



**Daniela Silva Brazete    CIMENTOS ÓSSEOS INJETÁVEIS À BASE DE  $\alpha$ -TCP**





**Daniela Silva Brazete**

**CIMENTOS ÓSSEOS INJETÁVEIS À BASE DE  $\alpha$ -TCP**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Materiais e Dispositivos Biomédicos, realizada sob a orientação científica da Doutora Ana Filipa Marques de Brito, responsável pelos assuntos regulamentares da Reg4life, do Doutor José Maria da Fonte Ferreira, Professor associado com Agregação do Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica da Universidade de Aveiro e da Doutora Paula Maria da Costa Torres, investigadora de pós-doutoramento no Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica.



Dedico este trabalho aos meus pais e irmão pelo incansável apoio



## **o júri**

presidente

**Professora Doutora Maria da Piedade Moreira Brandão**  
Professora Adjunta da Escola Superior de Saúde da Universidade de Aveiro

**Prof. Doutora Ana Francisca de Campos Simão Bettencourt**  
Professora auxiliar da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

**Prof. Doutor José Maria da Fonte Ferreira**  
Professor associado com agregação do Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica da Universidade de Aveiro



## **agradecimentos**

Solitário e complexo. Duas palavras que, na perspetiva de alguns, podem estar associadas a um longo processo de trabalho. Discordo que essas duas palavras se associem a tal processo, pois ele só foi possível graças ao suporte de várias pessoas imprescindíveis na minha vida, tanto pessoal como académica. A estes, eu gostaria de deixar o meu profundo agradecimento.

Obrigada Pai, obrigada Mãe e obrigada Mano. Obrigada pela vossa presença, pelo vosso apoio incondicional, pelos sacrifícios, por confiarem nas minhas capacidades e por não me deixarem desistir em momento algum da minha vida.

Obrigada Prof. Doutor José Maria Ferreira por me dar a oportunidade de integração no seu grupo de trabalho, pela orientação, pela ajuda imprescindível, disponibilidade e acompanhamento, pela partilha de conhecimentos científicos ajudando-me a evoluir ao longo desta caminhada.

Obrigada Doutora Paula Torres, pilar que me suportou ao longo deste intenso ano. Obrigada pela amizade, pela ajuda, disponibilidade e entrega, pelos conhecimentos que me transmitiu sempre com um sorriso no rosto. O meu maior obrigada.

Obrigada Doutora Ana Brito pela sua inteira disponibilidade e prontificação, pela reflexão conjunta e por me incentivar perante as adversidades.

Obrigada aos meus companheiros de laboratório, envolvidos de forma direta ou indireta, pelo acolhimento, pela entajuda e pela boa disposição presente ao longo desta jornada. À Doutora Susana Olhero, ao Avito Rebelo à Sofia Neto, ao Doutor Ajay Kaushal, à Catarina Marques, e ao Doutor Hugo Fernandes.

Obrigada a todos os técnicos do DEMaC pela disponibilidade e ajuda sempre prestada e pela simpatia.

Obrigada aos meus colegas de curso pelos bons momentos partilhados ao longo destes dois anos. Obrigada pela amizade, companheirismo e convivência.

Muito OBRIGADA a todos.



## palavras-chave

Cimentos ósseos injetáveis, apatite, transformação  $\beta \leftrightarrow \alpha$ -TCP, injetabilidade

## resumo

Este trabalho teve como objectivo principal o desenvolvimento de cimentos de fosfatos de cálcio apatíticos injetáveis e com propriedades mecânicas adequadas para aplicações ortopédicas. Um objectivo secundário consistiu na incorporação de iões dopantes na rede cristalina do fosfato tricálcio ( $\beta$ -TCP) em substituição parcial do cálcio e no estudo dos seus efeitos nas transformações alotrópicas das fases  $\beta \leftrightarrow \alpha$ -TCP durante os ciclos térmicos com vista à obtenção da fase  $\alpha$ -TCP.

Os pós iniciais de fosfato tricálcio (não dopados, e dopados com Sr, Zn e Mn) utilizados neste estudo foram produzidos pelo processo de precipitação química por via húmida, seguindo-se o tratamento térmico com vista a obter as fases pretendidas ( $\beta$ -TCP e/ou  $\alpha$ -TCP). A substituição parcial do Ca pelos iões dopantes mostrou ter fortes implicações em termos de estabilidade térmica da fase  $\beta$ -TCP, dificultando a transformação desta para  $\alpha$ -TCP. Os resultados demonstraram que as transformações alotrópicas das fases  $\beta \leftrightarrow \alpha$ -TCP são também muito influenciadas por outros fatores experimentais tais como a taxa de arrefecimento e a presença de fases secundárias de pirofosfato de cálcio ou de hidroxiapatite.

Os cimentos ósseos de fosfato de cálcio (CPC) foram preparados misturando os pós de  $\alpha$ -TCP puros com soluções aquosas reativas de diferentes concentrações de hidrogenofosfato de sódio, como agente acelerador do tempo de presa. A algumas soluções aquosas adicionaram-se ainda aditivos (Aristoflex<sup>®</sup>TAC, polietileno glicol 600) com a intenção deliberada de melhorar o comportamento das pastas cimentícias durante a extrusão. Contudo, aquando dos testes de injetabilidade, verificou-se que estes aditivos baixavam a percentagem de pasta extrudida. Verificou-se também que a distribuição do tamanho de partículas é um fator crucial no comportamento reológico das pastas cimentícias. A combinação do pó de  $\alpha$ -TCP com 2,5 wt% de hidrogeno fosfato de sódio como líquido de presa, resultou em cimentos de apatite com propriedades interessantes do ponto de vista da injetabilidade, microestrutura, porosidade, resistência mecânica e fases cristalinas formadas.

Com o intuito de uma eventual translação deste produto para o mercado procedeu-se a uma avaliação clínica por equivalência a produtos idênticos já disponíveis comercialmente, a qual deu origem a um relatório de investigação clínica.



**keywords**

Injectable bone cements, apatite,  $\beta \leftrightarrow \alpha$ -TCP transformation, injectability

**abstract**

The main objective of this work was the development of injectable apatitic calcium phosphates cements with mechanical properties suitable for orthopaedic applications. A secondary objective was to incorporate doping ions into the crystalline lattice of tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) in partial replacement of calcium and to study its effects on allotropic transformations of  $\beta \leftrightarrow \alpha$ -TCP phases during thermal cycles in order to obtain the  $\alpha$ -TCP phase.

The initial tricalcium phosphate powders (non-doped and doped with Sr, Zn and Mn) used in this study were produced by the wet chemical precipitation process, followed by heat treatment in order to obtain the desired phases ( $\beta$ -TCP and/or  $\alpha$ -TCP). The partial substitution of Ca by the doping ions showed to have strong implications in terms of thermal stability of the  $\beta$ -TCP phase, making it difficult to transform to  $\alpha$ -TCP. The results demonstrated that the allotropic  $\beta \leftrightarrow \alpha$ -TCP phase transformations are also noticeably affected by other experimental factors such as the cooling rate and the presence of secondary phases of calcium pyrophosphate or hydroxyapatite.

The calcium phosphate (CPC) bone cement pastes were prepared by mixing the pure  $\alpha$ -TCP powders with reactive aqueous solutions of different concentrations of sodium hydrogen phosphate as a setting accelerator. To some aqueous solutions, additives (Aristoflex<sup>®</sup>TAC, polyethylene glycol 600) were further added with the deliberate intention of improving the rheological behaviour of the cementitious pastes during extrusion. However, during the injectability tests, these additives were found to lower the percentage of extruded paste. It has also been found that the particle size distribution is a crucial factor in determining the rheological behaviour of cementitious pastes.

The combination of  $\alpha$ -TCP powder with 2.5 wt% sodium hydrogen phosphate as setting liquid resulted in apatite cements with interesting properties from the point of view of the injectability, microstructure, porosity, mechanical strength and crystalline phases formed.

In order to pave the way of an eventual translation of this product into the market, a clinical evaluation was carried out by equivalence to identical products already commercially available, which gave rise to a clinical investigation report.



# Índice

Capítulo I.....	1
1. Enquadramento e Objetivos.....	3
1.1 Introdução Geral.....	3
1.2 Objetivos .....	4
1.3 Estrutura da Tese .....	5
Capítulo II.....	6
2. Estado da Arte.....	8
2.1 O osso.....	8
2.1.1 Macroestrutura do osso.....	8
2.1.2 Microestrutura do osso .....	10
2.1.3 Formação e Remodelação óssea .....	13
2.2 Substitutos ósseos à base de fosfatos de cálcio .....	14
2.2.1 Fosfatos de cálcio .....	16
2.2.2 Substituição iónica nos fosfatos de cálcio .....	19
2.2.3 Cimentos de fosfato de cálcio.....	21
2.2.3.1 Sistema $\alpha$ -TCP .....	25
2.2.4 Propriedades dos cimentos de fosfato de cálcio .....	26
2.2.4.1 Parâmetros de processamento que influenciam as propriedades dos CPCs	26
Características das partículas do pó .....	27
Fase líquida .....	27
Razão Líquido/Pó.....	28
Processo de mistura.....	28
2.2.4.2 Tempos de presa ( <i>setting time</i> ) .....	29
2.2.4.3 Tempo de coesão .....	31
2.2.4.4 Injetabilidade .....	31
2.2.4.5 Propriedades mecânicas .....	35
2.2.4.6 Microestrutura e Porosidade .....	36
2.2.5 Aplicações médicas e clínicas .....	37
2.3 Regulamentação dos Dispositivos Médicos.....	38
2.3.1 Diretiva 93/42/CEE .....	38
2.3.2 Registo da Marca CE.....	40
Capítulo III .....	43
3. Materiais e Métodos.....	45
3.1 Síntese dos pós de CaP.....	46
3.1.1 $\beta$ -TCP.....	47

3.1.2	$\alpha$ -TCP .....	48
3.1.3	$\beta$ -TCP dopado.....	48
3.1.4	$\alpha$ -TCP dopado.....	48
3.2	Preparação das pastas cimentícias .....	49
3.3.	Caracterização dos CPCs.....	50
3.3.1	Medição do IST e FST.....	50
3.3.2	Avaliação da Injetabilidade e do “ <i>filter-pressing effect</i> ” .....	51
3.3.3	Avaliação das propriedades mecânicas .....	52
3.3.4	Porosidade total, densidade real e densidade aparente .....	53
3.3.4.1	Densidade real.....	54
3.3.4.2	Densidade Aparente .....	54
3.4	Técnicas de caracterização .....	56
3.4.1	Difração de raios-X.....	56
3.4.1.1	Análise semi-quantitativa.....	57
3.4.2	Análises granulométricas.....	57
3.4.3	Microscopia eletrónica de varrimento .....	58
3.4.4	Espectroscopia de infravermelhos por Transformada de Fourier .....	58
Capítulo IV	.....	59
4.	Obtenção e caracterização dos pós de $\alpha$ -TCP.....	61
4.1	Introdução.....	61
4.2	Materiais e Métodos .....	64
4.2.1	Síntese e caracterização dos pós de partida .....	64
4.3	Resultados e Discussão .....	67
4.3.1	$\beta$ -TCP não dopado .....	67
4.3.2	$\beta$ -TCP Dopado .....	69
4.3.3	Transformação térmica dos pós de $\beta$ -TCP em $\alpha$ -TCP.....	72
4.3.3.1	Pós $\alpha$ -TCP a partir de pós de $\beta$ -TCP não dopados.....	72
A partir do pó de $\beta$ -TCP com pequena quantidade de CPP (B-P49) .....	73	
A partir do pó de $\beta$ -TCP puro (B-P50).....	76	
A partir do pó de $\beta$ -TCP com pequena quantidade de HA (B-P51).....	79	
A partir de $\beta$ -TCP Dopado .....	81	
4.4	Conclusão .....	84
Capítulo V	.....	87
5.	Preparação e caracterização de cimentos ósseos injetáveis .....	89
5.1	Introdução.....	89
5.2	Materiais e Métodos .....	91
5.2.1	Preparação e caracterização dos pós de partida .....	91

