

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS

**“ARCABOUÇO DE PLLA/HAP SINTERIZADO, COM POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO EM
REGENERAÇÃO DE TECIDO ÓSSEO”**

Março 2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS

Ana Paula Marzagão Casadei

“ARCABOUÇO DE PLLA/HAP SINTERIZADO COM POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO EM
REGENERAÇÃO DE TECIDO ÓSSEO”

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal
de Santa Catarina como parte dos requisitos para obtenção
do título de Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr.-Ing. Márcio Celso Fredel
Co-orientador: Prof. Dr. Luismar Marques Porto

Março 2009

ARCABOUÇO DE PLLA/HAP SINTERIZADO COM POTENCIAL PARA
UTILIZAÇÃO EM REGENERAÇÃO DE TECIDO ÓSSEO

ANA PAULA MARZAGÃO CASADEI

Esta tese foi julgada adequada para obtenção do título de Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

Prof. Dr.- Ing. Márcio Celso Fredel

Prof. Dr. Luismar Marques Porto

Prof. Dr. Carlos Augusto Silva de Oliveira
Coordenador do PGMat/UFSC

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Fernando Cabral, UFSC

Prof. Dra. Eliana Ap. de Rezende Duek, PUC (Sorocaba SP)

Prof. Dr. Armando José d'Acampora, UNISUL

Prof. Dr. Guilherme Barra, UFSC

Prof. Dr. Carlos Renato Rambo, UFSC

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	OBJETIVO GERAL	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1	O TECIDO ÓSSEO	14
3.1.1	Componentes do osso	15
3.1.2	Propriedades mecânicas do osso	16
3.2	A ENGENHARIA DE TECIDOS	17
3.3	ARCABOUÇOS	18
3.4	BIOMATERIAIS.....	20
3.4.1	Polímeros.....	22
3.4.2	Cerâmicas.....	27
3.4.3	Compósitos.....	33
3.5	PROCESSOS DE FABRICAÇÃO DE ARCABOUÇOS.....	36
3.6	O PROCESSO DE SINTERIZAÇÃO	36
4	MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1	MATERIAIS	39
4.2	ORGANIZAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	41
4.3	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	42
4.4	PROCESSO DE SINTERIZAÇÃO.....	43
4.5	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	44
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1	O PROCESSO DE SINTERIZAÇÃO	47
5.2	MICROESTRUTURA	51
5.2.1	Concentração das fases (PLLA/Hap).....	58
5.2.2	Forma da Hidroxiapatita	59
5.2.3	Tamanho de partículas do PLLA.....	60
5.3	POROSIDADE.....	61
5.4	PROPRIEDADES MECÂNICAS	64
6	CONCLUSÕES	70
7	SUGESTÕES.....	72
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 3-1 Ilustração dos elementos constituintes de um osteon.....	15
Figura 3-2 - Ilustração da microestrutura do tecido ósseo.....	16
Figura 3-3 - Rotas de síntese do polilactídeo e do poli (ácido láctico). (Dóí, 2002).....	25
Figura 3-4 - Ilustração de: (A) estrutura cristalina da Hap; (B) faces ac ou bc da Hap; e (C) posição dos íons OH ⁻ em uma partícula de Hap em forma de agulha (Tanaka, 2002).....	32
Figura 3-5 - Sinterização de um sistema de duas partículas esféricas. (a) crescimento de pescoço e mecanismos de difusão (1) do contorno de grão, por volume; (2) do contorno de grão, pelo contorno de grão; (3) da superfície, pela superfície e (4) da superfície, pelo volume. (b) crescimento de pescoço com aproximação de centro e parâmetros representativos: a é o raio da partícula; h o parâmetro de aproximação; x e s, os raios principais de curvatura do pescoço.	37
Figura 4-1 – Imagem das partículas de Hidroxiapatita obtidas por microscopia eletrônica de varredura.	40
Figura 4-2 - Imagem das fibras de Hidroxiapatita obtidas por microscopia eletrônica de varredura.	40
Figura 4-3 - Gráficos ilustrando as DRX da hidroxiapatita estequiométrica, da hidroxiapatita na forma de fibras e da hidroxiapatita na forma de partículas utilizadas nesse trabalho.	41
Figura 4-4 - Molde bipartido utilizado para sinterização dos corpos de prova fabricados para o experimento.....	43
Figura 4-5 - Forno projetado e fabricado no Núcleo de Materiais Cerâmicos e Vidros (CERMAT) do Departamento de Engenharia Mecânica/UFSC.	44
Figura 5-1 - Diferentes tempos de programação isotérmica para os diferentes grupos estudados.	49
Figura 5-2 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 106-212µm. Amostra EG-10%Hap partículas e EW-10%Hap fibras.	52
Figura 5-3 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 106-212µm. Amostra HG-20%Hap partículas e HW-20%Hap fibras.	53
Figura 5-4 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 106-212µm. Amostra KG-30%Hap partículas e KW-30%Hap fibras.	54
Figura 5-5 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 212-300 µm. Amostra FG-10%Hap partículas e FW-10%Hap fibras.	55
Figura 5-6 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 212-300 µm. Amostra IG-20%Hap partículas e IW-20%Hap fibras.	56
Figura 5-7 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 212-300 µm. Amostra IG-20%Hap partículas e IW-20%Hap fibras.	57
Figura 5-8 - Variação da porosidade em função da concentração de hidroxiapatita. Comparação entre duas formas de Hap, partículas e fibras.	63
Figura 5-9 - Variação da porosidade em função da concentração de hidroxiapatita. Comparação entre dois tamanhos de PLLA.....	64
Figura 5-10 - Gráfico mostrando o comportamento mecânico das amostras com PLLA na faixa granulométrica de 106-212 µm.	66
Figura 5-11 - Gráfico mostrando o comportamento mecânico das amostras com PLLA na faixa granulométrica de 212-300 µm.	66
Figura 5-12 - Gráfico mostrando o comportamento mecânico das amostras com Hap na forma de partículas.....	67
Figura 5-13 - Gráfico mostrando o comportamento mecânico das amostras com Hap na forma de fibras.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 3-1 - Propriedades mecânicas para ossos compactos e trabeculares. (Kokubo, 2003).....	17
Tabela 3-2 - Principais fosfatos de cálcio utilizados como biomateriais e na biomineralização.	29
Tabela 3-3 - Alguns processos estudados para fabricação de arcabouços biorreabsorvíveis	36
Tabela 4-1 - Organização do grupo experimental.....	42
Tabela 5-1 -Valores do tempo de programação isotérmica (T=185 °C) mínimo para as amostras estudadas	49
Tabela 5-2 -Valores de porosidade para cada amostra estudada e seus respectivos desvios padrão.	62
Tabela 5-3 - Valores de resistência mecânica média para cada amostra estudada e seus respectivos desvios padrão.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS

ASTM	= Sociedade Americana de Ensaio de Materiais (do inglês, <i>American Society for Testing and Materials</i>)
ATG	= análise termogravimétrica (do inglês, <i>thermogravimetry analysis</i>)
ATD	= análise térmica diferencial
ATS	= análise térmica simultânea
Ca	= cálcio
DP	= desvio padrão
H	= hidrogênio
Hap	= hidroxiapatita
MEV	= microscopia eletrônica de varredura
MM	= massa molar
O	= oxigênio
P	= fósforo
PLLA	= poli(L-ácido láctico)
PLLA/Hap	= compósito de poli(L-ácido láctico) e hidroxiapatita
Tg	= temperatura de transição vítrea (do inglês, <i>glass transition temperature</i>)
Tm	= temperatura de fusão (do inglês, <i>melting temperature</i>)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Márcio Celso Fredel, pela oportunidade, por aceitar este desafio e pela paciência nos momentos mais difíceis.

Ao meu co-orientador, Professor Luismar Marques Porto, pelo incentivo nos momentos oportunos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais - PGMAT, pelo apoio financeiro.

À Professora Eliana Duek, pela parceria e contribuição com o fornecimento de poli(L-ácido láctico).

Ao Professor Guilherme Barra, pelos ensinamentos valiosos e pela disponibilidade em esclarecer minhas dúvidas.

Ao Professor Fernando Cabral pela orientação na análise estatística e pelo apoio e amizade nas horas cruciais.

Ao Professor Carlos Renato Rambo pelas orientações e ensinamentos.

Ao professor Armando d'Acâmpora pela compreensão.

À amiga Tatiane Eufrásio da Silva, pela dedicação e amizade, pelo apoio, incentivo e cooperação em todas as etapas desse trabalho.

Aos amigos André Prette, Fabrício Dingee e Rafael Gonçalves de Souza pelas contribuições no desenvolvimento do experimento, confecção dos equipamentos, pelos conselhos, e ensinamentos e pela disponibilidade constante.

À amiga Nathália Turnes Rosa, pelo companheirismo e dedicação ao trabalho no laboratório e pela amizade em todos os momentos.

Ao amigo Mateus Vinícius Petry pela dedicação e companheirismo durante o trabalho no laboratório e pela amizade.

Aos amigos Pedro Henrique de A. Souza e Rodrigo Ullmann Corrêa pela dedicação e amizade.

À amiga Karoline Bastos Mundstock pela amizade e ensinamentos.

A todos os amigos do CERMAT, pela ajuda e pelos momentos de descontração.

Aos meus filhos, Andréa Carro, Ana Carolina Carro e Guilherme Casadei Carro pelo sacrifício, incentivo e confiança.

À minha mãe, pelo carinho e dedicação sempre.

RESUMO

Alguns arcabouços (*scaffolds*) são fabricados usando polímeros como os poliésteres que podem ser biodegradáveis e biorreabsorvíveis. Para se obter melhores propriedades mecânicas, arcabouços têm sido fabricados utilizando-se uma mistura de polímero e cerâmica. Um parâmetro importante em engenharia de tecido ósseo é porosidade e a interconectividade entre os poros. Nesse trabalho, o método de sinterização foi testado utilizando-se o compósito a base de poli(L-ácido láctico) e hidroxiapatita para obtenção de arcabouços porosos. A caracterização foi realizada utilizando-se microscopia eletrônica de varredura, análise de porosidade e teste de resistência à compressão. Utilizou-se para o PLLA duas faixas granulométricas, 106-212 e 212-300 μm . Para a hidroxiapatita foram utilizadas partículas nanométricas e fibras com razão de aspecto próximo a 40. As concentrações mássicas utilizadas para o compósito PLLA/Hap variaram nas proporções de 90/10, 80/20, 70/30%. A partir da combinação dessas variáveis, constituiu-se um grupo de estudo contendo 12 combinações diferentes. Os resultados obtidos mostraram que as amostras que utilizaram fibras de hidroxiapatita apresentaram tempo de programação isotérmica aproximadamente 4 vezes menor do que as amostras que utilizaram partículas. Esse tempo aumentou em função do aumento do tamanho de partícula polimérica devido à redução da energia de superfície e mobilidade atômica das partículas, e em função do aumento da concentração de hidroxiapatita, que atuou como barreira mecânica dificultando o processo de sinterização. Os resultados obtidos mostraram que é possível controlar o processo de sinterização para obtenção de matrizes tridimensionais. Foram obtidas amostras com poros interconectados, tamanho de poro variando entre 150 e 350 μm e porosidade entre 48 e 61%, sendo que as formulações que utilizaram partículas apresentaram maior porosidade. A resistência mecânica média variou entre 1,7 e 12MPa, valores semelhantes ao do osso trabecular, que varia entre 2 e 12MPa.

ABSTRACT

Some scaffolds are manufactured using polymers, like polyesters, that can be biodegradable and bioreabsorbable. An important parameter on bone tissue engineering is the porosity and so-called pores interconnectivity. In this work, a sintering method based on poly (L-lactic acid) and hydroxyapatite composite has been studied to obtain porous scaffolds. It is a process that enables the control of porosity and mechanical strength of materials processed. The characterization was realized using a scanning electron microscopy (SEM), porosity analysis and mechanical resistance to compression. It was used two tracks PLLA granularity, 106-212 and 212-300 μm . The hydroxyapatite particles size was smaller than 5 μm and fibers presented aspect ratio of close to 40. The composite PLLA / Hap concentrations varied in the proportions of 90/10, 80/20, 70/30%. From the combination of these variables, was formed a study group containing 12 different combinations. The results obtained has shown that samples using hydroxyapatite fibers presented isotherm time to approximately 4 times lower than the samples using particles. The time increases according to increase of polymer particles size due to reduction of surface energy and particles atomic mobility. The time increases due the hydroxyapatite concentration increase too. This occurs because the hydroxyapatite act as mechanical barriers hindering the sintering process. The results showed that is possible control the sintering process to obtain three-dimensional matrices. Samples were obtained with interconnected pores, pore size ranging between 150 and 350 μm and porosity between 48 and 61%. The strength ranged between 1,7 and 12MPa, similar to the cancellous bone values, which varies between 2 and 12MPa.

1 INTRODUÇÃO

O osso é um tecido altamente organizado que cumpre, entre outras finalidades, uma função estrutural no corpo humano. Para tanto é constituído de componentes que lhe conferem a capacidade de suportar diferentes formas de tensões, combinando rigidez e flexibilidade. Entretanto, como todo material, está sujeito a falhas, que podem ser desde dimensões microscópicas, facilmente recuperáveis uma vez que apresenta alta atividade metabólica, até lesões de proporções macroscópicas, difíceis de serem recuperadas sem a inclusão de material externo (enxertos). Nesse sentido, a ciência e a engenharia têm buscado estudar materiais que apresentem características similares às daquelas do osso, para preenchimento dessas falhas, que consiga cumprir a função de mantenedor do arcabouço estrutural do osso.

Dentro da Bioengenharia, as áreas que se dedicam ao estudo de biomateriais, buscam materiais que possam ser utilizados como substitutos temporários ou definitivos de partes ósseas de diferentes regiões do corpo.

Alguns materiais têm merecido a atenção por suas características que se assemelham às características do osso. Dentre esses, os polímeros, principalmente quando associados aos compostos inorgânicos como os fosfatos de cálcio, constituindo a classe dos compósitos. Essa combinação pode produzir um material, cujas características, se aproximam do tecido ósseo.

Diversos polímeros, entre eles os polihidroxibutiratos (PHB), polidioxanonas (PDS), poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), bem como seus copolímeros, vêm sendo estudados. Entre os materiais cerâmicos fosfo-cálcicos destacam-se as hidroxiapatitas e o fosfato tri-cálcico.

Além da utilização como materiais de substituição temporária em falhas ósseas, esses compósitos vem sendo testados para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos, ou fatores indutores de crescimento e diferenciação celular.

O tecido ósseo está organizado de forma a suprir necessidades estruturais de conformação e sustentação. Para tanto os ossos apresentam-se com formas e propriedades mecânicas altamente variáveis dependendo da solicitação de cada região.

Combinar diferentes materiais variando suas concentrações e forma de apresentação cria a possibilidade de se obter compósitos com diferentes propriedades, de maneira que, quando biocompatíveis, possam ser utilizados em diferentes regiões do corpo.

Existe um grande desafio ao se combinar diferentes materiais a fim de obter a interação desses com o meio biológico, que é minimizar reações indesejáveis, adequando o tempo de degradação e a taxa de crescimento tecidual no local de implantação.

Além da combinação adequada dos materiais, o método de processamento desses materiais para a obtenção de matrizes porosas é importante. O equilíbrio entre a estrutura porosa do material e a resistência mecânica adequada à região de implantação depende em grande parte do método de processamento utilizado.

Nesse trabalho utilizou-se o processo de sinterização para, através de diferentes combinações entre dois biomateriais, fabricar matrizes tridimensionais para utilização como arcabouço de substituição temporária de tecido ósseo. Para isso foi utilizada a associação de poli (ácido láctico) (PLLA), com hidroxiapatita (Hap), variando a concentração dos dois materiais, a forma da hidroxiapatita e o tamanho das partículas do PLLA. As amostras obtidas foram avaliadas do ponto de vista da microestrutura e resistência à compressão.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Desenvolver rota de processamento de arcabouços para utilização em engenharia de tecidos, com porosidade e resistência mecânica compatíveis com o tecido ósseo, pelo processo de sinterização, utilizando-se o compósito de PLLA/Hap.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Processar arcabouços compósitos à base de PLLA/Hap, utilizando-se o método de sinterização variando as concentrações mássicas dos componentes, a forma da Hap e o tamanho da partícula do PLLA.
- Analisar a influência da variação da concentração mássica, da forma da Hap e do tamanho da partícula do PLLA na microestrutura dos arcabouços processados.
- Analisar a influência da variação da concentração mássica, da forma da Hap e do tamanho da partícula do PLLA na resistência mecânica dos arcabouços processados.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O TECIDO ÓSSEO

O osso é uma variedade de tecido conjuntivo altamente especializado, com uma estrutura colágena mineralizada, responsável entre outras funções, pela sustentação esquelética do corpo. Por ser um tecido especializado para suportar pressões, sucede à cartilagem tanto na ontogênese como na filogênese (Ham, 1977).

Do ponto de vista da engenharia, o osso é um compósito que estruturalmente aparece constituído de uma matriz colágena (tipo I), reforçado por nano cristais de hidroxiapatita precipitados ao longo das fibras de colágeno. A parte mineral é responsável pela dureza do osso enquanto a matriz colágena é responsável pela flexibilidade (Willians *et al*, 1995).

Histologicamente, o osso consiste de um conjunto de células engastadas em uma matriz intercelular composta em parte por materiais orgânicos, cerca de 30-40% do seu peso seco principalmente colágeno, sendo os 60-70% restantes constituídos por sais inorgânicos ricos em cálcio e fosfato. Essa mistura confere ao osso propriedades importantes para o cumprimento de suas funções.

O tecido ósseo apresenta um metabolismo intenso e tanto sua forma quanto sua estrutura sofre influências de fatores genéticos, metabólicos e mecânicos. Os fatores genéticos garantem a determinação da forma primária dos diferentes tipos de ossos, o que os torna aptos a desempenhar diferentes funções no organismo (proteção, alavanca, suporte ou sustentação). Os fatores metabólicos influenciam o crescimento do osso em todos os estágios de desenvolvimento. A disponibilidade de cálcio, fósforo, vitaminas A, C e D, bem como a secreção das glândulas hipófise, tireóide, paratireóide, supra-renais e gônadas são essenciais à osteogênese. As influências mecânicas como, por exemplo, as solicitações musculares, ou ausência delas em casos de paralisias, interferem de forma positiva ou negativa no desenvolvimento ósseo, respectivamente (Willians *et al*, 1995).

O osso apresenta uma estrutura lamelar, que pode apresentar-se organizada de forma trabecular ou compacta. Essa estrutura lamelar é composta por uma malha de lamelas concêntricas regularmente distribuídas ao redor de canais ramificadores (canais de Havers) por onde circulam os vasos nutritivos. Esses canais se ramificam e comunicam-se com o exterior ou com a medula óssea, através de canaliculos conhecidos como canais de Volkmann (Turek, 1991).

Sistema haversiano é o nome que se dá à unidade estrutural do osso, em homenagem a Clopton Havers, que foi quem tentou definir originalmente a estrutura do osso, em 1691. Havers não descreveu a lâmina concêntrica em redor dos vasos. Essa

unidade estrutural, também chamada de *osteon* é composta por lâminas distribuídas concentricamente em redor dos canais de Havers. Esses canais são dirigidos segundo o eixo longitudinal do osso (Figura 3-1) (Ham,1977).

Os ossos, quaisquer que sejam suas formas, são compostos quase sempre por tecido compacto na periferia, e por osso trabecular e medula óssea no interior. O osso compacto consiste de uma massa óssea contínua, contendo canais vasculares microscópicos interligados. É composto por um grande número de sistemas haversianos, havendo entre eles lâminas intersticiais ou fundamentais que são remanescentes de sistemas haversianos que foram parcialmente reabsorvidos. A porção trabecular consiste de uma rede de trabéculas dispostas em formas diversas (sempre acompanhando as linhas de tensão do osso) preenchidas com medula óssea. (Willians *et al*, 1995).

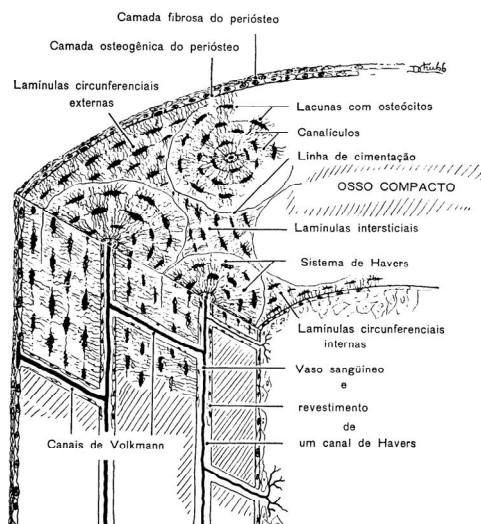


Figura 3-1 Ilustração dos elementos constituintes de um osteon.

3.1.1 Componentes do osso

Já foi afirmado que o tecido ósseo é constituído por um conjunto de células envolvidas numa matriz. Seus componentes serão agora descritos individualmente.

As células do osso podem ser de vários tipos, descritos a seguir; células osteoprogenitoras, que dão origem a várias outras células ósseas, osteoblastos que depositam osso, osteócitos dentro do osso, células que revestem o osso na sua superfície e osteoclastos que o desgastam (Willians *et al*, 1995).

3.1.2 Propriedades mecânicas do osso

Com o objetivo de compreender as propriedades mecânicas do osso, é importante compreender as suas fases componentes, bem como a relação entre elas nos vários níveis de sua organização estrutural hierárquica (Figura 3-2).

