das amostras MC7 e ME7 (Figura 34 e Figura 35, respectivamente) estão envolvidos por uma camada quase transparente que se trata justamente de osso em fase de formação. Outra característica apresentada pelas amostras do grupo controle, e pelas amostras ME7, ME21 e ME35 é uma formação óssea trabecular criando uma ligação entre os implantes e as paredes internas do osso, como pode se observar em detalhes para as amostras MC14 e MC35 na Figura 37.

As diferenças estruturais dos implantes de titânio podem ser observadas na Figura 38. Trata-se de renderizações binárias onde as cores azul e vermelha, de cada volume, são as fases porosas dos

implantes MC7 e ME7, respectivamente, a fase material constitui a transparência dos volumes.

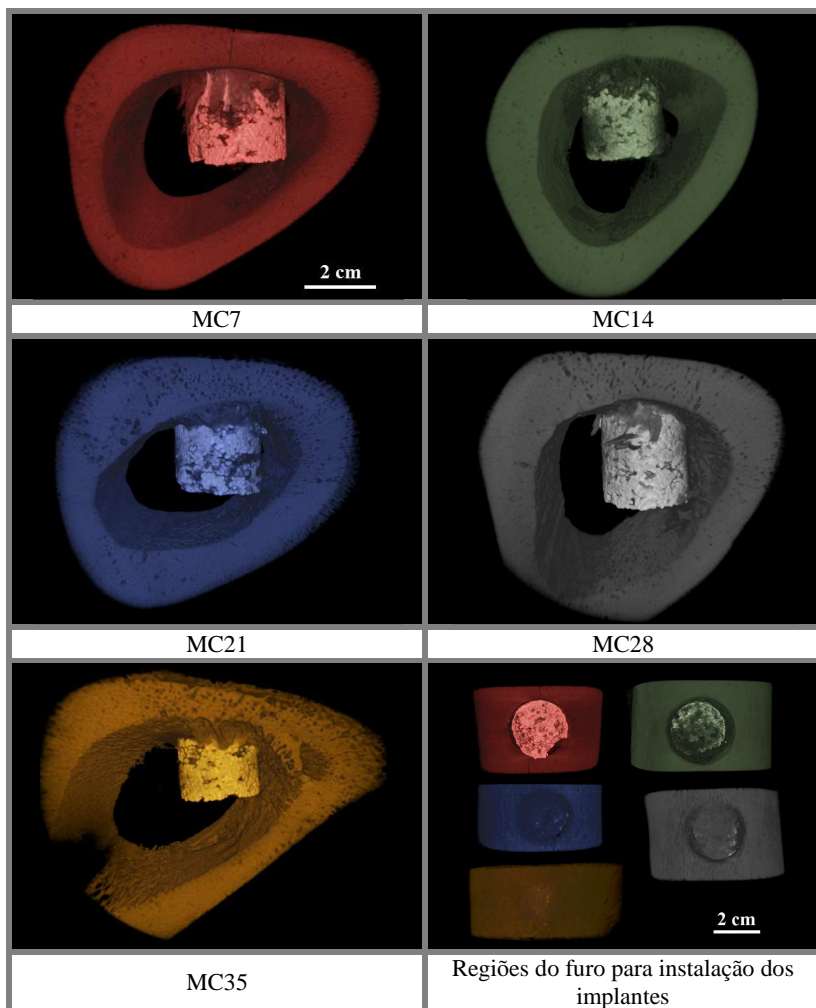


Figura 34. Imagens 3D das amostras do grupo controle.

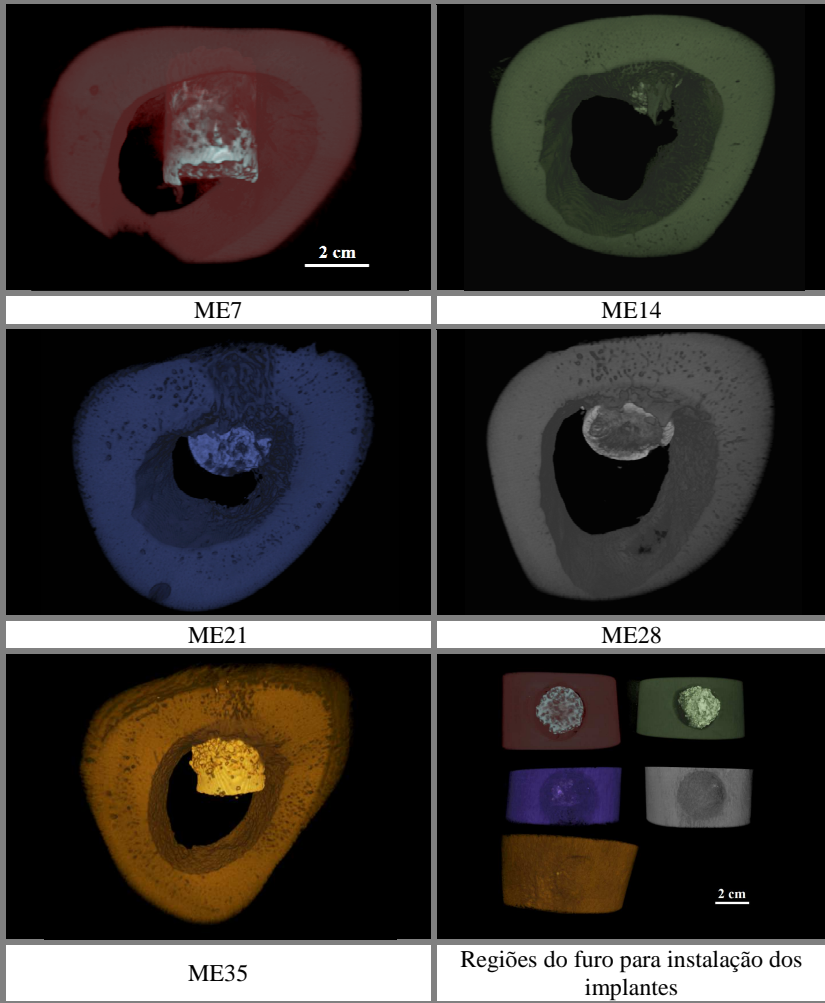


Figura 35. Imagens 3D das amostras do grupo experimental.



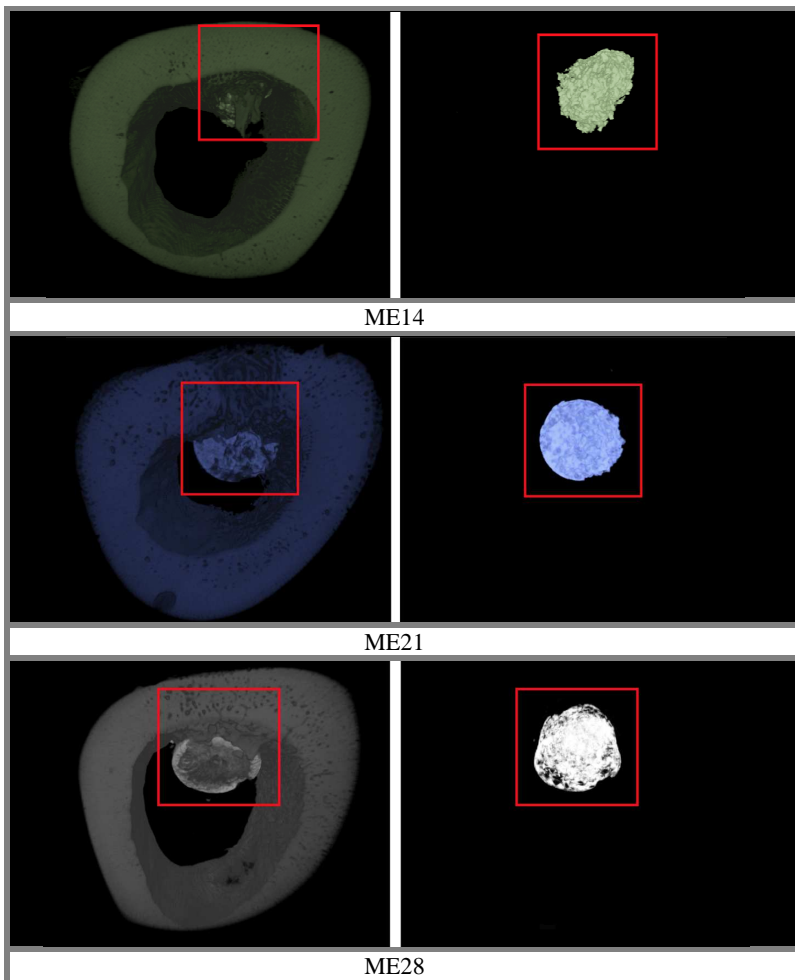


Figura 36. Detalhe do posicionamento dos implantes ME14, ME21 e ME28 dentro dos ossos.

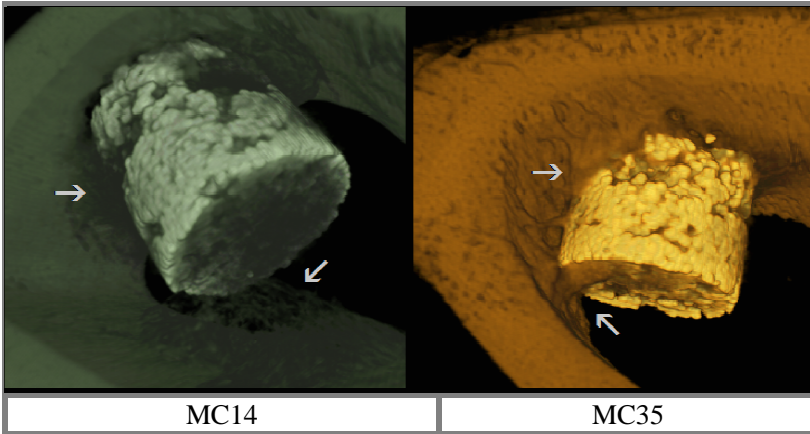


Figura 37. Detalhes da formação óssea trabecular.

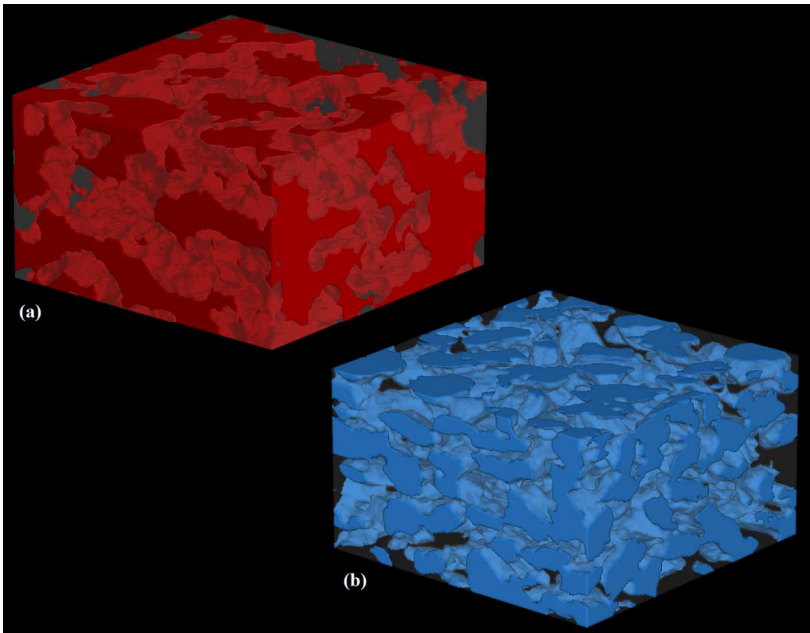


Figura 38. Fases porosas dos implantes MC7 em vermelho (a) e ME7 em azul (b) (dimensões dos volumes 1,4x1,4x0,8 mm).



Como se pode notar, a fase porosa do grupo controle (em vermelho) é formada por poros alongados que formam um entrelaçado de conexões. Os poros do grupo experimental apresentam formas geométricas esferoidais, parecendo um conjunto de “bolhas” conectadas encerradas no volume.

### **5.3. ANÁLISE QUANTITATIVA DAS IMAGENS MICROTOMOGRÁFICAS**

#### **5.3.1. Segmentação Binária**

As imagens microtomográficas deste trabalho são de 8 bits, ou seja, formadas por níveis de cinza que se distribuem ao longo de um histograma com 256 tonalidades. Algumas características particulares das amostras analisadas fazem com que a binarização de suas imagens, particularmente, não seja trivial. Entre elas a sobreposição de intensidades e a presença de tecido ósseo em formação.

A segmentação de imagens como a deste trabalho constituídas por osso neoformado e titânio, encontra pixels na interface titânio/osso e titânio/vazio com tonalidades de cinza que muitas vezes não pertencem a nenhuma das fases em questão. O resultado de uma simples binarização é justamente a criação de artefatos nesta vizinhança. Este fato é resultado de uma sobreposição de intensidades, uma vez que os níveis de absorção de raios X são similares nestas regiões, como está exemplificado no gráfico de intensidade de absorção de raios X da Figura 39.

Outra dificuldade reside na presença de tecido ósseo em formação dentro da fase porosa do titânio. A fase poro de um material usualmente refere-se aos volumes vazios (ou ocupados pelo ar). No caso de implantes porosos inseridos no tecido ósseo, o panorama é completamente diferente. A fase porosa conectada é preenchida com sangue, que dá início às respostas biológicas do organismo na presença do implante (tratado na seção 2.2. deste trabalho). Passado um curto período, os poros são preenchidos com sangue, células formadoras e tecido ósseo em diferentes fases de desenvolvimento (como foi mostrado na Figura 30). Cada um desses materiais possui um tipo de atenuação, pois têm diferentes densidades, e podem ser confundidos

com ruídos comuns e inerentes da técnica de microtomografia de raios X.

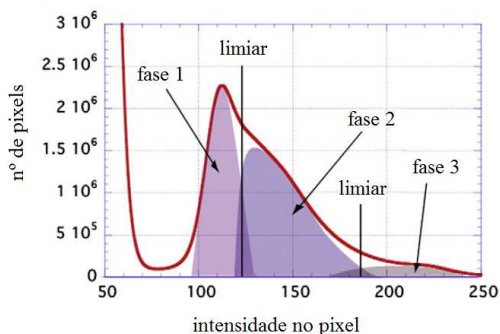


Figura 39. Sobreposição de intensidades [adaptado de LANDIS e KEANE 2010].

Estes problemas também foram relatados por JONES et al. (2007) que trabalharam com implantes em tecidos ósseos de ovelhas. A complicada segmentação de fases foi encontrada em implante de alumina, e até em implantes de hidroxiapatita que tem densidade muito próxima do osso.

Como se trata de uma binarização complexa, alguns códigos de limiarização ótima foram testados. No entanto, com baixo desempenho, nenhum foi utilizado. A segmentação binária foi realizada a partir da escolha pessoal do operador, feita manualmente. Filtros de operação morfológica foram utilizados para contornar o problema dos artefatos de interface. Diferentemente das binarizações convencionais, neste caso foram escolhidos dois limiares; um que separou a fase titânio da fase osso+poro, e outro que separou a fase titânio+osso da fase poro. As etapas da fase de binarização estão descritas a seguir.

Primeiramente foi realizada a escolha de uma região de interesse (ROI - *region of interest*) nas imagens. A primeira fase segmentada foi o titânio por meio da escolha de um limiar que o melhor separou da fase osso+poro. Por meio da aplicação de operação aritmética, a fase titânio foi subtraída da imagem original, prevalecendo apenas a fase que necessita de tratamento, a região intraporos. Na imagem subtraída é possível observar os contornos de interface que são considerados ruídos. Foi efetuada então a segunda segmentação separando a fase osso do

poro. A imagem resultante foi submetida ao processo de abertura para eliminação dos artefatos de interface. A operação de abertura foi aplicada nas seções 2D com bola de raio  $r=2$  e métrica  $d_{3,4}$ . Se a fase titânio não fosse retirada da imagem, ela também passaria pela aplicação morfológica. As etapas até aqui citadas podem ser observadas na Figura 40.