5.2.2	Desenho do estudo experimental .....	92
5.2.3	Preparação e caracterização das pastas cimentícias.....	92
5.3	Resultados e discussão .....	94
5.3.1	Pós de partida.....	94
5.3.2	Pastas cimentícias .....	99
5.3.2.1	IST e FST.....	99
5.3.2.2	Avaliação dos testes de injetabilidade .....	100
5.3.2.3	Avaliação das propriedades mecânicas e porosidade .....	111
5.3.2.4	Fases cristalinas e microestrutura .....	113
5.3.3	Possíveis estratégias para melhorar a injetabilidade de CPCs .....	116
5.4	Conclusão .....	117
Capítulo VI.....		119
6.	Clinical evaluation report (CER) .....	122
6.1	About this document .....	124
6.1.1	Revision History .....	124
6.1.1	Team Identification.....	124
6.1.2	Product.....	125
6.2	General details.....	125
6.3	Description of the device and its intended application.....	125
6.4	Intended therapeutic indications and claims .....	126
6.5	Context of the evaluation and choice of clinical data types .....	126
6.6	Summary of the clinical data and appraisal.....	129
6.7	Data analysis .....	134
6.7.1	Performance.....	134
6.7.2	Safety .....	140
6.7.2.1	Surveillance safety survey .....	147
6.7.3	Product Literature and Instructions for Use.....	149
6.8	Equivalence statement.....	150
6.9	Conclusions .....	151
Capítulo VII.....		152
7.	Conclusões gerais e trabalhos futuros.....	154
7.1	Conclusões gerais .....	154
7.2	Trabalhos Futuros.....	156
Referências Bibliográficas.....		157
Anexos.....		169
Anexos .....		171
Anexo 1: Tabela do peso e diâmetro da ponta para as agulhas de Gilmore.....		171

Anexo 2: Product Description.....	173
Anexo 3: Data Sheet .....	179
Anexo 4: Instruction for use .....	185
Anexo 5: Table D1 Sample Appraisal Criteria for Suitability .....	189
Anexo 6: Table D2 Sample Appraisal Criteria for Data Contribution .....	191

## Índice de Figuras

<b>Figura 2.1</b> (a) Esquema de um osso longo; (b) representação das estruturas cortical e trabecular (c) ampliação da secção da diáfise. Retirado de: (Marieb e Hoehn, 2006) <sup>227</sup> .....	10
<b>Figura 2.2</b> Imagem microscópica de tecido ósseo. W: tecido ósseo primário/imaturo; B: osteoblastos; L: tecido secundário/ osso lamelar; H: canal de Havers. Retirada de: (McGonnell, I. M. <i>et al.</i> , 2012) <sup>14</sup> .....	12
<b>Figura 2.3</b> Diagrama de equilíbrio de fases do sistema CaO-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -H <sub>2</sub> O (C=CaO; P=P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ; Ap=apatite/hidroxiapatite) segundo Ribaud. <sup>223</sup> .....	17
<b>Figura 2.4</b> Isotérmicas de solubilidade dos diferentes CaPs em água a 37°C: (a) solubilidade expressa em termos de quantidade total de iões de cálcio na solução; (b) solubilidade expressa em termos de quantidade total de iões de fósforo na solução. Retirado de: (Chow, 1991). <sup>224</sup> .	19
<b>Figura 2.5</b> Esquema geral da preparação de um CPC. Adaptado de: (Driessens, 1997). <sup>60</sup> .....	21
<b>Figura 2.6</b> Diagrama dos tempos de presa tem em conta aplicações clinicas. I: tempo de presa inicial (IST); F: tempo de presa final (FST); CT: tempo de coesão. Adaptado de: (Dorozhkin, S. V, 2008) <sup>11</sup> .....	30
<b>Figura 2.7</b> Demonstração esquemática do procedimento da vertebroplastia numa fratura da vertebra por compressão: (a) segmento da lombar com uma vertebra fraturada por compressão; (b) introdução de duas agulhas largas no interior do corpo vertebral; (c) colocação das agulhas em vista transversal; (d) estabilização do corpo vertebral comprimido com cimento ósseo. Retirado de: (Verlaan et. Al, 2006). <sup>225</sup> .....	32
<b>Figura 2.8</b> Representação esquemática do equipamento experimental usado para quantificar a injetabilidade dos CPS.....	34
<b>Figura 2.9</b> Representação esquemática das amostras para os testes experimentais para a medição da resistência à compressão. Adaptado de: (Pina, 2009) <sup>39</sup> .....	35
<b>Figura 2.10</b> Micrografia obtida através de SEM de um cimento apatítico depois da reação de <i>setting</i> . Retirado de (Ginebra, 2008). <sup>79</sup> .....	37
<b>Figura 2.11</b> Símbolo utilizado para indicar a marca CE. ....	40
<b>Figura 3.1</b> Fluxograma das etapas desenvolvidas ao longo do trabalho. ....	46
<b>Figura 3.2</b> Esquema representativo do processo de síntese das matérias primas .....	47
<b>Figura 3.3</b> (a) Agulhas de Gillmore; (b) Molde de silicone e CPC produzido no molde.....	51
<b>Figura 3.4</b> (a) Aparato utilizado nos testes de injetabilidade (Shimadzu Autograph, traezium 2, Japan); (b) dispositivo de fixação com seringa introduzida. ....	52

<b>Figura 3.5</b> (a) Provetes de CPC para medição da resistência à compressão; (b) Proвете entre as placas de compressão durante o teste. ....	53
<b>Figura 3.6</b> Esquema representativo do sistema de forças que atuam na amostra imersa no interior do mercúrio. Adaptado de: (Bó et al, 2002) <sup>226</sup> .....	54
<b>Figura 3.7</b> Densímetro para sólidos, concebido no laboratório de investigação do Professor José M. F. Ferreira.....	56
<b>Figura 4.1</b> Esquema representativo do ciclo térmico utilizado Etapa 1: Taxa de aquecimento ( $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ); Etapa 2: Patamar (h) Etapa 3: Taxa de arrefecimento ( $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ). ....	65
<b>Figura 4.2</b> Difractogramas dos pós de partida de $\beta$ -TCP sintetizados com diferentes razões Ca/P e calcinados a $1000^{\circ}\text{C}$ . Para fins de comparação apresentam-se também as fichas PDF utilizadas: 04-006-9376 para o $\beta$ -TCP, 04-015-7245 para HA e 04-009-3876 para o $\beta$ -CPP . ....	68
<b>Figura 4.3</b> Difractogramas dos pós de $\beta$ -TCP dopados, sintetizados com diferentes razões Ca/P e calcinados a $1000^{\circ}\text{C}$ . Para efeitos de comparação, apresentam-se também as linhas de difração das fichas PDF utilizadas como padrão para a identificação das fases: 04-006-9376 para o $\beta$ -TCP 04-015-7245 para HA e 04-009-3876 para o $\beta$ -CPP . ....	70
<b>Figura 4.4</b> Difractogramas do pó de partida de $\beta$ -TCP puro e dos pós sujeitos a diferentes tratamentos térmicos. Para fins de comparação apresentam-se as fichas PDF utilizadas: 04-006-9376 para o $\beta$ -TCP, 04-010-4348 para o $\alpha$ -TCP e 04-009-3876 para o $\beta$ -CPP.....	74
<b>Figura 4.5</b> Difractogramas do pó de $\beta$ -TCP puro (B-P50) calcinado a $1000^{\circ}\text{C}$ , e depois de ser sujeito a diferentes tratamentos térmicos. Para fins de comparação apresentam-se também as fichas PDF utilizadas: 04-006-9376 para o $\beta$ -TCP, 04-010-4348 para o $\alpha$ -TCP.....	77
<b>Figura 4.6</b> Espectros de FTIR dos pós de $\beta$ -TCP não dopados e calcinados a $1000^{\circ}\text{C}$ e ampliação da zona da banda de absorção correspondente ao grupo $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ da amostra B-P50...	78
<b>Figura 4.7</b> Difractogramas do pó de $\beta$ -TCP não dopado (B-P51) calcinado a $1000^{\circ}\text{C}$ , e depois de ser sujeito a diferentes tratamentos térmicos. Para fins de comparação apresentam-se também as fichas PDF utilizadas: 04-006-9376 para o $\beta$ -TCP, 04-015-7245, 04-010-4348 para o $\alpha$ -TCP e 04-015-7245 para HA. ....	80
<b>Figura 4.8</b> Difractogramas dos pós de $\beta$ -TCP dopados calcinados a $1000^{\circ}\text{C}$ , e depois de sujeitos a diferentes tratamentos térmicos posteriores: (a) B-D49; (b) B-D60. Para fins de comparação apresentam-se também as fichas PDF utilizadas na identificação das fases cristalinas: 04-006-9376 para o $\beta$ -TCP, 04-015-7245 para HA, 04-010-4348 para o $\alpha$ -TCP e 04-009-3876 para o $\beta$ -CPP. ....	82

<b>Figura 5.1</b> (a) Difractogramas dos pós de partida de $\alpha$ -TCP (antes e após o processo de moagem) para a produção dos CPCs. A ficha PDF utilizada para fins de comparação foi 04-010-4348 (b) Espectros de FTIR dos pós de $\alpha$ -TCP após moagem. ....	94
<b>Figura 5.2</b> Curvas de distribuição dos tamanhos de partículas dos pós de partida dos CPCs..	96
<b>Figura 5.3</b> Micrografias obtidas através de SEM com ampliações de x100 e x10000 dos pós de $\alpha$ -TCP utilizados nas formulações dos CPCs. ....	98
<b>Figura 5.4</b> IST e FST das pastas cimentícias produzidas .....	99
<b>Figura 5.5</b> Influência da composição do líquido de reação e da RLP na injetabilidade dos CPCs: (a) curvas de força de extrusão vs deslocamento do êmbolo da seringa; (b) percentagem de injetabilidade. ....	101
<b>Figura 5.6</b> Influência da distribuição granulométrica na injetabilidade dos CPCs: (a) curvas de força de extrusão em função do deslocamento do êmbolo da seringa; (b) percentagem de injetabilidade. ....	104
<b>Figura 5.7</b> Influência dos aditivos na fase líquida na injetabilidade dos CPCs: (a) curvas de força de extrusão em função do deslocamento do êmbolo da seringa; (b) percentagem de injetabilidade. ....	106
<b>Figura 5.8</b> Porções de pastas cimentícias injetadas após secagem durante 48 h a 100°C. (a) M90.L2,5-0,34 e (b) M90.L2,5-0,25TAC-0,34.....	108
<b>Figura 5.9</b> Influência da RLP na injetabilidade dos CPCs (a) curvas de força de extrusão em função do deslocamento do êmbolo da seringa; (b) percentagem de injetabilidade. ....	109
<b>Figura 5.10</b> (a) Resistência dos CPCs à compressão; (b) porosidade total dos CPCs.....	112
<b>Figura 5.11</b> (a) Difractogramas dos CPCs (b) espectros de FTIR. Ambos foram obtidos após imersão em PBS durante 24h a 100% de humidade. Para identificação das fases cristalinas no DRX utilizaram-se as fichas PDF 01-071-6794 para CDHA e 04-010-4348 para o $\alpha$ -TCP...	113
<b>Figura 5.12</b> Composição dos CPCs (wt.%) obtida por análise semi-quantitativa efetuada através do método RIR. ....	114
<b>Figura 5.13</b> Micrografias dos CPCs imersos em PBS durante 24 h, a 37°C e humidade 100%. ....	115
<b>Figure 6.1</b> Identification of publications relating to clinical investigations on the use of injectable $\alpha$ -TCP Cements using the search strategy: Biopex <sup>®</sup> , or Calcibon <sup>®</sup> , or Norian <sup>®</sup> SRS and Cementek <sup>®</sup> . These are calcium phosphate bone cements that are currently on the market.....	130