Segundo Rho *et al*, os diferentes níveis da estrutura óssea podem ser organizados da seguinte forma:

- macroestrutura: osso trabecular e osso cortical
- microestrutura (10-500 μm): sistema de Havers, *osteons*, trabéculas simples
- sub-microestrutura (1-10 μm): lamelas concêntricas
- nanoestrutura (~0,001-1 μm): fibrila colágena embebida de mineral
- sub-nanoestrutura (menor 0,001 μm): estrutura molecular dos elementos constituídos como proteínas orgânicas colágenas e não colágenas e minerais

Essa estrutura tem arranjo e orientação de seus componentes de forma irregular, porém organizada, fazendo do osso um material heterogêneo e anisotrópico (Rho *et al*, 1998)

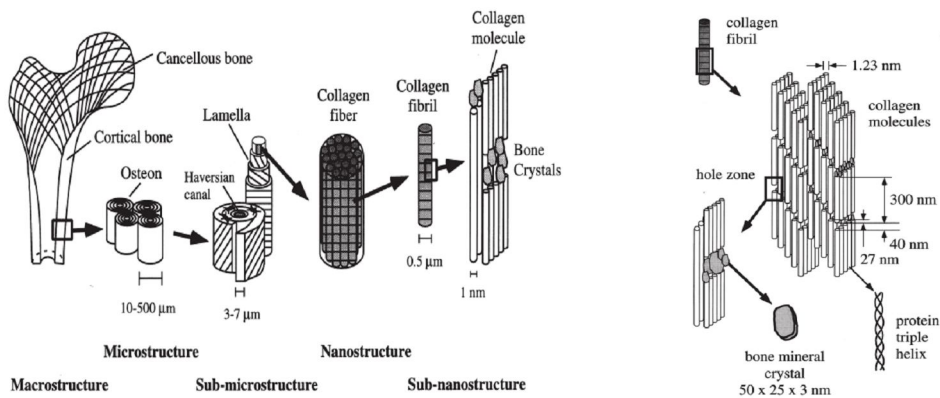


Figura 3-2 - Ilustração da microestrutura do tecido ósseo.

Enquanto material heterogêneo, o osso apresenta valores de resistência mecânica que variam para o osso trabecular e compacto. Por ser anisotrópico, essas tensões mecânicas também variam em função da direção de aplicação da força. A Tabela 3-1 ilustra alguns valores para forças aplicadas no sentido longitudinal do osso (Kokubo, 2003).

Tabela 3-1 - Propriedades mecânicas para ossos compactos e trabeculares. (Kokubo, 2003).

	Resistência (MPa)			Mód. de elasticidade (GPa)
	Compressão	Tração	Flexão	
Osso compacto	100-230	78-150	50-150	7-30
Osso trabecular	2-12	-	-	0,05-0,5

3.2 A ENGENHARIA DE TECIDOS

A engenharia de tecidos consiste em um conjunto de conhecimentos e técnicas utilizadas para reconstrução de novos órgãos e tecidos. Como um campo multidisciplinar, envolve conhecimentos das áreas das ciências biológicas e médicas, bem como da engenharia de materiais (Langer e Vacanti, 1993; Barbanti *et al*; 2005).

Desde a última década, a engenharia de tecidos vem mostrando progressos no desenvolvimento de alternativas viáveis para procedimentos cirúrgicos para tecido ósseo, implantes e próteses. Graças aos avanços na tecnologia dos materiais, é possível para os médicos utilizarem células do próprio paciente para reparar defeitos, como falhas ósseas ou lesões de cartilagem. Com o objetivo de possibilitar o crescimento tridimensional de tecidos, arcabouços (*scaffolds*) feitos de materiais poliméricos ou compósitos biodegradáveis e biorreabsorvíveis, e que atuam como suportes estruturais temporários, vêm sendo desenvolvidos recentemente. Apesar de materiais metálicos e algumas cerâmicas serem amplamente aceitos no uso de materiais para implantes, o fato de serem não degradáveis e não reabsorvíveis, obrigando o paciente se submeter a uma segunda intervenção cirúrgica, tem limitado sua utilização (Cheung, 2007).

Existem três ingredientes essenciais para a morfogênese na engenharia de tecidos, que são os componentes celulares, os fatores de crescimento e diferenciação celular, e a matriz ou arcabouço tridimensional. Os componentes celulares devem estar presentes e serem capazes de originar um novo tecido estruturado. Podem ser introduzidos a partir de uma fonte celular exógena, ou serem recrutados no sítio do implante; os fatores de crescimento e diferenciação celular são essenciais para guiar o desenvolvimento adequado dos componentes celulares, e podem ser produzidos por células transferidas para o sítio do implante, ou agentes exógenos como as proteínas purificadas; a matriz tridimensional deve funcionar como substrato para a fixação, proliferação e diferenciação celular (Ellingsen, 2003).

No caso do tecido ósseo, o processo de preenchimento de falhas ósseas por matrizes tridimensionais ou arcabouços que possibilitem formação de novo osso no

local pode ocorrer por dois mecanismos distintos, a osteocondução e a osteoindução. No primeiro, o arcabouço funciona como um agente condutor passivo que vai se degradando gradativamente e sendo substituído por osso novo que cresce a partir das margens da falha; no segundo mecanismo, ocorre recrutamento de células imaturas, que são atraídas para o sítio do implante por agentes bioativos, onde sofrerão diferenciação em células osteoprogenitoras e posteriormente osteoblastos, que são células encarregadas da produção de matriz óssea que dará origem ao tecido ósseo maduro (Ellingsen, 2003).

3.3 ARCABOUÇOS

Arcabouço é a tradução do inglês para a palavra *scaffold*, que é um suporte, veículo de liberação, ou matriz que facilita a migração, adesão ou transporte de células ou moléculas bioativas utilizadas para substituir, reparar ou regenerar tecidos (ASTM F2312).

A principal função de um arcabouço é atuar temporariamente como suporte que possibilita a transferência de estresse ao longo do tempo em regiões do corpo com lesões, facilitando e guiando o crescimento celular até a completa regeneração tecidual. Para alcançar esse objetivo é necessário que o arcabouço mantenha morfologia e propriedades mecânicas adequadas ao longo de todo o processo regenerativo, até que a região da lesão esteja totalmente recuperada (Nair, 2007; Cheung, 2007).

Um ótimo arcabouço para engenharia de tecido ósseo deve atuar como um modelo tridimensional para o crescimento ósseo *in vitro* e *in vivo*. Para alcançar esse objetivo o arcabouço deve consistir de uma rede de poros interconectados em escala micrométrica e nanométrica para permitir o transporte de fluido corpóreo através dos poros, a migração celular e vascular, e o consequente crescimento tecidual no local (Stylios, 2007).

Para a utilização de um material no desenvolvimento de arcabouços, a biocompatibilidade é uma característica fundamental em engenharia de tecidos, pois garante que o material é seguro para uso no corpo humano, não induzindo respostas inflamatórias, reações imunes extremas e também não exercendo efeitos tóxicos sobre as células, tecidos ou órgãos. Como o material implantado no corpo humano deve permanecer ali por um determinado tempo, os subprodutos originados de sua interação com o meio não devem produzir qualquer efeito nocivo ao corpo. Para tanto, um requisito básico é que seja degradado naturalmente ao longo do tempo e absorvido pelo

corpo sem gerar efeitos colaterais. Esse processo permite que o organismo recupere sua funcionalidade gradualmente evitando a instalação de sequelas. Com relação a esses dois fenômenos degradação e absorção, entende-se que o material pode se decompor naturalmente, mas seus subprodutos irão permanecer no interior do corpo humano. Para materiais biorreabsorvíveis, o produto da degradação, além de ser um material não tóxico poderá ser incorporado e eliminado por rotas metabólicas normais, sem deixar resíduo algum (Barbanti, 2005).

Os arcabouços devem ser no mínimo biodegradáveis, permitindo que a matriz extracelular ocupe o espaço vazio enquanto o material é degradado. Existem duas formas de degradação química, a degradação hidrolítica, ou simplesmente hidrólise que é mediada somente pela água, e a degradação enzimática, que é mediada principalmente por agentes biológicos, como as enzimas (Cheung, 2007).

Dois outros fatores são fundamentais no processo de degradação, e estão diretamente relacionados, que são a porosidade e a superfície do arcabouço. O tamanho e a forma dos poros podem interferir na atividade celular, aumentando-a ou inibindo-a.

Uma matriz preparada para utilização como *scaffold*, deve ser suficientemente porosa para difundirem nutrientes e permitir a eliminação de resíduos; esses poros devem apresentar interconectividade, para favorecer a difusão celular, bem como, possibilitar que estas expressem suas atividades metabólicas. A literatura tem apresentado trabalhos com resultados positivos para regeneração óssea, com tamanhos de poros variando entre 100 e 250 μm . (Whang *et al*; 1995) e 100 e 400 μm (Yoneda *et al*, 2005). No caso de arcabouços com finalidade de liberação de fármacos, poros variando entre 150 e 200 μm mostraram resultados positivos (Kim *et al*, 2004). Oliver *et al*, sugerem que, com a finalidade de penetração celular em camadas profundas de implantes, o tamanho ótimo de poros interconectados deve variar entre 150 e 500 μm com interconectividade maior que 40 μm (Oliver *et al*, 2004).

Existe ainda outro fator importante que é a integridade mecânica. Um arcabouço atua como suporte físico temporário no sítio de implantação, resistindo às tensões externos e internos na região. Dessa forma as propriedades mecânicas do arcabouço devem ser similares ao tecido neoformado e no final do processo de regeneração, toda carga suportada pelo arcabouço será transferida para o tecido neoformado, que ocupará o local do arcabouço degradado (Cheung, 2007).

Atualmente, diversos estudos visando o desenvolvimento de arcabouços para regeneração guiada de tecidos têm sido realizados. No entanto, as propriedades que um

arcabouço desse tipo deve possuir são dependentes intimamente das propriedades dos seus materiais componentes, dessa forma a escolha do material adequado a fim de suprir as necessidades do tecido que se pretende substituir, ainda é um grande desafio para a engenharia de tecidos.

3.4 BIOMATERIAIS

Uma das áreas de estudo dentro da ciência e engenharia dos materiais é aquela que se dedica à identificação e conhecimento de materiais naturais ou sintéticos, adequados ao uso em meio biológico. A essa categoria de materiais dá-se o nome de biomaterial.

Segundo a Conferência de Consenso em Biomateriais para Aplicações Clínicas realizada em 1982, os biomateriais são definidos como toda substância (com exceção de drogas ou fármacos) ou combinação de substâncias, de origens naturais ou sintéticas, que durante um período de tempo indeterminado, são empregados como um todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais. Assim, é um material não-tóxico usado como aparelho médico caracterizado por interagir com sistemas biológicos (WILLIAMS, 1987).

Existe uma grande gama de materiais que podem ser utilizados como biomateriais, sendo que cada um deles pode apresentar propriedades que irão classificá-los de diferentes maneiras, dependendo das funções que deverão desempenhar no local de inclusão. A primeira classificação diz respeito ao tempo de permanência no local, e dessa forma podem ser de utilização temporária ou permanente.

É imprescindível que esse biomaterial seja biocompatível, ou seja, quando colocado no meio fisiológico, o mesmo não deve provocar reações que comprometam a função do órgão ou tecido que o está recebendo. Isto significa que, frente aos processos metabólicos fisiológicos do meio no qual ele será inserido, deve assumir um comportamento no mínimo bioinerte. Alguns biomateriais, devido às suas características, muitas vezes apresentam alguma semelhança com elementos presentes, os quais passam a assumir um papel de mediador no processo interativo com o meio. Por conta dessa capacidade interativa recebem o nome de bioativos.

Nos casos em que o biomaterial tiver função temporária no organismo, é interessante que o mesmo seja biodegradável. Esse termo é utilizado para dispositivos sólidos que devido à degradação macromolecular sofrem dispersão *in vivo*, mas sem a eliminação de subprodutos pelo organismo. Tais dispositivos podem ser atacados por

elementos biológicos, afetando a integridade do sistema, dando origem a outros subprodutos de degradação que podem ser removidos do seu local de ação, mas não necessariamente do organismo. O material pode também ser biorreabsorvível, que são materiais sólidos que apresentam degradação através da diminuição de tamanho. Neste caso são reabsorvidos *in vivo* e totalmente eliminados por rotas metabólicas do organismo, refletindo eliminação total do material, e seus subprodutos, sem efeitos colaterais (Barbanti, 2005).

Um material bioativo pode atuar simplesmente como elemento de preenchimento temporário guiando a atividade celular local. Nesse caso assume um papel biocondutor no processo. Existem situações em que o material bioativo, além de atuar como guia, apresenta propriedades que interferem com a cinética metabólica local, acelerando o processo de reconstrução. Neste caso, o material assume função bioindutora.

O que define a classificação de um biomaterial em uma ou várias das categorias mencionadas acima, são as propriedades químicas e físicas de cada material. Entre elas pode-se citar o peso molecular, a resistência mecânica, propriedades elétricas entre outras.

No caso do tecido ósseo, as propriedades mecânicas devem ser levadas em consideração, principalmente aquelas como a resistência às tensões trativas e compressivas e o comportamento elástico. Outro fator importante no caso de materiais biodegradáveis é a cinética de degradação. Essa deve ser compatível com a cinética de formação óssea da região aonde será implantado o biomaterial.

Ao se buscar materiais para implantação em tecido ósseo, além de cumprir todos os requisitos acima, esse material deve ainda possuir a capacidade de manter uma forma previamente dada, para atender as diferentes áreas de utilização e apresentar também resistência a processos de esterilização, sem perder suas propriedades originais.

Materiais de origem natural ou sintética têm sido desenvolvidos para criar substitutos de tecido ósseo. Segundo Oliver *et al*, (2004) esses materiais são utilizados em 10% dos procedimentos de enxertos ósseos. Esses materiais são geralmente osteocondutores e, portanto, não induzem a formação óssea. A adição de elementos biológicos como fatores de osteoindução ou células osteogênicas vêm sendo investigados (Oliver *et al*, 2004).

Atualmente as pesquisas com materiais para substituição de tecido ósseo têm mostrado uma tendência na direção do estudo com polímeros, uma vez que muitos deles

atendem a maioria dos requisitos recém elencados, principalmente quando combinados entre si, seja em nível de síntese (co-polímeros) ou misturas (blendas), podendo ainda ser utilizados na forma de compósitos, misturados a compostos inorgânicos (Park, 2002; Nair, 2007; Cheung, 2007; Papkov, 2007; Liu, 2007).

Alguns materiais incluindo aço inox, ligas de cromo-cobalto, titânio e suas ligas, e cerâmicas estruturais como alumina ou zircônia, além de serem mais fortes do que o osso que vão substituir, principalmente são mais duras. Essa diferença na dureza é a gênese das principais falhas nos implantes. O osso vivo responde ao seu meio, e implantes que são mais duros que o osso, recebem uma grande proporção da carga, isolando o tecido em redor do implante do seu nível normal de stress. O resultado desse isolamento do stress é que ocorre reabsorção no tecido em redor do implante e a perda do implante com o passar do tempo, levando à necessidade de uma nova cirurgia. A fim de superar essas limitações, nos últimos anos têm crescido o interesse no desenvolvimento de compostos orgânicos/inorgânicos fortes, que combinariam a flexibilidade, tenacidade, e birreabsorção de um polímero, e resistência dureza e osteocondutividade de uma cerâmica (Neuendorf, 2008).

3.4.1 Polímeros

Polímeros são moléculas de cadeia longa constituídas de um número de pequenas unidades de repetição. Estas unidades de repetição ou “meros” diferem das pequenas moléculas utilizadas no procedimento de síntese, os monômeros, pela perda da insaturação ou a eliminação de pequenas moléculas como água, por exemplo, durante a polimerização. A exata diferença entre o monômero e a unidade de mero depende do modo de polimerização (Ratner *et al*, 1996).

Polímeros são materiais amplamente utilizados em enxertia óssea e uma variedade de aplicações médicas graças a sua biocompatibilidade, flexibilidade de design, disponibilidade de grupos funcionais, leveza e alto rendimento. Eles podem ser divididos em duas categorias: biodegradáveis e não biodegradáveis. O colágeno, a gelatina, poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), seus copolímeros, poli(E-caprolactona) possuem propriedades mecânicas razoáveis, e são excelentes exemplos de polímeros biodegradáveis pois possibilitam algum controle da taxa de degradação *in vivo* e seus sub-produtos apresentam caráter não tóxico. Poli(etileno), poli(etileno teraftalato) e poli(metil-metacrilato) são exemplos de polímeros não biodegradáveis.

Entretanto, a maioria dos materiais poliméricos não exhibe a propriedade de bioatividade (Stylios, 2007).

Biopolímeros naturais

Vários polímeros naturais vêm sendo usados como biomaterial em engenharia de tecido, entre os quais o colágeno, a gelatina, alguns polissacarídeos (alginato, agarose, quitosana, ácido hialurônico) e a fibrina (Lee, 2007). Entretanto, a antigenicidade, o desenvolvimento de respostas imunológicas e o risco de transmissão de doenças infecciosas são fatores limitantes para sua larga aplicação em engenharia de tecidos (Saito, 2005).

Biopolímeros sintéticos

Polímeros sintéticos são amplamente utilizados como biomaterial para uma larga demanda de aplicações clínicas. Aparentemente, podem ser modulados por vários caminhos, e suas propriedades podem ser controladas por modificações químicas em sua estrutura. Apresentam boa manufaturabilidade, podendo ser produzidos em larga escala. Os poli(α -hidroxi ésteres) como o poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico) e seus co-polímeros, são os mais amplamente investigados em engenharia de tecidos, devido a sua biocompatibilidade e aprovação no FDA, para aplicações clínicas (Lee, 2007). Esses biomateriais poliméricos são utilizados há mais de 20 anos, desde sua introdução como suturas (Hollinger, 1990). Tanto na área médica como na odontológica são usados ainda como materiais para próteses, implantes, dispositivos extracorpóreos, encapsulantes, sistemas de liberação de fármacos, produtos de engenharia de tecidos, etc (Park, 2002). Atualmente, vêm se destacando como materiais de substituição temporária de osso, como dispositivos de fixação de fraturas, além de matrizes para liberação de fatores de crescimento, ou liberação de fármacos (An *et al*, 2000; Saito, 2005; Lee, 2007).

As principais vantagens dos biomateriais poliméricos, comparados aos metais ou cerâmicos são a facilidade para produzir diferentes formas, fácil processabilidade, custo razoável e acessibilidade às propriedades físicas desejadas (Park, 2002). Outra vantagem que alguns biopolímeros apresentam é a propriedade de se degradarem em meio biológico, podendo ser quebrado em fragmentos menores por hidrólise, com ou sem o auxílio de enzimas. Os poliésteres alifáticos lineares como os polilactídeos, os poliglicolídeos, os policaprolactonas, polihidroxibutiratos e seus copolímeros são exemplos de polímeros sintéticos biodegradáveis (Dóí, 2002).

Materiais poliméricos biodegradáveis vêm sendo investigados no desenvolvimento de dispositivos terapêuticos como próteses temporárias, estruturas

porosas tridimensionais como arcabouços para a engenharia de tecidos e para aplicações farmacológicas, como sistemas de liberação de fármacos. Algumas aplicações biomédicas para polímeros degradáveis são implantes grandes como placas, parafusos e reservatórios contraceptivos, pequenos implantes como grampos, fios de sutura e nano ou micro veículos liberadores de fármacos, membranas para regeneração guiada de tecidos e estruturas porosas ou malhas de multifilamentos para engenharia de tecidos (Nair, 2007).

Alguns fatores estruturais interferem com a degradabilidade de biomateriais poliméricos, entre eles, tamanho do implante, tipo de material, peso molecular, fase (cristalina ou amorfa), porosidade do material, presença de aditivos ou impurezas, mecanismo de degradação, sítio de implantação, tensões sofridas na região do implante, idade do hospedeiro, a estrutura química da cadeia principal e dos grupos laterais dos polímeros, o estado de agregação, o balanço hidrofílico/hidrofóbico, a área de superfície e a morfologia (An *et al.*, 2000; Park, 2002).

O poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA) e seus co-polímeros (PLGA) degradam por hidrólise e seus produtos de degradação são eliminados do organismo como dióxido de carbono e água (Whang *et al.*; 1995). Essa propriedade coloca esses biopolímeros na classe daqueles conhecidos como biorreabsorvíveis.

Poli-ácido láctico (PLA)

O poli (ácido láctico) é um biomaterial polimérico da família dos poliésteres alifáticos do tipo poli(α -hidróxi-ácidos). Os PLAs podem ser sintetizados por dois mecanismos distintos que são a policondensação do monômero ácido láctico (2-hidroxi-ácido propiônico), ou polimerização por abertura de anel do monômero lactídeo (nome IUPAC 3,6 dimetil-1,4 dioxano-2,5 diona), o qual é obtido pela dimerização do ácido láctico (Figura 3-3). O ácido láctico é opticamente ativo e apresenta duas formas isoméricas, L (levógiro) e D (dextrógiro). De acordo com as duas formas seus homopolímeros possuem estereoisômeros específicos, o PLLA e o PDLA, respectivamente. A estrutura altamente organizada desses polímeros inclui os seguintes parâmetros: cristalinidade, espessura cristalina, estrutura do cristal, morfologia e tamanho do esferulito e orientação molecular. As propriedades físicas, comportamento de biodegradação e hidrólise dos PLAs podem ser controladas por alterações nos parâmetros citados acima. (An *et al.*, 2000; Doi, 2002; Hollinger, 1995).