Após a operação de abertura, a imagem conta apenas com a fase osso, no entanto as deficiências da aplicação da abertura morfológica, citadas na seção 3.1.6., devem ser consideradas. A fase binária do titânio que foi subtraída da imagem original, agora é adicionada à imagem resultante da abertura, formando uma imagem com as fases titânio, osso e poro segmentadas. A imagem resultante é apresentada na Figura 41 com a fase titânio em branco, fase osso em amarelo e poro em preto. Na imagem resultante da operação soma, as fases osso e titânio são consideradas da mesma fase. Nesta etapa a fase material é denotada por pixels brancos e a fase poro em preto. É possível notar pequenos ruídos (pontos pretos) na fase material, que podem ser resultado das operações a que a imagem foi submetida. Foi então aplicada a operação despeckle que retirou aglomerações de no máximo 10 pixels pretos conectados, presentes na fase em branco.

O processamento aqui exemplificado foi submetido a todas as amostras, como cada imagem tem um histograma característico, os limiares foram escolhidos nas análises de cada caso. As imagens resultantes da segmentação do titânio foram utilizadas na caracterização dos implantes, assim como juntamente com as imagens resultantes do processamento que gerou a fase material osso+titânio, foram utilizadas na quantificação do remodelamento ósseo ocorrido no experimento.

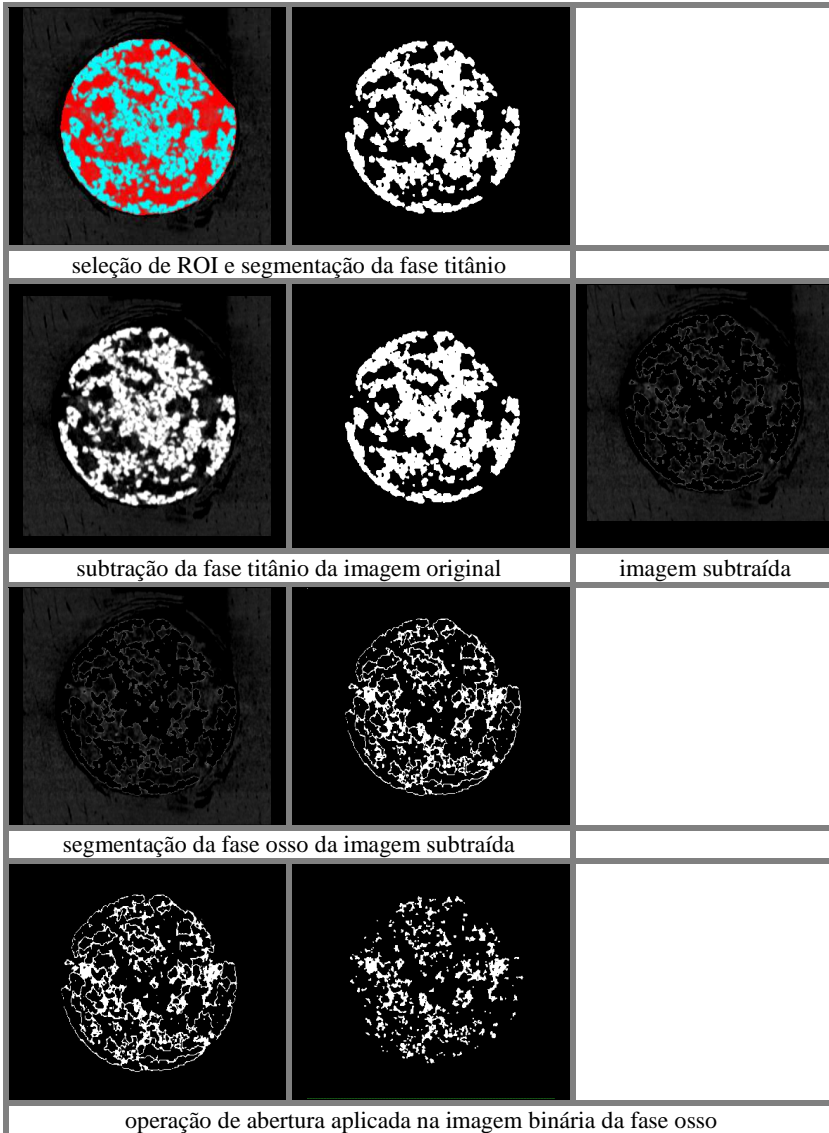


Figura 40. Etapas do processo de segmentação binária.

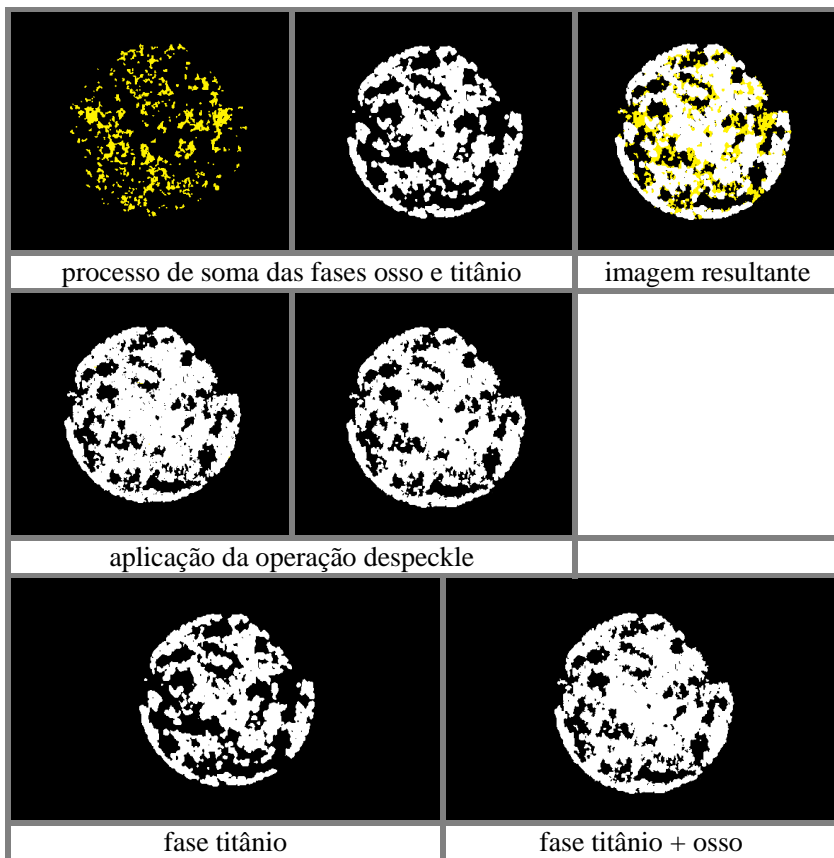


Figura 41. Continuação das etapas do processo de segmentação binária.

### 5.3.2. Região de Interesse

A representatividade das amostras para a realização das análises quantitativas foi o principal parâmetro considerado na escolha da região de interesse nas imagens. No entanto, para aplicação de alguns dos códigos utilizados, o dado de entrada é uma imagem na forma de matriz, o que impede a utilização de ROIs irregulares. Respeitando estas ponderações foram escolhidos dois tipos de ROI, um que abrangesse os limites do titânio para quantificação do osso presente nos poros e outro retangular, como é mostrado na Figura 42.

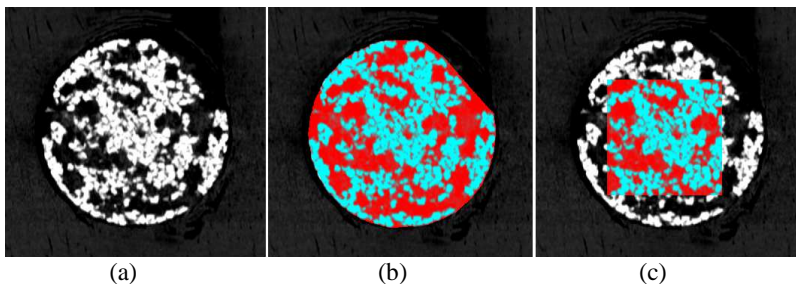


Figura 42. Seção 2D da amostra ME35 (a), em vermelho seleção de ROI irregular (b) e quadrado (c).

Os ROIs retangulares foram escolhidos os maiores possíveis dentro do titânio para assegurar que fossem suficientemente representativos. As seleções de área foram realizadas nas seções 2D, mas foram analisadas suas renderizações, ou seja, suas imagens 3D. As dimensões dos ROIs selecionados de cada amostra podem ser encontradas na Tabela 5.

Tabela 5. Dimensões dos volumes de interesse utilizados.

amostra	ROI irregular	ROI cubo	amostra	ROI irregular	ROI cubo
	n° de imagens*	pixel <sup>3</sup>		n° de imagens*	pixel <sup>3</sup>
MC7	83	360	ME7	128	350
MC14	40	295	ME14	207	185
MC21	75	390	ME21	139	315
MC28	171	375	ME28	319	250
MC35	40	355	ME35	109	300

\*Trata-se do número de seções 2D utilizadas na renderização das imagens 3D.

Um segundo critério que objetiva a diminuição de fatores a serem considerados foi determinante na seleção do ROI irregular. Como pôde ser observado na Figura 34 e na Figura 35, a maior parte da maioria dos implantes encontra-se na região interna do osso, onde alguns tiveram contato com o osso cortical interno (Figura 37) e outros tinham uma parte muito pequena nesta região (Figura 36). Assim sendo, apenas a fração do implante que estava totalmente inserida no osso cortical, na região do furo, foi considerada para quantificação da formação óssea intraporos.

JONES et al. (2007) citam um número mínimo de 200 poros por implante para geração de dados quantitativamente representativos para a quantificação de crescimento ósseo. Volumes quadriláteros, os maiores possíveis, foram traçados dentro dos ROIs irregulares da Tabela 5 e tiveram o número total de poros quantificados com a rede de poros e gargantas. Apenas as amostras MC14 e MC35 apresentaram 189 e 186 poros, respectivamente. Todas as outras amostras apresentaram entre 269 e 746 poros nos volumes selecionados. Levando em consideração que o volume utilizado nesta avaliação é menor que o volume irregular, presume-se que as amostras MC14 e MC35 atinjam o número de poros mínimo sugerido pela citação.

### 5.3.3. Análise da Morfologia dos Poros

Para quantificar a diferença na morfologia porosa dos grupos controle e experimental, foram determinadas a circularidade e a esfericidade dos poros.

Para a circularidade, foram tomadas seções 2D do ROI cúbico. Na imagem 2D, cada objeto é um poro. A fim de selecionar poros bem definidos, aqueles que tocavam as bordas foram descartados. Outro critério foi o descarte de objetos muito pequenos. A seleção dos objetos de uma seção 2D pode ser observada na Figura 43 (fase poro em preto).

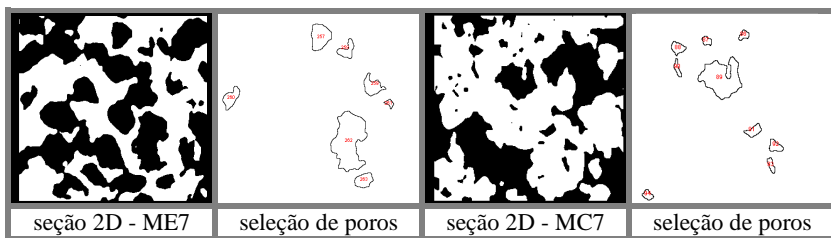


Figura 43. Seleção de poros na circularidade.

Para a determinação da esfericidade, os critérios de escolha de poros seguem as regras de separação de poros e conexões da rede de poros e gargantas. Com cada poro definido, o programa fornece a área superficial do poro e a de uma esfera com o mesmo volume. Como está ilustrado na Figura 44 um poro irregular (em amarelo) é separado de suas conexões (em cinza), a esfera (em azul) é equivalente ao poro em

volume. A relação entre eles determina a esfericidade do poro. Os resultados podem ser encontrados na Tabela 6.

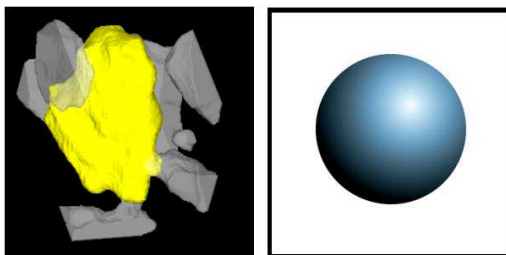


Figura 44. Ilustração de seleção de poro (amarelo), separado de suas conexões (cinza) e uma esfera (azul) com mesmo volume.

Tabela 6. Dados de circularidade e esfericidade.

amostra	circularidade	esfericidade
MC7	$0,538 \pm 0,186$	$0,251 \pm 0,070$
MC14	$0,554 \pm 0,184$	$0,252 \pm 0,066$
MC21	$0,540 \pm 0,199$	$0,254 \pm 0,075$
MC28	$0,519 \pm 0,185$	$0,247 \pm 0,069$
MC35	$0,526 \pm 0,190$	$0,249 \pm 0,071$
ME7	$0,629 \pm 0,196$	$0,321 \pm 0,083$
ME14	$0,605 \pm 0,163$	$0,297 \pm 0,080$
ME21	$0,625 \pm 0,191$	$0,308 \pm 0,083$
ME28	$0,658 \pm 0,164$	$0,313 \pm 0,098$
ME35	$0,641 \pm 0,184$	$0,293 \pm 0,081$

### 5.3.4. Recuperação Óssea

Uma técnica usada para quantificação da porcentagem de osso neoformado em implantes é fundamentada na análise de lâminas delgadas. Basicamente a imagem é submetida a uma grade de intersecções (Figura 45), onde cada intersecção é um ponto. A quantificação é realizada pela razão [(número de pontos sobre o tecido ósseo)/(número total de pontos)]x100.



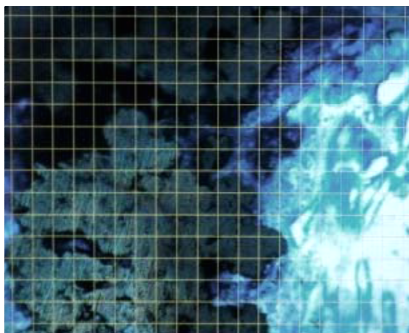


Figura 45. Histomorfometria com grade de intersecção [adaptado de MACHADO 2008].

A realização da quantificação óssea por meio da quantificação de imagens microtomográficas obedece ao mesmo conceito. No entanto, por analisar uma gama maior de imagens e pelo fato das intersecções serem substituídas por cada pixel da imagem, a microtomografia oferece, entre outras vantagens, maior representatividade com maior volume de dados. Na Tabela 7 estão apresentados os dados determinados para as imagens microtomográficas com a utilização da eq. 23 (onde  $\phi_{osso}$  é a fração da fase osso,  $\phi_1$  é a porosidade do implante e  $\phi_2$  é a porosidade do implante acrescido da fase osso). Os dados da recuperação óssea estão descritos no gráfico da Recuperação Óssea [ $\phi_{osso} (\%)$ ] versus Tempo (dias) na Figura 46.