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 2.1</b> Propriedades mecânicas do osso cortical e do osso trabecular. <sup>18-21</sup> .....	9
<b>Tabela 2.2</b> Principais compostos dos fosfatos de cálcio. Adaptado de: (Dorozhkin, S.V, 2007) <sup>41</sup> , (Bohner, M., 2000) <sup>42</sup> .....	16
<b>Tabela 2.3</b> Composição e respetivo precipitado e alguns cimentos presentes no mercado. Adaptado de: (Bohner, M. <i>et al.</i> ) <sup>64</sup> .....	24
<b>Tabela 2.4</b> Parâmetros de processo que afetam as propriedades dos cimentos de fosfato de cálcio (Ginebra, 2008) <sup>79</sup> .....	27
<b>Tabela 2.5</b> Propriedades desejáveis para um substituo ósseo injetável ideal. Adaptado de: (Low <i>et al.</i> , 2010). <sup>106</sup> .....	32
<b>Tabela 2.6</b> Resumo dos fatores que podem afetar o comportamento mecânico dos CPCs .....	36
<b>Tabela 3.1</b> Concentrações em peso (wt.%) dos compostos das fases líquidas e sua nomenclatura. ....	50
<b>Tabela 4.1</b> Razões molares Ca/P utilizadas na preparação dos pós de partida bem como a nomenclatura atribuída para a identificação dos mesmos. ....	64
<b>Tabela 4.2</b> Ciclos térmicos aplicados aos pós de $\beta$ -TCP não dopados e pré-calcinados a 1000°C. ....	66
<b>Tabela 4.3</b> Ciclos térmicos aplicados aos pós de $\beta$ -TCP dopados e pré-calcinados a 1000°C. ....	66
<b>Tabela 4.4</b> Análise semi-quantitativa obtida pelo método de RIR das fases cristalinas presentes nos vários pós não dopados calcinados a 1000°C.....	68
<b>Tabela 4.5</b> Análise semi-quantitativa obtida pelo método de RIR das fases cristalinas presentes nos vários pós dopados calcinados a 1000°C. ....	71
<b>Tabela 4.6</b> Análise semi-quantitativa obtida pelo método de RIR das fases cristalinas presentes nos vários pós não dopados depois de submetidos a diferentes ciclos de tratamento térmico..	73
<b>Tabela 4.7</b> Análise semi-quantitativa em percentagem ponderal das fases presentes nas amostras derivadas dos pós de $\beta$ -TCP dopados sujeitos a diferentes tratamentos térmicos.....	81
<b>Tabela 5.1</b> Nomenclatura utilizada para denominar os CPCs produzidos, tendo em conta o pó de partida, a fase líquida e a RLP utilizada. ....	93
<b>Tabela 5.2</b> Distribuição dos tamanhos de partículas dos pós de $\alpha$ -TCP após diferentes tempos de moagem .....	97
<b>Tabela 5.3</b> Avaliação da ocorrência do “ <i>filter pressing effect</i> ” durante a extrusão das pastas cimentícias.....	102

<b>Tabela 5.4</b> Avaliação da homogeneidade das pastas cimentícias com diferentes tamanhos e distribuições de partícula, durante e após a extrusão. ....	105
<b>Tabela 5.5</b> Avaliação da homogeneidade das pastas cimentícias com diferentes fases líquidas, durante e após a extrusão.....	107
<b>Table 6.1</b> Comparison of the various solid phase compositions (in wt%) of as-prepared calcium phosphate bone cements (CPC) named InjectOs with commercial available CPCs...	128
<b>Table 6.2</b> Comparison of the various liquid phase compositions (in wt%) of as-prepared calcium phosphate bone cements (CPC) named InjectOs with commercial available CPCs...	128
<b>Table 6.3</b> Publication suitability evaluation.....	131
<b>Table 6.4</b> Data contribution analysis.....	132
<b>Table 6.5</b> Summary of selected and articles performance and safety.....	146
<b>Table 6.6</b> Comparison of InjectOS with the marketed predicate devices.....	150

## **Lista de Abreviaturas**

<b>CaP</b>	Fosfato de Cálcio
<b>CDHA</b>	Hidroxiapatite deficiente em cálcio
<b>CPC</b>	Cimento de fosfato de cálcio
<b>CPP</b>	Pirofosfato de cálcio
<b>DCPD</b>	Fosfato dicálcico dihidratado ou brushite
<b>DRX</b>	Difração de raios X
<b>DTP</b>	Distribuição do tamanho de partículas
<b>EVOS</b>	European Vertebral Osteoporosis Study
<b>FST</b>	Tempo de presa final
<b>FTIR</b>	Espetroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
<b>HA</b>	Hidroxiapatite
<b>IST</b>	Tempo de presa inicial
<b>PBS</b>	Tampão fosfato-salino
<b>PEG</b>	Polietilenoglicol
<b>PMMA</b>	Polimetilmetacrilato
<b>RC</b>	Resistência à compressão
<b>RLP</b>	Razão líquido/pó
<b>SBS</b>	Simulated Body Fluid
<b>SEM</b>	Microscopia eletrônica de varrimento
<b>TCP</b>	Fosfato tricálcico
<b>TTCP</b>	Fosfato tetracálcico
<b>VAS</b>	Visual Analogue Scale

# CAPÍTULO I

---

## ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS



## Enquadramento e Objetivos

### 1.1 Introdução Geral

Ao longo dos anos tem-se verificado um aumento significativo de novos biomateriais e novas técnicas cirúrgicas que têm revolucionado drasticamente a vida de milhões de doentes. Estes novos biomateriais têm tido uma contribuição relevante no que diz respeito aos cuidados de saúde, nomeadamente nas doenças músculo-esqueléticas, como é o caso da osteoporose ou até mesmo das fraturas ósseas, relacionadas com o envelhecimento. <sup>1</sup> O aumento destas doenças deve-se, principalmente, ao facto de existir uma queda da mortalidade e consequentemente um aumento da esperança média de vida. <sup>2</sup>

A osteoporose define-se como sendo uma doença sistémica do esqueleto, caracterizada por uma baixa densidade óssea e deterioração da sua micro-estrutura, levando a uma fragilização dos ossos, o que origina fraturas ósseas. <sup>3</sup> Devido ao facto do osso se encontrar fragilizado, as atividades do quotidiano podem criar tensões que excedem a força das vértebras, resultando assim em fraturas de compressão vertebral. A incidência e os custos socio-económicos associados a este tipo de fraturas são muito elevados e o seu impacto na saúde é de grande alcance, ocorrendo cerca de 440 000 novos casos por ano, só na Europa. <sup>4</sup> Este número de fraturas tem vindo a aumentar ao longo dos anos e prevê-se que continue a crescer. E sendo a osteoporose uma patologia que acarreta custos muito elevados, torna-se indispensável encontrar uma solução economicamente viável. <sup>5</sup>

Para a reparação das fraturas da coluna vertebral, causadas pela compressão das vértebras existem dois tipos de procedimentos cirúrgicos disponíveis: a vertebroplastia e a cifoplastia. Estas cirurgias visam aumentar o corpo vertebral enfraquecido, estabilizando-o e restaurando-o, através da injeção direta de um cimento para o interior do corpo vertebral fraturado ou para uma cavidade criada no corpo vertebral, pela insuflação de um balão insuflável, respectivamente. <sup>4</sup> O material mais utilizado neste tipo de tratamentos tem sido o cimento acrílico à base de polimetacrilato de metilo (PMMA). <sup>6</sup>

O PMMA foi utilizado pela primeira vez em 1945 por *Scales e Herschell* <sup>7</sup> e possui uma boa resistência à compressão, simplicidade de manipulação, baixo custo e é considerado como sendo um material inerte, estável, insolúvel e que não se degrada ao longo do tempo. <sup>8</sup> Apesar de todas estas vantagens, este material possui alguns inconvenientes, nomeadamente o facto de as reações de polimerização serem exotérmicas podendo causar bastantes efeitos secundários, tais como necroses extensas. <sup>9</sup> A presença de monómeros residuais pode provocar reações

inflamatórias, pois torna o material tóxico e, além disso, não possui capacidade de participar nos processos biológicos de remodelação óssea.<sup>8</sup>

Desta forma, a procura de novas alternativas a este tipo de cimentos tem-se tornado cada vez maior e, a ideia mais promissora recai sob os cimentos à base de fosfatos de cálcio (CPC), usados pela primeira vez em 1986 por *Brown e Chow*.<sup>10</sup> Estes cimentos ósseos têm atraído muitas atenções e abriram uma nova era nas aplicações médicas, pois oferecem inúmeras e atrativas vantagens.<sup>9</sup> Segundo *Torres et al.* (2015)<sup>9</sup> os CPC são cimentos reabsorvíveis, osteocondutores, biocompatíveis, possuem uma composição química muito semelhante à do osso, têm capacidade de efetuarem ligações químicas com tecidos duros, apresentam uma excelente moldabilidade e um rápido tempo de presa inicial. Apesar de todas estas vantagens os CPC apresentam alguns inconvenientes, nomeadamente, uma resistência mecânica relativamente baixa, tempos de presa por vezes inadequados, por serem muito baixos ou muito altos, podem ser removidos do local caso haja excesso de sangue e são pouco porosos, sofrendo de falta de macroporosidade interconectada.<sup>11</sup> Mitigando as desvantagens inumeradas, os potenciais campos de aplicação dos CPCs tornam-se bastante mais vastos. Atualmente são diversas as áreas onde este tipo de material é utilizado, nomeadamente, na área de endodontia, cirurgia maxilofacial e cranioplastia e em sistemas de entrega terapêutica, como portadores de antibióticos para prevenir e/ou combater de modo mais eficaz as infeções que poderão surgir no local do implante.<sup>11</sup>

## 1.2 Objetivos

O principal objetivo deste projeto tese consiste na preparação de pastas cimentícias injetáveis à base de  $\alpha$ -TCP. Para tal são definidos os seguintes objetivos específicos:

- a) Preparar e caracterizar pós de fosfato tricálcico de  $\alpha$ -TCP puro e  $\alpha$ -TCP dopado com 5 wt.% de estrôncio (Sr), 2,5 wt.% de zinco (Zn) e 0,5 wt.% de manganês (Mn);
- b) Estudar os efeitos da presença dos iões dopantes (Zn, Sr, Mn) nas transformações de fases  $\beta \leftrightarrow \alpha$ -TCP;
- c) Estudar os fatores que influenciam a injetabilidade das pastas cimentícias;
- d) Avaliar as propriedades mecânicas, nomeadamente resistência à compressão;
- e) Avaliar a porosidade;
- f) Caracterizar os cimentos segundo as fases cristalinas e microestrutura;
- g) Classificar o material segundo a Diretiva 93/42/CEE.

### 1.3 Estrutura da Tese

Para uma melhor compreensão do trabalho realizado, este encontra-se estruturado em sete Capítulos distintos:

- **Capítulo I:** neste capítulo faz-se um enquadramento ao tema, enunciam-se os objetivos bem como a estrutura da tese.
- **Capítulo II:** apresenta a revisão do estado da arte e algumas noções gerais acerca do tema, e situa o trabalho no domínio dos cimentos de fosfato de cálcio.
- **Capítulo III:** descreve detalhadamente o procedimento experimental efetuado, bem como as técnicas de caracterização utilizadas.
- **Capítulo IV:** apresenta o estudo acerca da obtenção de pós de  $\alpha$ -TCP não dopados e dopados, faz uma introdução mais orientada que permite uma melhor compreensão dos assuntos abordados e retiram-se as conclusões pertinentes.
- **Capítulo V:** trata do estudo da influência de diversos fatores (razão líquido/pó, distribuição do tamanho de partícula, adição de aditivos) na injetabilidade de pastas cimentícias à base de  $\alpha$ -TCP. Tal como no capítulo anterior, faz-se uma introdução mais direcionada para a problemática da injetabilidade de pastas cimentícias, e resume as conclusões principais acerca dos resultados obtidos neste estudo.
- **Capítulo VI:** apresenta um relatório de avaliação clínica efetuado por equivalência a outros cimentos ósseos de fosfato de cálcio já comercializados com o intuito de contribuir para a preparação do dossier técnico com vista a uma eventual possibilidade de comercialização futura. Este relatório foi efetuado no âmbito do projeto em parceria com a Reg4life. Uma particularidade deste capítulo é o facto de ele se encontrar redigido em língua inglesa.
- **Capítulo VII:** apresenta uma conclusão geral com base em todos aos estudos relatados ao longo da tese, bem como sugestões a considerar para trabalhos futuros.
- **Anexos:** apresentam os documentos elaborados no âmbito da parceria com a Reg4life.