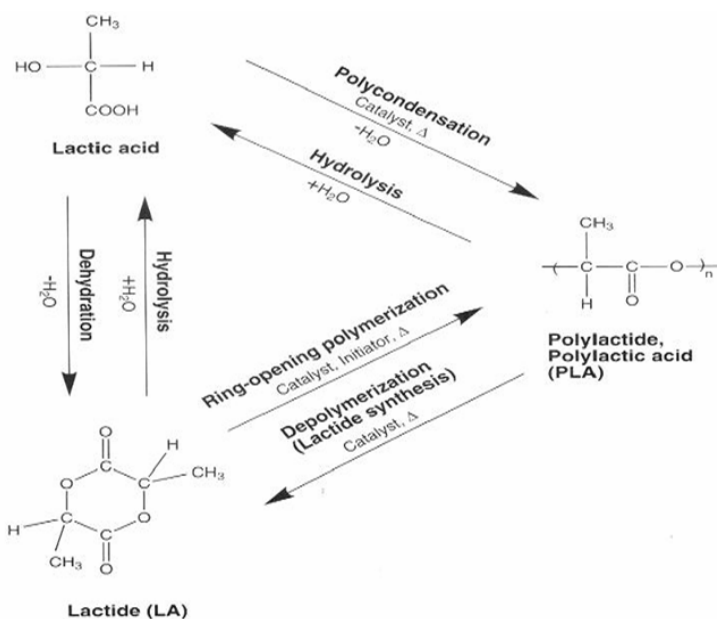


Figura 3-3 - Rotas de síntese do polilactídeo e do poli (ácido láctico). (Doi, 2002).

Nas últimas décadas, os polilactídeos, os poli (ácido láctico) (PLA) e seus co-polímeros, têm sido vistos como materiais atrativos para funcionarem como matriz extracelular em implantes, pois apresentam propriedades mecânicas comparáveis aos polímeros comerciais como os polietilenos, polipropilenos e poliestirenos, além de serem degradáveis no meio biológico (Doi, 2002).

Esses polímeros são considerados como um biomaterial polimérico totalmente degradável, sendo transformado em ácido láctico, substância já presente naturalmente no organismo humano e que é eliminado do corpo por caminhos metabólicos naturais. Além disso, o PLLA apresenta uma conformação em hélice de cadeias poliméricas, assim como o colágeno presente na fase orgânica do tecido ósseo. A configuração do PLLA contribui para que o mesmo apresente um alto percentual de cristalinidade, o que confere a ele boas propriedades mecânicas e degradação relativamente lenta no meio corpóreo (Hollinger, 1995; Doi, 2002).

Para serem usados clinicamente em cirurgias ortopédicas, craniofaciais e bucomaxilofaciais, esses polímeros biorreabsorvíveis podem ser divididos em duas categorias, semi-cristalinos, que apresentam alta resistência, e amorfos, que apresentam baixa resistência. É necessário que esses materiais apresentem resistência inicial maior que a do osso, e que mantenham essa resistência até a regeneração óssea (Shikinami, 1999).

Propriedades

Quanto às propriedades físicas do PLLA merecem destaque as térmicas e as mecânicas. Com relação às propriedades térmicas, a temperatura de fusão, de transição vítrea e a entalpia de fusão, são fatores muito importantes, refletindo na organização estrutural, na fração de região cristalina, no empacotamento da cadeia polimérica das regiões amorfas. Com relação às propriedades mecânicas, são fundamentais, e podem ser controladas pela variação de parâmetros como, características moleculares, organização estrutural, porosidade, preparação de blendas, etc (Doi, 2002).

O PLLA possui uma temperatura de transição vítrea (T_g) entre 50-65°C e temperatura de fusão (T_m) entre 170-190°C. Na presença de umidade, o PLLA apresenta estabilidade térmica limitada. Porém, sob ambiente seco, apresenta uma faixa de temperatura de processamento entre 170-250°C (Doi, 2002; Hollinger, 1995; Nair, 2007).

Na temperatura ambiente, PLLA de alta massa molecular é solúvel em solventes que possuem valores de parâmetro de solubilidade na faixa de 19-20.5 $J^{0.5} cm^{-1.5}$, tais como clorofórmio, dicloreto de metileno, dioxano e benzeno. Os PLLA não são solúveis em alcoóis, tais como metanol e etanol (Doi, 2002).

O PLLA apresenta grupos do tipo éster que tendem a sofrer hidrólise, fazendo com que se degrade em oligômeros ou monômeros, os quais são solúveis em água (Doi, 2002). Entretanto, as cadeias moleculares das regiões cristalinas são mais resistentes à hidrólise em relação àquelas das regiões amorfas, pois as regiões amorfas possuem um maior volume livre entre as cadeias em relação às regiões cristalinas, o que facilita a difusão do meio responsável pela hidrólise. Por esse motivo, o primeiro estágio de degradação hidrolítica do PLLA ocorre nas suas regiões amorfas, sendo que os segmentos de cadeia que permanecem não degradados adquirem maior espaço e mobilidade, ocorrendo uma reorganização das cadeias e um aumento da cristalinidade do polímero. No segundo estágio, ocorre degradação hidrolítica nas regiões cristalinas, o que promove um aumento na taxa de perda de massa do polímero. Após o segundo estágio de degradação, os fragmentos do polímero são eliminados por rotas metabólicas do organismo, permitindo que o material seja completamente reabsorvido (Södergard e Stolt, 2002). Como o produto da degradação do PLA é o ácido láctico que existe naturalmente no metabolismo dos animais, em tese o produto liberado dessa degradação não apresenta toxicidade suficiente para produzir resposta inflamatória significativa. Entretanto, no caso do uso de PLLA puro observou-se experimentalmente, em implantes realizados em coelhos, que a instabilidade hidrolítica leva à reação

heterogênea e irregular, possibilitando a liberação de macro fragmentos de PLLA que resultaram em picos de irritação física, podendo levar a respostas inflamatórias indesejáveis no local do implante (Shikinami *et al*; 2005).

Acredita-se que as reações devido à liberação de produtos de degradação ácidos possam ser minimizadas pela presença de produtos básicos como HA e o TCP; essas cerâmicas retardariam a degradação do polímero (Mano *et al*, 2004). Estudos têm demonstrado que quando se usam dispositivos compósitos, onde a matriz de PLA está combinada à micro-moléculas de hidroxiapatita, o que se observa, é a liberação de pequenas quantidades de fragmentos de material degradado, que não provocam respostas adversas *in vivo*. A presença da hidroxiapatita modula a degradação do polímero em pequenos oligômeros incapazes de provocar respostas inflamatórias (Shikinami *et al*; 2005).

Comparado ao PGA, que apresenta índice de degradação bastante rápido no organismo (da ordem de meses), o PLA embora também degrade, o faz bem mais lentamente, podendo levar até 2 anos para degradar-se totalmente (Rezende, Duek; 2003). Esse fato se deve à presença de um grupo metil adicional na estrutura do PLA que o torna bem mais hidrofóbico que o PGA. A degradação do PLA também depende do seu grau de cristalinidade, que quanto maior mais estável, conseqüentemente, de degradação mais lenta. Entretanto, co-polímeros de PLA e PGA não apresentam índices de degradação intermediária, mas sim maiores que o PGA puro (Mano *et al*, 2004; Park, 2002).

Pelas características estruturais já citadas anteriormente, bem como pela rota metabólica desenvolvida durante o processo de degradação, pode-se dizer que o PLLA é um biomaterial polimérico que apresenta grande potencial para ser utilizado na reconstrução de tecido ósseo. No entanto, uma desvantagem de seu uso puro é o caráter heterogêneo de sua degradação. Nesse sentido, para melhorar as características de degradabilidade, tornando-a mais homogênea, compósitos à base de PLLA e hidroxiapatita (HA) têm sido desenvolvidos como opção preferencial para reconstrução de tecido ósseo (Shikinami *et al.*, 2005).

3.4.2 Cerâmicas

São compostos constituídos por elementos metálicos e não metálicos que apresentam ligações iônicas e covalentes. A palavra cerâmica vem do grego *keramikos*, que significa “matéria prima queimada”, o que indica algum tipo de tratamento térmico para se atingir as propriedades desejáveis desses materiais (Calister, 2002). São

refratárias, policristalinas, geralmente inorgânicas, incluindo os silicatos, óxidos metálicos, carbetos, sulfetos, etc (Park, 2002). Nos últimos cem anos, inovações tecnológicas no processo de fabricação de cerâmicas têm possibilitado sua utilização como material de alta tecnologia (Park, 2002).

Biocerâmicas

Nas últimas décadas, o homem tem percebido que as cerâmicas e seus compósitos também podem ser utilizados como material de suporte ou substituição de várias partes do corpo, particularmente o tecido ósseo, essas cerâmicas passaram a ser denominadas biocerâmicas (Park, 2002).

Os biocerâmicos se destacam por serem mais biocompatíveis que qualquer outro biomaterial, apresentando como desvantagem a baixa resistência a fratura e ausência de ductilidade. Cerâmicas constituídas de fosfato de cálcio, sílica, alumina, zircônia e dióxido de titânio são utilizados atualmente para várias aplicações médicas devido a sua interação positiva com os tecidos humanos (Habraken, 2007). Entre os biocerâmicos mais utilizados destacam-se a alumina (Al_2O_3), a zircônia (ZrO_2) e os materiais fosfocálcicos (CaP), sendo os dois primeiros bioinertes e os fosfatos de cálcio, em grande parte bioativos.

Segundo Shikinami (1999), as biocerâmicas podem ser divididas em três categorias: as bioinertes como a alumina e a zircônia; as de superfície bioativa, como as hidroxiapatitas sinterizadas, bioglass; e as biorreabsorvíveis, tais como as hidroxiapatitas não calcinadas ou sinterizadas, α - ou β -tri-cálcio fosfato (TCP), octacálcio fosfato, etc (Shikinami, 1999).

Uma grande vantagem dos fosfatos de cálcio, além da bioatividade, é a semelhança composicional com a fase mineral do tecido ósseo. A maior parte dos materiais fosfocálcicos utilizados na obtenção de implantes ósseos são ortofosfatos de cálcio, sendo assim denominados por possuírem o grupo ortofosfato (PO_4) na sua composição (Silva, 2004).

Os ortofosfatos de cálcio, em geral, podem ter bom desempenho como biomateriais e desempenham um importante papel em processos químicos *in vivo* e *in vitro*, contudo a hidroxiapatita (HAp) é o fosfato de cálcio (CaP) mais interessante para as aplicações biomédicas devido a sua composição similar ao tecido ósseo. A Tabela 3-2 apresenta os principais CaPs divididos em duas categorias: CaPs obtidos por precipitação em sistemas aquosos (baixas temperaturas) e CaPs obtidos por tratamentos térmicos (temperaturas elevadas) (Santos, 2006; Junior, 2005; Silva, 2004;).

Tabela 3-2 - Principais fosfatos de cálcio utilizados como biomateriais e na biomineralização.

Nome	Fórmula	Razão Ca/P	Designação
Fosfato monocálcio anidro ^b	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0,50	MCPA
Fosfato monocálcio monohidratado ^a	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .H ₂ O	0,50	MCPM
Fosfato dicálcio anidro, monetita ^a	CaHPO ₄	1,00	DCPA
Fosfato dicálcio di-hidratado, brushita ^a	CaHPO ₄ .2H ₂ O	1,00	DCPD
Fosfato octacálcico ^a	Ca ₈ (HPO ₄) ₂ (PO ₄) ₄ .5H ₂ O	1,33	OCP
α-Fosfato tricálcico ^b	α-Ca ₃ (PO ₄) ₂	1,50	α-TCP
β-Fosfato tricálcico ^b	β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	1,50	β-TCP
Hidroxiapatita deficiente em cálcio ^a	Ca _{10-x} (HPO ₄) _x (PO ₄) _{6-x} (OH) _{2-x} (0<x<1)	1,50-1,67	CDHA
Hidroxiapatita sinterizada ^b	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	1,67	HAP
Fosfato de cálcio amorfo ^a	Cax(PO ₄) _y .nH ₂ O	1,20-2,20	ACP
Fosfato tetracálcico ^b	Ca ₄ (PO ₄) ₂ O	2,00	TTCP

*Adaptação de (Santos, 2006; Junior, 2005; Silva, 2004;).

a Obtido por precipitação em meio aquoso a baixa temperatura

b Obtido por tratamento térmico a elevadas temperaturas

A seguir a hidroxiapatita será descrita com mais detalhes a respeito de suas características e propriedades, por ser o material utilizado nesse trabalho.

Hidroxiapatita

As cerâmicas de fosfato de cálcio têm merecido lugar de destaque na área médica por apresentarem ausência de toxicidade local ou sistêmica e ausência de respostas de corpo estranho ou inflamações por parte do tecido. Tal comportamento positivo pode ser explicado pela natureza química destes materiais, os quais são formados basicamente por íons cálcio e fosfato que participam ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica. As cerâmicas de fosfato de cálcio têm propriedades osteocondutivas, ou seja, permitem a migração de células osteogênicas e o consequente crescimento ósseo na superfície e através dos poros do material (Kawachi *et al.*, 2000; Olivier *et al.*, 2004).

Dentre as cerâmicas de fosfato de cálcio, a hidroxiapatita, Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, com razão Ca/P igual a 1,67, por ser o principal componente presente na fase mineral dos ossos é, sem dúvida, a mais estudada e a mais utilizada para as finalidades clínicas. É o material fosfocálcico mais estável e menos solúvel (Silva, 2004). Outros compostos de cálcio podem estar inclusos em pequenas quantidades na HAp, a citar o carbonato, o fluoreto, o hidróxido e o citrato de cálcio (Santos, 2006).

A hidroxiapatita natural ou biológica é geralmente cristalina, podendo em menores quantidades apresentar-se na forma amorfa (Santos, 2006). Apesar de a Hap cristalizar na forma monoclínica, é a estrutura hexagonal que predomina nos

monocristais de Hap biológica devido a presença de impurezas que promovem a estabilidade desta fase (Silva, 2004).

Com base em suas propriedades químicas e físicas, provou-se que a Hap é biocompatível e possui comportamento *in vivo* semelhante à hidroxiapatita biológica. Sua biocompatibilidade e bioatividade são superiores a dos outros materiais fosfocálcicos (Santos, 2006). Suas limitações clínicas podem ser justificadas pela lenta biodegradação (4 a 5 anos após o implante), característica de suma importância dos materiais utilizados como implantes, cuja degradação permite a formação de novo tecido ósseo (Santos, 2006). Estudos efetuados por longos períodos de tempo têm mostrado que a Hap começa a ser reabsorvida gradualmente após 4 ou 5 anos de implantação (Kawachi *et al.*, 2000). Apesar disso a Hap é amplamente utilizada em revestimentos ortopédicos e implantes dentários, bem como na formulação de cimentos fosfocálcicos (Silva, 2004).

No tecido ósseo, a existência de cristais de fosfato de cálcio, na forma da hidroxiapatita, inseridos entre fibrilas de colágeno permite que este tecido possua uma alta rigidez e sirva como suporte para as partes moles e órgãos vitais do corpo. Diante disso, a hidroxiapatita na forma particulada apresenta um grande potencial para ser utilizada como um componente adicional em biomateriais poliméricos para reconstrução de tecido ósseo, permitindo que esses adquiram melhores propriedades mecânicas.

Pesquisas têm sugerido que Hap sintética tem melhor papel osteocondutor se apresentar composição, tamanho e morfologia semelhantes ao componente mineral do osso natural. Além disso, partículas de dimensões nanométricas podem ter outras propriedades especiais devido ao seu tamanho reduzido e sua vasta superfície específica, como por exemplo, melhorar a adesão de proteínas e osteoblastos, quando comparadas com as partículas de tamanho micrométrico. O tamanho das partículas de Hap interfere com a capacidade de adsorção do implante que contém alta quantidade do mineral (Shikinami, 2001; 2005). Webster *et al* (2000) mostrou aumentos significantes na adsorção de proteínas e adesão de fibroblastos sobre materiais cerâmicos de escala nanométrica, comparado aos de escala micrométrica.

Tipos de hidroxiapatita e suas estruturas cristalinas

Podendo ser obtida tanto por precipitação (CDHA – hidroxiapatita deficiente em cálcio) quanto por tratamento térmico a temperaturas elevadas (Hap – hidroxiapatita

sinterizada) a hidroxiapatita possui, em ambos os casos, estrutura hexagonal. A estrutura hexagonal da Hap possui parâmetros de rede $a=b=0,94182$ nm e $c=0,68814$ nm. A estrutura monoclínica sofre transição para estrutura hexagonal a temperaturas superiores a 250°C (Junior, 2005). Estas modificações na rede cristalina são alcançadas através da alteração de parâmetros experimentais, como a pressão e a temperatura, durante a preparação da Hap (Santos, 2006).

A hidroxiapatita precipitada ($\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$), pode ser ou não estequiométrica, ou seja, apresentar razão Ca/P de 1,67. A Hap estequiométrica possui uma densidade de $3,219 \text{ g/cm}^3$ (Santos, 2006). Em geral a hidroxiapatita precipitada apresenta razões Ca/P entre 1,50 e 1,67 sendo assim chamada de hidroxiapatita deficiente em cálcio, CDHA (Santos, 2006; Junior, 2005). A dificuldade na obtenção de hidroxiapatita estequiométrica está relacionada com as substituições atômicas, que ocorrem neste composto com grande facilidade. Quando sua precipitação é realizada em meio aquoso sob atmosfera livre de CO_2 a incorporação de carbonatos é evitada (Silva, 2004).

A hidroxiapatita sinterizada, ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), é obtida através de reações de estado sólido a partir de outros CaP, como a brushita e a monetita, com CaO, CaCO_3 ou $\text{Ca}(\text{OH})_2$ à temperatura de 1200°C aproximadamente, em atmosfera com razão $\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2$ igual a 1, sendo o vapor de água fonte de grupos OH (Junior, 2005).

A hidroxiapatita precipitada é geralmente menos cristalina que a sinterizada, com cristais submicrométricos e elevada área superficial (100 vezes maior que a sinterizada), o que lhe confere uma maior reatividade biológica (Junior, 2005). A hidroxiapatita precipitada possui certo grau de substituição de íons e, por este fato, se assemelha mais a hidroxiapatita biológica. A estrutura cristalina da Hap influencia diretamente, por exemplo, na morfologia do material, cujas características são determinadas pelos estados de energia da superfície das faces dos cristais. A adsorção de íons e moléculas também está correlacionada à estrutura cristalina, entre outros fenômenos que ocorrem na superfície (Santos, 2006).

A célula unitária da hidroxiapatita

A célula unitária da estrutura hexagonal da Hap é constituída por 4 íons de cálcio posicionados nos sítios I (Ca_I) e 6 íons cálcio em sítios II (Ca_{II}). Os sítios I (diâmetro de 2Å) são alinhados em colunas, já os sítios II (diâmetro de $3,5\text{Å}$) encontram-se nos vértices de triângulos equiláteros formando um plano perpendicular a

direção c . Esses diferentes sítios são formados a partir da disposição dos tetraedros dos grupos PO_4 que se dispõe de tal forma que possibilitam a formação de dois canais perpendiculares ao plano basal. São nesses canais que ocorrem as distorções que diferenciam a estrutura hexagonal da monoclinica (Santos, 2006).

A existência de dois sítios diferentes de ocupação dos íons cálcio tem conseqüências importantes nas propriedades e características finais da Hap, já que influenciam na aceitação de impurezas catiônicas. Os átomos de cálcio estão coordenados por 6 átomos de oxigênio de diferentes grupos de PO_4 e estão também combinados com outros 3 átomos de oxigênio mais distantes. Os átomos de cálcio e fósforo formam um arranjo hexagonal no plano perpendicular ao eixo de alta simetria. Os triângulos equiláteros formados pelos íons de cálcio e oxigênio formam um empilhamento ligado entre si por íons fosfato. Dois dos quatro átomos de oxigênio do grupo fosfato situam-se em planos paralelos a direção c , enquanto os outros dois alinham-se nos planos perpendiculares a esta mesma direção (Santos, 2006). A Figura 3-4 apresenta uma representação esquemática da estrutura da Hap.

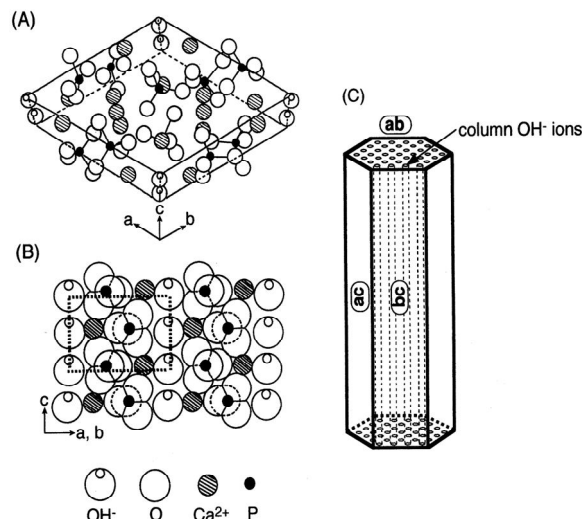


Figura 3-4 - Ilustração de: (A) estrutura cristalina da Hap; (B) faces ac ou bc da Hap; e (C) posição dos íons OH^- em uma partícula de Hap em forma de agulha (Tanaka, 2002).

Em meio biológico, diferentes tipos de grupos funcionais em proteínas são absorvidos nos diferentes planos dos cristais de Hap uma vez que a Hap mostra uma

absorção natural anisotrópica causada por sua estrutura de cristal hexagonal. Por exemplo, o plano $-c$ da Hap é o sítio de absorção para aminoácidos em uma proteína, e para íons sódio em soluções tampão, onde o ácido fosfórico é principalmente ocupado no cristal. Por outro lado, os planos a e b são o sítio de absorção para os grupos carboxila em proteínas e para os íons de ácido fosfórico nas soluções tampão onde o cálcio é principalmente ocupado no cristal. Esta natureza anisotrópica é indispensável para o aumento da capacidade de absorção e da bioatividade na superfície de biomateriais e absorventes. A hidroxiapatita é também utilizada como material absorvente na cromatografia líquida devido a sua alta absorção de proteínas (Iwai, 2006).