Tabela 7. Dados para determinação da recuperação óssea  $\phi_{osso}$ .

amostra	$\phi_{osso} (\%)$	$\phi_1 (\%)$	$\phi_2 (\%)$
MC7	34,48	48,40	31,71
MC14	64,69	50,22	17,73
MC21	74,92	41,98	10,53
MC28	82,55	47,07	8,21
MC35	78,15	46,94	10,26
ME7	48,39	49,83	25,71
ME14	64,26	59,26	21,18
ME21	76,79	53,71	12,46
ME28	71,69	46,74	13,23
ME35	81,94	48,98	8,85

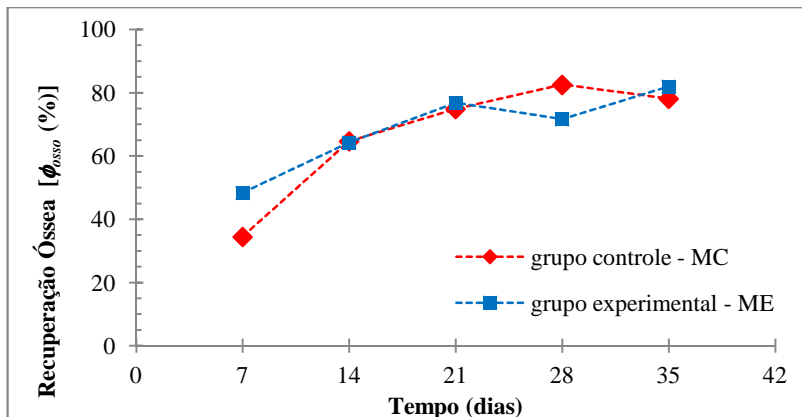


Figura 46. Gráfico da recuperação óssea.

Considerando as incertezas nas medidas provenientes de, por exemplo, ruídos inerentes à técnica de microtomografia, julgamento do operador dos softwares de análises, e ainda do possível comportamento biológico distinto dos animais utilizados, não é possível afirmar que exista diferença entre os dois grupos no que tange a recuperação óssea. As duas curvas apresentam comportamento similar em relação ao tempo de permanência do implante nas tíbias dos coelhos em recuperação. Mesmo com a diferença na morfologia dos poros constatada pelos dois grupos, com o grupo experimental apresentando poros mais arredondados, esta diferença não indica favorecimento para o crescimento ósseo. Para melhor entendimento do que foi constatado, uma investigação de outros parâmetros concernentes à morfologia porosa dos dois tipos de implantes foi tratada e os resultados estão nas seções seguintes.

### 5.3.5. Caracterização Estrutural dos Implantes

Primeiramente a fase titânio foi segmentada e os implantes foram caracterizados através dos parâmetros estruturais porosidade ( $\phi$ ), permeabilidade ( $k$ ), e distribuição de tamanho de poros, assim como raio médio de poro.

Como citado na seção anterior, para quantificação do osso neoformado, foi considerada apenas a região dentro do osso cortical.

Para verificar se o crescimento ósseo é apenas influenciado pelo osso cortical, que abrange a fração do volume da amostra nele inserido, foi investigada a recuperação óssea em diferentes volumes de interesse no implante, a partir do centro em direção às bordas. O volume 1 é um cilindro de 50  $\mu\text{m}$  de raio no centro da imagem, envolto por anéis concêntricos de 50  $\mu\text{m}$  de espessura, até o último que é delimitado externamente pelos limites do implante, como exemplificado na Figura 47. As alturas dos volumes foram as mesmas dos ROIs irregulares apontados na Tabela 5. Os resultados podem ser observados na Figura 48.

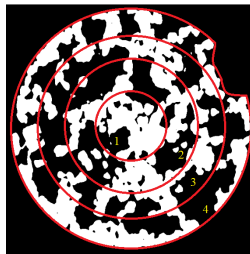


Figura 47. Seleção de ROI para análise de recuperação óssea do centro às bordas.

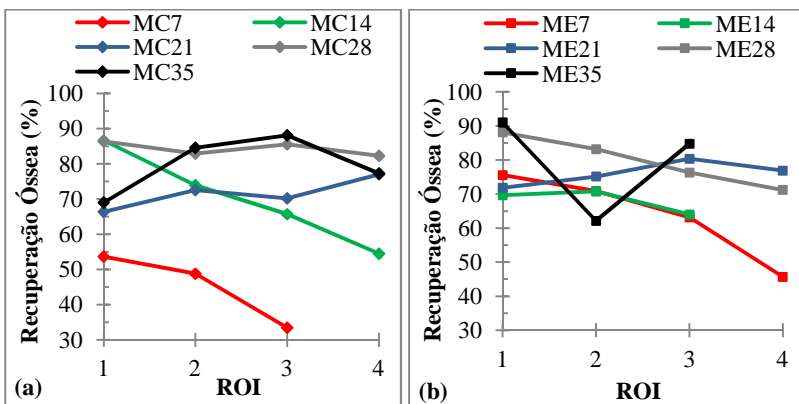


Figura 48. Análise da recuperação óssea em ROIs concêntricos para grupo controle (a) e grupo experimental (b).

Se a recuperação óssea sofresse influência majoritária do osso cortical, os gráficos da Figura 48 apresentariam curvas com comportamento crescente do ROI 1 (centro da amostra) em direção às extremidades do implante. No entanto as curvas indicam que não há influência apenas do osso cortical. Este resultado indica a importância da caracterização dos implantes de maneira mais abrangente, uma vez que se faz presente a influência da região interna do osso no processo de recuperação óssea. A ligação entre a região do osso trabecular (área de maior circulação sanguínea) e a fração do titânio no osso cortical é feita justamente através do implante, e dados como permeabilidade e tamanho médio de poros assumem considerável influência neste processo, justificando sua avaliação.

Dados porosidade total ( $\phi_{total}$ ) e fechada ( $\phi_{fechada}$ ) [ $\phi_{total} = \phi_{aberta} + \phi_{fechada}$ ], permeabilidade ( $k$ ), área superficial específica ( $S_{sa}$ ) e raio médio de poro ( $r$ ) podem ser encontrados na Tabela 8 (valores de raio médio determinados com média ponderada considerando a frequência de ocorrência). Os gráficos de distribuição de tamanho de poros do grupo controle e experimental estão na Figura 49 e na Figura 50, respectivamente.

Tabela 8. Dados estruturais dos implantes de titânio.

amostra	$\phi_{total}$ (%)	$\phi_{fechada}$ (%)	$k_z$ (D)	$k_x$ (D)	$S_{sa}$ (m <sup>-1</sup> )	$r$ (μm)
MC7	44,04	0,15	74,41	99,39	19468,72	49,69 ± 4,15
MC14	45,28	0,11	88,62	136,85	18396,47	51,05 ± 4,55
MC21	48,17	0,08	107,81	107,82	17089,14	60,36 ± 4,68
MC28	48,87	0,06	96,49	90,77	18797,20	56,55 ± 4,63
MC35	46,94	0,08	86,13	117,59	17747,89	56,94 ± 4,78
ME7	44,31	0,33	21,84	42,00	23512,57	42,72 ± 3,29
ME14	49,65	0,09	26,76	33,03	20827,44	40,55 ± 3,89
ME21	49,49	0,34	37,42	47,67	24836,98	44,69 ± 3,54
ME28	45,43	1,13	53,27	49,34	27684,24	45,15 ± 3,54
ME35	53,37	0,12	49,89	76,64	23517,75	48,54 ± 3,81

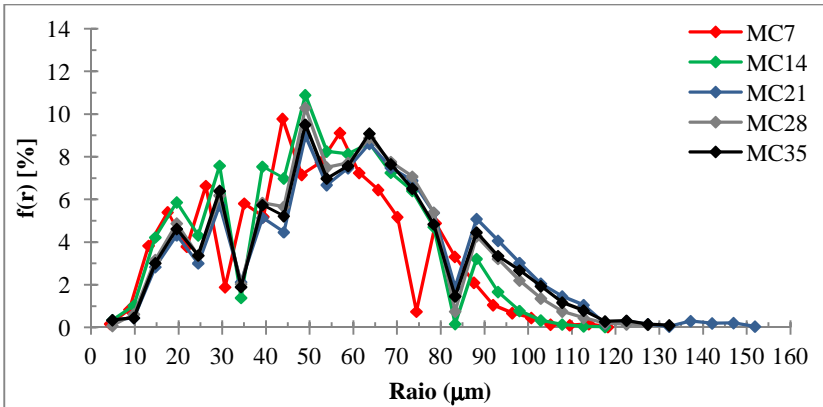


Figura 49. Distribuição de tamanho de poros grupo controle (métrica  $d_{3.4-5}$ ).

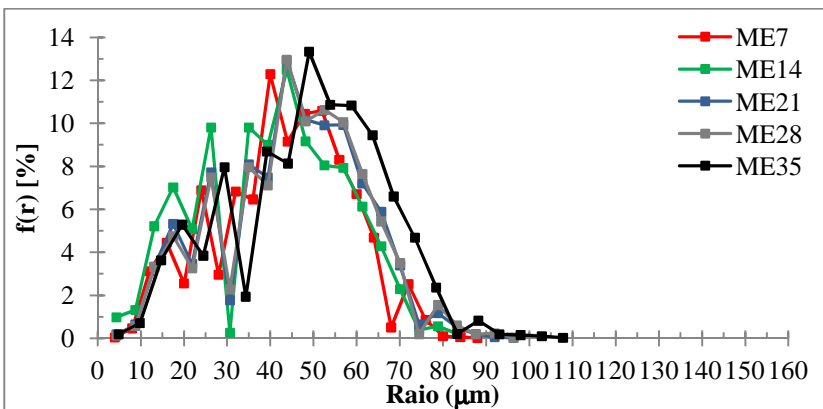


Figura 50. Distribuição de tamanho de poros grupo experimental (métrica  $d_{3.4-5}$ ).

Os comportamentos similares das curvas de distribuição das amostras do mesmo grupo indicam semelhança das fases porosas em relação ao tamanho de poros de cada grupo. O mesmo acontece quando se analisa os dados de porosidade, permeabilidade e área superficial. Em ambos os grupos, as amostras apresentam porosidade fechada baixa, isto pode estar relacionado à resolução de imagem, possivelmente podem existir pequenas constrições que conectam esses com os demais.

Diferenças marcantes entre os grupos são encontradas na dimensão dos poros e na permeabilidade. O grupo controle apresenta maior permeabilidade, tanto na direção z (ao longo da altura da amostra) assim como na direção x. Maior permeabilidade indica maior facilidade do trânsito de fluido pelo interior do meio poroso. Com resultado condizente, o raio de poro médio do grupo controle é em média 24 % maior que o do grupo experimental. A distribuição de tamanho de poros mostra que o grupo controle, além de apresentar poros maiores, na faixa entre 120 e 150  $\mu\text{m}$ , apresenta um pico de frequência para raios próximos de 90  $\mu\text{m}$ , região onde o grupo experimental apresenta seus maiores poros com raios entre 90 e 110  $\mu\text{m}$  com baixa frequência, abaixo de 1%.

A distribuição de tamanho de poros apresentadas nesta seção, não diferencia poros de suas conexões. É uma distribuição de tamanhos da fase porosa como um todo, característica da metodologia utilizada (operação de abertura abordada na seção 3.1.6). Para analisar as dimensões das conexões, uma vez que elas são responsáveis pelo fluxo sanguíneo, foi aplicado o código computacional de poros e gargantas.

### **5.3.6. Poros e Gargantas**

As redes foram extraídas dos mesmos volumes utilizados na seção anterior para a determinação de tamanhos de poros e conexões. A metodologia adotada pela rede é diferente da utilizada na aplicação da abertura morfológica, além da rede isolar o poro, ela mensura seu raio baseado em uma esfera de mesmo volume, assim como os raios das conexões são raios de cilindros de mesmos volumes.

A tendência de maiores tamanhos de poros para o grupo controle também é encontrada nos dados determinados com a rede. As amostras MC28 e MC21 foram as que apresentaram maiores tamanhos de poros. As distribuições de tamanhos de poros para os grupos controle e experimental podem ser encontradas na Figura 51 e Figura 52, respectivamente. Com a rede foram determinados os raios médios das conexões, dos poros e também a média do número coordenação, que é o número médio de gargantas conectadas a cada poro. Os resultados podem ser encontrados na Tabela 9.

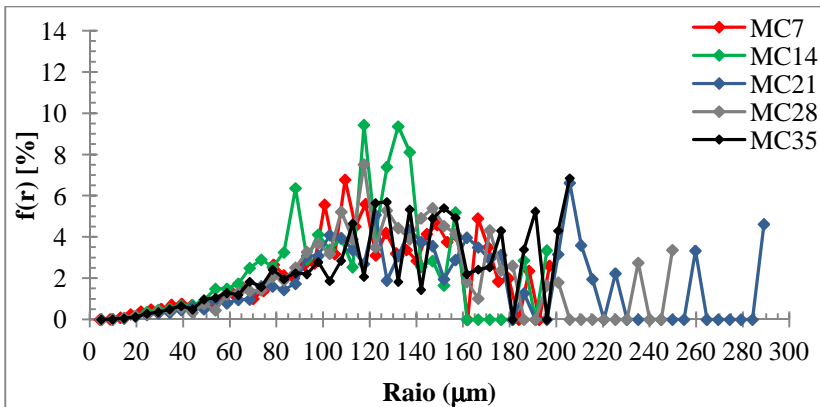


Figura 51. Distribuição do tamanho de poros do grupo controle (rede de poros e gargantas).

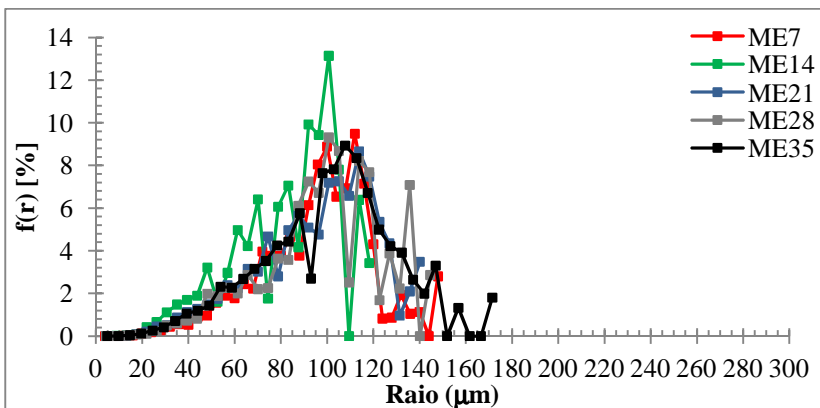


Figura 52. Distribuição do tamanho de poros do grupo experimental (rede de poros e gargantas).

Tabela 9. Parâmetros determinados com a rede de poros e gargantas.

amostra	raio médio de poro ( $\mu\text{m}$ )	média do número de coordenação	raio médio de conexões ( $\mu\text{m}$ )
MC7	120,43 $\pm$ 5,83	3,06 $\pm$ 3,53	31,45 $\pm$ 3,62
MC14	112,77 $\pm$ 5,64	3,47 $\pm$ 3,38	34,49 $\pm$ 4,10
MC21	148,37 $\pm$ 7,68	3,36 $\pm$ 3,86	38,95 $\pm$ 4,34
MC28	130,23 $\pm$ 6,41	3,71 $\pm$ 3,92	36,94 $\pm$ 4,09
MC35	134,20 $\pm$ 6,96	3,53 $\pm$ 3,74	37,49 $\pm$ 4,28
ME7	93,93 $\pm$ 3,97	4,00 $\pm$ 2,70	26,86 $\pm$ 3,21
ME14	81,59 $\pm$ 4,39	3,89 $\pm$ 2,98	26,75 $\pm$ 3,70
ME21	93,97 $\pm$ 4,63	3,89 $\pm$ 3,19	24,96 $\pm$ 3,32
ME28	96,23 $\pm$ 4,52	3,64 $\pm$ 3,38	26,35 $\pm$ 3,45
ME35	98,87 $\pm$ 4,93	4,34 $\pm$ 3,83	27,66 $\pm$ 3,53

Foi evidenciado que os tamanhos de poros do grupo controle são maiores, e por isso os raios das conexões também foram investigados. Como pode ser observado nas distribuições de tamanhos de raios de conexões da Figura 53 e da Figura 54, para controle e experimental respectivamente, os valores são diferentes entre os grupos.