# CAPÍTULO II

---

ESTADO DA ARTE



## Estado da Arte

### 2.1 O osso

O corpo humano é um sistema bastante complexo, constituído por diferentes órgãos e sistemas. Entre os sistemas que o constituem destaca-se o sistema esquelético constituído por 206 ossos,<sup>12</sup> tendo como função principal o suporte das partes moles de todo o corpo.<sup>13</sup> Os ossos caracterizam-se pela sua rigidez, dureza, poder de regeneração e de reparação.<sup>14</sup> São constituídos por uma forma de tecido conetivo altamente especializado, o tecido ósseo,<sup>15</sup> formado por células e material extracelular calcificado (matriz óssea).<sup>16</sup> Este sistema possui diversas funções, entre as quais conferir proteção aos órgãos vitais, nomeadamente aos órgãos contidos na caixa craniana e torácica e também no canal raquidiano. Proporciona também apoio aos músculos esqueléticos, transformando as contrações desses em movimentos e, constitui um sistema de alavancas que amplia as forças geradas na contração muscular.<sup>16</sup> Para além das funções de suporte e proteção, os ossos são uma importante fonte de iões inorgânicos, que participam ativamente na homeostasia do cálcio e fósforo no organismo<sup>15</sup> e, são também um importante reservatório de fatores de crescimento, libertados de maneira controlada.<sup>14</sup>

#### 2.1.1 Macroestrutura do osso

Macroscopicamente os ossos podem ser classificados em ossos longos (tíbia, fémur, rádio, úmero), ossos curtos (astrágalo, carpo) ossos achatados (omoplata, esterno) ou ossos irregulares (vertebras).<sup>12</sup> São classificados como ossos longos aqueles que possuem uma região cilíndrica central, a diáfise, e duas extremidades mais largas e arredondadas, as epífises.<sup>12</sup> Na Figura 2.1 é possível visualizar um esquema representativo de um osso longo, na qual se denota que as extremidades do osso são mais largas do que a zona central. Tal facto ocorre, pois, as extremidades são recobertas por cartilagem articular, formando assim as articulações, que permitem um determinado grau de mobilidade entre os ossos. Estas zonas encontram-se sempre sujeitas a carregamentos elevados, sendo necessária uma área significativa de cartilagem, sendo esta a razão pela qual a epífise possui um maior diâmetro do que a diáfise.<sup>17</sup>

Morfologicamente, existem dois tipos de osso: o osso cortical ou compacto, que representa 80% da massa esquelética e, o osso trabecular ou esponjoso, representando os restantes 20% da massa.<sup>17</sup> O osso cortical, presente em grande parte na zona da diáfise, não

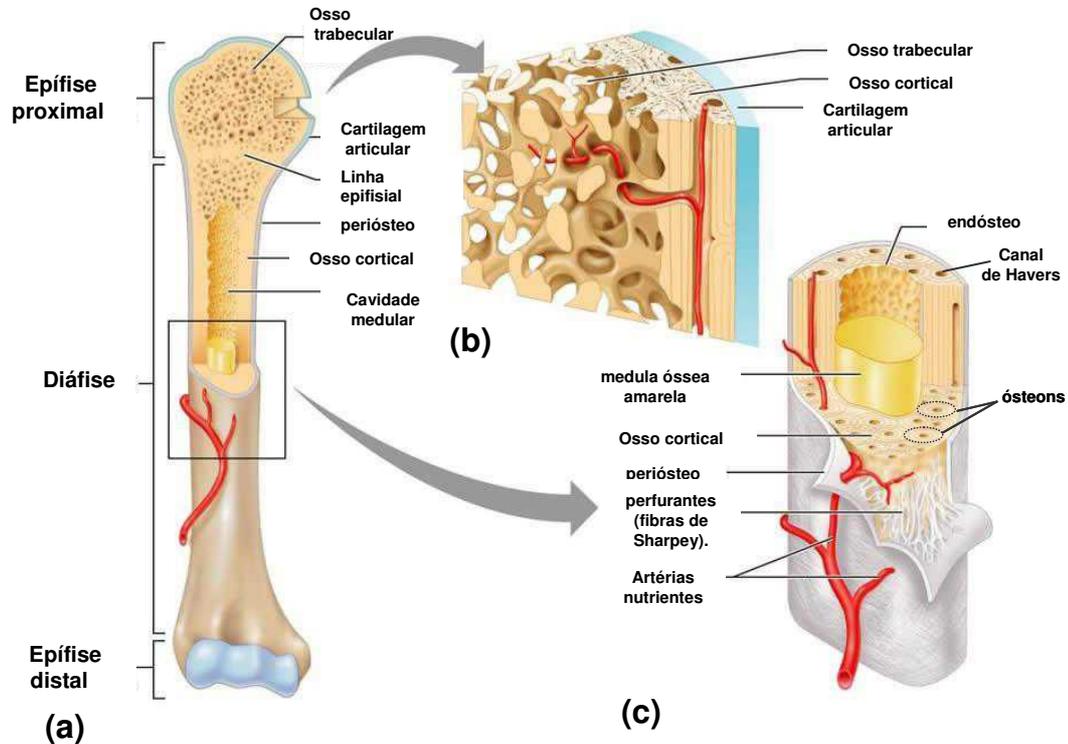
apresenta quaisquer tipos de cavidades visíveis, é denso, sólido e rodeia o espaço medular. Já o osso trabecular, tipicamente situado na região interior do osso, é composto por uma rede de minúsculas cavidades delimitadas por trabéculas de tecido ósseo, ou seja, é uma matriz porosa. Possui uma área superficial superior à do osso cortical, no entanto é menos densa, mais macia, mais fraca e menos dura.<sup>14</sup> Funcionalmente, o osso cortical promove funções mecânicas e de proteção e o osso trabecular promove funções metabólicas, sendo que ambos possuem também a função de suporte.<sup>15</sup> Mecanicamente, os dois tipos de ossos apresentam propriedades diferentes, como é possível visualizar na Tabela 2.1.

**Tabela 2.1** Propriedades mecânicas do osso cortical e do osso trabecular.<sup>18-21</sup>

Propriedade	Osso Cortical	Osso Trabecular
Resistência à Compressão (MPa)	90-209	10-30
Resistência à tração (MPa)	50-150	10-20
Deformação (%)	1-3	5-7
Resistência à fratura (MPa.m <sup>1/2</sup> )	2-12	-
Módulo de Young (GPa)	7-30	0,05-0,5

A superfície externa dos ossos é recoberta pelo perióstio, que consiste, numa fina camada de tecido conectivo fibroso.<sup>17</sup> Esta camada é uma membrana dupla constituída por duas camadas em que a camada mais externa é fibrosa e resistente e serve de revestimento protetor. A camada interna, designada por camada osteogénica<sup>a</sup> é responsável pelo crescimento e remodelação dos ossos.<sup>12</sup> Desta forma, aquando a ocorrência de uma fratura é o perióstio que forma o tecido ósseo durante o crescimento e a cicatrização das mesmas. Este tipo de tecido não se encontra presente nas zonas de inserção de tendões e ligamentos dos ossos, nas extremidades ósseas que são revestidas com cartilagem articular bem como no colo do fémur. Já a cavidade medular da diáfise e as cavidades do osso cortical e esponjoso são revestidas por uma fina camada celular denominada de endóstio,<sup>17</sup> com capacidade de fazer crescer osso a partir de dentro.<sup>12</sup>

<sup>a</sup> *Osteo* significa “osso” e *génica* significa “fazer ou criar”



**Figura 2.1** (a) Esquema de um osso longo; (b) representação das estruturas cortical e trabecular (c) ampliação da seção da diáfise. Retirado de: (Marieb e Hoehn, 2006)<sup>227</sup>

### 2.1.2 Microestrutura do osso

A nível celular o osso é constituído por três tipos de células: (i) osteócitos, que se situam nas cavidades ou lacunas no interior da matriz, (ii) osteoblastos, produtores da parte orgânica da matriz e (iii) osteoclastos que reabsorvem o tecido ósseo, participando nos processos de remodelação dos ossos.<sup>16</sup>

Os osteócitos são células que se encontram no interior da matriz óssea, ocupando as lacunas das quais partem canalículos. Dentro dos canalículos os prolongamentos dos osteócitos estabelecem contactos através de junções comunicantes, por onde podem passar pequenas moléculas e iões de um osteócito para o outro. Estas células são achatadas e possuem uma forma amendoada, sendo fundamentais para a manutenção da matriz óssea,<sup>16</sup> na deteção de alterações no osso, na transferência de nutrientes e na remoção de resíduos do osso.<sup>12</sup>

Os osteoblastos são as células responsáveis pela síntese da parte orgânica da matriz óssea, nomeadamente, colagénio do tipo I, proteoglicanos e glicoproteínas. Dispõem-se sempre na superfície óssea, lado a lado, estando em íntimo contacto com o periosteo e o endosteo. Quando se encontram em intensa atividade de síntese são cuboides, no entanto, quando se encontram num estado menos ativo tornam-se células achatadas. São capazes de concentrar

fosfato de cálcio, participando na mineralização da matriz.<sup>16</sup> A matriz sintetizada pelos osteoblastos deposita-se em torno dos mesmos, envolvendo-os. O ambiente favorável para a mineralização da matriz é conseguido pela fosfatase alcalina, produzida pela membrana plasmática, aliada osteocalcina produzida pelos osteoblastos.<sup>15</sup>

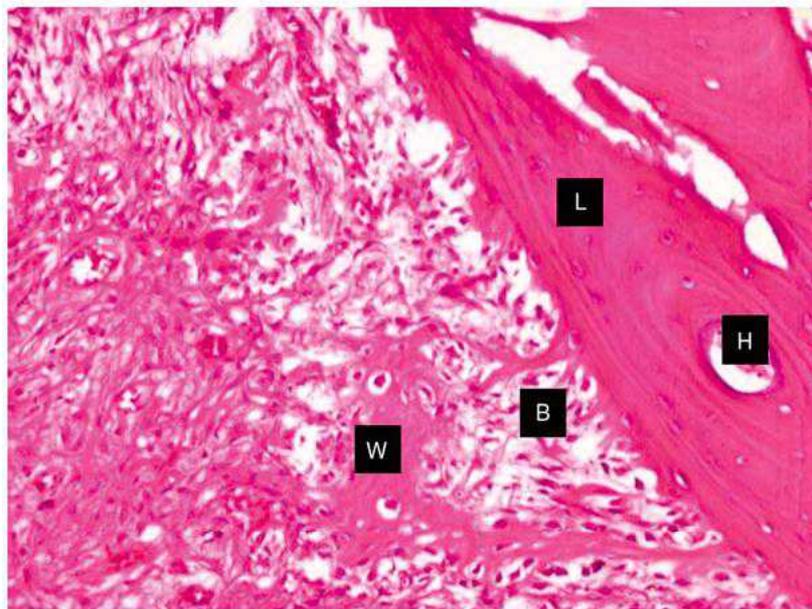
Os osteoclastos são células móveis, gigantes, extensamente ramificadas, com partes dilatadas que contêm múltiplos núcleos. As ramificações são irregulares, com forma e espessura variáveis.<sup>16</sup> Formam-se a partir de precursores mononucleados provenientes da medula óssea que, em contacto com o tecido ósseo se unem formando osteoclastos multinucleados. A função destas células é a reabsorção da matriz óssea através de ações químicas e enzimáticas diretas. A reabsorção ocorre quando os osteoclastos segregam ácido, colagenases e outras enzimas para o interior de um microambiente fechado, criado pela adesão dos osteoblastos à matriz, digerindo assim a parte orgânica da matriz e dissolvendo os cristais de hidroxiapatite.<sup>16</sup> A solubilização da parte inorgânica da matriz permite a libertação de iões de cálcio para a corrente sanguínea, sempre que necessário, facto bastante importante na homeostasia do ião cálcio no organismo.<sup>17</sup>