O alinhamento do cristal da Hap tem sido investigado por vários métodos como *slip casting under a static high-magnetic field*, *self-organized between Hap and collagen*, *hydrolysis reaction process* and *pulse current pressure sintering*. Esses processos são complicados e não é fácil obter o alinhamento dos cristais utilizando esses métodos (Iwai, 2006).

Apatitas biológicas presentes no osso, dentina e esmalte naturais contêm diferentes quantidades de carbonato: 7,4, 5,6 e 3,5% do peso, respectivamente. A apatita carbonatada sintética, tem sido classificada como tipo A ou B dependendo do modo de substituição dos íons carbonato. A substituição do grupo OH^- pelo CO_3^{2-} é classificada como tipo A e a substituição do PO_4^{3-} é classificada como tipo B. As apatitas biológicas são principalmente do tipo B. Em alguns métodos de preparação de pós sintéticos por via úmida podem ocorrer as duas substituições, gerando uma apatita tipo AB. Entre várias biocerâmicas baseadas em hidroxiapatitas, a Hap carbonatada parece ser um material biorreabsorvível promissor para a substituição temporária de osso. A presença de CO_3^{2-} na estrutura da Hap influencia a sinterabilidade, a decomposição, a solubilidade e reatividade biológica de materiais de implantação (Slósarczyk, 2005).

Hidroxiapatita carbonatada sintética, tem atraído a atenção no campo da engenharia de tecidos como material de enxerto ósseo, graças a sua excelente bioatividade, biocompatibilidade e osteocondução, além de mostrar potencial aplicação como agente de troca e adsorção de íons (He, 2007).

3.4.3 Compósitos

Define-se como material compósito aquele que é obtido pela mistura física de dois ou mais materiais, imiscíveis entre si, combinados para formar um novo material de

engenharia útil com propriedades diferentes aos componentes puros, podendo ser obtidos por combinações entre metais, cerâmicas ou polímeros (ASTM 3878, 1995). Em geral, os materiais compósitos são formados pela matriz, que é a fase contínua e de maior fração volumétrica da mistura, e a fase dispersa também chamada de reforço. O material obtido a partir da mistura geralmente apresenta qualidade melhor que os seus elementos individualmente (Al-Qureshi, 2002).

As propriedades dos materiais compósitos dependem em muito da sua estrutura, e diferente dos materiais homogêneos, é possível exercer um controle considerável sobre sua estrutura em larga escala, e acima de tudo sobre as propriedades desejadas. Essas propriedades dependem da morfologia da heterogeneidade, da fração volumétrica de cada material constituinte, e também da quantidade de interface de cada constituinte. (Park, 2002).

As propriedades mecânicas dos compósitos são fortemente dependentes do reforço e da compatibilidade interfacial do sistema compósito. Para polímeros preenchidos com Hap particulada, o maior problema é a adesão interfacial entre o reforço e a matriz. A menos que a transferência de stress efetivo ocorra através das interfaces, não é esperado que as propriedades mecânicas atinjam valores úteis. A adesão interfacial deve ser aumentada por meios químicos e mecânicos. As propriedades mecânicas de materiais compósitos preenchidos com particulados são dependentes de vários fatores entre eles, quantidade do particulado, forma, tamanho, distribuição do tamanho e razão de aspecto (Cheang, 2003).

Compósitos biodegradáveis de polímero/cerâmica são materiais promissores para enxertos ósseos e vem sendo extensivamente investigados (Stylios, 2007).

PLLA/HA

Implantes compósitos de polímeros/cerâmicas assemelham-se ao osso natural em alguns aspectos. O osso natural é composto de material inorgânico (principalmente cristais nanométricos de hidroxiapatita), e componentes orgânicos (principalmente colágeno). A escala nanométrica das partículas de Hap presentes no osso tem um papel importante nas suas propriedades mecânicas (Kokubo, 2003).

Os compósitos mais amplamente estudados, utilizam materiais baseados em hidroxiapatita. Podem ser utilizadas tanto a Hap estequiométrica, quanto a carbonatada, que apresenta íons de carbonato substituindo parcialmente os íons hidroxila, pois apresentam boa osteocondutividade quando porosas e acredita-se que auxiliam na

formação do osso *in vivo*. Entretanto devido à baixa tenacidade à fratura e alto módulo de elasticidade, sua utilização se torna mais interessante quando combinada com um material dúctil menos frágil, formando compósitos orgânico/inorgânico. Nesse caso geralmente combina-se a Hap com polímeros baseados em ácido lático e glicólico ou poli(E-caprolactona) (Neuendorf, 2008).

Para Shikinami (1999), as combinações entre partículas de Hap não sinterizada com PLLA apresentam alta resistência mecânica, são totalmente reabsorvíveis, biocompatíveis, bioativas, radiopacas, além de apresentarem taxa de degradação compatível com a taxa de regeneração óssea (Shikinami, 1999). Shikinami testou placas e parafusos, em escala milimétrica, feitos de compósitos à base de PLLA e Hap, para utilização em cirurgias craniofaciais e bucomaxilofaciais, e observou que estes são superiores ao PLLA puro do ponto de vista de resistência mecânica (Shikinami, 2001).

Wei (2004) observou que a utilização de polímero puro, possibilitou a formação de tecido ósseo novo apenas na sua camada superficial, enquanto que o compósito (polímero/cerâmica) suportou crescimento de células e formação de novo tecido ósseo por todo o seu volume. Além disso, a adição de Hap em matriz polimérica aumentou a adsorção de proteínas e componentes da matriz extracelular e melhorou a uniformidade do espalhamento das células. A adição de Hap nanométrica (nHA) aumenta a adsorção de proteína. Um estudo realizado por Wei demonstrou que a adsorção de proteínas em implantes contendo nHA/PLLA 50-50 foi significativamente maior do que em implantes de μ HA/PLLA; entretanto, quando a fração de Hap foi inferior a 50%, as diferenças entre a adsorção de proteínas entre nHA e μ HA incorporadas no implante não foram estatisticamente significativas (Wei, 2004)

Miao (2008) testou misturas bifásicas de Hap/ TCP usadas como material para fabricação de arcabouços pelo método da réplica a partir de espumas de poliuretano. Esses arcabouços receberam infiltração e recobrimento de poli(ácido lático-co-glicólico) (PLGA). A estrutura porosa apresentou tamanho de poro de 500 μ m, porosidade de 87%, com poros interconectados. Foi testada a resistência mecânica à compressão, e os resultados mostraram que a incorporação de PLGA aumenta consideravelmente de 0,05-0,07 MPa nos arcabouços sem recobrimento, para 0,62–0,79 MPa nos arcabouços com recobrimento, e o resfriamento reduz essa resistência drasticamente. A penetração de células tronco de medula óssea no interior dos arcabouços, e sua adesão superficial também foram investigadas e os resultados foram positivos (Miao, 2008).

3.5 PROCESSOS DE FABRICAÇÃO DE ARCABOUÇOS

O desenvolvimento de novos processos, o aprimoramento dos processos já existentes, ou ainda a combinação desses processos vem sendo estudados por diversos pesquisadores para fabricação de arcabouços constituídos por materiais biorreabsorvíveis. A Tabela 3-3 apresenta alguns desses processos (Dingee, 2007).

Tabela 3-3 - Alguns processos estudados para fabricação de arcabouços biorreabsorvíveis
(Gomi, 2001; Mikos e Temenoff, 2000 e Salgado *et al.*, 2004; In. Dingee, 2007).

processo de fabricação	etapas básicas
<i>solvent casting/ particulate leaching</i> (evaporação de solvente/ lixiviação de sal)	<ol style="list-style-type: none"> 1. mistura de polímero com solvente para formar uma solução; 2. transporte da solução para o molde; 3. dispersão de partículas formadoras de poros na solução; 4. evaporação do solvente; 5. imersão do material restante em um solvente adequado para dissolver as partículas formadoras de poros.
<i>emulsification/freeze-drying</i> (emulsificação/liofilização)	<ol style="list-style-type: none"> 1. mistura de polímero com solvente para formar uma solução; 2. adição de água para formar uma emulsão; 3. transporte da emulsão para o molde; 4. resfriamento do molde em nitrogênio líquido; 5. liofilização do material restante para remover a água e o solvente.
<i>liquid-liquid phase separation</i> (separação de fase líquido-líquido)	<ol style="list-style-type: none"> 1. mistura de polímero com solvente para formar uma solução; 2. transporte da solução para o molde; 3. resfriamento do molde em uma temperatura abaixo da T_m do solvente para promover a separação de fases, formando-se uma fase rica e uma fase pobre em polímero; 4. vácuo para remoção da fase pobre em polímero.
<i>gas foaming</i> (formação de espuma por gás)	<ol style="list-style-type: none"> 1. moldagem do polímero por compressão a quente para obtenção de um disco; 2. transporte do disco para uma câmara; 3. injeção de gás (N_2 ou CO_2) com alta pressão; 4. redução da pressão interna da câmara até se atingir a pressão atmosférica, permitindo a formação de poros pela expansão do gás.
<i>rapid prototyping</i> (prototipagem rápida)	<ol style="list-style-type: none"> 1. criação de um modelo no programa CAD; 2. conversão do modelo para um arquivo STL; 3. fatiamento, em finas camadas transversais, do modelo convertido; 4. fabricação, camada por camada, do modelo físico; 5. limpeza e acabamento do modelo físico. <p>A fabricação, camada por camada, do modelo físico pode ser realizada por 3D <i>printing</i>, sinterização seletiva à laser (SLS), FDM, entre outros.</p>

3.6 O PROCESSO DE SINTERIZAÇÃO

O processo de sinterização consiste na transformação de um material particulado em um objeto sólido a partir da contato entre as partículas. Em materiais particulados, o processo de sinterização ocorre simultaneamente entre várias partículas, gerando uma rede interligada com certo grau de porosidade (Thümmeler e Oberacker, 1993).

O estudo da sinterização consiste em relacionar o aspecto estrutural da peça sinterizada (porosidade residual, fases presentes, tamanho médio de grão e distribuição de tamanho de grão, homogeneidade estrutural, etc.) às características dos pós utilizados (tamanho médio e distribuição de tamanho de partículas), considerando também as condições de sinterização, tais como temperatura, tempo e atmosfera de sinterização. Existem basicamente dois tipos de sinterização, denominados sinterização por fase sólida e sinterização por fase líquida. Embora ambas atuem no sentido de densificar a estrutura, os mecanismos que produzem tal densificação são totalmente distintos. Quando uma massa de partículas de um ou mais componentes é aquecida sob determinada atmosfera, diversos processos podem ocorrer, tais como dissolução e reação entre os constituintes e entre eles e a atmosfera, formação de novas fases, etc. A sinterização é apenas um dos processos possíveis. Para ocorrer cada um destes processos é necessário que a energia livre total do sistema seja diminuída. O decréscimo da energia é considerado como a força motriz do processo (Silva, 1998).

Durante o processo de sinterização, a união das partículas pela formação de *necks* ocorre através de um transporte de massa. Esse transporte de massa pode ocorrer por meio de diferentes mecanismos ilustrados na Figura 3-5.

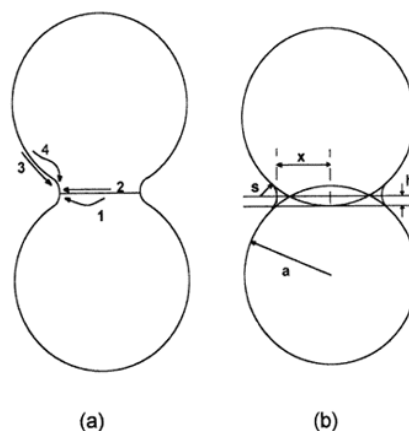


Figura 3-5 - Sinterização de um sistema de duas partículas esféricas. (a) crescimento de pescoço e mecanismos de difusão (1) do contorno de grão, por volume; (2) do contorno de grão, pelo contorno de grão; (3) da superfície, pela superfície e (4) da superfície, pelo volume. (b) crescimento de pescoço com aproximação de centro e parâmetros representativos: a é o raio da partícula; h o parâmetro de aproximação; x e s , os raios principais de curvatura do pescoço.

Quando se trabalha com materiais particulados compactados, tem-se uma mistura de partículas e poros, A função da sinterização é eliminar a curvatura na superfície desse material. Cada partícula possui uma tensão inerente que direciona o fluxo de massa. Essa tensão é maior em partículas menores. A elevação da temperatura durante a

sinterização aumenta a movimentação de átomos e a tensão direciona o fluxo promovendo a ligação entre as partículas, juntamente com outras ações que removerão a curvatura na superfície do sistema sinterizado. Sendo assim dois fatores são importantes para o transporte de massa na sinterização, a tensão na superfície da partícula e a mobilidade atômica (German, 1996).

Na maioria dos polímeros o transporte de massa ocorre por sinterização com fase líquida, pelos mecanismos de fluxo viscoso e difusão volumétrica (Narkis e Rosenzweig, 1995). Adicionalmente, quando se trata de materiais poliméricos o transporte de massa depende da massa molecular do polímero. Polímeros de baixa massa molecular possuem menor comprimento de cadeia em relação aos polímeros de alta massa molecular. Assim, polímeros de baixa massa molecular tendem a apresentar maior taxa de transporte de massa, pois suas cadeias de menor comprimento apresentam maior mobilidade, o que facilita o transporte dessas cadeias dentro da estrutura polimérica.

A teoria da sinterização preconiza que no caso de materiais únicos, a temperatura de sinterização deve ser inferior à temperatura de fusão do material. Quando se misturam materiais com diferentes temperaturas de fusão, essa definição fica comprometida, pois o elemento com ponto de fusão mais elevado compromete a mobilidade atômica do elemento com ponto de fusão mais baixo funcionando como obstáculo à movimentação dos átomos, conseqüentemente dificultando a formação dos *necks* (German, 1996).

O processo de sinterização de polímeros ou compósitos polímero/cerâmica de matriz polimérica tem sido utilizado em alguns estudos para a fabricação de arcabouços. Mizutani *et al.* (2005) em seu estudo, obteve arcabouços porosos fabricado pelo processo de sinterização na temperatura de 173°C durante 10 min. O PLLA utilizado, com MM entre 180.000 g/mol e 220.000 g/mol e Tm de aproximadamente 177°C, foi previamente preparado para adquirir a forma de fibras com faixa de comprimento entre 200 µm e 800 µm.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A proposta desse trabalho foi o desenvolvimento de uma rota de processamento de materiais compósitos polímero/cerâmica, para a construção de arcabouços biodegradáveis e biorreabsorvíveis com a finalidade de utilização como material de substituição temporária de tecido ósseo. Para a realização desse trabalho foram utilizados os seguintes materiais:

4.1 MATERIAIS

Polímero

Como matriz polimérica foi utilizado poli (L-ácido láctico) sintetizado e fornecido pelo Centro de Ciências Médicas e Biológicas/PUC - Sorocaba SP, com MM de 100.000 g/mol, faixa de tamanho de partícula entre 1 mm e 4 mm e tamanho médio de partícula de $2,4 \pm 0,7$ mm. Apresentou densidade medida por picnometria a hélio de $1,15\text{g/cm}^3$.

Cerâmica

Foram utilizadas nesse trabalho como reforço cerâmico a hidroxiapatita em duas formas diferentes, partículas e fibras. A Hap na forma de partículas foi sintetizada e fornecida pelo Grupo de Biomateriais/UFSCar - São Carlos SP. As partículas de hidroxiapatita apresentaram dimensões nanométricas com formação de aglomerados de dimensões próximas a $5\ \mu\text{m}$. Tais aglomerados ocorrem em função da alta energia de superfície das nano partículas (Figura 4-1). A densidade foi medida por picnometria a hélio e apresentou um valor de $2,24\text{g/cm}^3$. Esse valor encontra-se abaixo do valor referido pela literatura, que é em torno de $3,219\ \text{g/cm}^3$ para a hidroxiapatita estequiométrica $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$.

A hidroxiapatita na forma de fibra foi sintetizada no Laboratório de Química (QUITECH)/UFSC – Florianópolis SC. Apresentou densidade medida por picnometria a hélio de $2,77\text{g/cm}^3$ e razão de aspecto aproximada entre 30 e 40 (Figura 4-2).

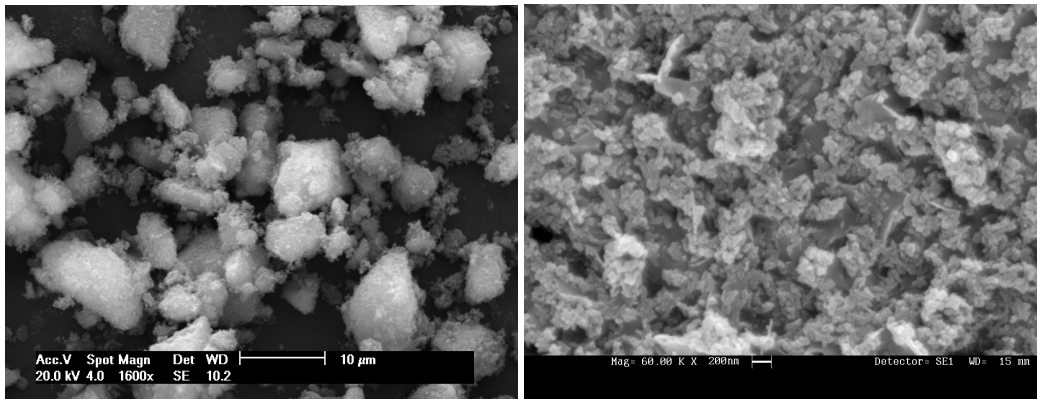


Figura 4-1 – Imagem das partículas de Hidroxiapatita obtidas por microscopia eletrônica de varredura.

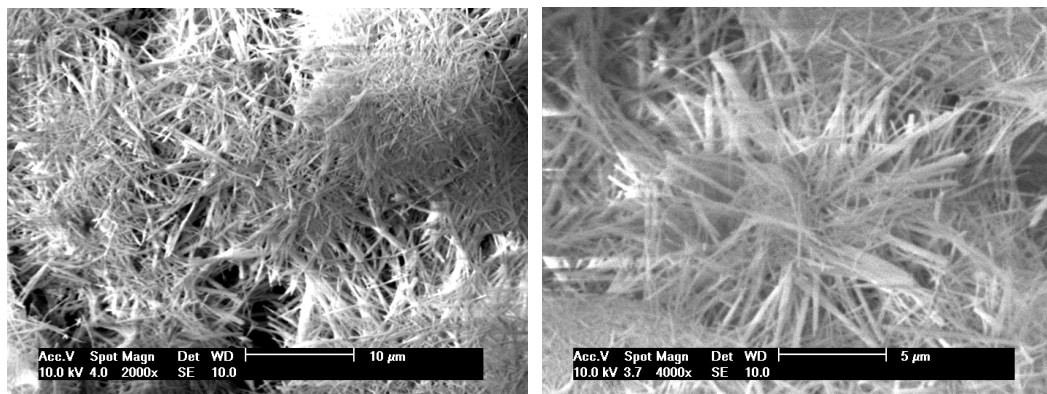


Figura 4-2 - Imagem das fibras de Hidroxiapatita obtidas por microscopia eletrônica de varredura.

Tanto a hidroxiapatita na forma de partículas, quanto as fibras foram caracterizadas por difração de raioX (DRX). A comparação com o DRX da hidroxiapatita estequiométrica pode ser observada na Figura 4-3.

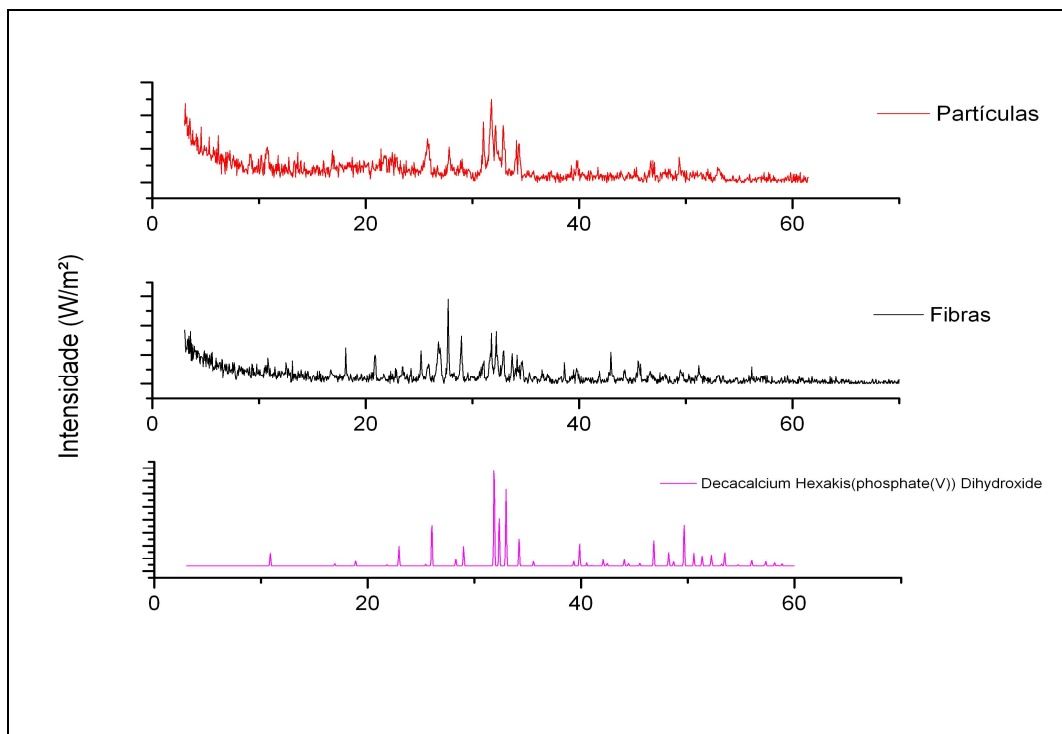


Figura 4-3 - Gráficos ilustrando as DRX da hidroxiapatita estequiométrica, da hidroxiapatita na forma de fibras e da hidroxiapatita na forma de partículas utilizadas nesse trabalho.