Como ocorrido com os tamanhos de poros, os raios das conexões do grupo controle também são maiores que o grupo experimental, o que corrobora com os valores de permeabilidade apresentados na Tabela 8.

Os maiores números de coordenação ocorrem para pequenas frações de poros, como pode ser observado na Figura 55 e na Figura 56 os gráficos de fração de número de poros (%) *versus* número de coordenação para grupo controle e experimental, respectivamente.

Exceto o implante ME35 que possui poros com 25 e 32 conexões, as amostras do grupo experimental apresentam certa regularidade no número de coordenação. Este comportamento não é notado nas amostras do grupo controle. Para ambos os grupos, existe uma correlação entre tamanho de poro e número de coordenação, como pode ser observado nos gráficos de número de coordenação *versus* raio médio de poro na. Todos os poros isolados do grupo controle tem  $r < 14 \mu\text{m}$ , enquanto que o grupo experimental tem  $r < 24 \mu\text{m}$ , por outro lado, os poros com maiores números de coordenação têm raios entre  $172 \mu\text{m}$  e  $286 \mu\text{m}$  para controle, e raios entre  $100 \mu\text{m}$  e  $170 \mu\text{m}$  para experimental. Mesmo com diferenças pontuais, os dois grupos apresentam alto grau de conectividade, inclusive com média de número de coordenação similar. A



Figura 57 e a Figura 58 mostram a correlação existente entre número de coordenação e tamanho de poro para os dois grupos.

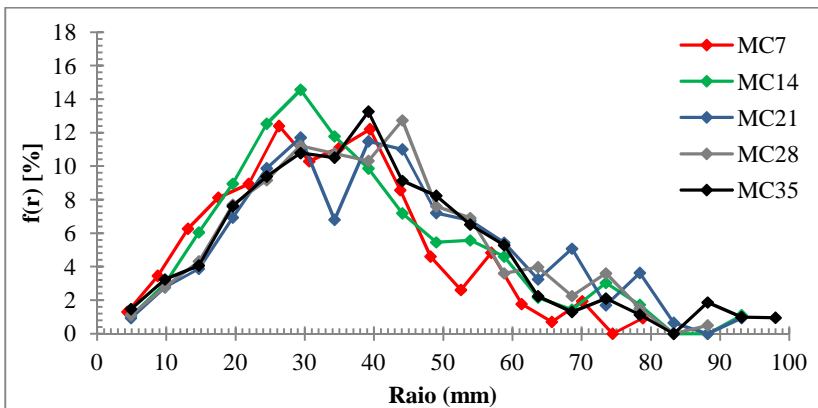


Figura 53. Distribuição de raios de conexões do grupo controle (rede de poros e gargantas).

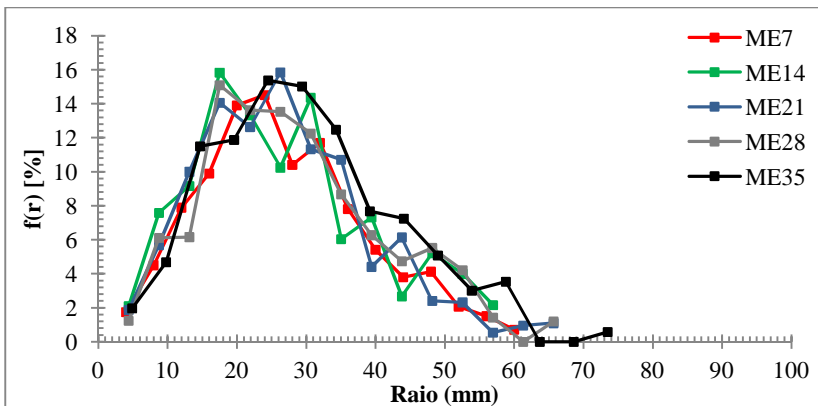


Figura 54. Distribuição de raios de conexões do grupo experimental (rede de poros e gargantas).

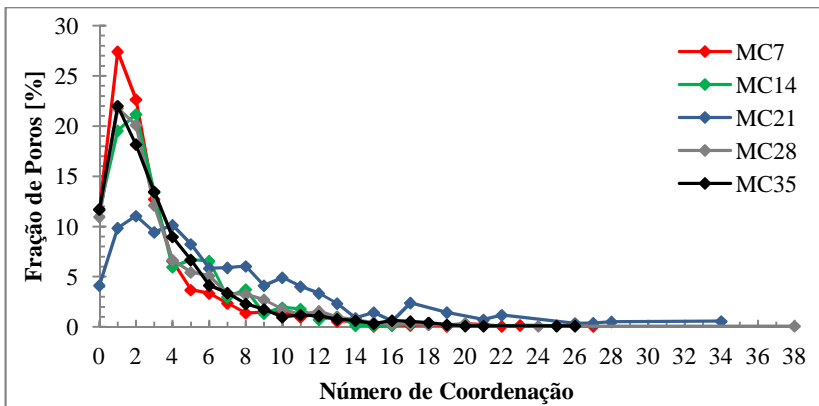


Figura 55. Análise do número de coordenação, grupo controle.

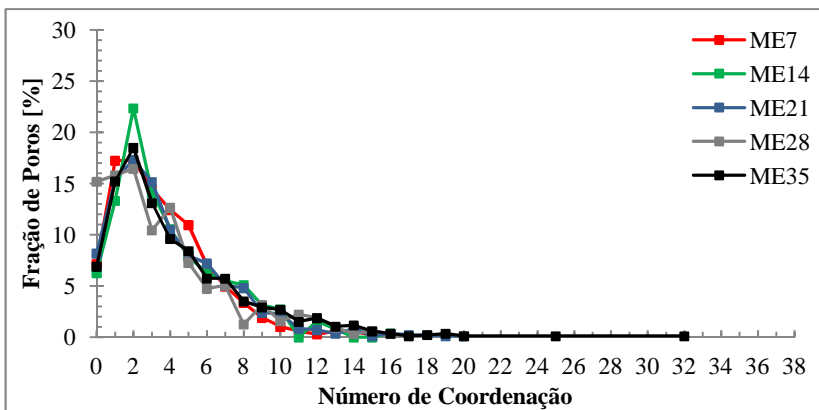


Figura 56. Análise do número de coordenação, grupo experimental.

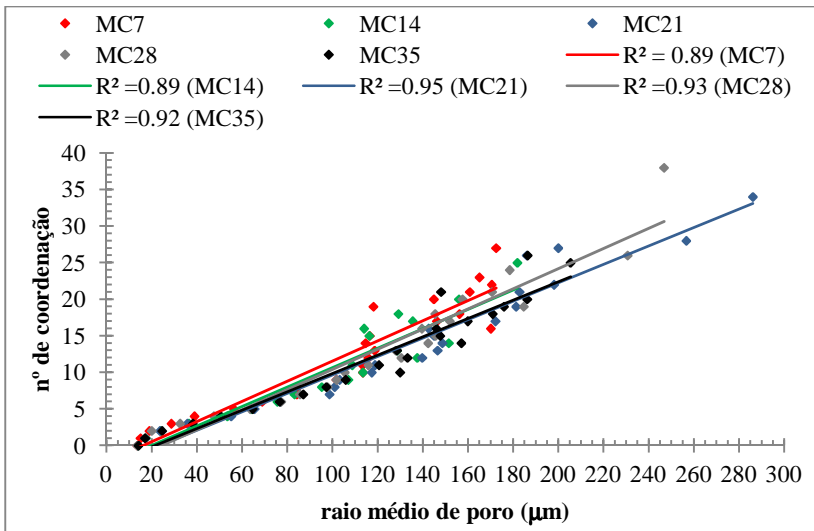


Figura 57. Correlação entre número de coordenação e tamanho de poro, grupo controle.

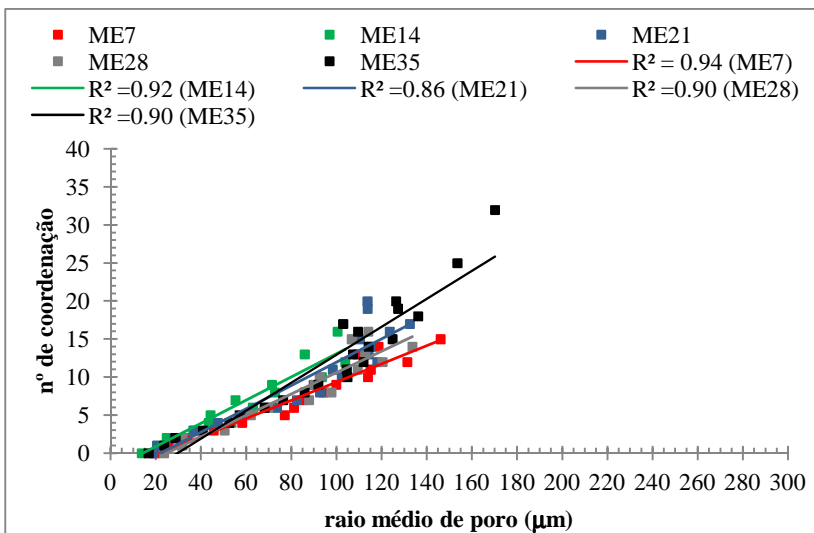


Figura 58. Correlação entre número de coordenação e tamanho de poro grupo experimental.

### 5.3.7. Análise da Homogeneidade da Fase Porosa

Para verificação da influência da distribuição espacial dos poros no processo de recuperação óssea, foi realizada uma análise de homogeneidade e regularidade da fase porosa nas amostras analisadas.

Uma análise estatística da distribuição porosa foi tratada com o levantamento das curvas de correlação das imagens. As funções de correlação normalizada dos dois grupos podem ser observadas na Figura 59.

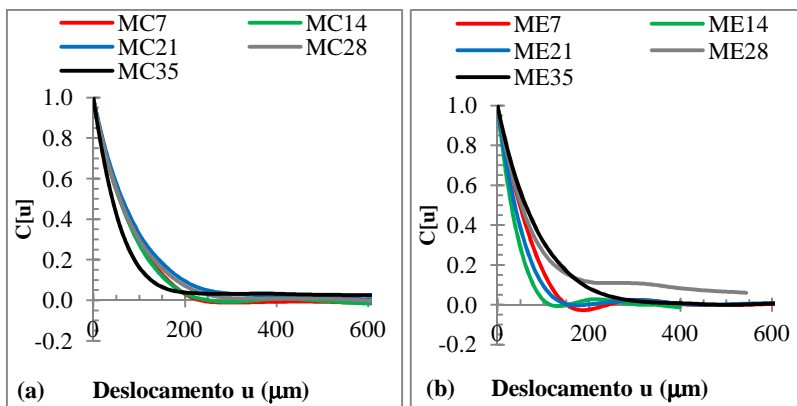


Figura 59. Função de correlação normalizada do grupo controle (a) e experimental (b).

O grupo controle apresenta maior uniformidade na correlação de suas amostras. Exceto a amostra MC35, a maioria de suas curvas tem alcance (deslocamentos  $u$  ( $\mu\text{m}$ )) para valores estáveis de  $C[u]$  próximos de 250  $\mu\text{m}$ , enquanto que o grupo experimental apresenta alcances entre 100 e 150  $\mu\text{m}$  (a menos da amostra ME35). Esses gráficos indicam que o grupo controle possui distribuição porosa mais homogênea, com poros maiores e mais bem distribuídos que o grupo experimental, e também maior permeabilidade (como já constatado anteriormente).

De posse das seções 2D de cada um dos volumes, foram determinados os perfis de porosidade, que estão apresentados na Figura 60 para grupo controle e na Figura 61 para grupo experimental. O gráfico do perfil de porosidade é traçado através da determinação da porosidade de cada seção 2D. Na

Tabela 10 podem ser encontrados os valores médios de porosidade e os desvios para cada implante, que mostram uma dispersão um pouco maior para o grupo experimental, assim como os maiores e menores valores de porosidade de cada seção.

Tabela 10. Porosidade.

amostra	$\phi_{\text{m\u00e9dia}}$ (%)	menor $\phi$ (%)	maior $\phi$ (%)
MC7	44,04 $\pm$ 3,95	35,47	53,52
MC14	45,28 $\pm$ 3,82	37,52	54,37
MC21	48,17 $\pm$ 5,36	35,62	65,59
MC28	48,87 $\pm$ 5,24	38,33	59,58
MC35	46,89 $\pm$ 5,04	36,98	58,39
ME7	44,31 $\pm$ 4,24	36,21	58,59
ME14	49,65 $\pm$ 5,01	41,62	63,45
ME21	49,49 $\pm$ 5,79	37,24	59,95
ME28	45,43 $\pm$ 12,49	23,74	62,71
ME35	53,37 $\pm$ 8,55	37,30	66,60

Os volumes dos dois grupos foram divididos em 8 subvolumes iguais, como pode ser observado na Figura 62. As subamostragens tiveram seus dados de n\u00famero de poros e n\u00famero de conex\u00f5es analisados. Os dados s\u00e3o espec\u00edficos, foram divididos por seus volumes (pixel<sup>3</sup>). Foram ainda determinados porosidade e m\u00e9dia do n\u00famero de coordena\u00e7\u00e3o de cada subvolume, os resultados podem ser observados nos gr\u00e1ficos da Figura 63.

O grupo experimental apresentou menor regularidade quando teve o seu volume dividido em subamostragens, possivelmente isso se deve aos danos sofridos pelas amostras ME14, ME21 e ME28 que reduziram suas dimens\u00f5es, como p\u00f4de ser notado na Figura 36.

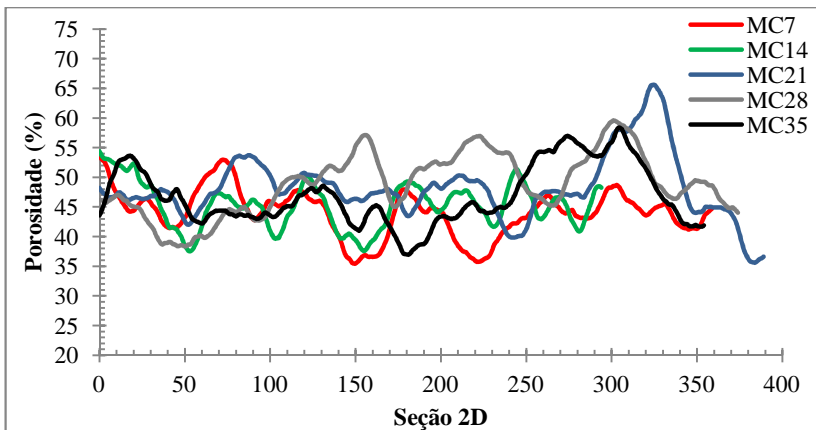


Figura 60. Perfil de porosidade dos implantes do grupo controle.

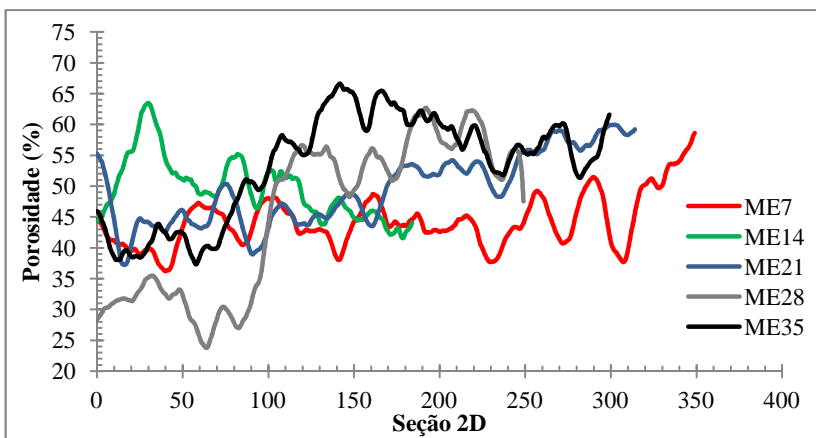


Figura 61. Perfil de porosidade dos implantes do grupo experimental.