A nível molecular os ossos são constituídos por componentes orgânicos (35%), inorgânicos (65%), água e células.<sup>17</sup> Os componentes orgânicos contêm quantidades substanciais de carbono, hidrogénio e oxigénio e, os componentes inorgânicos são ricos em minerais.<sup>12</sup> A parte orgânica da matriz óssea inclui células, nomeadamente osteoblastos, osteoclastos e osteócitos, substâncias de crescimento, como glicoproteínas, proteoglicanos e colagénio, responsável pela resistência do osso.<sup>12</sup> Cerca de 95% da parte orgânica é constituída por fibras de colagénio do tipo I e por pequenas quantidades de proteoglicanos e glicoproteínas, podendo estas ter alguma participação na mineralização da matriz.<sup>16</sup> Esta componente óssea confere flexibilidade e resiliência ao osso.<sup>17</sup>

A parte mineral do osso, cerca de 65%, é constituída por sais inorgânicos, principalmente de fosfatos de cálcio, que conferem dureza ao osso.<sup>12</sup> O osso mineral é formado por pequenos cristais em forma de agulha, placas e hastes posicionadas entre e dentro de fibras de colagénio. O cristal presente em maior quantidade é hidroxiapatite (HA,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), contendo alguns constituintes vestigiais incorporados na sua rede cristalina ou absorvidos à superfície.<sup>17</sup> Entre os constituintes presentes encontram-se o magnésio (Mg), o manganês (Mn), o zinco (Zn), o silício (Si) e o estrôncio (Sr). Apesar de representarem uma pequena fração da parte mineral óssea, estes elementos são considerados essenciais para o metabolismo ósseo.<sup>22</sup> O Zn e o Mg influenciam a atividade das células osteoblásticas e osteoclásticas. O Sr é usado clinicamente para reduzir a osteoporose,<sup>23,24</sup> pois tem a

capacidade de aumentar a apoptose dos osteoclastos, inibindo a reabsorção óssea, aumentando a proliferação de células pré-osteoblásticas e também a síntese de colagénio, mantendo assim a formação do osso.<sup>25</sup> Quantidades vestigiais de Mn exercem efeitos positivos sobre o crescimento ósseo e reparação podendo a sua deficiência estar envolvida na gênese da osteoporose.<sup>26</sup>

Histologicamente existem dois tipos de tecidos ósseos: (i) imaturo ou primário e (ii) secundário ou lamelar. Ambos os tecidos possuem as mesmas células e os mesmos constituintes da matriz.<sup>16</sup> O tecido ósseo primário é o tecido que aparece numa primeira fase, tanto no desenvolvimento embrionário como na reparação de fraturas e, em algumas situações patológicas, como é o caso de tumores, sendo temporário e substituído pelo tecido secundário. Este tipo de tecido é pouco frequente nos adultos, existindo apenas nas zonas próximas às suturas do crânio, nos alvéolos dentários e em alguns pontos de inserção de tendões.<sup>16</sup> Neste tecido as fibras de colagénio dispõem-se irregularmente, sem orientação definida, possuindo uma menor quantidade de minerais.<sup>16</sup> O tecido ósseo secundário, presente no organismo adulto, possui fibras de colagénio organizadas em lamelas, que ficam paralelas umas às outras, ou se dispõem em torno de canais com vasos, formando os sistemas de Havers.<sup>16</sup> Na Figura 2.2 é possível visualizar uma imagem microscópica onde se apresentam os dois tipos de tecidos ósseos.



**Figura 2.2** Imagem microscópica de tecido ósseo. **W**: tecido ósseo primário/imaturo; **B**: osteoblastos; **L**: tecido secundário/ osso lamelar; **H**: canal de Havers. Retirada de: (McGonnell, I. M. *et al.*, 2012)<sup>14</sup>

### 2.1.3 Formação e Remodelação óssea

A ossificação ou osteogênese é o processo de formação de novo osso através dos osteoblastos. Estas células e a matriz óssea são dois elementos cruciais envolvidos na formação de um osso saudável. O processo de formação óssea é levado a cabo por dois importantes processos, nomeadamente: <sup>14</sup>

- Ossificação intramembranosa que ocorre no interior de membranas de tecido conjuntivo. Este tipo de processo, responsável pela formação dos ossos do crânio, clavícula e mandíbula, contribui também para o crescimento dos ossos curtos, para o crescimento em espessura de ossos longos <sup>16</sup> e, está envolvido também em processos de cicatrização de fraturas expostas, tratadas através de estabilização externa com placas metálicas e parafusos.<sup>14</sup> O processo tem início na diferenciação de células estaminais mesenquimais que se transformam em osteoblastos. Por sua vez, os osteoblastos sintetizam o osteóide (matriz ainda não mineralizada) que rapidamente mineraliza, englobando alguns osteoblastos que se transformam em osteócitos. <sup>16</sup>
- Ossificação endocondral ocorre sobre a cartilagem hialina que possui a mesma forma do osso que se vai formar, no entanto possui menores dimensões. Este tipo de processo é o principal responsável pela formação de ossos curtos e longos e, compreende dois processos: (i) modificação da cartilagem hialina com hipertrofia dos condrócitos e aumento considerável das lacunas, reduzindo assim a matriz cartilaginosa a finos tabiques, seguindo-se o processo de mineralização e morte dos condrócitos por apoptose; (ii) as cavidades ocupadas pelos condrócitos são invadidas por capilares sanguíneos e células osteogénicas que se diferenciam em osteoblastos que depositam matriz óssea sobre os tabiques da cartilagem calcificada. Desta forma surge tecido ósseo no lugar do tecido cartilaginoso.<sup>16</sup>

No osso adulto existe um processo fisiológico que ocorre simultaneamente em diversas partes do esqueleto. Este processo envolve a remoção contínua e subsequente mineralização da matriz para formar novo osso, <sup>14</sup> permitindo assim que, ao longo da vida, o osso velho seja removido (reabsorção) do esqueleto e osso novo seja adicionado (ossificação). É um processo fisiológico constante na qual a taxa de formação óssea é correspondente à taxa de reabsorção, sendo regulada por diversos fatores, como mecanismos regulatórios intracelulares, influências hormonais, fatores locais e externos. As alterações neste processo podem resultar em alguns distúrbios, como a osteoporose. <sup>27</sup> Este processo de remodelação permite controlar o

crescimento do osso, mantendo a sua forma e consistência e, para além disso, permite a regeneração do osso em casos de fratura ou em caso de microlesões, evitando a acumulação de osso. Este processo envolve uma série de etapas (fase de quiescência ou estabilização, fase reversa, fase de formação e fase de mineralização) que dependem da interação entre as células estaminais mesenquimais pré-osteoblásticas e das células hematopoiéticas osteoclásticas. As principais funções da remodelação óssea incluem a preservação da resistência mecânica óssea, a manutenção do osso saudável e o controlo a homeostasia do cálcio e do fósforo.<sup>14</sup>

## 2.2 Substitutos ósseos à base de fosfatos de cálcio

Um substituto ósseo ideal deve possuir propriedades (i) osteoindutivas, ou seja ter a capacidade de transformar células indiferenciadas e pluripotentes numa linhagem células capazes de formar osso;<sup>28</sup> (ii) osteocondutivas isto é, ter capacidade para fazer crescer osso numa superfície, em canais, poros ou tubos,<sup>28</sup> sendo que materiais biocerâmicos oferecem uma boa superfície para a migração celular, invasão vascular e crescimento ósseo;<sup>29</sup> (iii) osseointegradoras e/ou osteogénicas que permitem a formação de osso sem qualquer indicação celular, indicando a plena integração do enxerto ósseo;<sup>29</sup> (iv) e ser biocompatível. A biocompatibilidade foi definida em 1987, por David Williams, como sendo “a capacidade de um material, numa situação específica, desencadear uma resposta adequada no hospedeiro”. Numa definição mais atual, esta refere-se à capacidade de um material desempenhar a sua função desejada, no que diz respeito à terapia médica, sem provocar quaisquer efeitos tóxicos locais ou sistémicos e sem causar rejeições imunológicas.<sup>30</sup>

Atualmente, os autoenxertos (tecido ósseo obtido de outra parte do corpo do mesmo indivíduo) são o “*gold standard*” para a reparação óssea, seguidos dos aloenxertos (tecido ósseo obtido de outro indivíduo).<sup>31</sup> Estes tipos de enxertos apresentam diversas vantagens, nomeadamente, o facto de serem osteoindutivos e osteogénicos, no entanto, sofrem de várias desvantagens. As maiores desvantagens associadas a este tipo de substitutos são o trauma para o doente, a disponibilidade limitada (20 cm<sup>3</sup>), o facto de requerer cirurgias adicionais e, no caso dos aloenxertos, poder existir o risco da transferência de doenças ou levar a rejeições imunológicas.<sup>32</sup> Devido a estas desvantagens e ao custo elevado associado houve uma grande necessidade de desenvolver materiais sintéticos biocompatíveis, conhecidos como biomateriais, para a substituição, reparação e reposição óssea.<sup>32</sup> Segundo Williams um biomaterial define-se como: “... *substância que foi concebida para ter uma forma que, por si só ou como parte de um sistema complexo, usado para direccionar, através do controlo de*

---

*interações com sistemas biológicos, o curso de qualquer procedimento cirúrgico terapêutico ou de diagnóstico, em humanos ou em medicina veterinária.”*<sup>33</sup>

Atualmente, os materiais de substituição comerciais para a reparação óssea incluem metais, polímeros (naturais ou sintéticos), corais, ossos de humanos e de animais, cerâmicos sintéticos (fosfatos de cálcio (CaPs), sulfatos de cálcio, carbonatos de cálcio, vidros bioativos) e compósitos.<sup>32</sup> Dependendo da capacidade de cada material para estimular uma resposta no tecido hospedeiro, eles podem ser classificados em materiais bioinertes ou seja, não formam ligações químicas com o tecido, no entanto, formam uma camada fibrosa em redor do tecido (e.g.: metais, alguns polímeros e alguns cerâmicos). Podem ainda ser classificados como materiais bioativos quando estimulam o crescimento e formação de tecido ósseo, formando uma interface biomaterial-osso extremamente forte. São exemplos deste tipo de materiais os polímeros naturais, como o colagénio, os fosfatos de cálcio, tanto os sintéticos como os biológicos, os carbonatos e sulfatos de cálcio e também os vidros bioativos.<sup>32</sup>

A aposta no desenvolvimento de biomateriais à base de CaPs tem sido cada vez maior devido à sua similaridade na composição mineral do osso e à similaridade em algumas propriedades do osso, nomeadamente, a biodegradabilidade, a bioatividade e a osteocondutividade. A interconectividade entre os poros é outra propriedade importante dos ossos que pode ser conseguida através da adição de porogénicos.<sup>34,35</sup> Este tipo de biomaterial não é tóxico e não causa a morte celular do tecido circundante.<sup>33</sup> A resposta biológica destes materiais segue uma cascata de eventos semelhante à observada no processo de cura de uma fratura, que passa pela formação de um hematoma, inflamação, neovascularização, reabsorção osteoclástica e formação de novo osso. Passam também por processos de dissolução e de precipitação que resultam numa forte interface material-osso.<sup>36,37</sup> Apesar dos biomateriais de fosfato de cálcio possuírem as propriedades desejadas, eles têm algumas desvantagens que recaem na baixa resistência à fratura não sendo adequados para locais de suporte.<sup>34,35</sup>

Entre os diferentes materiais cerâmicos de substituição óssea encontram-se os CaPs, tais como a hidroxiapatite (HA), os fosfatos de tricálcico ( $\beta$ -TCP e  $\alpha$ -TCP) e os vidros bioativos.<sup>29</sup> A sua primeira utilização reporta ao ano de 1920, sendo aplicados na reparação de defeitos ósseos.<sup>38</sup> Entre os anos de 1976 e 1986 fizeram-se grandes esforços para desenvolver e comercializar biomateriais à base de fosfatos de cálcio para a reparação, substituição e aumento ósseo<sup>39</sup>. As aplicações deste tipo de biomateriais incluem implantes dentários, tratamentos periodontais, aumento alveolar, ortopedia, cirurgia maxilo-facial e otorrinolaringologia. É de realçar que os CaPs podem ser utilizados em diferentes fases cristalinas, dependendo do comportamento pretendido (bioativo ou bioreabsorvível).<sup>40</sup>

### 2.2.1 Fosfatos de cálcio

Os CaPs são cerâmicos bioativos que podem ser encontrados abundantemente na crosta terrestre apresentando, normalmente, uma cor branca, alterando-a quando são dopados com outros elementos. Estes compostos possuem um elevado interesse para os seres humanos, pois, são muito semelhantes à componente inorgânica do osso.<sup>41</sup> São classificados segundo a razão Ca/P como é possível verificar na Tabela 2.2.