4.2 ORGANIZAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foi proposto como delineamento experimental para esse trabalho a utilização de três categorias sendo que a primeira apresentou variação em três níveis, a segunda em dois níveis e a terceira em dois níveis, conforme descrito a seguir:

- concentração polímero/cerâmica - foram adotadas as concentrações 90/10, 80/20, 70/30.

- forma de apresentação da cerâmica - foram utilizadas hidroxiapatitas na forma de partículas nanométricas e na forma de fibras.

- tamanho de partícula do polímero - foram escolhidas duas faixas granulométricas, 106-212 μm e 212-300 μm .

A partir da combinação dessas três categorias foram definidas 12 amostras que passaram a constituir o grupo de estudo. Cada amostra recebeu um código de denominação conforme esquematizado na Tabela 4-1. Esse código foi utilizado para a identificação das amostras em todas as etapas do experimento.

Tabela 4-1 - Organização do grupo experimental.

Concentração PLLA/HA (%)	GRUPO DE ESTUDO			
	HA partículas		HA fibras	
	PLLA 106-212 μm	PLLA 212-300 μm	PLLA 106-212 μm	PLLA 212-300 μm
90/10	EG	FG	EW	FW
80/20	HG	IG	HW	IW
70/30	KG	LG	KW	LW

4.3 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

O PLLA foi inicialmente moído usando um moedor marca CADENCE MDR301. Após o processo de moagem o PLLA foi peneirado em peneiras de aço inox da marca A BRONZINOX obedecendo à ordem granulométrica de 300 μm , 212 μm , 106 μm . Os pós obtidos foram separados nas faixas de tamanho 106-212 μm e 212-300 μm e armazenados em dessecador.

As duas formas de hidroxiapatitas utilizadas no experimento não receberam qualquer tratamento prévio, sendo misturadas ao polímero na forma em que foram adquiridas.

A preparação das amostras iniciou com a pesagem das partes envolvidas na mistura (polímero/cerâmica), nas proporções mássicas definidas anteriormente. As amostras foram preparadas com massa inicial total de 50 mg. A pesagem dos pós foi feita em uma balança analítica da marca GEHAKA AG 200 com precisão de 10^{-4} g.

Todas as amostras após a pesagem foram depositadas em um bequer e passaram por um processo de mistura por diluição em álcool isopropílico e agitação por ultrassom. Esse procedimento apresentava como objetivo, promover a desaglomeração e a homogeneização dos pós da mistura. A diluição em álcool isopropílico, ocorreu na proporção de 30mg de composto para 1 ml de álcool. Essa dispersão foi submetida à agitação por ultra-som durante 30 minutos e posteriormente seca em temperatura ambiente.

Após a secagem, o pó a ser sinterizado foi depositado em molde bipartido de alumínio confeccionado no laboratório USICON/UFSC especialmente para esse experimento. Esse molde apresentava três orifícios cilíndricos com 3mm de diâmetro e 20mm de altura. O orifício central era usado para a colocação da mistura e os outros dois laterais para colocação de termopares a fim de garantir o controle da temperatura

durante o processo de sinterização (Figura 4-4). A superfície interna do molde recebeu um tratamento antiaderente para facilitar a retirada dos corpos de prova do molde após a sinterização.

Após a colocação do pó no molde, o mesmo era submetido a um procedimento padronizado de acomodação da mistura no compartimento do molde. Esse procedimento consistia em deslizar o molde em um cilindro maciço de aço inox, liso e polido, com diâmetro de 0,5mm. Ao final do deslizamento o molde era solto e atingia a superfície plana onde estava apoiado o cilindro. Tal deslizamento era repetido por 13 vezes. Após esse procedimento, a amostra ainda sofria uma leve compactação dada pela soltura em queda livre, no interior do orifício do molde que continha a amostra, de um cilindro de aço inox, de massa definida e diâmetro 2,5 mm. Esse procedimento era repetido por 3 vezes. Todas as amostras receberam o mesmo tratamento antes de serem submetidas à sinterização.

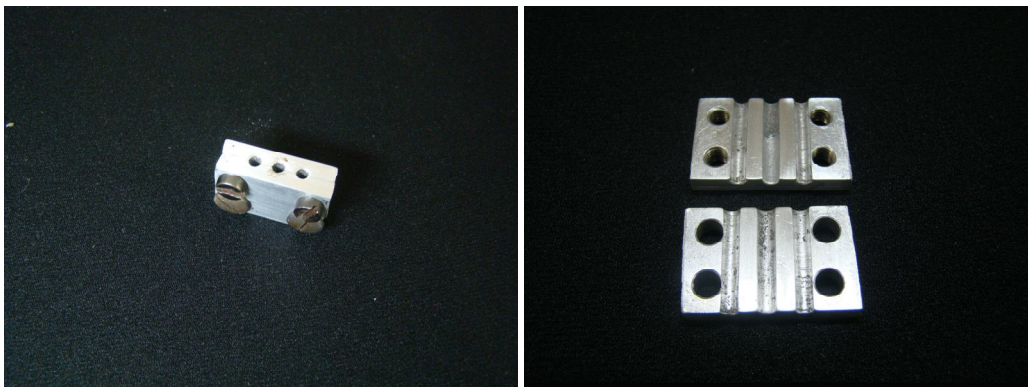


Figura 4-4 - Molde bipartido utilizado para sinterização dos corpos de prova fabricados para o experimento.

4.4 PROCESSO DE SINTERIZAÇÃO

O processo de sinterização foi realizado em um forno constituído de tijolo refratário, com dimensões externas de 95,5 x 130,0 x 110 mm, dimensões internas: $\phi=37,25$ mm h= 41,5 mm, com resistência elétrica interna para até 500 W de potência (Figura 4-5). O referido forno foi projetado no Núcleo de Materiais Cerâmicos e Vidros (CERMAT) do Departamento de Engenharia Mecânica/UFSC e fabricado pelo método de prototipagem rápida por subtração de material. Essa fabricação foi realizada em uma fresadora da marca ROLAND, modelo MDX-40. A ele foi acoplado controlador de temperatura microprocessado da marca NOVUS, modelo N480D, com entrada para termopares.



Figura 4-5 - Forno projetado e fabricado no Núcleo de Materiais Cerâmicos e Vidros (CERMAT) do Departamento de Engenharia Mecânica/UFSC.

Para garantir a padronização dos corpos de prova produzidos foi criado um padrão mínimo de qualidade que cada corpo de prova deveria apresentar após a sinterização. O padrão mínimo era atingido quando alguns requisitos básicos fossem alcançados. Esses requisitos serviam para incluir ou excluir o corpo de prova do grupo de estudo. São eles:

- friabilidade reduzida
- ausência de retração dimensional
- resistência mecânica mínima para manuseio.

Caso o corpo de prova sinterizado não atendesse a todos os requisitos listados acima, era automaticamente excluído do grupo de estudo.

Após o término do processo, foram obtidos corpos de prova cilíndricos com dimensões médias em torno de 3mm de diâmetro e 9mm de altura.

Para a caracterização de cada amostra estudada utilizou-se 5 corpos de prova. Portanto como o grupo de estudo foi composto por 12 amostras, foram sinterizados 60 corpos de prova.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

A caracterização da microestrutura foi realizada utilizando-se microscópio eletrônico de varredura (MEV) da marca PHILIPS, modelo XL30. Os corpos de prova

foram resfriados em nitrogênio líquido, fraturados por flexão e recobertos com ouro na superfície e na secção de fratura.

Nessa análise foram observados a morfologia dos poros de cada amostra, a distribuição dos constituintes da mistura, e a formação dos *necks* característicos do processo de sinterização.

O cálculo da porosidade foi feito a partir da determinação da densidade do material feita por picnometria à hélio, em equipamento da marca QUANTA CHROMER, modelo MULTI PYCNOMETER que possibilitou calcular a densidade teórica do compósito pela fórmula (1). A densidade aparente da amostra calculada pela fórmula (2). A partir desses dois valores foi calculada a porosidade pela fórmula (3).

$$\rho_{teórico} = \frac{1}{\frac{m_{Hap}}{\rho_{Hap}} + \frac{m_{PLLA}}{\rho_{PLLA}}} \quad (1)$$

$$\rho_{aparente} = \frac{m_{scaffold}}{V_{scaffold}} \quad (2)$$

$$P = 1 - \frac{\rho_{aparente}}{\rho_{teórico}} \quad (3)$$

A massa dos corpos de prova após a sinterização foi obtida por pesagem na mesma balança utilizada para pesagem dos pós antes da sinterização. Foram realizadas três medidas de massa, e utilizada a média aritmética para o cálculo da densidade aparente.

Quanto ao volume dos corpos de prova, como não se tratava de um cilindro perfeito, foram realizadas medidas do diâmetro em três regiões diferentes, nas duas extremidades e no centro do corpo de prova, utilizando-se um paquímetro digital. Em cada uma dessas regiões eram realizadas três medições de diâmetro girando-se a peça no paquímetro e calculada a média aritmética das medidas obtidas em cada região. A

média das medidas de cada região era anotada e ao final era calculada a média das médias obtidas; esse valor foi adotado como sendo o volume a ser utilizado no cálculo da densidade aparente do corpo de prova.

Quanto à resistência mecânica, por apresentar estrutura porosa, foi escolhido ensaio mecânico de compressão como forma de verificação de possíveis diferenças entre as diferentes amostras estudadas.

Para a realização desse ensaio, os corpos de prova tiveram suas dimensões adequadas às necessidades do teste. A altura foi definida como o dobro do diâmetro, a fim de se evitar deformações em flexão durante a realização do ensaio. Como não foi encontrada uma norma específica para o material estudado, foi realizada uma adaptação da norma ASTM695, utilizada por Dingee (2007) em trabalhos anteriores. A velocidade de realização do teste foi de 1,3 mm/minuto. As peças foram levadas então ao laboratório de ensaios mecânicos (CERMAT/UFSC) e ensaiadas em uma máquina universal de ensaios EMIC DL 2000, com uma célula de carga de 500N.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 O PROCESSO DE SINTERIZAÇÃO

Foram sinterizadas nesse trabalho 12 tipos diferentes de amostras onde variaram a concentração mássica dos componentes, o tamanho da partícula polimérica e a forma da cerâmica. Foram utilizadas 3 proporções mássicas diferentes de PLLA/Hap, sendo 90/10, 80/20, 70/30, duas faixas granulométricas de partículas da matriz de PLLA (106-212 μm e 212-300 μm), e foram utilizadas duas formas de Hap, nanopartículas e fibras.

Tendo em vista o objetivo desse trabalho, que era a obtenção de arcabouços porosos, o processo de sinterização deveria produzir a união das partículas, apenas pela formação de *necks* entre os grânulos do polímero, sem maior crescimento desses *necks*, que promoveria a densificação dos corpos de prova sinterizados, e conseqüentemente a redução de porosidade. Sendo assim, todas as amostras que fizeram parte do grupo de estudo atenderam aos critérios de inclusão que foram elencados no capítulo de materiais e métodos, ou seja, a amostra somente era considerada adequada quando apresentava friabilidade reduzida, ausência de redução dimensional e resistência mecânica suficiente para ser manuseada.

Para identificar a temperatura de sinterização de cada amostra estudada, foram realizados testes com diferentes valores a partir do valor da temperatura de fusão do polímero, obtida por meio de análise térmica diferencial (ATD) que foi de 181°C. A faixa de valores testada foi de 180-187°C.

Para a obtenção da taxa de aquecimento que apresentasse melhores resultados para a totalidade das amostras estudadas, foram selecionadas as amostras com menor tamanho de partícula polimérica e menor concentração cerâmica, e as amostras com maior tamanho de partículas poliméricas e maior concentração cerâmica, ou seja, amostras que compunham os dois extremos do grupo de estudo; ambas foram testadas em 3 valores pré-estabelecidos com base nos estudos realizados por Dingge (2007), que foram 10, 15, 20°C/minuto. Foram realizadas sinterizações dessas amostras em diferentes temperaturas no intervalo acima citado. Para que tanto a temperatura e a taxa de aquecimento fossem consideradas válidas, o processo deveria apresentar uma repetibilidade mínima de 3 amostras sinterizadas. A taxa de aquecimento que mostrou melhores resultados foi a taxa de 20 °C/minuto, pois possibilitou a sinterização de todas as amostras dentro dos critérios de inclusão citados acima. As outras taxas testadas não

possibilitaram a sinterização da totalidade das amostras estudadas, e portanto foram descartadas.

Uma vez definida a taxa de aquecimento, para cada temperatura no intervalo de 180-187°C foram realizadas no mínimo 3 sinterizações de cada amostra estudada. A faixa de temperatura de sinterização que se mostrou mais eficiente para o grupo das amostras estudadas ficou entre 184-187°C. Foi escolhido o valor de 185°C como referência, por ser essa a única temperatura capaz de produzir corpos de prova de todos os tipos de amostras estudadas, dentro dos critérios estabelecidos acima.

A partir da definição dos parâmetros taxa de aquecimento e temperatura, o processo de sinterização passou a ser realizado para definir-se o tempo de programação isotérmica mais adequado para cada amostra individualmente.

Os testes iniciaram com o tempo de um minuto para a amostra com PLLA/Hap 90/10 de relação mássica, menor tamanho de partícula polimérica e nanopartículas de Hap. Novamente foi considerado tempo adequado, o valor mínimo testado e capaz de sinterizar dentro dos critérios de qualidade elencados anteriormente no mínimo 3 amostras.

As amostras com menor concentração de cerâmica e menor tamanho de partícula polimérica foram as primeiras a terem seus tempos de programação isotérmica definidos. A partir delas, as outras amostras foram sendo testadas com tempos crescentes em virtude de apresentarem maior concentração de cerâmica na mistura. Todas as amostras tiveram seus tempos definidos somente quando apresentaram repetibilidade de 3 sinterizações exatamente iguais, ou seja, mesmo procedimento de preparo da amostra no molde e mesmas condições de sinterização no que diz respeito aos parâmetros de taxa de aquecimento, temperatura de programação isotérmica e tempo de programação isotérmica.

Vale ressaltar que em momento algum buscou-se nesse trabalho a definição de uma rota de processamento com valores fixos ideais para o compósito. A proposta foi criar uma rota capaz de sinterizar compósitos com diferentes concentrações de cargas cerâmicas e diferentes tamanhos de partículas poliméricas, para obtenção de arcabouços porosos, e com resistência mecânica adequada para possível implantação em tecido ósseo. Para alcançar esse objetivo, os parâmetros de sinterização foram trabalhados e estabelecidos de modo a se garantir maior reprodutibilidade no processo. Sendo assim, a última variável a ser estabelecida para cada tipo de amostra estudada, foi o tempo mínimo de programação isotérmica necessário para a sinterização capaz de produzir

corpos de prova das 12 amostras estudadas, dentro dos critérios inclusão já citados. Os valores estabelecidos para cada amostra encontram-se descritos na Tabela 5-1.

Tabela 5-1-Valores do tempo de programação isotérmica (T=185 °C) mínimo para as amostras estudadas.

Concentração PLLA/HA (%)	TEMPO DE PROGRAMAÇÃO ISOTÉRMICA (minutos)			
	HA partículas		HA fibras	
	PLLA 106-212 μm	PLLA 212-300 μm	PLLA 106-212 μm	PLLA 212-300 μm
90/10	04	13	01	03
80/20	16	34	04	08
70/30	46	85	12	21

Os valores listados na tabela acima foram plotados em um gráfico para facilitar a visualização da variabilidade crescente dos resultados obtidos.

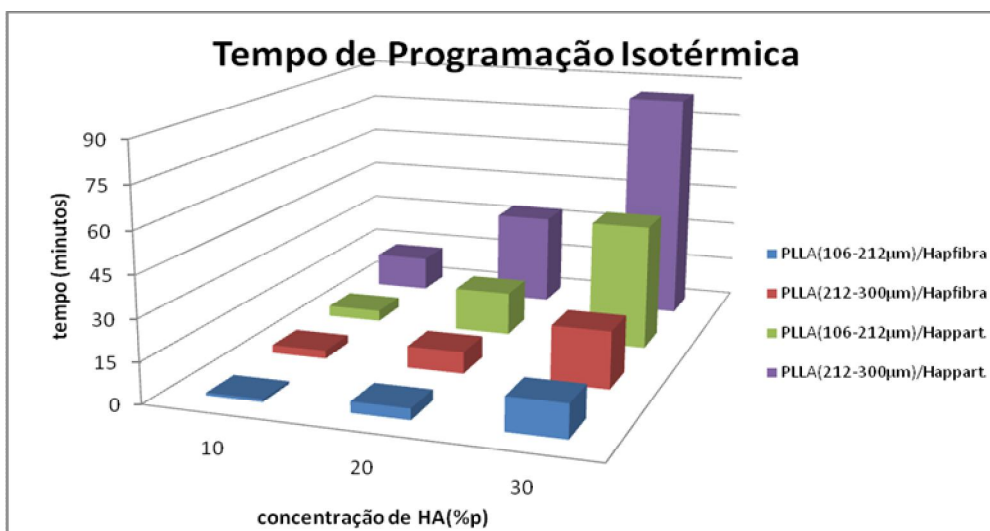


Figura 5-1 - Diferentes tempos de programação isotérmica para os diferentes grupos estudados.

Partículas sinterizam por eventos que ocorrem em nível atômico. Dois fatores fundamentais conduzem o processo de sinterização, que são a mobilidade atômica e a energia de superfície das partículas. Quanto maior a energia de superfície, maior a interação entre as partículas em contato durante o tratamento térmico, potencializando assim a formação dos *necks* de sinterização. Nesse trabalho foram utilizados dois tamanhos de partículas para o PLLA a fim de observar a interferência que os mesmos exerceriam no processo de sinterização. Os valores de programação isotérmica encontrados para as amostras estudadas confirmam esse fato. A tabela mostra que a matriz polimérica com maior tamanho de partícula necessitou de um tempo maior para completar o processo de sinterização. Tal fato era esperado em função da menor energia

de superfície das partículas envolvidas. Já as partículas de menor tamanho conseqüentemente maior área superficial, sinterizaram mais rapidamente, pois necessitaram de uma quantidade menor de energia para desencadear a formação dos *necks*.

Materiais puros constituídos de um único componente apresentam características próprias que definem suas propriedades nas suas diferentes fases. Ao se combinarem materiais, as diferenças entre as características de cada um mudam o comportamento desses materiais durante o processamento. A presença de um material de natureza diferente do PLLA, no caso a hidroxiapatita, interferiu no processo de sinterização, uma vez que ao misturar-se apenas fisicamente com o polímero, a cerâmica permaneceu interposta entre as partículas poliméricas dificultando assim o contato entre elas, conseqüentemente o desencadeamento do processo de sinterização.

Com relação à variação na concentração de cerâmica, com o aumento da quantidade de Hap aumentou a área de recobrimento da partícula de polímero, devido à existência de uma grande diferença de tamanho de partícula entre os dois materiais. Esse recobrimento diminuiu a área disponível na superfície do polímero para a formação dos *necks* de sinterização. Isso não impediu, mas retardou significativamente o processo de sinterização.

Com relação ao processamento de amostras compósitas onde a hidroxiapatita utilizada se encontrava na forma de fibras, o que se obteve foram tempos de programação isotérmica inferiores aos obtidos para sinterização utilizando Hap na forma de partículas, independente da concentração mássica das mesmas.

Observou-se ainda que no caso da utilização de fibras como componente cerâmico, tanto para partículas poliméricas com granulações maiores como para aquelas com granulações menores, houve uma redução de aproximadamente 4 vezes no tempo de programação isotérmica quando comparados com o tempo necessário para sinterizar as amostras que utilizaram a Hap na forma de partículas, o que indica que as fibras de Hap, não ofereceram o mesmo obstáculo ao processo, como as partículas.

Tanto as partículas de Hap quanto as fibras formaram aglomerados que se depositaram sobre as partículas de PLLA e permaneceram inertes durante o processo de sinterização. O método adotado para mistura dos pós promoveu maior desaglomeração nas partículas de Hap que nas fibras. Nas amostras que utilizaram partículas, o recobrimento na superfície do polímero foi mais homogêneo. As fibras se depositaram de forma mais aglomerada, possibilitando a presença de áreas puramente poliméricas

facilitando o contato entre as partículas de PLLA, conseqüentemente a formação dos *necks* de sinterização.

A Figura 5-1 ilustra mais claramente a necessidade de maior quantidade de calor necessária para sinterizar cada grupo. Os tempos de programação isotérmica registrados indicaram que as fibras interferiram menos que as partículas na sinterização do polímero, que o aumento da concentração de cerâmica aumentou o tempo de sinterização e que o maior tamanho das partículas poliméricas retardou o processo de sinterização.

5.2 MICROESTRUTURA

A análise da microestrutura foi feita de forma qualitativa e foram avaliados e comparados entre as 12 amostras estudadas os seguintes parâmetros:

- Tamanho do poro.
- Tamanho do *neck*.
- Interconectividade entre os poros.
- Interação entre as fases da mistura de PLLA/Hap.

Nesse trabalho, três fatores que interferem com a microestrutura foram estudados, a concentração das fases (PLLA/Hap), a forma de uma das fases, no caso o tipo de hidroxiapatita (partículas ou fibras) e o tamanho de partícula da fase sinterizada, nesse caso o polímero PLLA. Todos influenciaram de forma significativa a microestrutura das amostras sinterizadas.

As imagens mostradas nas Figura 5-2, Figura 5-3 e Figura 5-4 representam as amostras compostas pelo PLLA na faixa granulométrica de 106-212 μ m, concentrações mássicas do compósito PLLA/Hap de 90/10%, 80/20% e 70/30% respectivamente e as duas formas de Hap, partículas (imagem superior) e fibras (imagem inferior).