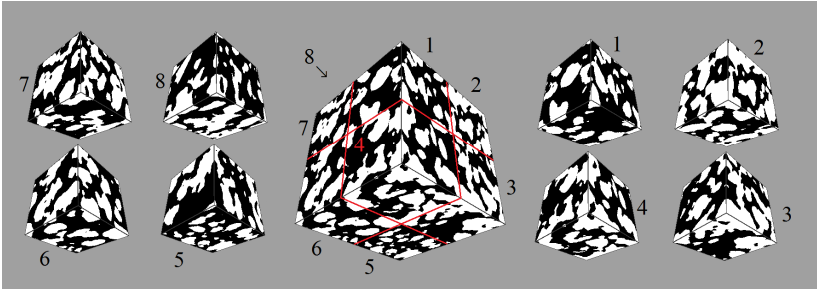


Figura 62. Ilustração da subamostragem das imagens 3D.

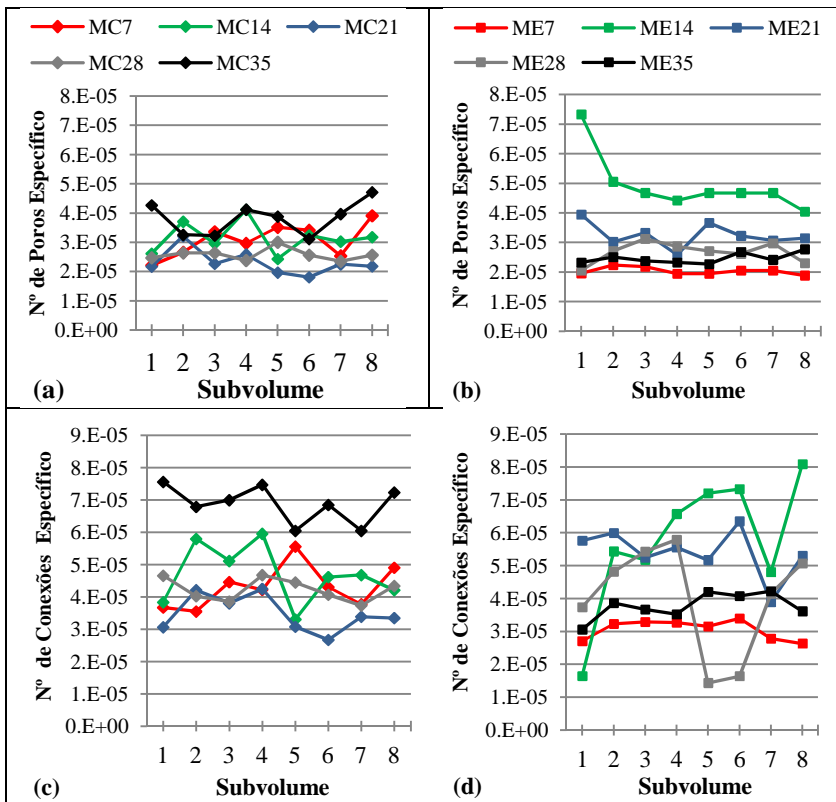


Figura 63. Análise dos subvolumes com número de poros específico, respectivamente para controle e experimental em (a) e (b), número de conexões específico em (c) e (d).

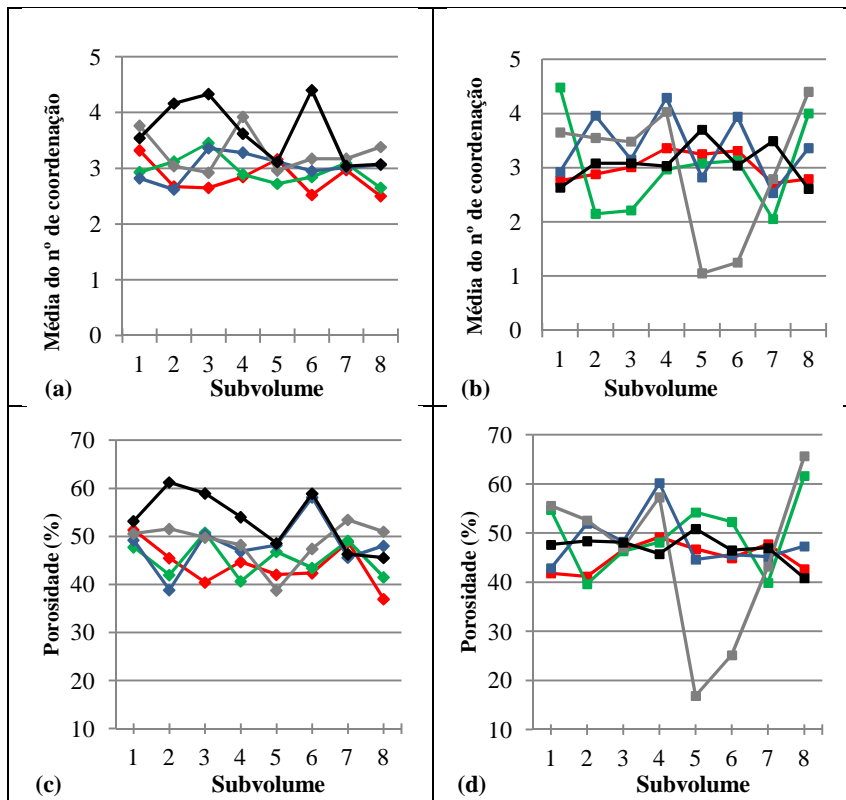


Figura 64. Análise dos subvolumes com média do número de coordenação em (a) e (b) e porosidade em (c) e (d).

## 5.4. DISCUSSÃO

Para que a comparação entre os dois grupos de implantes adotados neste experimento fosse possível, a premissa básica a ser respeitada é que o comportamento do osso neoformado na interface fosse o mesmo para ambos. Visando posterior análise macroscópica da influência da morfologia porosa no processo de osseointegração, o comportamento microscópico não poderia favorecer nenhum dos grupos. Através da análise histológica realizada, o desempenho dos implantes como material biocompatível foi comprovado, com os dois



grupos apresentando o mesmo comportamento de contato e adesão do osso neoformado com as paredes dos implantes de titânio.

Com o procedimento cirúrgico as amostras de titânio poroso foram implantadas nos tecidos ósseos seguindo a mesma técnica operatória (seção 4.2.3.). No entanto, como se pôde observar nas análises qualitativas, o posicionamento de alguns implantes foi diferente no interior do osso. Os implantes ME14, ME21 e ME28 sofreram danos que alteraram suas dimensões, dificultando sua correta instalação. No entanto, em todos os casos os implantes tiveram contato com total envolvimento pelo osso cortical, visando a diminuição das variáveis presentes no experimento, apenas a fração dos implantes presentes neste contato foi avaliada no quesito regeneração óssea.

A análise qualitativa também evidenciou a diferença morfológica estrutural dos implantes do grupo controle em relação ao experimental. Enquanto o grupo controle apresentou poros alongados, a fase porosa do experimental foi formada por poros esferoidais (Figura 38). Quantitativamente, esta diferença foi confirmada pelos maiores valores de circularidade e esfericidade apresentados pelos poros do grupo experimental em relação ao grupo controle (Tabela 6).

A quantificação do osso neoformado nos implantes dos dois grupos, sumarizada no gráfico da Figura 46, mostrou que não houve diferença entre os dois casos avaliados, considerando as incertezas nas medições. Apenas com base nos dados da quantificação óssea, a conclusão é de que não há favorecimento ao processo de neoformação óssea que seja induzido pela morfologia dos poros. No entanto, os meios porosos são compostos por outros fatores que descrevem sua estrutura. A avaliação dos demais parâmetros característicos estruturais dos implantes deve ser levada em conta para a compreensão de suas possíveis influências no processo de crescimento ósseo.

Dentre os parâmetros estruturais que podem assumir relevante influência no processo de regeneração óssea estão a porosidade, tamanho de poros, conectividade, superfície específica e permeabilidade. Estes parâmetros desenvolvem papel importante no escoamento sanguíneo, transporte e acomodação das células responsáveis pela reparação do tecido, assim como ancoragem óssea para a consolidação e fixação do implante [HO e HUTMACHER 2006, JONES et al., 2009].

A porosidade e o tamanho de poros são dois parâmetros bastante avaliados nas pesquisas relativas a implantes porosos. Segundo PILLIAR (2003) implantes porosos têm de apresentar porosidades entre 40 % e 90 % para sua aplicabilidade. As amostras avaliadas neste trabalho apresentam valores entre 44,04 % e 53,37 %, dentro da faixa sugerida pelo autor. Quanto ao tamanho de poro ótimo para implantes, existem na literatura diferentes trabalhos que sugerem diferentes faixas de tamanhos, por exemplo, algumas destas faixas estão no intervalo entre 50  $\mu\text{m}$  e 500  $\mu\text{m}$  de diâmetro [PILLIAR et al., 1991; FERGUSSON 1999; WEN et al., 2001; LI et al., 2001; SIMMONS et al., 2002; RYAN et al., 2006; VASCONCELLOS et al., 2008]. No entanto, tamanho de poros não se trata de uma abordagem simples, assim como em outros parâmetros, existem fatores presentes na medição desta grandeza que devem ser considerados. Cada método tem suas próprias características de medição e uma resolução espacial associada. No caso de caracterização por imagens existe a questão relativa à análise no domínio 2D ou 3D, e ainda o método de medição adotado. O presente trabalho apresenta o emprego de duas técnicas em análise de imagens 3D para a determinação do tamanho de poros: uma que usou operações de abertura de máscaras de chanfro (métrica  $d_{3-4-5}$ ) e outra que isolou os poros de suas conexões e fez associações com a esfera euclidiana. Com o processo de abertura morfológica os tamanhos médios de raios de poros estão na faixa entre 40,55  $\mu\text{m}$  e 60,63  $\mu\text{m}$ , considerando os dois grupos. Considerando só os poros, seguindo o critério da rede de poros e gargantas, o intervalo de tamanho de raio de poros está entre 81,59  $\mu\text{m}$  e 112,77  $\mu\text{m}$ . Os gráficos de distribuição de tamanho de poros (Figura 49 e Figura 50) mostram o mesmo comportamento para as amostras do mesmo grupo. Considerando as incertezas, os valores de porosidade e de permeabilidade dos implantes do mesmo grupo (Tabela 8) também se mostraram similares. Este fato aponta para a reprodutibilidade atingida pela técnica de processamento das amostras através da metalurgia do pó. O mesmo comportamento é notado nos gráficos de raios de conexões (Figura 53 e Figura 54) e de perfis de porosidade (Figura 60 e Figura 61). Acerca da consideração de incertezas citado acima, as incertezas são consideradas intrinsecamente altas, mesmo com a dificuldade de quantificação, os erros associados às diferentes metodologias adotadas neste trabalho contribuem para este fato.

Provavelmente, quando os trabalhos sugerem uma faixa de tamanhos ótima, é levada em consideração não apenas os tamanhos dos

poros, mas também os tamanhos das conexões entre os poros. Alguns autores fazem esta distinção, publicando dados acerca de raios de gargantas ou raios de capilares [JONES et al., 2007; 2009; DIEGO et al., 2007; MITSUKI et al., 2011]. OTSUKI et al. (2006) sugerem que o raio mínimo de conexão para que seja possível o crescimento ósseo é de 26  $\mu\text{m}$ . Os raios médios de conexões avaliados neste trabalho estão entre 31,45  $\mu\text{m}$  e 38,95  $\mu\text{m}$  para os implantes do grupo controle e 24,96  $\mu\text{m}$  e 27,66  $\mu\text{m}$  do grupo experimental.

Segundo HUI et al. (1996), as conexões devem ser apropriadas para o fluxo sanguíneo e o transporte de nutrientes no interior dos implantes. Além da dimensão do raio de conexão, o número de coordenação é importante para o fluxo no interior das amostras. Os números de coordenação dos dois grupos foi similar, com média de 3,43 para o grupo controle e 3,95 para o experimental. Com baixa porosidade fechada e alta permeabilidade apresentadas por ambos os grupos (Tabela 8), pode-se concluir que os implantes dos grupos experimental e controle apresentam estruturas porosas apropriadas para o fluxo sanguíneo em seu interior. No entanto, com maiores raios de conexões e de poros, o grupo controle apresentou valores de permeabilidades em média 122 % e 140 % maiores do que o grupo experimental, considerando os eixos z e x, respectivamente.

Os implantes do grupo controle apresentam maiores tamanhos de poros e maiores raios de conexões, o que lhe atribuíram maiores permeabilidades com evidente disparidade quando comparados aos valores de permeabilidade do grupo experimental. Apoiando-se no fato de que melhor irrigação sanguínea favorece a formação óssea, pela facilidade no transporte celular e de nutrientes, a tendência é do crescimento ósseo se dar preferencialmente em poros e capilares maiores [JONES et al., 2007; 2009] e não em estreitas conexões [OTSUKI et al., 2006]. O resultado esperado era uma maior regeneração óssea apresentada pelo grupo controle em relação ao experimental. No entanto, esse comportamento não foi evidenciado, como pôde ser notado nos dados de recuperação óssea da Tabela 7, também presentes no gráfico da Figura 46. Não é possível atribuir diferença entre os dois grupos com base nesses dados. Além de maiores permeabilidades, tamanhos de poros e conexões, a avaliação estatística realizada através das curvas de correlação (Figura 59), assim como a análise das subamostragens de cada implante (Figura 63) mostraram que as amostras do grupo controle são mais homogêneas, apresentando menor

variabilidade na fase porosa. No entanto, os implantes do grupo experimental apresentam dois fatores com valores maiores que o grupo controle, a área superficial e a esfericidade. A área específica superficial média é de  $1,83 (10^4) \text{ m}^{-1}$  para o grupo controle e  $2,41 (10^4) \text{ m}^{-1}$  para o grupo experimental. Quanto à morfologia dos poros, além dos dados maiores de circularidade, as amostras do grupo experimental têm em média esfericidade 22% maior que o grupo controle, mesmo sendo uma diferença relativamente pequena, é suficiente para atribuir a seus poros formato esferoidal (Figura 38). Estes fatores podem ter sido responsáveis pela diferença entre as curvas de recuperação óssea dos dois grupos.

## 5.5. CONCLUSÃO

O que pode ser notado, analisando os parâmetros de cada grupo de amostras, é que existe uma concorrência de fatores que exercem certa influência no fenômeno analisado. Do ponto de vista de fluxo de fluidos, as amostras do grupo controle oferecem o melhor ambiente para um processo baseado no transporte de componentes responsáveis pela regeneração óssea, no entanto, a morfologia esferoidal dos poros do grupo experimental, aliada aos maiores valores de área superficial, foram significativos para que suas deficiências em permeabilidade fossem superadas a ponto de igualar a recuperação óssea apresentada pelo outro grupo.

A verificação da similar recuperação óssea apresentada por ambos os grupos, levando em conta as incertezas associadas ao experimento, e considerando que o grupo controle é mais propício ao crescimento ósseo, é um indicativo da existência de influência exercida pela morfologia esferoidal de poros no favorecimento ao processo de crescimento ósseo em implantes de titânio.

## **5.6. TRABALHOS FUTUROS**

Em vista do indicativo de favorecimento ao processo de crescimento ósseo apresentado pela morfologia arredondada dos poros do grupo experimental, no caminho de elucidar e explorar melhor o nível da influência deste fator morfológico, propõe-se um novo experimento como o realizado neste trabalho, no entanto com controle mais estrito da fase porosa dos implantes. O fator morfológico deve ser isolado, com o processamento de dois grupos de implantes com similares propriedades físicas como tamanhos de poros e conexões, número de coordenação, permeabilidade, porosidade e área superficial, para que apenas a influência do formato do poro seja analisada.