Podem ser distinguidas duas categorias de CaPs: (i) CaP obtido por precipitação a partir de uma solução aquosa em torno de temperatura ambiente (CaP de baixa temperatura) e (ii) CaP obtidos a partir de reações térmicas (CaP de alta temperatura).<sup>42</sup>

As fases estáveis dos CaPs dependem consideravelmente da temperatura e da presença de água durante o processo de obtenção ou do meio onde é aplicado. À temperatura corporal, cerca de 37°C e, em contacto com os fluidos corporais apenas duas fases se encontram estáveis, são elas o fosfato bicálcico dihidratado ou brushite [CaHPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O] para pH inferior a 4,2 e a hidroxiapatite [Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>] para pH superior a 4,2. A temperaturas mais elevadas podem formar-se outras fases como o fosfato tricálcico (β-TCP) [Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] e o fosfato tetracálcico [Ca<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>O]. As fases de CaPs não hidratados e de altas temperaturas quando interagem com água ou com fluidos corporais a 37°C formam hidroxiapatite na superfície do material, segundo a seguinte reação:<sup>40</sup>



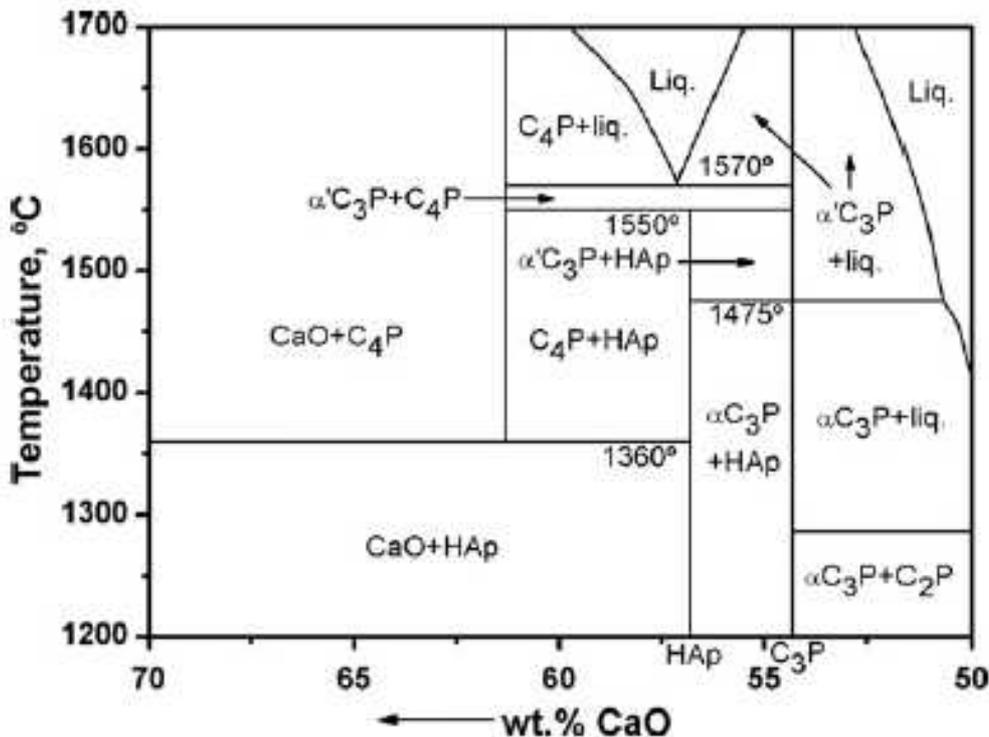
**Tabela 2.2** Principais compostos dos fosfatos de cálcio. Adaptado de: (Dorozhkin, S.V, 2007)<sup>41</sup>, (Bohner, M., 2000)<sup>42</sup>

Razão Ca/P	Designação química	Símbolo	Formula química	Mineral
0,5	Fosfato monocálcico hidratado	MCP	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	–
1,0	Fosfato bicálcico dihidratado	DCPD	CaHPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	Brushite
1,0	Fosfato bicálcico	DCP	CaHPO <sub>4</sub>	Monetite
1,33	Fosfato octacálcico	OCP	Ca <sub>8</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	–
1,5	α-Fosfato tricálcico	α-TCP	α-Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	–
1,5	β-Fosfato tricálcico	β-TCP	β-Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	–
1,2-2,2	Fosfato de cálcio amorfo	ACP	Ca <sub>x</sub> H <sub>y</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>z</sub> .nH <sub>2</sub> O n = 3–4,5	ACP
1,5-1,67	Hidroxiapatite deficiente em cálcio	CDHA	Ca <sub>9</sub> (HPO <sub>4</sub> )(PO <sub>4</sub> ) <sub>5</sub> (OH)	–
1,67	Hidroxiapatite	HA	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	Hidroxiapatite
1,67	Fluorapatite	FA	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	–
2,0	Fosfato tetracálcico	TTCP	Ca <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> O	Hilgenstockite

A sinterização dos CaPs ocorre usualmente entre os 1000–1500°C seguindo-se a compactação dos pós na forma desejada. As fases formadas a altas temperaturas dependem não só da temperatura, mas também da pressão parcial da água na atmosfera de sinterização.<sup>40</sup> Na presença de água pode ocorrer a formação de CaPs hidratados, como é o caso da hidroxiapatite, a qual pode permanecer até uma temperatura de cerca de 1360°C. Na ausência de água, as fases dominantes serão o fosfato tricálcico e o fosfato tetracálcico, dependendo da razão de Ca/P presente nos precursores.<sup>40</sup>

Os CaPs tradicionalmente utilizados em medicina são normalmente submetidos a um tratamento térmico, nomeadamente o  $\beta$ -TCP, HA e  $\alpha$ -TCP, sendo usados muitas vezes como um material de partida para os cimentos à base de CaPs.<sup>42</sup>

Existem três fases de TCP: o de baixa temperatura,  $\beta$ -TCP, e as formas de alta temperatura,  $\alpha$  e  $\alpha'$ -TCP, sendo que esta última apenas existe a temperaturas superiores a 1430°C e reverte quase instantaneamente em  $\alpha$ -TCP por arrefecimento abaixo da temperatura de transição.<sup>43</sup> Na Figura 2.3 é possível visualizar um diagrama de fases dos CaPs em atmosfera aquosa a partir dos 1200°C.



**Figura 2.3** Diagrama de equilíbrio de fases do sistema CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-H<sub>2</sub>O (C=CaO; P=P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; Ap=apatite/hidroxiapatite) segundo Ribaud.<sup>223</sup>

O  $\beta$ -TCP pode ser obtido por tratamentos térmicos a uma temperatura igual ou superior a 650°C<sup>44</sup> e tem sido extensivamente utilizado como substituto ósseo, quer na forma de

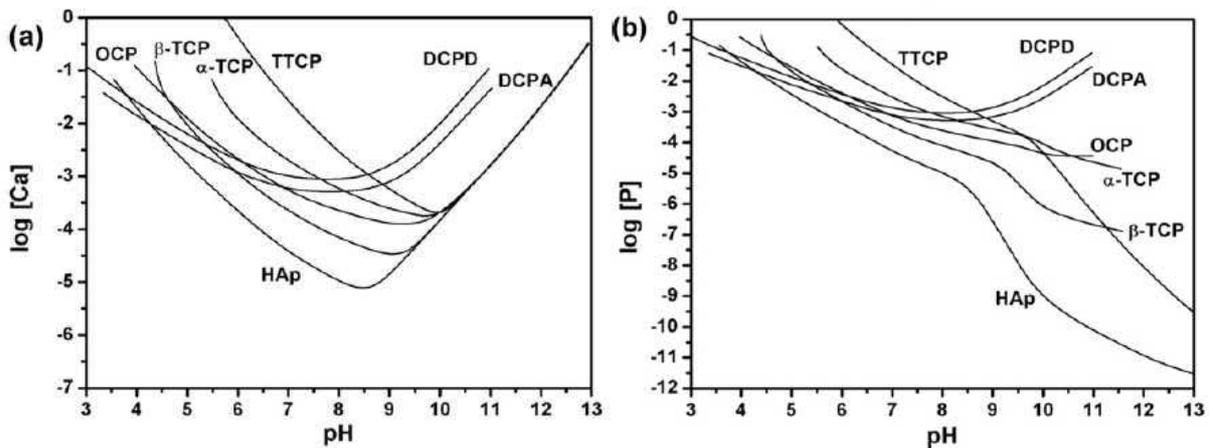
grânulos quer na forma de bloco, em cimentos de CaPs. É biodegradável e é muito utilizado como precursor nos cimentos de brushite.<sup>42</sup>

O  $\alpha$ -TCP tem exatamente a mesma composição química do  $\beta$ -TCP, no entanto, estas fases diferem consideravelmente na sua estrutura cristalina, densidade e solubilidade que, por sua vez, determina as suas propriedades biológicas e aplicações clínicas.<sup>43</sup> Normalmente, a fase  $\alpha$  é obtida por calcinação de  $\beta$ -TCP acima de 1125°C,<sup>43</sup> seguindo-se o processo de *quenching* para prevenir a transformação reversa.<sup>42</sup> No entanto, involuntariamente ou intencionalmente, as impurezas dos precursores usados para a síntese e a estequiometria dos reagentes podem afetar a pureza da fase  $\alpha$  obtida. Quando se substitui o cálcio por impurezas como o Mg, Sr e o Zn a fase  $\beta$  tende a estabilizar, enquanto a substituição de pequenas quantidades de fósforo por Si tende a estabilizar a fase  $\alpha$ . Biologicamente, o  $\alpha$ -TCP não é tóxico, é osteocondutivo e bioativo, tanto *in vitro* como *in vivo*, é mais biodegradável do que a HA e o  $\beta$ -TCP, mas menos estável que a fase  $\beta$ . Por este motivo o  $\alpha$ -TCP é mais reativo em sistemas aquosos, possui uma energia específica superior e pode ser hidrolisado numa mistura com outros CaPs.<sup>45</sup> Estas propriedades tornam o  $\alpha$ -TCP num material ideal para implantes, capaz de ser substituído por novo osso mais rapidamente do que outros materiais à base de CaPs disponíveis no mercado.<sup>43</sup> Esta fase nunca ocorre na ossificação biológica mas, devido ao seu poder hidráulico é bastante usado em cimentos ósseos à base de CaPs.<sup>45</sup>

Uma das propriedades mais importantes dos CaPs, provavelmente é a solubilidade em água, pois o seu comportamento *in vivo* pode ser previsto em grande medida pela sua solubilidade.<sup>46</sup> Se a solubilidade de um CaP é menor do que a parte mineral do osso, este irá degradar-se muito lentamente, no entanto, se esta for superior à do osso, o CaP é degradado. Desta forma, utilizando as diferentes isotérmicas de solubilidade dos CaPs (Figura 2.4), a taxa de degradação *in vivo* pode ser prevista na ordem decrescente (a pH 7):<sup>42</sup>