As imagens mostradas nas Figura 5-5, Figura 5-6 e Figura 5-7 representam as amostras compostas pelo PLLA na faixa granulométrica de 212-300 μ m, concentrações mássicas do compósito PLLA/Hap de 90/10%, 80/20% e 70/30% respectivamente e as duas formas de Hap, partículas (imagem superior) e fibras (imagem inferior).

Foi analisada a influência das variáveis concentração mássica dos componentes da mistura, forma da hidroxiapatita e tamanho da partícula do PLLA na microestrutura através da análise dos parâmetros elencados acima.

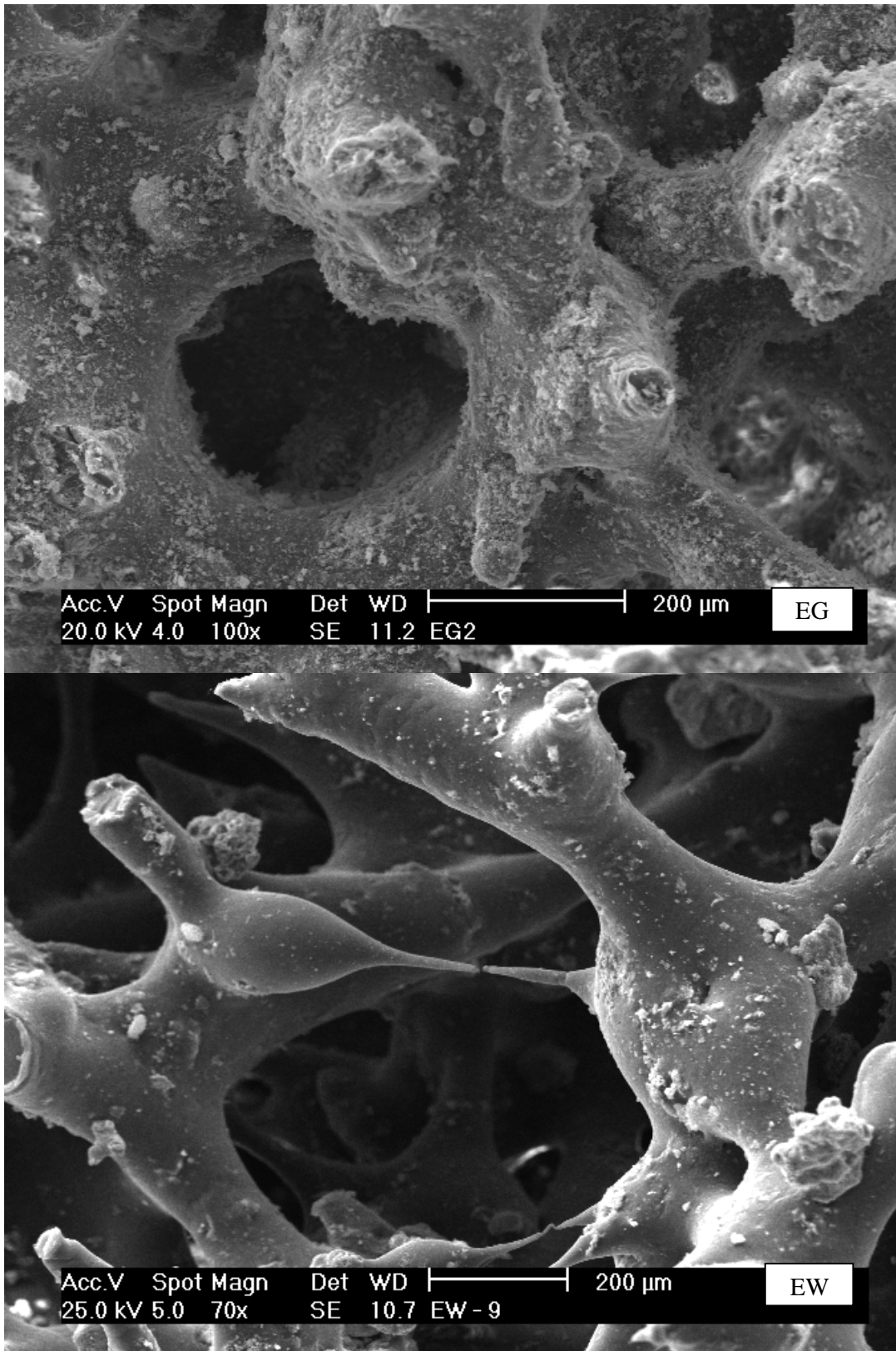


Figura 5-2 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 106-212μm. Amostra EG-10%Hap partículas e EW-10%Hap fibras.

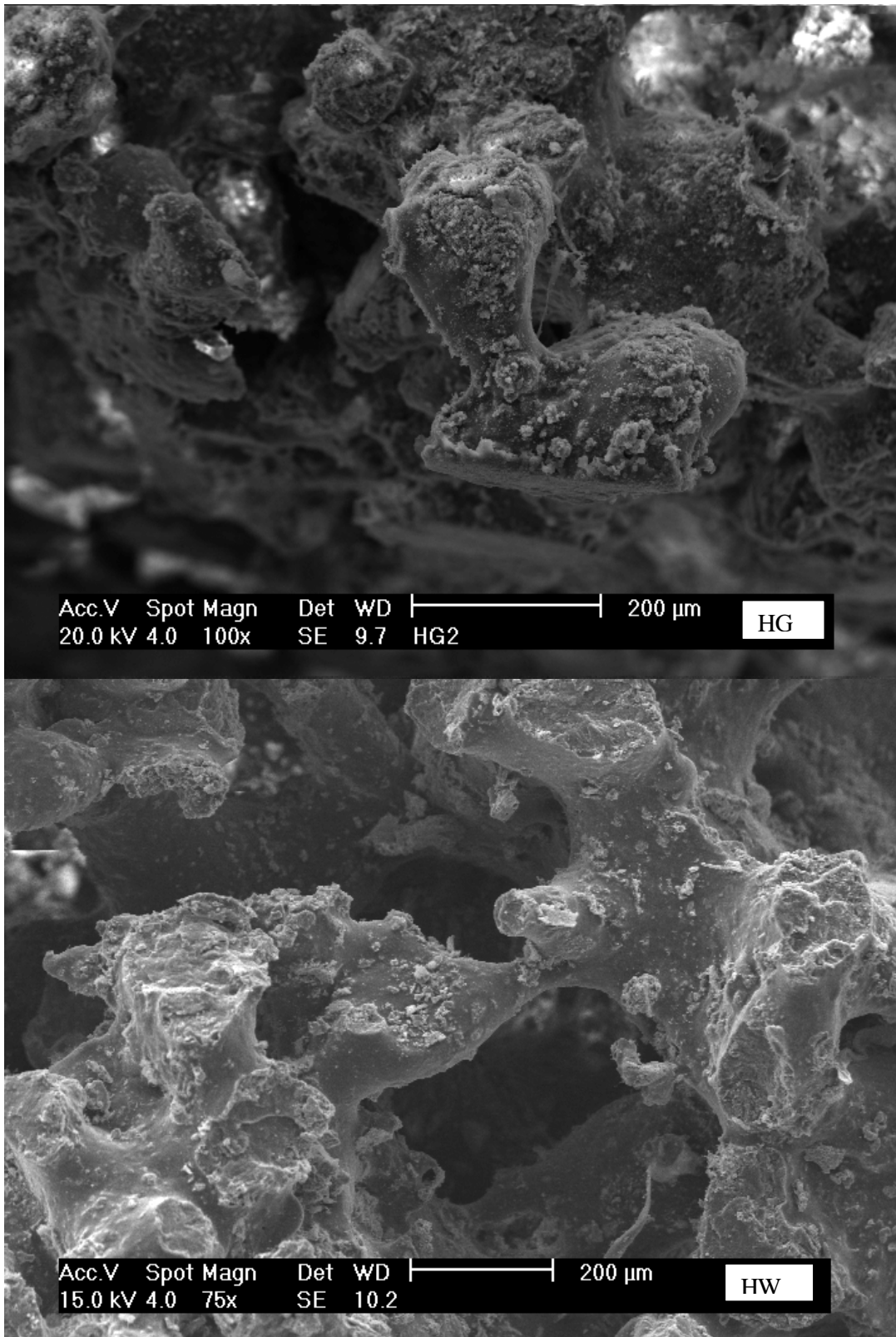


Figura 5-3 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 106-212µm. Amostra HG-20%Hap partículas e HW-20%Hap fibras.

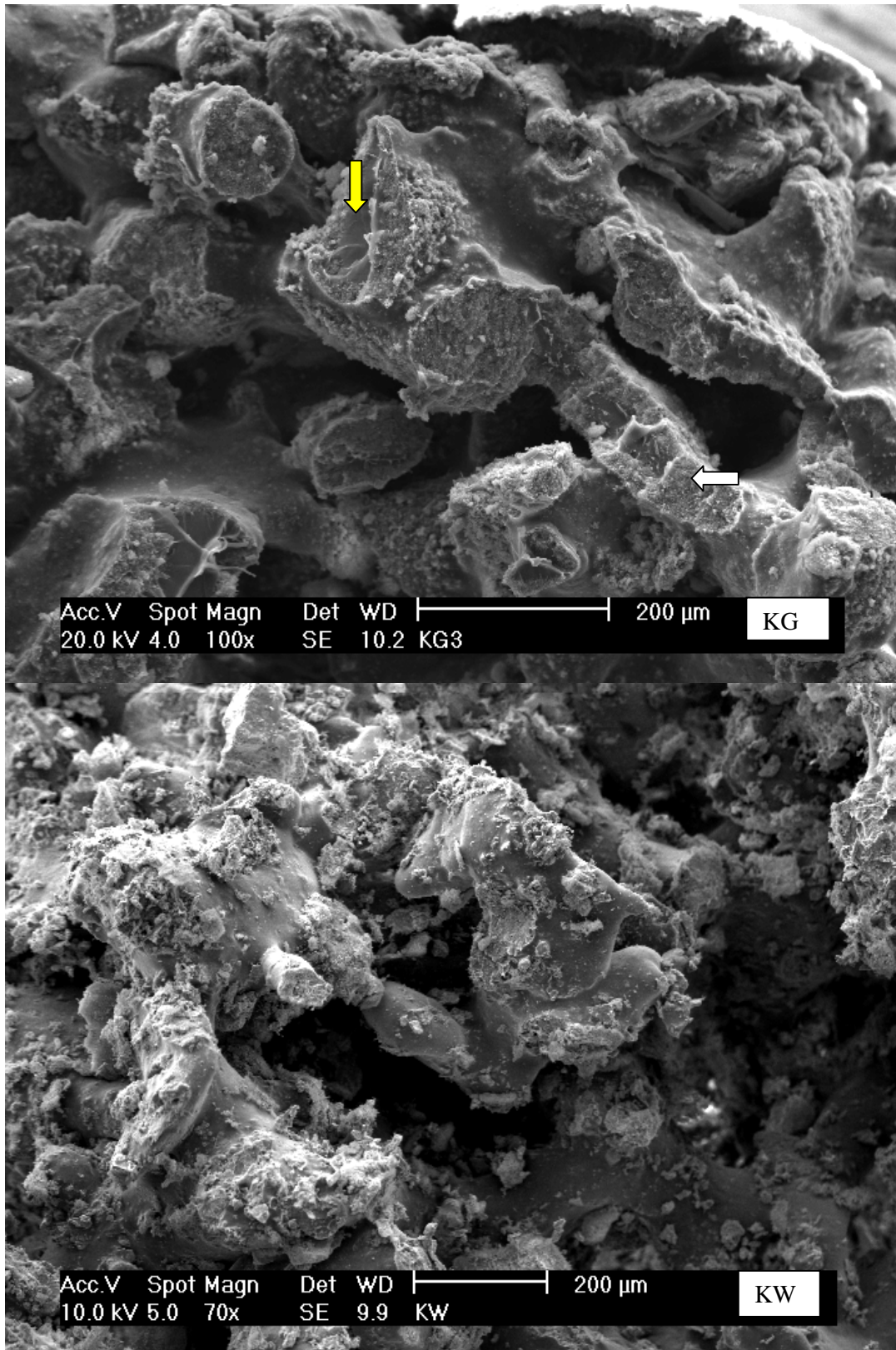


Figura 5-4 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 106-212µm. Amostra KG-30%Hap partículas e KW-30%Hap fibras.

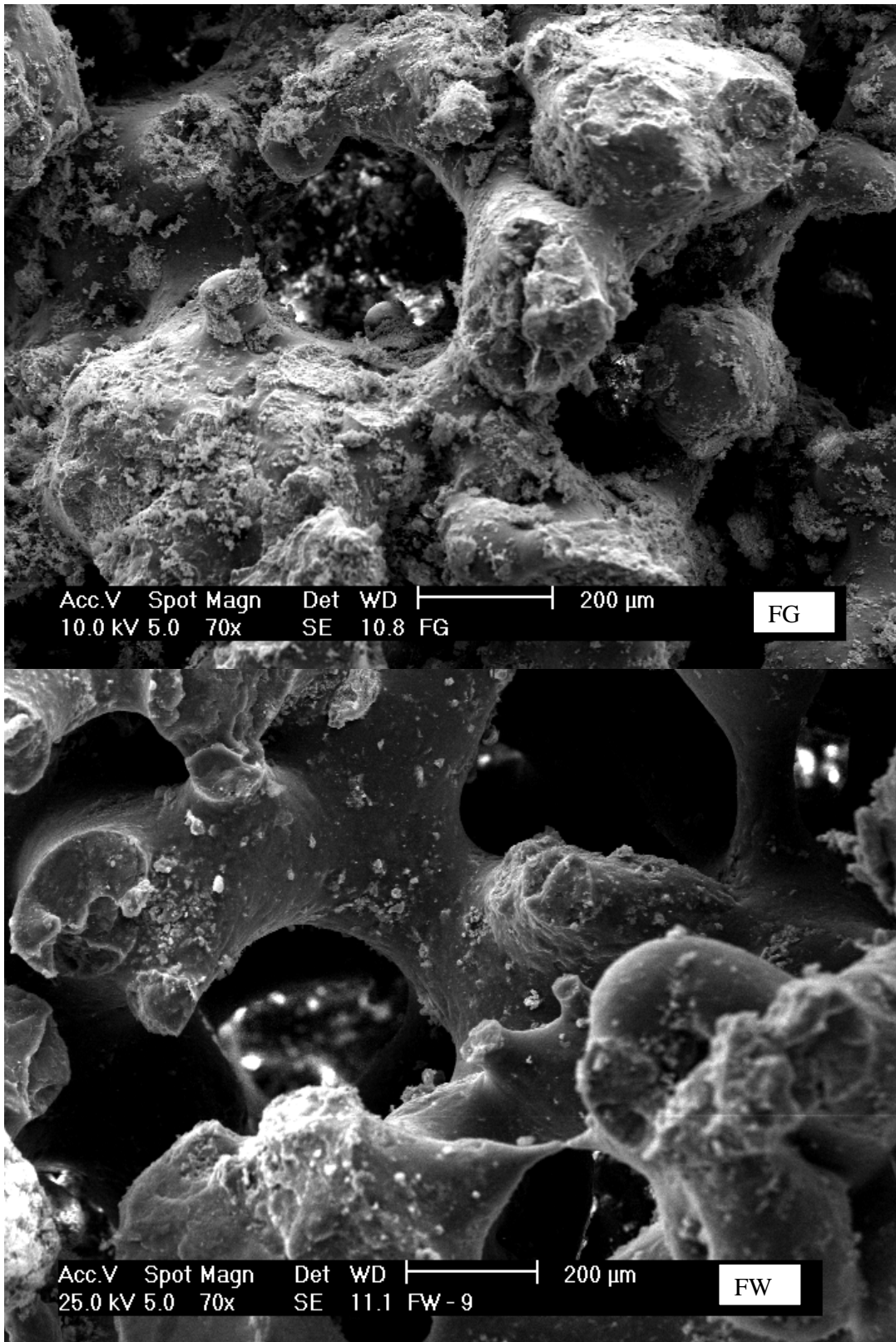


Figura 5-5 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 212-300 µm. Amostra FG-10%Hap partículas e FW-10%Hap fibras.

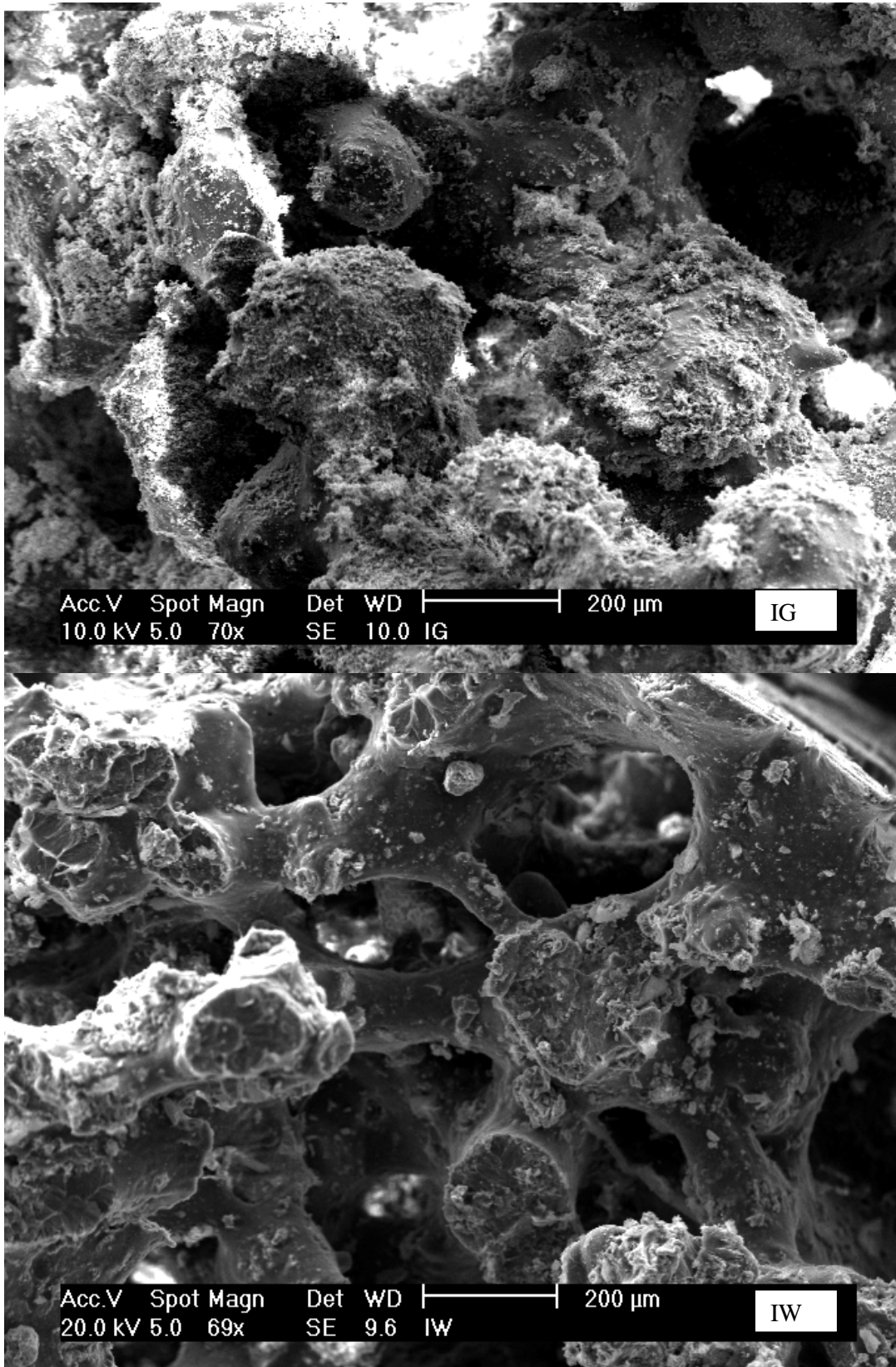


Figura 5-6 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 212-300 µm. Amostra IG-20%Hap partículas e IW-20%Hap fibras.