## REFERÊNCIAS

- ADVINCULA, M.C., RAHEMTULLA, F.G., ADVINCULA, R.C., ADA, E.T., LEMONS, J.E., BELLIS, S.L. Osteoblast adhesion and matrix mineralization on sol-gel-derived titanium oxide. *Biomaterials*. v. 27 p. 2201-2212, 2006.
- ACOCELLA, A., ERCOLI, C., GEMINIANI, A., FENG, C., BILLI, M., ACOCELLA, G., GIANNINI, D., SACCO, R. Clinical Evaluation of Immediate Loading of Electroeroded Screw-Retained Titanium Fixed Prostheses Supported by Tilted Implant: A Multicenter Retrospective Study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. v.14, p. 98-108, 2012.
- AL-KHARUSI A.S.Z. Pore-Scale Characterization Of Carbonate Rocks. Tese Imperial College London, Londres, 2007.
- ANSELME, K. "Osteoblast adhesion on biomaterials". *Biomaterials*, v.21, n.7, p.667-81, 2000.
- APPOLONI, C. R.; MELQUIADES, F. L. Interação da Radiação Eletromagnética com a Matéria - Texto Experimental para a Disciplina de Física Nuclear – Universidade Estadual de Londrina PR, 1997.
- Van BAEL, S., CHAI, Y.C., TRUSCELLO, S., MOESEN, M., KERCKHOFS, G., Van OOSTERWYCK, H., KRUTH, J.P., SCHROOTEN, J. The Effect of Pore Geometry on the *in vitro* Biological Behavior of Human Periosteum-Derived Cells Seeded on Selective Laser-Melted Ti6Al4V Bone Scaffolds. *Acta Biomaterialia*, v.8, p. 2824-2834, 2012.
- BAGNO, A., BELLO, C.D. Surface treatments and roughness properties of Ti-based biomaterials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 15, p. 935-49, 2004.
- BARRON, U.G., BUTLER, F. A Comparison of Seven Thresholding Techniques with the K-Means Clustering Algorithm for Measurement of Bread-Crumb Features by Digital Image Analysis. *Journal of Food Engineering*. v. 74, p. 268-278, 2006.
- BLANCHARD, C.R. "Biomaterials: Body parts of the future", *Technology Today*, Southwest Research Institute, 1995.
- BUDDY, D.R., HOFFMAN, A.S. An Introduction to Materials in Medicine, *Biomaterials Science*. Academic Press, p. 426-431, 1996.

- BRANEMARK, P.I., Osteointegration and its Experimental Background. *Journal of Prosthetic Dental*, v. 50, p. 399-410, 1983.
- CANCELLIERE, A., CHANG, C., FOTI, E., ROTHMAN, D., SUCCI, S. The permeability of a random medium: Comparison of simulation with theory, *Physics of Fluids*, 12, 2085, 1990.
- CARVALHO, A.C.P. História da Tomografia Computadorizada, *Revista Imagem*, v. 29 (2), p. 61-66, 2007.
- COSTER, M., CHERMANT, J.L. *Precis D'analyse D'images*. Presses du CNRS, Paris. 1989.
- CRANIN A.N., TOBIN G.P., GELBMAN J. Application of Hydroxyapatite in Oral And Maxillofacial Surgery. Part II: Ridge Augmentation and Repair of Major Oral Defects. *Compendium*, v. 8(5), p. 334-5, 1987.
- CUNHA, A.R. Caracterização de sistemas porosos de rochas reservatório de petróleo a partir da extração de redes poro-ligações. Dissertação. Programa de Pós Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, UFSC. Florianópolis-SC, 2012.
- DIEGO, R.B., ESTELLÉS, J.M., SANZ, J.A., GARCÍA-AZNAR, J.M., SÁNCHEZ, M.S. Polymer Scaffolds with Interconnected Spherical Pores and Controlled Architecture for Tissue Engineering: Fabrication, Mechanical Properties, and Finite Element Modeling. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, v. 81 (2), p. 448-455, 2007.
- DONG, H. *Micro-CT Imaging And Pore Network Extraction*. Tese Imperial College London, Londres, 2007.
- DUNAND, D.C. Processing of Titanium Foams. *Advanced Engineering Materials*, v. 6, p. 369-376, 2004.
- FELDKAMP, L.A., DAVIS, L.C., KRESS, J.W. Practical Cone Beam Algorithm. *Journal of the Optical Society of America A*, v. 1 (6), 612-619, 1984.
- FERGUSON, R. Use of a Porous-Surfaced Implant System. *Dent Implantol Update*, v. 10 (1), p.1-5, 1999.
- FERNANDES, C.P. Engenharia de Microestruturas: Análise Quantitativa de Imagens e Simulação de Processos Físicos. Monografia para o Concurso de Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC, Florianópolis, 2002.



FERREIRA, T.A., RASBAND, W. The ImageJ User Guide, v.1.46, 2010.

FROES, F.H., EYLON, D. Powder Metallurgy of Titanium Alloys – A Review. Powder Metallurgy International, v. 17 (5), p. 163-238, 1985.

FUJIBAYASHIA, S., NEOA, M., KIMB, H.M., KOKUBOC, T., NAKAMURAA, T. Osteoinduction of Porous Bioactive Titanium Metal. Biomaterials. v. 25, p. 443–450, 2004.

GONZALEZ, R.C., WOODS, R.E. Digital Image Processing, Addison-Wesley Publishing Company. 1992.

HEE, S.K., JAE, Y.P., NA, E.K., SHIN, Y.S., PARK, J.M., CHU, Y.S. Finite Element Modeling Technique For Predicting Mechanical Behaviors On Mandible Bone During Mastication. The Journal of Advanced Prosthodontics, v. 4, p. 218-226, 2012.

HENCH, L.L. Bioceramics: from concept to clinic. Journal of American Ceramics Society. v. 74, p. 1487–1510, 1991.

HO, S.T., HUTMACHER, D.W. A Comparison of Micro CT With Other Techniques Used in the Characterization of Scaffolds. Biomaterials, v. 27, p. 362-1376, 2006.

HUI, P.W., LEUNG, P.C., SHER, A. Fluid Conductance of Cancellous Bone Graft as a Predictor for Graft-Host Interface Healing. Journal of Biomechanics, v.29 (1), p. 123-134, 1996.

JONES, F.H. Teeth and Bones: Applications of Surface Science to Dental Materials and Related Biomaterials. Surface Science Reports. v. 42(3-5), p. 75-205, 2001.

JONES, A.C., ARNS, C.H., SHEPPARD, A.P., HUTMACHER, D.W., MILTHORPE, B.K., KNACKSTEDT, M.A. Assessment of Bone Ingrowth into Porous Biomaterials Using Micro-CT. Biomaterials, v. 28, p. 2491-2504, 2007.

JONES, A.C., ARNS, C.H., HUTMACHER, D.W., MILTHORPE, B.K., SHEPPARD, A.P., KNACKSTEDT, M.A. The Correlation of Pore Morphology, interconnectivity and Physical Properties of 3D Ceramics Scaffolds with Bone Ingrowth. Biomaterials, v. 30, p. 1440-1451, 2009.

KAK, A., SLANEY, M. Principles of Computerized Tomographic Imaging - *IEEE Press*. Electronic Copy (c) 1999.

- KALENDER, W.A. X-Ray Computed Tomography. Physics in Medicine and Biology, v. 51, 2006.
- KANAGARAJA, S., WENNERBERG, A., ERIKSSON, C., NYGREN, H., Cellular reactions and bone apposition to titanium surfaces with different surface roughness and oxide thickness cleaned by oxidation. Biomaterials, v.22, p.1809-1818, 2001.
- KAPLAN, I. Física nuclear – Editora Guanabara Dois S.A. Rio de Janeiro RJ, 1978.
- KARAGEORGIU, V., KAPLAN, D. Porosity of 3D Biomaterial Scaffolds and Osteogenesis. Biomaterials, v.26 (27), p. 5474-5491, 2005.
- KASEMO, B. Biocompatibility of Titanium Implants: Surface Science Aspects. Journal of Prosthetic Dentistry. v. 49(6), p. 832-7. 1983
- KETCHAM, R.A., CARLSON W.D. Acquisition, Optimization and Interpretation of X-Ray Computed Tomographic Imagery: Applications to the Geosciences. Computers & Geosciences, v. 27, p. 381-400, 2001.
- KFOURI, F.A. Interface osso-implante dental de titânio produzida por cirurgia piezoelétrica. Tese, Programa de Pós Graduação em Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo, 2011.
- KOPONEN, A., KANDHAI, D., HELLÉN, E., ALAVA, M., HOEKSTRA, A., KATAJA, M., NISKANEN, K., SLOOT, P., TIMONEN, J. Permeability of Three-Dimensional Random Fiber Webs. Physical Review Letters, v. 80 (4), p. 716, 1998.
- KRUTH, J.P., BARTSCHER M., CARMIGNATO S., SCHMITT R., DE CHIFFRE L., Weckenmann A. Computed Tomography for Dimensional Metrology, CIRP Annals - Manufacturing Technology, v. 60, p. 821-842, 2011.
- KURODA K., OKIDO, M., Hydroxyapatite Coating of Titanium Implants Using Hydroprocessing and Evaluation of Their Osteoconductivity. Bioinorganic Chemistry and Applications, Hindawi Publishing Corporation, p.1-7, 2012.
- KWOK, P.J., OPPENHEIMER, S.M., DUNAND, D.C. Porous Titanium by Electro-chemical Dissolution of Steel Space-holders. Advanced Engineering Materials. v. 10, p. 820-825, 2008.
- LANDIS, E.N., KEANE, D.T. X-Ray Microtomography. Materials Characterization, v. 61, p. 1305-1326, 2010.

LI, J.P., PAMELA, H., SANNE, B., WIJN, J.R., VAN BLITTERSWIJK, C.A., GROOT, K. Ectopic Bone Formation by Goat Bone Marrow Cells Cultured on Different Porous Ti6Al14V Scaffolds. 20<sup>th</sup> European Conference on Biomaterials, Nantes, France, September, 2006.

LI, Y., LI, Y., RONG, L., Pore Characteristics of Porous NiTi Alloy Fabricated by Combustion Synthesis, Journal of alloys and Compounds, n. 325, p. 259-262, 2001

LI, Y., GUO, Z., HAO, J., REN, S. Porosity and mechanical properties of porous titanium fabricated by gelcasting. Rare Metals. v. 27 (3), p. 282-286, 2008.

LIU, X., RAHAMAN, N.M., FU, Q. Bone Regeneration in Strong Porous Bioactive Glass (13-93) Scaffolds With an Oriented Microstructure Implanted in Rat Calvarial Defects. Acta Biomaterialia, v. 9, p. 4889-4898, 2013.

MACHADO A.C.P., “Biocompatibilidade *in vivo* de Implantes de Titânio Submetidos ao Processo Biomimético”, Tese (Programa de Pós-Graduação e Biopatologia Bucal) – USP, Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, 2008.

MAIRE, E., COLOMBO, P., ADRIEN, J., BABOUT, L., BISETTO, L. Characterization of the Morphology of Cellular Ceramics by 3D Imaging Processing of X-Ray Tomography. Journal of the European Ceramic Society, v. 27, p. 1973-1981, 2007.

MACHADO A.C.P., “Biocompatibilidade *in vivo* de Implantes de Titânio Submetidos ao Processo Biomimético”, Tese (Programa de Pós-Graduação e Biopatologia Bucal) – USP, Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, 2008.

MASON, G., MORROW, N.R. Capillary Behavior of a Perfectly Wetting Liquid in Irregular Triangular Tubes. Journal of Colloid and Interface Science, v. 141 (1), p. 262-274, 1991.

MATTILA, K. Implementation Techniques for The Lattice Boltzmann Method. Thesis, University of Jyväskylä, Jyväskylä-Finland, 2010.

MITSAK, A.G., KEMPPAINEN, J.M., HARRIS, M.T., HOLLIST, S.J. Effect of Polycaprolactone Scaffold Permeability on Bone Regeneration *In Vivo*. Tissue Engineering Part A, v. 17 (13-14), p. 1831-1839, 2011.

- MOMOSE, D.R. Estudo da biocompatibilidade da liga Ti-6Al-7Nb e titânio de grau 2 em tibia de coelhos [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2003.
- MOREIRA, A.C. “Caracterização da microestrutura de materiais porosos por microtomografia de raios X e transmissão de raios gama”. Dissertação de Mestrado (curso de pós-graduação em Física), Universidade Estadual de Londrina, 2006.
- MOREIRA, A.C., APPOLONI, C.R., MANTOVANI, I.F., FERNANDES, J.S., MARQUES, L.C, NAGATA, R., FERNANDES, C.P. Effects of Manual Threshold Setting on Image Analysis Results of a Sandstone Sample Structural Characterization by X-Ray Microtomography. *Applied Radiation and Isotopes*. v. 70, p. 937-941, 2012.
- OHTSUKI C, KAMITAKAHARA M, MIYASAKI T. Coatings Bone-Like Apatite Onto Organic Substrates Using Solutions Mimicking Body Fluid. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. v. 1, p. 33-8. 2007.
- OTSUKI, B., TAKEMOTO, M., FUJIBAYASHI, S., NEO, M., KOKUBO, T., NAKAMURA, T. Pore Throat Size and Connectivity Determine Bone and Tissue Ingrowth Into Porous Implants: Three-Dimensional Micro-CT-Based Structural Analyses of Porous Bioactive Titanium Implants. *Biomaterials*, v. 27 (35), p. 5892-5900, 2006.
- OLIVEIRA, M.V. Desenvolvimento de Revestimento Poroso de Titânio para Implantes Cirúrgicos. Tese, Engenharia Metalúrgica e de Materiais, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2003.
- OLIVEIRA, M.V., VASCONCELLOS, L.M.R., CARVALHO, Y.R., CAIRO, C.A.A., PEREIRA, L.C., CAMPOS, J.B. Powder processing and “in vivo” evaluation of a titanium porous coating implant”. 7th World Biomaterials Congress. Sydney, 2004.
- OLIVEIRA, M.V., MOREIRA, A.C., APPOLONI, C.R., LOPES, R.T., PEREIRA L.C., CAIRO, C.A.A. Porosity Study of Sintered Titanium Foams. *Materials Science Forum*, v. 530-531, p. 22-28, 2006.
- OLIVEIRA, M.V., MOREIRA, A.C., PEREIRA, L.C., MEDEIROS, W.S., APPOLONI, C.R. Porosity Study of Sintered Titanium Foams. *Materials Science Forum*, v.591-593, p.36-41, 2008.

OLIVEIRA, M.V., RIBEIRO, A.A., PEREIRA L.C. "Pore structure study of powder metallurgy titanium for surgical implants". 11<sup>th</sup> International Conference on Advanced Materials, Rio de Janeiro, Brazil, 2009.

OTSU, N. A Threshold Selection Method from Grey-Level Histograms. IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics. v. 9, p. 62–66, 1979.

OTSUKI B., TAKEMOTO M., FUJIBAYASHI, S., NEO, M., KOKUBO, T., NAKAMURA, T. Pore Throat Size and Connectivity Determine Bone and Tissue Ingrowth into Porous Implants: Three Dimensional Micro-CT Based Structural Analyses of Porous Bioactive Titanium Implants. Biomaterials, v. 27 (35), p. 1892-1900, 2006.