O comportamento mecânico dos CaPs influencia fortemente as suas aplicações como implantes. Tensão, força de compressão e resistência à fadiga dependem do volume total de porosidade, que se pode encontrar sob a forma de microporos ou macroporos.<sup>40</sup>



**Figura 2.4** Isotérmicas de solubilidade dos diferentes CaPs em água a 37°C: **(a)** solubilidade expressa em termos de quantidade total de íons de cálcio na solução; **(b)** solubilidade expressa em termos de quantidade total de íons de fósforo na solução. Retirado de: (Chow, 1991).<sup>224</sup>

A reabsorção ou a biodegradação dos CaPs é causada por três fatores:

- Dissolução físico-química, que depende do produto da solubilidade do material e do pH do meio. Podem formar-se novas fases à superfície;
- Desintegração física, ocorrendo a formação de pequenas partículas em resultado de um ataque químico às fronteiras de grão;
- Fatores biológicos, como a fagocitose, que causa uma redução do pH do meio, causando a degradação dos CaPs.<sup>40</sup>

A taxa da biodegradação aumenta com diversos fatores, nomeadamente, o aumento da área de superfície, a diminuição da cristalinidade e da perfeição do cristal, a diminuição do tamanho de grão e substituição iónica.<sup>40</sup>

### 2.2.2 Substituição iónica nos fosfatos de cálcio

A presença de íons estranhos na estrutura dos pós de fosfatos de cálcio sintéticos para a formulação de cimentos ósseos, pode alterar uma quantidade significativa de propriedades estruturais, físico-químicas e biológicas, tais como, parâmetros de rede, cristalinidade, solubilidade, capacidade de reabsorção e ligação óssea. Vários estudos têm vindo a ser reportados sobre a incorporação de elementos em fosfatos de cálcio sintéticos, tais como Mg, Sr, Zn, Na, K, F e carbonatos.<sup>47</sup> Estudos ao nível da substituição com Mn estão também a ser feitos, no entanto, são ainda escassos.<sup>48</sup>

O estrôncio (Sr) é um elemento vestigial no corpo humano e permite a visualização radiográfica sem ser necessário a introdução de partículas radiopacificantes tradicionais, como o sulfato de bário ou a zircônia.<sup>49</sup> Para além disso, a incorporação de Sr causa um aumento na solubilidade do fosfato de cálcio,<sup>50</sup> promove a osteointegração do cimento ósseo ao osso e, alguns estudos indicam que há um retrocesso da osteoporose, através da redução da reabsorção e aumento da formação de osso, reduzindo assim o risco de fratura.<sup>51</sup>

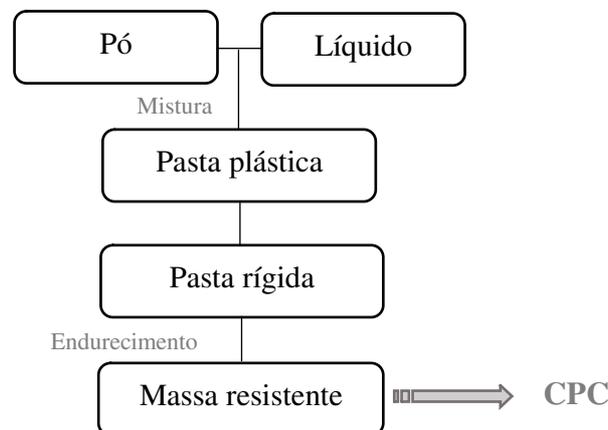
O zinco (Zn) é outro elemento importante no crescimento e desenvolvimento normal do sistema esquelético, sendo que a sua falta prejudica o desenvolvimento da massa óssea. Tem vindo a ser demonstrado que este elemento pode influenciar o comportamento dos osteoblastos e dos osteoclastos, indicando assim que o Zn tem um papel importante no metabolismo ósseo.<sup>52</sup> Conhecendo o papel importante deste elemento, este tem vindo a ser introduzido nos CaPs com a expectativa do material promover a formação de novo osso, verificando-se que a libertação de Zn pelo material influencia a diferenciação das células osteogénicas, promovendo assim a regeneração de osso nas proximidades.<sup>53</sup> O Zn pode ser incorporado nos CaPs pela substituição de cálcio, no entanto, a sua incorporação destabiliza a estrutura cristalina, exceto no  $\beta$ -TCP, devido à discrepância do raio iónico entre o zinco (0.075 nm) e o cálcio (0.10 nm).<sup>53</sup>

O manganês (Mn) é um elemento que pode também ser utilizado como dopante, no entanto, os trabalhos publicados sobre a dopagem com este elemento para aplicações biomédicas são escassos. Este elemento é um cofator importante para diversas enzimas envolvidas na remodelação da matriz extracelular. A sua deficiência prejudica a síntese da matriz e também da cartilagem, retardando assim a ossificação endocondral. Tem ainda uma grande importância no que diz respeito à afinidade das ligações das integrinas, recetores que medeiam as interações celulares e ativam a adesão celular.<sup>54,55</sup> Segundo Torres *et al.* (2014)<sup>56</sup> o estudo efetuado *in vitro* revelou que baixos níveis de dopagem com Mn em pós de  $\beta$ -TCP exerceram vários efeitos positivos na proliferação e diferenciação de uma linha celular de pré-osteoblastos designada por MC3T3-E1,<sup>57</sup> confirmando que os cimentos ósseos dopados com Mn são materiais com potencial osteogenerativo.<sup>56</sup>

### 2.2.3 Cimentos de fosfato de cálcio

A possibilidade de obter um cerâmico monolítico à temperatura ambiente ou corporal através de uma reação de cimentação foi descoberta por *Brown and Chow* <sup>58</sup> no início dos anos 80. Atualmente, este tipo de material é conhecido como cimento de fosfato de cálcio (CPC) e devido à sua aptidão para a reparação, aumento e regeneração de ossos, podem ser chamados cimentos ósseos de fosfato de cálcio (ocasionalmente CPBC). <sup>41</sup>

Os CPCs são biomateriais sintéticos que se formam a partir de uma combinação de um componente sólido que contém um ou vários sais de fosfato de cálcio e uma solução aquosa, formando assim uma pasta que reage à temperatura ambiente e corporal, dando origem a um precipitado que contém um ou mais fosfatos de cálcio. <sup>59</sup> Este tipo de cimentos prepara-se de uma forma bastante simples, em tudo semelhante à preparação de um cimento convencional. O esquema da Figura 2.5 apresenta o modo de preparação de um cimento.



**Figura 2.5** Esquema geral da preparação de um CPC.  
Adaptado de: (Driessens, 1997). <sup>60</sup>

Após a mistura dos dois componentes obtém-se uma pasta plástica e bastante viscosa, que pode ser manuseada e cuja plasticidade vai sendo gradualmente perdida ao longo do tempo, acabando por endurecer ao fim de algum tempo (*setting time*). Para o uso clínico, estes cimentos devem apresentar características, nomeadamente: (i) tempo da mistura dos componentes deve ser curto, aproximadamente 1 min; (ii) tempo de manipulação e solidificação da pasta não demasiadamente elevado para não comprometer a aplicação clínica; (iii) poder ser manipulado por aproximadamente 5 min, sem diminuir a resistência final; iv) apresentar uma resistência à compressão semelhante à do osso trabecular; v) reações de *setting*

pouco exotérmicas; vi) possuir valores de pH similares ao fisiológico ( $\text{pH} \approx 7,4$ ) para evitar danos citotóxicos.<sup>60</sup>

Durante a mistura, os CaPs dissolvem-se e precipitam num CaP menos solúvel e, durante esta reação de precipitação há crescimento e condensação dos cristais de CaP, fornecendo assim rigidez mecânica ao cimento.<sup>61</sup> Após mistura dos componentes e quando a pasta se torna suficientemente coesa, esta pode ser colocada num defeito ósseo, substituindo a parte danificada do osso e, endurecendo ainda no decorrer da operação, ou seja, *in situ*. Geralmente endurece em menos de 20 minutos à temperatura corporal ( $37^\circ\text{C}$ ) e, em seguida apresenta uma solubilidade limitada.<sup>62</sup>

Os CPCs dividem-se quanto ao seu produto final em duas categorias: cimentos de apatite (HA- ou CDHA-CPC) e cimentos de brushite (DCPD-CPC).<sup>42</sup> A grande diferença entre a formação de apatite e brushite é o pH a que ocorre a reação de *setting*: a  $\text{pH} > 4,2$  origina-se apatite ( $\text{HA}$ ,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) e a  $\text{pH} \leq 4,2$  forma-se brushite (DCPD,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ),<sup>59</sup> no entanto, este valor de pH pode subir para 6,5, devido a razões de cinética.<sup>62</sup> A DCPD é mais solúvel que a CDHA sob condições fisiológicas, sendo mais rapidamente reabsorvida após a implantação.<sup>59</sup> A constante de produto de solubilidade e o pH determinam tanto a viscosidade como as propriedades reológicas do cimento. Durante a precipitação, os novos cristais formados crescem e formam uma teia de microagulhas ou microplaquetas entrelaçadas nos produtos finais, proporcionando assim rigidez mecânica aos cimentos já endurecidos.<sup>11</sup> Para a maior parte dos cimentos apatíticos, a água não é um reagente na reação de endurecimento, mas é um veículo suspensor que permite a formação da pasta e facilita a reação de presa. No entanto, para cimentos de brushite, a água participa nas transformações químicas, pois é necessária para a formação de brushite. Devido a este motivo, estes cimentos são sempre hidráulicos, ao contrário dos apatíticos que na maioria não o são.<sup>11</sup>

As reações químicas que ocorrem durante o *setting* dos cimentos CPCs dependem da composição química dos cimentos. Podem ser distinguidos dois tipos de reações:<sup>11</sup>

- Reações de ácido-base que se verificam quando o  $\beta$ -TCP (quase neutro) reage com o MCPM (ácido) para formar a DCPD (ligeiramente ácida), expressa na reação (2):



- Reações de hidrólise de um CaP metastável em meio aquoso. Como resultado ambos os compostos, inicial e final, possuem a mesma razão Ca/P. Ocorrem no caso da junção do  $\alpha$ -TCP com uma solução aquosa, onde este é novamente re-cristalizado na forma de apatite deficiente em cálcio, de acordo com a equação (3):



Durante o endurecimento (*setting*) dos CPCs apenas é libertada uma pequena quantidade de calor devido à baixa intensidade da reação exotérmica que ocorre sem variação do volume do cimento, <sup>42</sup> tornando-os bastante vantajosos para aplicações médicas, pois não ocorre necrose dos tecidos devido ao aumento térmico. <sup>41</sup>

O tipo e o grau de degradação dos cimentos dependem de inúmeros fatores, tais como, as propriedades químicas e físico-químicas do material, nomeadamente, a composição, a cristalinidade, a porosidade, densidade, forma e tamanho, bem como o local da implantação do cimento. No entanto, sabe-se que os DCPD-CPC são reabsorvidos mais rapidamente quando comparados aos HA- ou CDHA-CPC, devido ao facto da brushite ser um composto metastável quando usado sob condições fisiológicas. A transformação de brushite em apatite após a implantação resulta num aumento do tempo de reabsorção, que pode ser evitado, por exemplo, com a adição de um sal de magnésio com pouca solubilidade. <sup>63</sup>

Segundo Torres *et al.* (2015) <sup>9</sup> os cimentos à base de fosfatos de cálcio (CPC) são cimentos reabsorvíveis, osteocondutores, biocompatíveis, possuem uma composição química muito semelhante à do osso, têm capacidade de efetuarem ligações químicas com tecidos duros, apresentam uma excelente moldabilidade e um rápido tempo de presa inicial (*setting time*). <sup>9</sup> Estas características, e o facto de poderem ser injetados, tornam os CPCs bastante mais versáteis do ponto de vista do manuseamento, quando comparados como os grânulos ou blocos de CaPs. <sup>11</sup> A Tabela 2.3 resume as principais características dos CPCs comerciais. Os cimentos de apatite são mais comuns do que os cimentos de brushite.