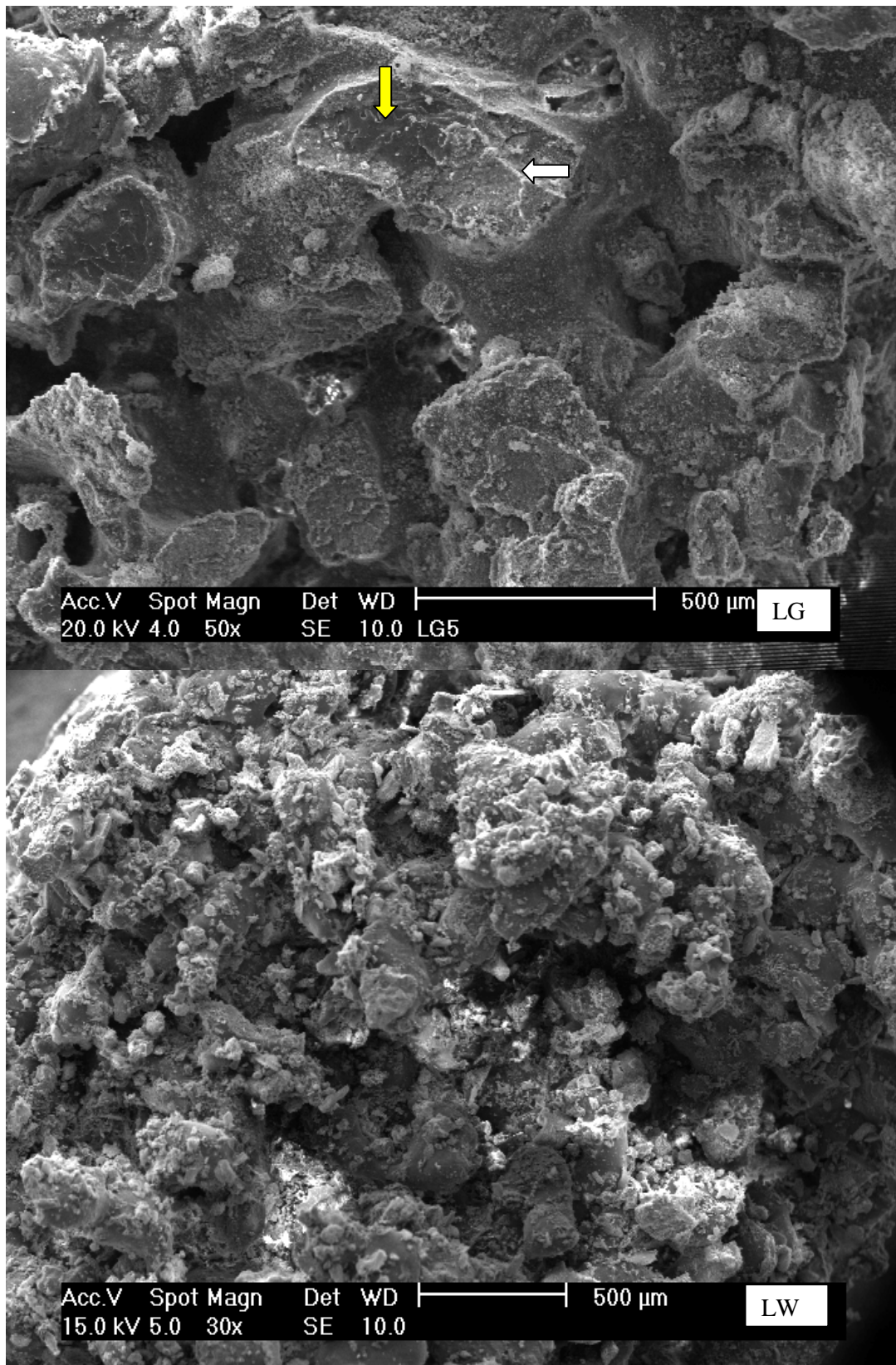


Figura 5-7 Imagem de microscopia eletrônica de varredura das amostras com tamanho de polímero 212-300 µm. Amostra IG-20%Hap partículas e IW-20%Hap fibras.

5.2.1 Concentração das fases (PLLA/Hap)

Ao se comparar as amostras que utilizaram diferentes concentrações de cerâmica, independentemente da faixa de tamanho de polímero e da forma de hidroxiapatita, foi possível observar:

- nas amostras com 10% de Hap, os poros apresentaram formas bem definidas e diâmetro entre 200 e 400 μm ; os *necks* apresentaram diâmetro menor que o diâmetro das partículas de PLLA e mais alongados, a quantidade de cerâmica que recobriu a superfície polimérica foi insuficiente para obstruir a formação dos *necks*; não houve evidências de qualquer interação entre os dois materiais, a hidroxiapatita permanece simplesmente depositada na superfície do polímero, sem penetrar no interior do mesmo. (**Erro! Fonte de referência não encontrada.** e Figura 5-5).

- nas amostras constituídas por 20% de Hap, foi possível observar que o diâmetro dos poros diminuiu e o diâmetro dos *necks* aumentou em relação às amostras com 10% de Hap. Foi possível identificar as regiões de formação dos *necks*, embora os mesmos se apresentassem mais espessos. A quantidade de cerâmica presente nessas amostras dificultou a formação de *necks* constituídos unicamente de polímero (**Erro! Fonte de referência não encontrada.** e Figura 5-6). Nas regiões de fratura, apareceram áreas de maior interação polímero/cerâmica, principalmente próximas à superfície.

- nas amostras constituídas por 30% de Hap, os poros não apresentaram forma regular sendo impossível definir diâmetros, não foi possível identificar a presença dos *necks*. A grande quantidade de cerâmica recobrindo a superfície polimérica dificultou o contato entre as partículas de PLLA. Essa dificuldade de contato impediu a formação dos *necks* de diâmetros reduzidos. Polímero e cerâmica se misturaram demonstrando evidências de fusão do PLLA (Figura 5-4 e Figura 5-7). As regiões de fratura mostraram poucas áreas com polímero puro, localizadas no centro dessas regiões (seta amarela). Foi possível observar que PLLA e Hap se misturaram homogeneamente da periferia para o centro das regiões de fratura (seta branca). Na maior parte dos corpos de prova, o PLLA encontra-se recobrindo a hidroxiapatita.

5.2.2 Forma da Hidroxiapatita

Todas as amostras que utilizaram Hap na forma de nanopartículas apresentaram boa sinterização, e tempo de programação isotérmica crescente com o aumento da concentração de Hap. Tal fato se justifica pela necessidade maior de calor para induzir a formação de *necks* nas amostras com maior quantidade de Hap.

Para as amostras que utilizaram Hap na forma de fibras, o tempo de programação isotérmica também aumentou com o aumento da concentração de Hap, indicando uma necessidade crescente de calor para induzir a formação de *necks* nas amostras com maior quantidade de fibras de Hap. No caso das fibras de Hap, os poros apresentaram melhor definição de forma e diâmetro quando comparadas às amostras que utilizaram nanopartículas. Os *necks* apresentaram-se melhor definidos, ou seja, com diâmetro menor que o diâmetro das partículas de PLLA, quando comparados aos *necks* produzidos nas amostras que utilizaram nanopartículas. Essa melhor definição dos *necks* foi observada principalmente nas amostras com menor quantidade de cerâmica. Essas diferenças foram observadas tanto para o conjunto de amostras que foram produzidas com PLLA na faixa granulométrica de 106-212 μm (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**, Figura 5-3 e Figura 5-4) como naquelas que utilizaram o PLLA na faixa de 212-300 μm (Figura 5-5, Figura 5-6 e Figura 5-7).

Tanto as amostras preparadas com fibras, como as amostras preparadas com nanopartículas de Hap foram submetidas ao mesmo procedimento de mistura e homogeneização entre as fases. Entretanto, as amostras preparadas com fibras de Hap não apresentaram a mesma desaglomeração da fase cerâmica e homogeneidade na distribuição entre as fases que as amostras preparadas com nanopartículas de Hap. A não desaglomeração das fibras de Hap contribuiu para maior quantidade de pontos de contato entre as partículas poliméricas consequentemente maior facilidade de sinterização e formação dos *necks*. Neste caso, a redução em cerca de 4 vezes do tempo de programação isotérmica necessário para sinterização das amostras que utilizaram fibras, contribuiu para a forma e diâmetro dos poros e dos *necks* nas amostras com pouca quantidade de Hap. Essa dificuldade de desaglomerar as fibras dificultou o recobrimento das fibras pelo polímero reduzindo a interação entre as fases dos materiais nas amostras que utilizaram fibras.

5.2.3 Tamanho de partículas do PLLA

A escolha do tamanho das partículas do PLLA teve como objetivo direcionar o tamanho dos poros obtidos após a sinterização. Poros com diâmetro variando entre 100 e 300 μm , são suficientes para possibilitar o transito de células e vasos, para favorecer a adesão celular e principalmente permitir a secreção de matriz extracelular. Poros com essas dimensões foram observados apenas nas amostras com 10% de Hap, independente da forma utilizada, tanto para as amostras que utilizaram PLLA na faixa granulométrica de 106-212 μm (Figura 5-2) como naquelas que utilizaram o PLLA na faixa de 212-300 μm (Figura 5-5). Também foi possível observar nas amostras com 20% de Hap na forma de fibras (Figura 5-3 e Figura 5-6). Entretanto, não foi possível apenas por análise de MEV caracterizar o tamanho de poros de cada amostra estudada.

A microestrutura para materiais sinterizados é influenciada por parâmetros que incluem tipo de material sinterizado, tamanho e forma das partículas a serem sinterizadas, e em caso de compósitos, a quantidade de cada fase bem como as conexões ou contatos entre as fases.

Somado a todos esses parâmetros, sabe-se que a porosidade é uma característica importantíssima da microestrutura e que vai além do percentual de poros, incluindo tamanho do poro, sua forma e distribuição, além de sua geometria. Ao se pensar em porosidade para arcabouços (*scaffolds*) em engenharia de tecidos, deve-se considerar ainda a necessidade da interconectividade entre os poros, ou seja, a estrutura porosa deve apresentar poros abertos. A combinação de todos esses elementos, que caracterizam a microestrutura do arcabouço, deve possibilitar ainda resistência mecânica compatível com a necessidade tecidual local ao longo do tempo de permanência do mesmo no corpo.

Não se trata de simplesmente produzir um material com poros, vários requisitos são fundamentais, quando se pretende que esses poros possibilitem a penetração de células, que sofrerão diferenciação celular nesse ambiente, e realizarão a secreção de matriz extracelular capaz de se mineralizar e dar origem ao tecido ósseo neoformado. Todo esse processo deve ocorrer no interior dos poros, simultaneamente à degradação do arcabouço, que nesses casos além de funcionar como suporte deve principalmente atuar como condutor da migração celular. Para que tudo isso ocorra de forma eficaz, o arcabouço deve apresentar boa distribuição de poros ao longo de sua estrutura. Os poros devem apresentar tamanhos adequados à mobilidade celular, migração vascular e síntese de matriz extracelular. Hoje a literatura preconiza que esses poros, para

favorecer a regeneração do tecido ósseo, devem apresentar tamanhos entre 100 e 500 μm ; poros menores tendem a dificultar o trânsito celular e a penetração de vasos sanguíneos para a região, dificultando também a secreção da matriz extracelular, função primordial no caso da célula óssea. Poros maiores que 500 μm criam um espaço vazio muito grande que dificulta o contato das células com a superfície do poro e com vasos podendo desencadear um processo de morte celular. Outro fator fundamental é a interconectividade entre esses poros, que não deve ser inferior a 50 μm , uma vez que o osteoblasto, principal célula secretora de matriz extracelular no processo de reparação do tecido ósseo, possui em média 30 μm de diâmetro.

Ao se analisar as imagens das 12 amostras estudadas foi possível identificar que algumas amostras apresentaram vantagens quanto aos parâmetros analisados. As amostras com menor concentração de hidroxiapatita (10%) apresentaram poros com formas mais definidas, *necks* com menor diâmetro, boa interconectividade e especialmente a amostra que usou nanopartículas de Hap, apresentou recobrimento da superfície polimérica com maior homogeneidade de distribuição da cerâmica. Esse fato é importante de ser considerado quando se pretende inserir o *scaffold* em meio biológico. A superfície do *scaffold* deve apresentar elementos que favoreçam a interação do implante com o meio no qual está sendo implantado. A presença da Hap distribuída homogeneamente na superfície do *scaffold* pode vir a conferir ao mesmo um caráter de bioatividade favorecendo a interação entre o osso e o implante.

5.3 POROSIDADE

Nesse trabalho a morfologia do poro foi discutida anteriormente no item de microestrutura. A seguir será feita apenas a discussão da porosidade no que diz respeito ao percentual de poros.

Para a análise da porosidade foram sinterizados 5 corpos de prova de cada amostra constituindo um grupo de estudo composto por 60 corpos de prova. O percentual de poros foi calculado conforme descrito no capítulo de materiais e métodos.

Para que um arcabouço possa ser utilizado como elemento de substituição temporária de tecido ósseo, o percentual de poros não deve ser tão baixo, que inviabilize a migração e proliferação celular, nem tão alto que comprometa a resistência mecânica do mesmo. O equilíbrio entre essas duas propriedades deve ser controlado por meio do processo de fabricação.

Nesse trabalho foram definidos critérios para a seleção dos corpos de prova que fariam parte do grupo de estudo (citados no capítulo de materiais e métodos). Foi definido também um intervalo de percentual de poros aceitável para os corpos de prova que atendessem aos critérios de inclusão preestabelecidos. Estipulou-se o intervalo entre 40 e 70% de porosidade como valor de referência. O valor de 40% foi definido como limite mínimo, pois em testes preliminares observou-se que corpos de prova com porosidade abaixo desse valor apresentavam redução dimensional e, portanto deixavam de atender um dos critérios de inclusão estabelecidos nesse trabalho. Os corpos de prova que após os cálculos, apresentaram porosidade menor ou igual a 40% foram excluídos do estudo; da mesma forma os corpos de prova que apresentassem valores de porosidade maiores que 70% não comporiam o grupo de estudo, pois a partir desse valor o arcabouço pode ser considerado como material celular e não poroso. Todas as amostras estudadas apresentaram porosidade variando entre 48 e 61%. Os valores da porosidade média de cada amostra encontram-se na Tabela 5-2.

Tabela 5-2 - Valores de porosidade para cada amostra estudada e seus respectivos desvios padrão.

Concentração PLLA/HA (%)	POROSIDADE (+/-DP)			
	PLLA 106-212 µm	PLLA 212-300 µm	PLLA 106-212 µm	PLLA 212-300 µm
	HA partículas		HA fibras	
90/10	0,55 +/- 0,02	0,48 +/- 0,02	0,48 +/- 0,01	0,48 +/- 0,02
80/20	0,57 +/- 0,02	0,51 +/- 0,03	0,54 +/- 0,01	0,48 +/- 0,01
70/30	0,57 +/- 0,03	0,61 +/- 0,02	0,56 +/- 0,03	0,51 +/- 0,04

Os dados receberam tratamento estatístico pelo método de análise de variância. A análise mostrou que a porosidade varia em função da concentração de hidroxiapatita, do tipo de hidroxiapatita (partícula ou fibra), e do tamanho do polímero. Essas variáveis apresentaram valor de p inferior a 0,000001 para a concentração de Hap e para o tipo de Hap, e valor de p inferior a 0,00002 para a variável tamanho de partícula de PLLA.

Embora o aumento da concentração de Hap tenha aumentado o tempo de programação isoterma no processo de sinterização, esse aumento não foi suficiente para produzir densificação com redução dimensional dos corpos de prova. As amostras com maior concentração de Hap foram as que apresentaram maiores valores de percentual de poros. Esse aumento aconteceu tanto para as amostras com Hap na forma de partículas quanto para a Hap na forma de fibras. O gráfico da Figura 5-8 demonstra esse fato. As amostras que utilizaram fibras de Hap apresentaram valores de percentual de poros menores comparado àquelas que utilizaram partículas, e embora esse

percentual aumente com o aumento da concentração de Hap, ainda assim as fibras apresentam valores menores.

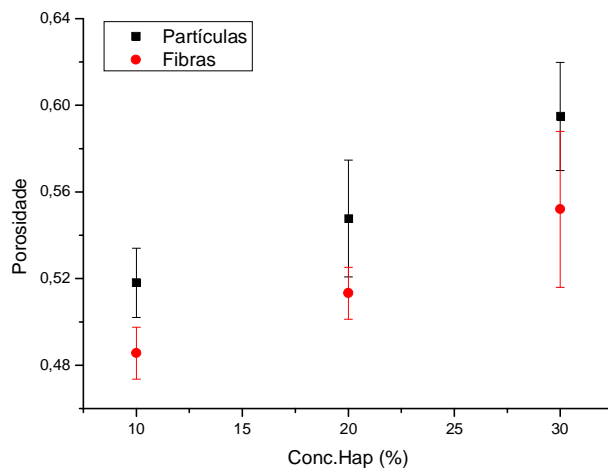


Figura 5-8 - Variação da porosidade em função da concentração de hidroxiapatita. Comparação entre duas formas de Hap, partículas e fibras.

Já foi discutido anteriormente que as amostras que continham 30% de cerâmica necessitaram de maior tempo de sinterização, principalmente aquelas que utilizaram Hap na forma de partículas. Essas amostras apresentaram evidências de fusão do polímero e o envolvimento das partículas de Hap pelo polímero. Esse tempo prolongado de sinterização pode ter provocado além da fusão a liberação de vapores, que ficaram aprisionados no interior do corpo de prova em poros fechados. A dificuldade na liberação desses vapores pode ter determinado o aumento do percentual de poros para essas amostras. Entretanto, não foi possível identificar esse tipo de porosidade na análise por MEV.

O tamanho do polímero influenciou de forma significativa o percentual de poros nas amostras estudadas. Partículas de maior tamanho possuem uma reatividade superficial menor, que prolonga o tempo de sinterização das mesmas. A quantidade de Hap utilizada no processo de sinterização influenciou o processo de forma a também dificultar a sinterização para cada tamanho de partícula de PLLA. Embora nos dois tamanhos de polímero o percentual de poros tenha aumentado com o aumento da concentração de cerâmica, no caso das amostras com PLLA na faixa granulométrica de 106-212 μm essa tendência de aumento diminuiu à medida que se acrescenta Hap à mistura. Para as amostras com PLLA na faixa granulométrica de 212-300 μm , a

tendência de aumento cresce com o acréscimo de Hap. Observando os dados do gráfico na Figura 5-9 pode-se perceber uma tendência de equivalência para as duas faixas de tamanho de polímero, sugerindo que após um determinado tempo de sinterização foi a quantidade de carga e não o tamanho de partícula polimérica quem influenciou de forma mais significativa o percentual de poros no material.

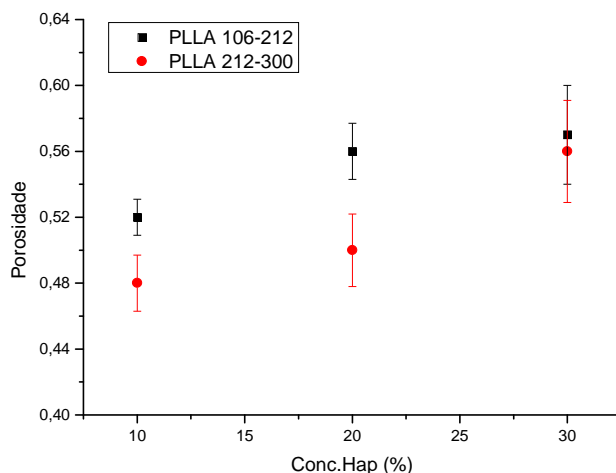


Figura 5-9 - Variação da porosidade em função da concentração de hidroxiapatita. Comparação entre dois tamanhos de PLLA.

5.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS

Por se tratar de um material poroso optou-se somente pelo ensaio de compressão das peças. Foram utilizados 4 corpos de prova de cada amostra estudada para a realização do ensaio. Cada corpo de prova foi cortado de forma que suas dimensões finais fossem de 6,0 mm de altura e 3 mm de diâmetro, para evitar que as amostras flambassem durante o ensaio. A fixação dos corpos de prova na máquina de ensaios foi feita com a ajuda de cera odontológica.

Como se vê na Tabela 5-3, os resultados médios encontram-se dentro da faixa de 2-12MPa que coincide com os valores para o osso trabecular. Entretanto os valores elevados dos desvios padrão encontrados em algumas análises demonstram que o número de amostras utilizadas não foi suficiente para uma análise estatística mais detalhada.

Tabela 5-3 - Valores de resistência mecânica média para cada amostra estudada e seus respectivos desvios padrão.

Concentração PLLA/HA (%)	RESISTÊNCIA MECÂNICA (MPa _± -DP)			
	PLLA 106-212 µm	PLLA 212-300 µm	PLLA 106-212 µm	PLLA 212-300 µm
	HA partículas		HA fibras	
90/10	9,50 _± 5,06	11,24 _± 4,42	9,61 _± 4,25	3,97 _± 1,54
80/20	2,08 _± 1,53	5,84 _± 3,96	1,73 _± 1,24	5,79 _± 1,53
70/30	4,26 _± 3,20	3,74 _± 0,27	7,16 _± 3,18	1,86 _± 1,64

Um arcabouço tem como principal função atuar como suporte estrutural no preenchimento de falhas ósseas. Para tanto, deve apresentar características que conciliem porosidade capaz de garantir a função celular, e resistência mecânica semelhante ao osso no qual foi inserido, minimizando assim a tensão na interface entre o osso e o implante.

Os maiores valores de resistência mecânica média foram obtidos com as amostras que continham 10% de Hap. Exceto no caso da amostra constituída de 10% de Hap na forma de fibra e PLLA com tamanho de partícula na faixa de 212-300 µm, que apresentou maior valor para as amostras com 20% de cerâmica. No caso das amostras com polímero na faixa granulométrica de 106-212 µm ocorreu uma queda de valores nas amostras com 20% de cerâmica e um novo aumento nas amostras com 30%. Isso ocorreu tanto para as amostras que utilizaram Hap na forma de partículas, quanto naquelas que utilizaram fibras.

A Figura 5-10 mostra que as amostras com PLLA na faixa de 106-212 µm apresentaram uma semelhança maior entre os resultados para Hap na forma de partículas e fibras. Essa semelhança desapareceu para a concentração cerâmica de 30%. Nesse caso as fibras apresentaram resistência mecânica maior. No caso das amostras com PLLA na faixa granulométrica de 212-300 µm, essa semelhança ocorre somente quando a concentração cerâmica é de 20% (Figura 5-11).

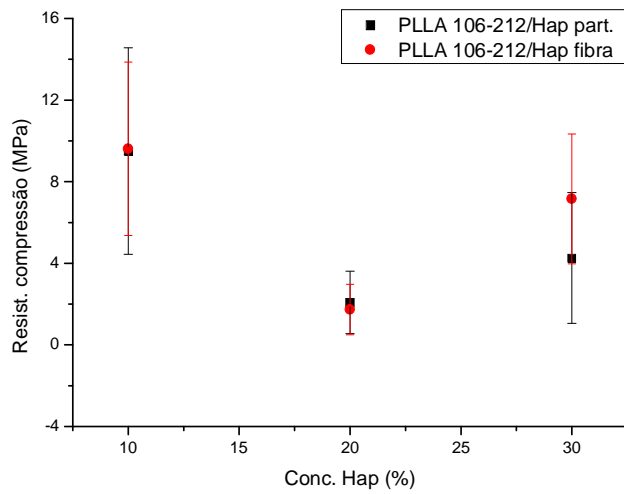


Figura 5-10 - Gráfico mostrando o comportamento mecânico das amostras com PLLA na faixa granulométrica de 106-212 µm.