PANSERI, S., CUNHA, C., TERESA D'ALESSANDRO, T., SANDRI, M., RUSSO, A., GIANLUCA GIAVARESI, G., MARCACCI, M., HUNG, C.T., TAMPIERI, A. Magnetic Hydroxyapatite Bone Substitutes to Enhance Tissue Regeneration: Evaluation *in vitro* Using Osteoblast-Like Cells and In Vivo in a Bone Defect. PLoS ONE, v. 7 (6), p. 1-8: e38710, 2012

PARTHASARATHY, J. Design, Analysis and Fabrication of Porous Titanium Implants Using Electron Beam Melting for Craniofacial Applications. Dissertation, The University of Oklahoma, Oklahoma-United States of America, 2009

PILLIAR, R.M. Powder Metal-Made Orthopedic Implants with Porous Surface for Fixation by Issue Ingrowth. Clinical Orthopaedics and Related Research, n.176, p.42-51, 1983.

PILLIAR, R.M. Porous-Surfaced Metallic Implants for Orthopedic Applications. Journal of Biomedical Materials Research, v. 21 (A1), p. 1-33, 1987.

PILLIAR, R.M., DEPORTER, D.A., WATSON, P.A., PHAROAH, M.,CHIPMAN, M., VALIQUETTE, N., CARTER, S., DE GROOT K. The Effect of Partial Coating with Hydroxyapatite on Bone Remodeling in Relation to Porous - Coated 184 Titanium – Alloy Dental Implants in the Dog, Journal of Dental Research. v. 70 (10), p. 1338-1345, 1991.

PILLIAR, R.M., Metals, Alloys and Ceramics, In: Recum, A.F., Handbook of Biomaterials Evaluation, 2<sup>a</sup> ed., chapter 1, U.S.A., Taylor & Francis, 1999.

- PILLIAR, R.M., in: *Bio-Implant Interface – Improving Biomaterials and Tissue Reactions*, edited by J.E. Ellingsen and S.P. Lyngstadaas/CRC Press LLC, Florida, 2003.
- RAK, Z.S., WALTER, J. Porous Titanium Foil by Tape Casting Technique. *Journal of Materials Processing Technology*. v. 175, p. 358, 2006.
- RAVAGLIOLI, A., KRAGEWSKI, A., “A Historical and Philosophical Outline for the Applications of Biomaterials”. In. *Bioceramics: Materials, Properties, Applications*, 1<sup>a</sup> ed, chapter 1, Chapman & Hall, London, 1992.
- REIS, L.M. *Processamento: Caracterização de Titânio Poroso por Metalurgia do Pó para Aplicações Biomédicas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro*, 2005.
- RIBEIRO, A.A, BALESTRA, R.M., MOREIRA, A.C, FERNANDES, C.P., OLIVEIRA, M.V. Three-Dimensional Characterization of Porous Titanium by X-Ray Microtomography. 20<sup>o</sup> CBECIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, Joinville, SC, Brasil, 04 a 08 de Novembro de 2012.
- ROBERTSON, D.M., PIERRE, L., CHAHAL, R. Preliminary Observations of Bone Ingrowth into Porous Materials. *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 10, p. 335-344, 1976.
- RYAN, G., PANDIT, A., APATSIDIS, D.P. “Review: Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications”. *Biomaterials*, v. 27, p. 2651-2670, 2006.
- RUSS, J.C. *The Image Processing Handbook*, 2<sup>nd</sup> Ed. , CRC Press, 1999.
- SALES, E.S. *Estudo da Quantidade Óssea Através das Técnicas de Microtomografia e Microfluorescência de Raios X*. Tese. Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, Programa de Engenharia Nuclear, 2010.
- SANTOS, L.O.E., WOLF, F.G., PHILIPPI, P.C. Dynamics of interface displacement in capillary flow. *Journal of Statistical Physics*, v. 121 (1-2), p. 197-207, 2005.
- SCHENK, R.K., BUSER, D., “Osseointegration: a reality”. *Periodontol* 2000, v.17, p.22-35, 1998.

SCHROEDER A. The Reaction of Bone, Connective Tissue and Epithelium to Endosteal Implants with Plasma-Sprayed Titanium Surfaces. *Journal of Maxillofacial Surgery*. v. 9(1), p. 15-25, 1981.

SCHWANKE, C.M., SCHAEFFER, L., Titanium Alloys Obtained by Powder Metallurgy, *Materials Science Forum*, v. 299- 300, p. 190 -199, 1997.

SENGERS, B.G., Taylor, M., Please, C.P., Oreffo, R.O.C. Computational Modelling of Cell Spreading and Tissue Regeneration in Porous Scaffolds. *Biomaterials*, v. 28, p. 1926-1940, 2007.

SEZGIN, M., SANKUR, B. Survey Over Image Thresholding Techniques and Quantitative Performance Evaluation. *Journal of Electronic Imaging*. v. 13 (1), p. 146-165, 2004.

SILIN, D., PATZEK, T. Pore Space Morphology Analysis Using Maximal Inscribed Spheres. *Physica A*, v. 371, p. 330-360, 2006.

SILVA, A.F.B. Caracterização do Espaço Poroso em Rochas por Esferas Máximas Exatas. Dissertação. Ciências da Computação. Depto. Informática e Estatística-UFSC. Florianópolis SC, 2012.

SIMMONS, C.A., MEGUID, S.A., PILLIAR, R.M. Differences in Osseointegration Rate Due to Implant Surface Geometry can be Explained by Local Tissue Strains. *Journal of Orthopedic Research*, v. 19, 187, 2002.

STEINEMANN, S.G. Titanium: the material of choice? *Periodontol* 2000. v.17, p. 7-21, 1998.

STOCK, S.R. *MicroComputed Tomography: Methodology and Applications*. Boca Raton: FLCRC Press, Taylor & Francis Group, 2009.

STRATHERN, P. *Curie e a Radioatividade em 90 Minutos*, p. 29-31, Rio de Janeiro, Jorge Zahar Ed. 2000.

SUCCI, S., FOTI, E., HIGUERA, F. Three-Dimensional Flows in Complex Geometries with the Lattice Boltzmann Method. *Europhysics Letters*, v. 10 (5), p. 433, 1989.

SUL, Y.T, JOHANSSON, C.B., PETRONIS, S., KROZER, A., JEONG, Y., WENNERBERG, A. Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface

roughness, crystal structure and chemical composition. *Biomaterials*. v. 23(2), p. 491-501, 2002.

SYKARAS, N., IACOPINO, A.M., MARKER, V.A., TRIPLETT, R.G., WOODY, R.D. Implant Materials, Designs, and Surface Topographies: Their Effect on Osseointegration. A Literature Review, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, v.15 (5), p. 675-690, 2000.

TAKEMOTOA, M., FUJIBAYASHIA, S., NEOA, M., SUZUKIB, J., KOKUBOC, T., NAKAMURA, T. Mechanical Properties and Osteoconductivity of Porous Bioactive Titanium. *Biomaterials*, v. 26, p. 6014-6023, 2005.

TANCRED, D.C., McCORMACK, B.A.O., CARR, A.J. A Synthetic Bone Implant Macroscopically Identical to Cancellous Bone. *Biomaterials*, v. 19, p. 2303-2311, 1998.

TESEI, L., CASSELER, F., DREOSSI, D., MANCINI, L., TROMBA, G., ZANINI, F. Contrast-Enhanced X-Ray Microtomography of the Bone Structure Adjacent to Oral Implants. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 548, p. 257-263, 2005.

VASCONCELLOS, L.M.R. Implantes Porosos de Titânio Puro Grau 2: Osseointegração em Tíbias de Coelhos. Tese, Programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal, Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP, 2005.

VASCONCELLOS, L.M.R., OLIVEIRA, M.V., GRAÇA, M.L.A., VASCONCELLOS, L.G.O., CARVALHO, Y.R., CAIRO, C.A.A. Porous Titanium Scaffolds Produced by Powder Metallurgy for Biomedical Applications. *Materials Research*. v. 11 (3), p. 274-280, 2008.

VASCONCELLOS, L.M.R., OLIVEIRA, F.N., LEITE, D.O., VASCONCELLOS, L.G.O., PRADO, R.F., RAMOS, C.J., GRAÇA, M.L.A., CAIRO, C.A.A., CARVALHO, Y.R. Novel Production Method of Porous Surface Ti Samples for Biomedical Application. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. v. 23, p. 357-364, 2012.

VITAL, C.C., BORGES, A.P.B., FONSECA, C.C., TSIOMIS, A.C., CARVALHO, T.B., FONTES, E.B., SENA, M.P., FÓFANO, G. “Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos”, *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.58, n.2, p.175-183, 2006.



- WADELL, H., Sphericity and Roundness of Rock Particles. *Journal of Geology*, v. 41, p. 310-331, 1933.
- WEN, C.E., MABUCHI, M., YAMADA, Y., SHIMOJIMA, K., CHINO, Y., ASAHINA, T. Processing of Biocompatible Porous Ti and Mg. *Scripta Materialia*, v. 45, p. 1147-1153, 2001.
- WILLIAMS, D.F., "Materials for Bone and Joint Replacement", In: *Materials Science and Technology – A Comprehensive Treatment*, v. 14, Medical and Dental Materials, chapter 2, Cambridge Edition, 1992.
- WOLF, F.G., SANTOS, L.O.E., PHILIPPI, P.C. Modeling and Simulation of the Fluid Solid Interaction in Wetting. *Journal of Statistical Mechanics*, v. 1, PO 6008, 2009.
- WIRSCHING, K., LEHLE, K., JACOB, P., GLEICH, O., STRUTZ, J., KWOK, P. Influence of Surface Processing on the Biocompatibility of Titanium. *Materials*, v. 4, p. 1238-1248, 2011.
- XIONG, Y., QIAN, C., SUN, J. Fabrication of Porous Titanium Implants by Three-Dimensional Printing and Sintering At Different Temperatures. *Dental Materials Journal*. v. 31(5), p. 815-20, 2012.
- SONG, Y.S., LIN, R.L., MONTESANO, G., DURMUS, N.G., LEE, G., YOO, S.S., KAYAALP, E., HÆGGSTRÖM E., KHADEMHOSEINI, A., DEMIRCI, U. Engineered 3D Tissue Models for Cell-Laden Microfluidic Channels. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 395, p. 185-193, 2009.



## **ANEXOS**

### **ANEXO I**

Interação da Radiação Com a Matéria

### **ANEXO II**

Testes Realizados para o Processamento das Amostras

### **ANEXO III**

Comitê de Ética

### **ANEXO IV**

Publicações

## ANEXO I. Interação da Radiação Com a Matéria

O coeficiente de atenuação linear é determinado pela soma das contribuições de cada processo de interação da radiação com a matéria, na forma de suas seções de choque: Efeito Fotoelétrico ( $\tau_K$ ), Espalhamento Rayleigh ( $\sigma_R$ ), Espalhamento Compton ( $\sigma_C$ ), Espalhamento Thomson ( $\sigma_T$ ) e Formação de Pares ( $\sigma_P$ ). A equação I.1 representa a soma das contribuições das seções de choque parciais para o coeficiente de atenuação:

$$\mu = N(\tau_K + \sigma_R + \sigma_T + \sigma_P) + ZN\sigma_C \quad (I.1)$$

onde N é o número de átomos absorventes por  $m^3$ .

Na Figura 65 está apresentado o gráfico do coeficiente de absorção *versus* energia para o Pb (chumbo), mostrando a evolução dos três processos em função da energia e do número atômico Z do material absorvedor.

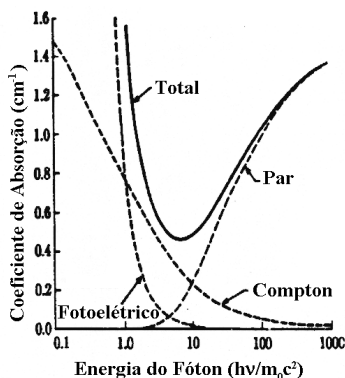


Figura 65. Coeficiente de absorção total do chumbo, mostrando as contribuições da absorção fotoelétrica, espalhamento Compton e formação de pares [KAPLAN, 1978].

Uma descrição um pouco mais detalhada de cada efeito pode ser encontrada a seguir.

### Efeito Fotoelétrico

O efeito fotoelétrico consiste na total transferência da energia  $h\nu$  de um fóton incidente para um elétron atômico, que é ejetado com energia cinética  $T$ :

$$T = h\nu - E_k \quad (\text{I.2})$$

onde  $E_k$  é a energia de ligação do elétron na camada  $K$ .

O efeito fotoelétrico ocorre principalmente com elétrons da camada  $K$ , que é a camada mais interna e que possui a maior energia de ligação. A ejeção do elétron dessa camada causa um rearranjo na eletrosfera, que ocasiona a emissão de raio  $X$  ou de elétron Auger, produzido pelo efeito fotoelétrico interno do átomo.

A equação (I.3) mostra a seção de choque fotoelétrica ( $\text{cm}^2/\text{átomo}$ ) para a camada  $K$ , a qual é responsável por 80% do efeito fotoelétrico.

$${}_a\tau_K = \varphi_0 Z^5 \alpha^4 2^{5/2} (mc^2/h\nu)^{7/2} \quad (\text{I.3})$$

onde  ${}_a\tau_K$  é a seção de choque da absorção fotoelétrica para a camada  $K$ ;  $\varphi_0 = 2,67\pi r_0^2$  onde  $r_0 = e^2/mc^2$  é o raio clássico do elétron;  $\alpha$  é a constante de estrutura fina ( $\alpha = 1/137 = 2\pi e^2/hc$ );  $mc^2$  é a energia de repouso do elétron, e  $h\nu$  é a energia do fóton incidente.

### Efeito Compton

O fóton incidente sofre espalhamento inelástico na interação com elétrons pouco ligados ou livres, que são ejetados com uma certa energia cinética. O fóton é espalhado com energia menor que o incidente.

As energias dos fótons incidente e espalhado são representadas como:

$$E = h\nu \quad (\text{I.4})$$

$$E' = \frac{E}{1 + \alpha(1 - \cos \theta)} \quad (I.5)$$

onde  $E$  é a energia do fóton incidente;  $E'$  é a energia do fóton espalhado, e  $\alpha = hv/m_0c^2$ .

A equação (I.6) mostra a seção de choque total ( $\text{cm}^2/\text{átomo}$ ) do espalhamento Compton, onde se pode notar que a dependência do número atômico  $Z$  é linear.

$$\sigma_c = 2Z\pi r_0^2 \left\{ \frac{1 + \alpha}{\alpha^2} \left[ \frac{2(1 + \alpha)}{1 + 2\alpha} - \frac{1}{\alpha} \ln(1 + 2\alpha) \right] + \frac{1}{2\alpha} \ln(1 + 2\alpha) - \frac{1 + 3\alpha}{(1 + 2\alpha)^2} \right\} \quad (I.6)$$

onde  $\alpha = hv/mc^2$ ,  $h\nu$  é a energia do fóton incidente,  $m$  é a massa do elétron,  $r_0 = e^2/mc^2$  e  $Z$  é o número atômico.

### Espalhamento Rayleigh

O espalhamento elástico, também conhecido como coerente, é o processo em que o elétron incidente sofre apenas um desvio da sua trajetória inicial ao colidir com um elétron do átomo. Há apenas uma mudança no momento linear do fóton, a sua energia inicial é conservada.

A equação (I.7) mostra a dependência da seção de choque ( $\text{cm}^2/\text{átomo}$ ) com o número atômico [KAPLAN, 1978].

$$d\sigma_R = r_0 |f_\theta|^2 \frac{1 + \cos^2 \theta}{2} d\Omega \quad (I.7)$$

onde  $f_\theta$  é o fator de espalhamento atômico;  $d\Omega$  é o ângulo sólido na direção de  $\theta$ . Para comprimento de onda ( $\lambda$ ) grande,  $f_\theta \rightarrow Z$ .

### Espalhamento Thomson

O espalhamento Thomson ocorre quando um fóton é espalhado elasticamente pelo campo Coulombiano do núcleo atômico. A energia inicial do fóton é conservada com mudança no seu momento linear.

A seção de choque ( $\text{cm}^2/\text{átomo}$ ) do espalhamento Thomson é dada pela equação (I.8).

$$\sigma_r = \frac{8\pi}{3} r_0^2 \quad (\text{I.8})$$

onde:  $r_0 = e^2/mc^2$ .

### Formação de Pares

A formação ou produção de pares é o evento em que na interação do fóton com o campo Coulombiano do núcleo do átomo, há uma conversão total da energia do fóton em massa de repouso e energia cinética de partículas. Ocorre a criação de um par elétron-pósitron, de acordo com a fórmula de equivalência de Einstein ( $E = mc^2$ ). A energia  $2m_0c^2 = 1,02 \text{ MeV}$  é limiar para o processo, sendo esta a energia da massa de repouso necessária para criar o par de partículas.

O pósitron é uma partícula com as mesmas características do elétron, a não ser pela sua carga de sinal oposto e momento magnético contrário.

Este processo de interação, apesar de importante, só ocorre com probabilidade apreciável quando se usa feixes de radiação com fótons de energia bem maior que  $1,02 \text{ MeV}$  (radiação gama ou X).

A seção de choque ( $\text{cm}^2/\text{átomo}$ ) para a produção de um pósitron de energia cinética  $T_+$  é dado pela equação (I.9).

$$d\sigma_p = \frac{\sigma_0 Z^2 P}{h\nu - 2mc^2} dT_+ \quad (\text{I.9})$$

onde:  $\sigma_0 = 5,8 \cdot 10^{-32} \text{ m}^2$ , e  $P = p(h\nu, Z)$ .

Na Figura 66 podem ser encontradas ilustrações dos efeitos de interação da radiação com a matéria.

Para elaboração deste anexo o texto de aulas de APPOLONI e MELQUÍADES, 1997 foi utilizado. Para melhor entendimento dos efeitos característicos da atenuação da radiação pela matéria aconselha-se KAPLAN, 1978.

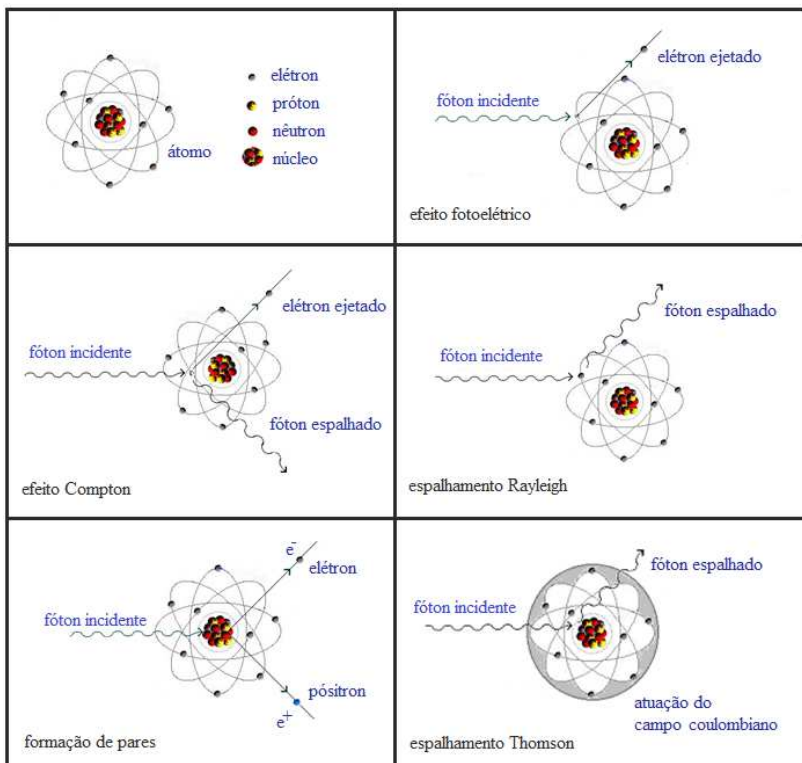


Figura 66. Ilustração dos efeitos de interação da radiação eletromagnética com a matéria.



## ANEXO II. Testes Realizados para o Processamento das Amostras

Na Tabela 11. Parâmetros adotados nos testes para processamento das amostras de titânio. podem ser encontradas as variáveis testadas no processamento das amostras de titânio. Nomenclatura adotada na tabela: CP= corpo de prova, PA=amostras porosas, AT=amostra teste, Ti= titânio e BA=bicarbonato de amônio.

Tabela 11. Parâmetros adotados nos testes para processamento das amostras de titânio.

CP	Granulometria ( $\mu\text{m}$ )		Proporção em Massa	Carga (Mpa)	Resultado e nota de observação.
	Ti	BA			
PA01	< 44	250-300	70% Ti - 30% BA	250	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA02	< 44	250-300	70% Ti - 30% BA	250	Partiu ao meio ao ser retirado da matriz; procedimento repetido, originando na amostra PA02*
PA02*	< 44	250-300	70% Ti - 30% BA	250	Partiu ao meio após retirado do BA. Não resistiu à manipulação.
PA03	< 44	250-300	70% Ti - 30% BA	300	Partiu ao meio após retirado do BA. Não resistiu à manipulação.
PA04					
PA05	< 44	250-300	60% Ti - 40% BA	250	Partiu ao meio após retirado do BA. Não resistiu à manipulação.
PA06	< 44	250-300	60% Ti - 40% BA	250	Partiu ao meio durante transporte para o laboratório; proced. repetido, originando na amostra PA06*
PA06*	< 44	250-300	60% Ti - 40% BA	250	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA07	< 44	250-300	60% Ti - 40% BA	300	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA08					
PA09	88-125	250-300	70% Ti - 30% BA	250	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA10					

Tabela 11. Continuação

CP	Granulometria ( $\mu\text{m}$ )		Proporção em Massa	Carga (Mpa)	Resultado e nota de observação.
	Ti	BA			
PA11	88-125	250-300	70% Ti - 30% BA	300	Partiu ao meio ao ser retirado da matriz; procedimento repetido, originando na amostra PA11*
PA11*	88-125	250-300	70% Ti - 30% BA	300	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA12					
PA13	88-125	250-300	60% Ti - 40% BA	250	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA14					
PA15	88-125	250-300	60% Ti - 40% BA	300	Resistiu a retirada do BA, embora tenha ficado muito frágil.
PA16	88-125	250-300	60% Ti - 40% BA	300	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA17	< 44	212-250	70% Ti - 30% BA	400	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelando.
PA18					
PA19	88-125	212-250	70% Ti - 30% BA	400	Resistiu a retirada do BA, embora tenha ficado muito frágil.
PA20	88-125	212-250	70% Ti - 30% BA	400	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA21	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	400	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA22	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	400	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA23	88-125	212-250	60% Ti - 40% BA	400	Partiu ao meio após retirada do BA. Não resistiu à manipulação.
PA24					
AT01	< 150	212-250	70% Ti - 30% BA	400	Resistiu a retirada do BA, embora tenha ficado muito frágil.

Tabela 11. Continuação.

CP	Granulometria ( $\mu\text{m}$ )		Proporção em Massa	Carga (Mpa)	Resultado e nota de observação.
	Ti	BA			
AT02	< 150	212-250	70% Ti - 30% BA	400	Resistiu a retirada do BA; devido à fragilidade, não resistiu a manipulação durante medição dimensional.
AT03	< 44	212-250	70% Ti - 30% BA	400	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.
AT04					
PA25	< 150	212-250	70% Ti - 30% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.
PA26					
PA27	< 150	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Amostra esfarelou ao ser manipulada para medição de altura.
PA28	< 150	212-250	60% Ti - 40% BA	300	A amostra está frágil, embora não tenha fraturado; está esfarelado um pouco.
PA29	< 44	212-250	70% Ti - 30% BA	300	A amostra fraturou ao ser manipulada, mas não está esfarelado. Talvez tenha esfarelado por excesso de força na manipulação.
PA30	< 44	212-250	70% Ti - 30% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.

Tabela 11. Continuação.

CP	Granulometria ( $\mu\text{m}$ )		Proporção em Massa	Carga (Mpa)	Resultado e nota de observação.
	Ti	BA			
PA31	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.
PA32					
PA33	88-125	212-250	70% Ti - 30% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.
PA34					
PA35	88-125	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.
PA36	88-125	212-250	60% Ti - 40% BA	300	A amostra está frágil, embora não tenha fraturado; está esfarelado um pouco.
PA37	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.
PA38					
PA39	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.
PA40					

Tabela 11. Continuação.

CP	Granulometria (µm)		Proporção em Massa	Carga (Mpa)	Resultado e nota de observação.
	Ti	BA			
PA41	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	300	A amostra fraturou ao ser manipulada, mas não está esfarelado. Talvez tenha esfarelado por excesso de força na manipulação.
PA42	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.
PA43	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	300	A amostra fraturou ao ser manipulada, mas não está esfarelado. Talvez tenha esfarelado por excesso de força na manipulação.
PA44	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.
PA45					
PA46					
PA47	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco frágil, não esfarelado.
PA48					
PA49					
PA50	< 44	212-250	60% Ti - 40% BA	300	A amostra está frágil, embora não tenha fraturado; está esfarelado um pouco.
PA51	88-125	212-250	70% Ti - 30% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco mais frágil que as anteriores, esfarelado com mais facilidade.
PA52					
PA53					

Tabela 11. Continuação

CP	Granulometria ( $\mu\text{m}$ )		Proporção em Massa	Carga (Mpa)	Resultado e nota de observação.
	Ti	BA			
PA54	88-125	212-250	70% Ti - 30% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco mais frágil que as anteriores, esfarelado com mais facilidade.
PA55					
PA56					
PA57	88-125	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco mais frágil que as anteriores, esfarelado com mais facilidade.
PA58					
PA59					
PA60	88-125	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco mais frágil que as anteriores, esfarelado com mais facilidade.
PA61					
PA62					
PA63	88-125	212-250	60% Ti - 40% BA	300	Apresentou bom resultado de compactação. A amostra está manipulável e pouco mais frágil que as anteriores, esfarelado com mais facilidade.
PA64					

## ANEXO III. Comitê de Ética

Este é o ofício de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA/UFSC para a realização do atual trabalho.



**UNIVERSIDADE FEDERAL  
DE SANTA CATARINA**

**Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão  
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA**

Campus Prof. João David Ferreira Lima – CEP 88040-900  
Trindade - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil | [www.ceua.ufsc.br](http://www.ceua.ufsc.br) / +55 (48) 3721-9206

---

Ofício nº 109/CEUA/PRPE/2011

Do: Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA

Ao(à): Prof(a) Dr(a) Celso Peres Fernandes (matrícula UFSC 125312, SIAPE 1351027)

Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais – CTC

Prezado(a) Professor(a),

Em relação ao projeto de pesquisa “Caracterização de amostras de titânio com porosidade controlada e avaliação de sua integração com tecidos ósseos”, sob sua responsabilidade, a CEUA deliberou o seguinte:

- Os protocolos envolvendo uso de animais neste projeto estão em linhas gerais dentro dos padrões aceitos por esta CEUA e por esse motivo não há objeção na participação do docente orientador responsável pelo projeto, e de seu aluno de doutorado, Sr. Anderson Camargo Moreira, matrícula 200801511, nesta atividade de pesquisa, que será realizada no âmbito da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

- O presente projeto de pesquisa foi cadastrado na UFSC sob o número: 23080.016579/2010-65

Por ocasião da aprovação deste projeto de pesquisa na CEUA da UNIFESP, solicitamos uma cópia do certificado de credenciamento para arquivamento do processo local.

Atenciosamente,

---

Prof. Dr. Carlos Rogério Tonussi  
Comitê de Ética Para o Uso de Animais – PRPE - UFSC  
Presidente

## ANEXO IV. Publicações

Neste anexo encontram-se as publicações realizadas durante o período de doutoramento.

Artigos em Periódicos:

**MOREIRA, A.C.**, APPOLONI, C.R., FERNANDES, C.P. Gamma ray transmission technique applied to porous phase characterization of low-porosity ceramic samples. *Materials and Structures*, v. 46, p. 629-637, 2013.

**MOREIRA, A.C.**, ROUXINOL, R.L.M., SANTOS, P.A.A., RIBEIRO, A.A., BALESTRA, R.M., OLIVEIRA, M.V. Three-Dimensional Stochastic Modeling and X-Ray Microtomography Applied to Titanium Scaffolds: A Comparative Approach. *Materials Science Forum*, v. 727-728, p. 67-72, 2012.

**MOREIRA, A.C.**, APPOLONI, C.R., MANTOVANI, I.F., FERNANDES, J.S., MARQUES, L.C. NAGATA, R., FERNANDES, C.P. Effects of manual threshold setting on image analysis results of a sandstone sample structural characterization by X-ray microtomography. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 70, p. 937-941, 2012.

CUNHA, A.R., **MOREIRA, A.C.**, KRONBAUER, D., MANTOVANI, I.F., FERNANDES, C.P. Determinação de propriedades petrofísicas de rochas via simulação. Um caminho interdisciplinar. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, v. 34, p. 4315-1-4315-8, 2012.

**MOREIRA, A.C.**, APPOLONI, C.R., ROCHA, W.R.D. ; OLIVEIRA, L.F., FERNANDES, C.P., LOPES, R.T. Determination of the porosity and pore size distribution of SiC ceramic foams by nuclear methodologies. *Advances in Applied Ceramics*, v. 109, p. 416-420, 2010.

MURAT, K., DOGAN, B., ÖZDEMİR, Y., **MOREIRA, A.C.**, APPOLONI, C.R. Analysis of some Earth, Moon and Mars samples in terms of gamma ray energy absorption buildup factors: penetration depth, weight fraction of constituent elements and photon energy dependence. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 80, p. 354-364, 2010.



OLIVEIRA, M.V., RIBEIRO, A.A., **MOREIRA, A.C.**, MORAES, A.M.C., APPOLONI, C.R., PEREIRA, L.C. Comparison of Porosity Measurement Techniques for Porous Titanium Scaffolds Evaluation. *Materials Science Forum*, v. 660-661, p. 100-105, 2010.

MORAES, A.M.C., **MOREIRA, A.C.**, APPOLONI, C.R. Determinação de parâmetros físicos de amostras de cortiça por microtomografia computadorizada de raios X, microscopia eletrônica de varredura e transmissão de raios gama. *Avances en Análisis por Técnicas de Rayos X*, v. XV, p. 78-88, 2010.

DIÓGENES, A.N., SANTOS, L.O.E., FERNANDES, C.P., **MOREIRA, A.C.**, APPOLONI, C.R. Porous Media Microstructure Reconstruction Using Pixel-Based and Object-Based Simulated annealing Comparison with Other Reconstruction Methods. *Engenharia Térmica*, v. 8, p. 35-41, 2009.

#### Capítulo de Livro:

**MOREIRA, A.C.**, CAVALCANTE, F.H.M., PORTEZAN FILHO, O., APPOLONI, C.R. Determination of Hydraulic Conductivity of Undisturbed Soil Column: A Measurement Accomplished With the Gamma Ray Transmission Technique. In: Oagile Dikinya, Ivana Lorkovic, Teodora Smiljanic, Martina Sirotic. (Org.). *Developments in Hydraulic Conductivity Research*. Rijeka: Intech, 2011, v. , p. 195-212.

#### Artigo Aceito para Publicação:

FERNANDES, C.P., **MOREIRA, A.C.**, MANTOVANI, I.F., APPOLONI, C.R., FERNANDES, J.S., SOUZA, M.K., SANTOS, V.S.S. Caracterização do sistema poroso de rochas reservatório com microtomografia computadorizada de raios X. *Boletim de Geociências da PETROBRAS*, 2013.