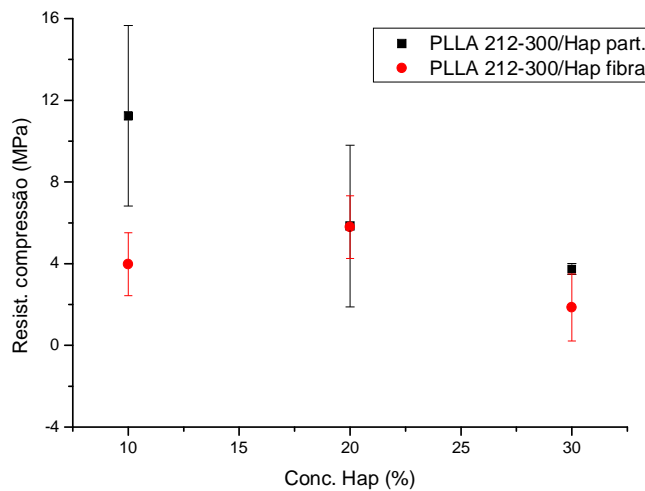


Figura 5-11 - Gráfico mostrando o comportamento mecânico das amostras com PLLA na faixa granulométrica de 212-300 µm.

Tanto nas amostras que utilizaram Hap na forma de partículas quanto naquelas que utilizaram fibras, para as duas faixas granulométricas de PLLA, se forem consideradas apenas as concentrações extremas, ou seja, 10 e 30% de Hap, o que se observou foi uma redução nos valores da resistência mecânica (Figura 5-12 e Figura 5-13).

Embora os resultados apresentem uma alta dispersão, em todas as amostras testadas ficou evidente o fato de que a Hap nas concentrações utilizadas nesse trabalho não funcionou como reforço para a matriz melhorando suas propriedades. A Hap por

permanecer inerte no processamento não realizou ligações com o PLLA capazes de melhorar as propriedades mecânicas do material. O aumento da porosidade nas amostras com maior concentração cerâmica também contribuiu para a redução da resistência mecânica nas mesmas.

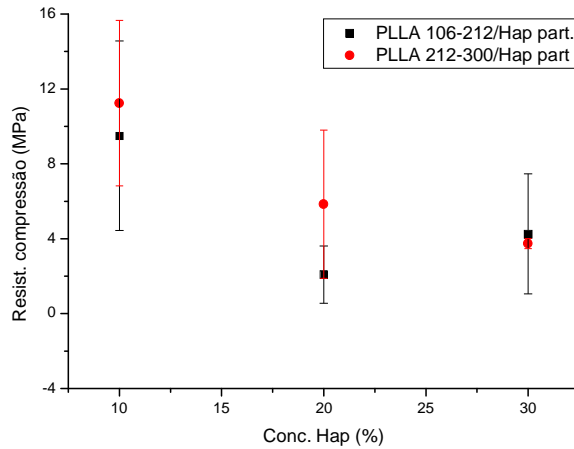


Figura 5-12 - Gráfico mostrando o comportamento mecânico das amostras com Hap na forma de partículas.

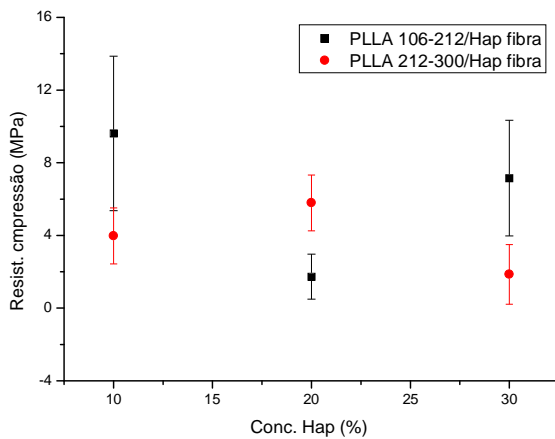


Figura 5-13 - Gráfico mostrando o comportamento mecânico das amostras com Hap na forma de fibras.

O PLLA é um polímero biocompatível, biodegradável e biorreabsorvível. Dependendo do arranjo de sua estrutura pode apresentar-se na forma amorfa ou semicristalina. O peso molecular e o grau de cristalinidade interferem diretamente com a sua degradabilidade. Sua degradação é do tipo heterogênea, ou seja, acontece tanto da superfície para o interior, como do interior para a superfície. Ao se degradar, o PLLA inicialmente sofre hidrólise na superfície liberando pequenos oligômeros, que darão origem a monômeros de ácido lático, que serão reabsorvidos e incorporados ao metabolismo celular. Entretanto, massas muito densas desse polímero tendem a sofrer degradação interna, acumulando ácido lático, que agirá como catalisador da cadeia polimérica acelerando a degradação de dentro para fora. Quando esse ácido lático acumulado internamente alcança o meio externo, ocorre uma redução temporária no pH desse meio. No corpo humano, esse fato pode provocar reações indesejáveis como respostas inflamatórias locais exacerbadas. Esses fatos já foram devidamente descritos no capítulo de revisão Bibliográfica. Nesse sentido, com o objetivo de evitar a presença de regiões com alta concentração de PLLA puro, deve-se utilizá-lo preferencialmente associado a outros biomateriais.

Também é sabido e foi descrito na revisão bibliográfica que a hidroxiapatita com razão Ca/P 1,67 apresenta estrutura altamente cristalina e conseqüentemente baixa degradabilidade. A hidroxiapatita é o material mais estável e menos solúvel no corpo humano dentre os fosfatos de cálcio. Pode levar até 4 anos para que a Hap altamente cristalina seja degradada totalmente quando colocada *in vivo*. Tais características podem impedir ou diminuir a regeneração do tecido ósseo quando diante de um implante dessa natureza. Para arcabouços de substituição temporária de tecido ósseo, espera-se uma cinética de degradação compatível com a de formação do referido tecido. Assim, é desejável que o material substituinte dos ossos apresente certa solubilidade que permita esta regeneração, o que pode ser conseguido com uma hidroxiapatita carbonatada.

Estudos recentes *in vivo* mostram que a taxa de dissolução de hidroxiapatita carbonatada sinterizada é intermediária entre a hidroxiapatita pura, que apresenta a menor taxa entre elas, e o TCP- β que possui a maior taxa (Shu, 2005).

Nesse trabalho foram combinadas varias possibilidades de misturas entre o PLLA e a hidroxiapatita não estequiométrica, submetidas ao processo de sinterização, para posterior análise de suas propriedades.

Dentro das amostras estudadas, buscou-se identificar aquelas que pudessem alcançar propriedades que justificassem um futuro estudo *in vivo*. Nesse sentido, não os melhores valores para cada propriedade estudada, mas a melhor combinação de valores foi analisada.

Sabe-se que um arcabouço não deve apresentar grandes concentrações de PLLA puro, pois sua degradação pode levar a acidificação do meio e desencadear respostas indesejáveis. Sendo assim é preciso que o PLLA se misture com a hidroxiapatita ao longo do arcabouço para que durante a degradação, a liberação simultânea da Hap e do ácido láctico evite a redução do pH. Essa homogeneidade na mistura dos dois componentes foi observada nas amostras com 30% de nanopartículas de Hap.

Sabe-se que a porosidade, que vai além do percentual de poros, deve possibilitar migração celular e secreção de matriz extracelular, e esses eventos devem ocorrer concomitantes com a degradação do arcabouço. Para isso são necessários poros interconectados e de tamanho compatível com o metabolismo celular. As amostras contendo 10% de Hap na forma de partículas apresentaram essas características, bem como as que continham 20% de Hap na forma de fibras.

Por fim, o arcabouço deve garantir suporte estrutural, enquanto a matriz extracelular não está mineralizada o suficiente para fazê-lo. Apesar das dificuldades na realização dos testes, a grande maioria das amostras apresentou resistência mecânica compatível com as encontradas no osso trabecular.

Dessa forma, considerando todas as necessidades revistas acima e analisando o conjunto de amostras estudadas, foi possível identificar nas amostras que utilizaram PLLA na faixa granulométrica de 106-212 μm , hidroxiapatita na forma de partículas e nas concentrações de 10 e 30% de Hap, a combinação de fatores que justificariam a continuidade das investigações para utilização como arcabouços de substituição temporária de tecido ósseo.

6 CONCLUSÕES

Este trabalho mostrou que é possível produzir arcabouços porosos pelo processo de sinterização, utilizando-se o compósito de PLLA/Hap.

O tempo de sinterização, a porosidade e a resistência mecânica dos arcabouços variaram de acordo com a concentração e a morfologia de cada fase presente no compósito.

A Hap, na forma de partículas, recobriu a superfície do polímero diminuindo a área de contato entre as partículas aumentando o tempo de sinterização. Esse resultado pode ser explicado pela diferença de dimensões entre as partículas – as partículas cerâmicas são duas ordens de grandeza menor em relação às poliméricas. Os compósitos preparados com Hap na forma de fibras sinterizaram em $\frac{1}{4}$ do tempo dos compósitos preparados com Hap na forma de partícula, pois apesar da diferença nas dimensões, não apresentaram a mesma homogeneidade no recobrimento do polímero.

Os compósitos preparados com 10% de Hap na forma de partículas ou fibras, bem como os preparados com 20% de Hap na forma de fibras apresentaram uma estrutura porosa bem definida, com poros interconectados e diâmetro entre 200 e 300 micrometros. Porém os compósitos preparados com 20% de Hap na forma de partículas e os preparados com 30% de Hap na forma de fibra ou partículas não apresentaram a mesma definição.

O aumento da concentração de Hap produziu um aumento no diâmetro dos *necks* e redução no tamanho dos poros. Além desse fato, os compósitos preparados com 30% de Hap na forma de partículas apresentaram regiões homogêneas, com total envolvimento da cerâmica pelo polímero.

Amostras produzidas com maior concentração de partículas de Hap apresentaram maior percentual de poros. Esse fato é devido ao tempo de sinterização. O tempo prolongado de sinterização pode ter provocado a liberação de gases devido à fusão do polímero em algumas regiões. A dificuldade em liberar esses gases deu origem a poros aumentando o seu percentual.

A resistência mecânica diminuiu com o aumento da concentração de Hap, tanto na forma de partícula como de fibra. Observando a zona de fratura dos compósitos verificou-se que os compósitos preparados com 30% de Hap na forma de partículas apresentaram uma boa homogeneização. Entretanto a provável ausência de interação

química entre as fases, apesar da melhora na homogeneização não provocou melhora nas propriedades mecânicas.

Apesar da Hap adicionada aos compósitos ter reduzido a resistência mecânica à compressão, a grande maioria dos compósitos apresentou resistência compatível com o tecido ósseo trabecular.

Analisando estes resultados observa-se que os compósitos preparados com PLLA na faixa de 106-212 μ m e 10 ou 30% de Hap na forma de partículas apresentaram propriedades que justificariam a continuidade dos estudos para possível utilização em engenharia de tecido ósseo.

7 SUGESTÕES

- Testar outras formas de desaglomerar as fibras de Hidroxiapatita.
- Estudar a utilização de possíveis agentes de ligação entre o PLLA e a Hidroxiapatita para melhorar as propriedades mecânicas do compósito.
- Realizar estudos *in vivo* com as amostras que utilizaram PLLA na faixa granulométrica de 106-212 μ m, Hap na forma de partículas e nas concentrações de 10 e 30% de Hap.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-QURESHI, H. A.; - Introdução aos materiais plásticos reforçados. 2002.
- AN, Y. H.; WOOLF, S. H.; FRIEDMAN, R. J. Pre-clinical in vivo evaluation of orthopaedic bioabsorbable devices. *Biomaterials*. 21, 2000. p. 2635-2652.
- BANKS, W.J. Tecidos de sustentação: osso. In: BANKS, W.J. (Ed). *Histologia veterinária aplicada*. 2. ed. São Paulo : Manole, 1992. p. 137-186.
- BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C.; DUEK E. A. R. Polímeros Bireabsorvíveis na engenharia de tecidos. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. vol. 15, n.1, 2005. p. 13-21.
- BRIGHTON, C.T. et al. The pericyte as a possible osteoblast progenitor cell. *Clin Orthop*. n.275, 1992. p. 278-299,
- BRONZINO, J. D. - *The Biomedical Engineering Handbook*. Second Edition. Boca Raton: CRC Press LLC, 2000.
- BURG, K. J. L., *et al.* Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials* 21(23): 2000. p. 2347-2359.
- CALLISTER, W. D. Jr. *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*, Rio de Janeiro, LTC, 2002. 358-383.
- CHEANG, P.; KHOR, K.; A.; - Effect of particulate morphology on the tensile behaviour of polymer_hydroxyapatite composites. *Materials Science and Engineering*. A345, 2003. p.47_ 54.
- CHEUNG, H. Y.; LAU, K. T.; LU, T. P.; HUI, D.; - A critical review on polymer-based bio-engineered materials for arcabouçodevelopment *Composites: Part B*. 38, 2007. p.291–300
- DINGEE, F. - *Fabricação de arcabouços tridimensionais: aplicação futura em regeneração guiada de tecido ósseo*. Dissertação Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.
- DOI, Y. e STEINBÜCHEL, A. *Biopolymers*. Federal Republic of Germany: WILEY-VCH, 2002. 398p.
- ELLINGSEN, J. E.; LYGSTADAAS, S. P. – *Bio-Implant Interface – Improving Biomaterials and Tissue Reactions*. CRC Press LLC, 2003. 448p.

- GERMAN, R. M. – Sintering Theory and Practice. A Wiley Interscience Publication. John Wiley & Sons, Inc. 1996.
- HAM, A.W. ; et al. Histologia, 7^o ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1977, cap. 15 p. 318-376.
- HE, Q.; HUANG, Z.; - Template-directed one-step synthesis of flowerlike porous carbonated hydroxyapatite spheres. - Materials Letters. 61, 2007. p. 141–143
- HOLLINGER, J. O. "Biomedical applications of synthetic biodegradable polymers" United States of America: CRC Press, 1995. 247p.
- IWAI, K.; et al. - Application of a strong magnetic field on materials fabrication and experimental simulation. Science and Technology of Advanced Materials 7, 2006. p. 365–368.
- JUNG, Y., et al. A poly(lactic acid)/calcium metaphosphate composite for bone tissue engineering" Biomaterials 26: 2005. p. 6314-6322.
- JUNIOR, J. V. A.; - Compósitos polímero/fosfato de cálcio para aplicações biomédicas. Dissertação: Ciências e Engenharia de Materiais, Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro e Departamento de Comunicação e Arte da Universidade de Aveiro, 2005. 103p.
- KAWACHI, E. Y., et al. "Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar" Química Nova 23(4): 2000. p. 518-522.
- KESKIN, D. S.; *et al.* Collagen-chondroitin sulfate-based PLLA-SAIB-coated rhBMP-2 delivery system for bone repair. Biomaterials, 26, 2005. p. 4023-4034.
- KIM, H.; KNOWLES, J. C.; KIM, H. Hydroxyapatite/poly (ϵ -caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone arcabouçofor drug delivery. Biomaterials, 25, p. 2004. p. 1279-1287.
- KOKUBO, T.; KIM, H.; KAWASHITA, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. Biomaterials, 24, 2003. p. 2161-2175.
- LANGER, R. AND VACANTI, J.P. - Tissue engineering. Science, 26, 1993. p. 920–927.
- LEE, S.H.; SHIN, H. - Matrices and arcabouços for delivery of bioactive molecules in bone and cartilage tissue engineering - Advanced Drug Delivery Reviews, 59, 2007. p. 339–359
- LIND, M. - Growth factor stimulation of bone healing: effects on osteoblasts, osteotomies, and implants fixation. Acta Orthop Scand, Suppl, v.69, n.283, 1998. p.1-37.
- LIU, C.; XIA, Z.; CZERNUSZKA, J. T. - Design And Development Of Three-Dimensional Scaffolds For Tissue Engineering. Review Paper. Chemical Engineering Research and Design. Vol 85 A7, 2007. p. 1051–1064

- MANO, J. F.; et al. - Bionert, diodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art and recent developments. *Composites Science and Technology*, 64, 2004. p. 789-817.
- MAVROPOULOS, E.; - A hidroxiapatita como absorvedor de metais. Dissertação. Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 1999. 105 p.
- MIAO, X.; et al. - Mechanical and biological properties of hydroxyapatite-tricalcium phosphate arcabouços coated with poly(lactic-co-glycolic acid) - *Acta Biomaterialia* 4, 2008. p. 638-645.
- MIZUTANI, Y., et al. - Poly(L-lactic acid) short fibers prepared by solvent evaporation using sodium tripolyphosphate. *Polymer*. 46, 2005. p.3789 -3794.
- NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T.; - Biodegradable polymers as biomaterials *Prog. Polym. Sci.* 32, 2007. p. 762-798.
- NEUENDORF, R. E. et al. - Adhesion between biodegradable polymers and hydroxyapatite- Relevance to synthetic bone-like materials and tissue engineering arcabouços - *Acta Biomaterialia* 4, 2008. p. 1288-1296.
- OLIVER, V.; FAUCHEUX, N.; HARDOUIN, P. Biomaterial challenges and approaches to stem cell use in bone reconstructive surgery. *DDT*, v. 9, n. 18, 2004.
- PARK, J. B. ; BRONZINO, J. D. – Biomaterials principles and applications. CRC Press LLC, 2002. 250p.
- PAPKOV, M. S.; et al. - Polymer carriers for drug delivery in tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59, 2007. p. 187-206
- REZENDE, C. A.; DUEK, E. A. R. Blendas de Poli (Ácido Láctico-co-ácido Glicólico) / Poli (Ácido Láctico): Degradação in vitro. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.13, n.1, 2003. p. 36-44.
- RHO, J.; KUHN-SPEARING, L.; ZIOUPOS, P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Medical Engineering & Physics*, 20, 1998. p. 92-102.
- RATNER, B. D.;HOFFMAN,A. S.; SCHOEN, J.; LEMONS,J. E. Biomaterials Science. An introduction to Materials in Medicine. Academic Press, 1996.
- SALGADO, A. J., COUTINHO, O. P. Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends. *Macromolecular Bioscience* 4(8): 2004. p. 743-765.
- SHIKINAMI, Y.; OKUNO, M. Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly L – lactide (PLLA). Part I: basic characteristics. *Biomaterials*, 20, 1999. p. 859-877.

- SHIKINAMI, Y.; OKUNO, M. Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly L – lactide (PLLA). Part II: practical properties of miniscrews and miniplates. *Biomaterials*, 22, 2001. p. 3197-3211.
- SHIKINAMI, Y.; MATSUSUE, Y.; NAKAMURA, T. The Complete Process of Bioresorption and Replacement Using Devices Made of Forged Composites of Raw Hydroxyapatite Particles/Poly L-lactide (F-u – HA/PLLA). *Biomaterials*, 26, 2005. p. 5542-5553.
- SLÓWISZCZYK, A.; PASZKIEWICZ, Z.; PALUSZKIEWICZ, C.; - FTIR and XRD Evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods. - *Journal of Molecular Structure* 744–747, 2005. p. 657–661
- SÖDERGÅRD, A.; STOLT, M. - Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. *Progress in Polymer Science* 27(6): 2002. p. 1123-1163.
- SAITO, N.; et al. - Synthetic biodegradable polymers as drug delivery systems for bone morphogenetic proteins - *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 2005. p. 1037–1048
- SANTOS, C F.; - Materiais fosforocálcicos para utilização em sistemas de libertação de fármacos. Dissertação de mestrado: Engenharia de Materiais, Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro, VII, 2006. 127 p.
- SILVA, M. A. M.; - Chemical preparation and properties of calcium phosphate based materials for biomedical applications. Dissertação: Ciência e Engenharia de Materiais, Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro, VII, 2004. 86 p.
- STYLIOS, G.; TAOYU W.T.; GIANNOUDIS, P.; - Present status and future potential of enhancing bone healing using nanotechnology *Injury, Int. J. Care Injured*. 381, 2007. p. 63—74
- TANAKA, H.; et al. - Surface structure and properties of fluoridated calcium hydroxyapatite, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Volume 204, Issues 1-3, 23 May 2002, p. 251-259.
- TUREK, S. L., - *Ortopedia: princípios & sua aplicação*. São Paulo, Manole, V.I, cap. 3, seção I e II, cap. 6, seção II, cap. 8. 1991.
- URIST, M.R. The search for and the discovery of bone morphogenetic protein (BMP). In: URIST, M.R.; OCONNOR, B.T.; BURWELL, R.G. (Eds). *Bone grafts, derivatives and substitutes*. Oxford : Butterworth Heinemann, 1994. p.315-361.
- WOSNEY, J.M. Molecular biology of the bone morphogenetic proteins. In: URIST, M.R.; OCONNOR, B.T.; BURWELL, R.G. (Eds). *Bone grafts, derivatives and substitutes*. Oxford: Butterworth Heinemann, 1994. p.397-413.
- WILLIAMS, D.F., - *Definitions in biomaterials*. Elsevier ed. Amsterdam, 1987.

- WHANG, k.; et al.- A novel method to fabricate bioabsorbable arcabouços. *Polymer*, v. 36, n. 4, 1995. p. 837-842.
- WEI, G.; MA, P. X. Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite arcabouços for boné tissue engineering. *Biomaterials*, 25, 2004. p. 4749-4757.
- WILLIAMS, P.L.; et al. - *Gray Anatomia*, 37^a edição. Ed. Guanabara Koogan, 1995.
- WEBSTER T.J.; et al. - Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion on nanophase ceramics. *J Biomed Mater Res*. 2000. p. 475–483.
- YONEDA, M.; et al. - Repair of an intercalated long bone defect with a syntetic biodegradable bone-inducing implant. *Biomaterials*, 26, 2005. p. 5145-5152.