**Tabela 2.3** Composição e respectivo precipitado e alguns cimentos presentes no mercado. Adaptado de: (Bohner, M. *et al.*)<sup>64</sup>

Companhia	Produto	Composição	Produto Final	Reabsorvível
ETEX	$\alpha$ -BSM Embarc Biobon	<b>Pó:</b> ACP (50%), DCPD (50%) <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O	Apatite	Sim
Stryker-Leibinger Corp.	BoneSource	<b>Pó:</b> TetCP (73%), DCP (27%) <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O + Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> e NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Apatite	Sim
Teknimed	Cementek®	<b>Pó:</b> $\alpha$ -TCP, TetCP, glicerofosfato <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O, Ca(OH) <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Apatite	-
Biomet	Calcibon®	<b>Pó:</b> $\alpha$ -TCP (61%), DCP (26%), CaCO <sub>3</sub> (10%), PHA (3%) <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O, Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Apatite	Sim
	Mimix™	<b>Pó:</b> TetCP, $\alpha$ -TCP, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>3</sub> ·2H <sub>2</sub> O <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O, Ca <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	Apatite	-
Mitsubishi materials	Biopex®	<b>Pó:</b> $\alpha$ -TCP (75%), TetCP (20-18%), DCPD (5%), HA (0-2%) <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O, sais	Apatite	Não
	Biopex®-R	<b>Pó:</b> $\alpha$ -TCP, TetCP, DCPD, HA, Mg <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , NaHSO <sub>3</sub> <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O, iões	Apatite	-
Kyphon	KyphOs™	<b>Pó:</b> $\alpha$ -TCP (77%), Mg <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (14%), MgHPO (4.8%), SrCO <sub>3</sub> (3.6%) <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (3.5M)	Apatite	-
Skeletal Kinetics	Callos™	<b>Pó:</b> não definido <b>Solução:</b> não definida	Apatite	-
Shanghai Rebone Biomaterials Co, Ltd	Rebone	<b>Pó:</b> TetCP, DCP <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O	Apatite	-
	Norian CRS	<b>Pó:</b> $\alpha$ -TCP (85%), CaCO <sub>3</sub> (12%), MCPM (3%) <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O, Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Apatite	Sim
Synthes-Norian	chronOS™ Inject	<b>Pó:</b> $\beta$ -TCP (73%), MCPM (21%), MgHPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O (5%), MgSO <sub>4</sub> (<1%), Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (<1%) <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O, hialuronato de sódio (0.5%)	Brushite	Sim
Kasios	Eurobone®	<b>Pó:</b> $\beta$ -TCP (98%), Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (2%) <b>Solução:</b> H <sub>2</sub> O, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (3.0M), H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.1M)	Brushite	-
CalciphOs	VitalOs	<b>Componente 1:</b> $\beta$ -TCP (1.34 g), Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (0.025 g), H <sub>2</sub> O, sais (0.05M pH 7.4 solução PBS) <b>Componente 2:</b> MCPM (0.78 g), CaSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O (0.39 g), H <sub>2</sub> O, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (0.05M)	Brushite	-

### 2.2.3.1 Sistema $\alpha$ -TCP

O  $\alpha$ -TCP é o único CaP com capacidade de formar CDHA como produto da reação de *setting*. Foi em 1974 que Monma e Kanazawa<sup>65</sup> relataram pela primeira vez a formação de CDHA a partir da hidratação de  $\alpha$ -TCP, entre os 60°C e os 100 °C, segundo a Equação (3), anteriormente descrita. A reação de hidrólise do  $\alpha$ -TCP ocorre por meio de dissolução e sucessiva precipitação de uma fase menos solúvel. Nas condições fisiológicas de pH (entre 7,35 e 7,45) e temperatura ( $\approx 37^\circ\text{C}$ ), o produto de hidrólise do  $\alpha$ -TCP é a CDHA. Mas dependendo das condições de trabalho, a reação de hidrólise pode também formar DCPD, a  $\text{pH} < 5,5$  ou OCP, a  $\text{pH}$  entre 5,5–7,5.<sup>66-68</sup>

As propriedades hidráulicas do  $\alpha$ -TCP têm sido bastante estudadas, pois existem muitas formulações de CPCs que contêm  $\alpha$ -TCP como componente principal da fase sólida. Em 1999, Ginebra *et al.*<sup>69</sup> mostrou que a reação de hidrólise é inicialmente controlada pela área superficial das partículas do  $\alpha$ -TCP, seguindo-se a difusão dos reagentes através da camada hidratada formada em torno das partículas do pó. No ano seguinte, Durucan e Brown<sup>66</sup> realizaram uma interpretação ligeiramente distinta relativamente ao mecanismo de hidrólise do  $\alpha$ -TCP, afirmando que a reação de hidrólise é inicialmente controlada através de um mecanismo de superfície e, mais tarde, pela taxa de formação de apatite de acordo com a nucleação e crescimento. De facto, durante a hidrólise do  $\alpha$ -TCP ocorrem dois mecanismos de controlo, sendo que inicialmente o mecanismo de controlo é a dissolução-precipitação, controlados pela área superficial específica das partículas. Este processo continua até toda a superfície estar coberta por uma camada de apatite suficientemente espessa para que se inicie o processo de difusão através da camada hidratada de cristais de apatite.<sup>70</sup>

A reação de hidrólise descrita por Monma e Kanazawa<sup>65</sup> foi considerada muito lenta para situações clínicas,<sup>71</sup> levando assim, à adição de sais e/ou de fosfatos à solução para melhorar a cinética da reação e diminuir o tempo de reação dos cimentos.<sup>72-74</sup> A velocidade de reação de hidrólise do  $\alpha$ -TCP pode ser controlada através da área superficial exposta ao meio líquido, sendo que as únicas variáveis que influenciam a taxa de reação são o tamanho das partículas e o seu grau de aglomeração.<sup>75</sup> Segundo Ginebra *et al.*<sup>69</sup> é possível obter uma transformação completa do  $\alpha$ -TCP em CDHA num período de tempo adequado para situações clínicas. Para tal facto ocorrer é necessário controlar o tamanho de partícula do pó inicial e adicionar aditivos que permitem alterar a taxa de dissolução/precipitação das fases presentes.

O tamanho de partícula e, conseqüentemente a área superficial do pó, são alterados pela moagem da fase sólida em condições húmidas ou secas. Uma moagem prolongada tende a

tornar os pós cristalinos em materiais amorfos e, conseqüentemente, a aumentar a solubilidade e a cinética da reação.<sup>67,76</sup> O estudo publicado por Camiré *et al.*<sup>75</sup> conclui que a moagem do pó de  $\alpha$ -TCP tem uma profunda influência na sua reatividade com a água, reduzindo o tempo de reação. Este efeito não se devia apenas à redução do tamanho das partículas e ao conseqüente aumento da área superficial específica, mas principalmente à formação de uma fase amorfa. Os resultados deste estudo sugerem que a moagem pode ser utilizada para aumentar a reatividade de um pó de  $\alpha$ -TCP, obtendo assim um tempo de reação mais rápido nos CPCs.

## **2.2.4 Propriedades dos cimentos de fosfato de cálcio**

Para além dos requisitos a que devem obedecer os CPCs para uso clínico, já mencionados na secção 2.2.3, eles deverão ainda possuir propriedades de fluxo adequadas para facilitar a injetabilidade. Os tempos de presa (*setting time*) devem ser apropriados para a aplicação, e as pastas deverão apresentar boa coesão. A taxa de reabsorção dos CPCs endurecidos não deve ser muito rápida, mas também não muito lenta, de forma a acompanhar a formação de novo osso.<sup>39</sup> No entanto, algumas formulações que se encontram disponíveis no mercado não cumprem da melhor forma os requisitos anteriormente descritos.<sup>11,42,77</sup> Estas carências, reconhecidas pelos profissionais de saúde, justificam, assim, o contínuo esforço de investigação ao nível dos CPCs em diversas fases do seu desenvolvimento.<sup>78</sup>

### **2.2.4.1 Parâmetros de processamento que influenciam as propriedades dos CPCs**

As propriedades de um cimento dependem de diversos parâmetros de processamento da sua fase sólida e líquida, sendo por isso possível adaptá-las através da manipulação destes parâmetros.<sup>79</sup> Na Tabela 2.4 são apresentados os parâmetros principais que afetam as propriedades dos cimentos de fosfato de cálcio.

**Tabela 2.4** Parâmetros de processo que afetam as propriedades dos cimentos de fosfato de cálcio (Ginebra, 2008) <sup>79</sup>

<b>Fase do pó</b>	Composição química Proporção relativa dos constituintes Aditivos (aceleradores, retardadores) Distribuição granulométrica
<b>Fase Líquida</b>	Aditivos (aceleradores, retardadores, promotores de coesão) pH
<b>Mistura dos parâmetros</b>	Relação líquido pó Processo de mistura (tempo e velocidade)
<b>Fatores ambientais</b>	Temperatura Humidade pH

### Características das partículas do pó

As características das partículas do pó incluem a média do tamanho das partículas, a distribuição granulométrica e a área superficial específica. Estas influenciam em grande escala o comportamento dos CPCs. Um dos parâmetros de maior importância é a distribuição do tamanho de partícula (DTP), pois influencia tanto as propriedades iniciais do cimento como as finais. Como já referido anteriormente, a reação de endurecimento ocorre por processos de dissolução e precipitação, que estão relacionados com a área superficial específica do pó. Sendo assim, quanto mais fino for o pó, mais rapidamente ocorrerá o endurecimento, uma vez que as partículas mais finas se dissolvem primeiro que as mais grossas, ocorrendo depois a precipitação de uma nova fase. <sup>76</sup>

### Fase líquida

A fase líquida dos cimentos atua como um veículo para a dissolução dos reagentes e para a precipitação dos produtos sendo, normalmente, constituída por água destilada ou por uma solução aquosa de sais inorgânicos ou orgânicos. <sup>79</sup> Dada a versatilidade das formulações dos cimentos, existe um grande número de aditivos que podem ser incorporados na fase líquida, permitindo assim alterar algumas propriedades. Relativamente ao tempo de presa dos cimentos, a adição dos sais à fase líquida pode acelerar ou retardar esse tempo. A adição de sais de fosfato solúveis em água, como é o caso do hidrogenofosfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), acelera a reação de endurecimento devido ao efeito do ião comum. <sup>80</sup> A adição de ácido cítrico tem sido utilizada para retardar a reação, ou seja, para aumentar o tempo de presa dos cimentos

de brushite.<sup>81</sup> As propriedades reológicas e coesivas podem ser alteradas com a adição de agentes poliméricos solúveis em água,<sup>79</sup> como por exemplo a adição de polietilenoglicol (PEG).<sup>82</sup> Já a porosidade do cimento pode também ser alterada quando se adicionam agentes retentores de ar, por exemplo, peróxido de hidrogénio.<sup>83</sup>

### **Razão Líquido/Pó**

A razão líquido/pó (RLP) é um fator crucial na plasticidade inicial da pasta cimentícia e, conseqüentemente na injetabilidade, nos tempos de presa e na resistência mecânica.<sup>79</sup> Quanto maior for esta relação, mais longos serão os tempos de presa, inicial e final,<sup>64</sup> e mais fracas serão as propriedades mecânicas dos CPCs.<sup>84</sup> Esta dependência explica-se pelo facto de a porosidade do cimento, que afeta as propriedades mecânicas dos CPCs, estar diretamente relacionada com a quantidade de líquido. Portanto, a redução da RLP, dentro dos limites exequíveis, melhora as propriedades mecânicas dos CPCs.<sup>79</sup>

### **Processo de mistura**

O processo de mistura é uma etapa importante na formulação de um cimento ósseo. Antes do cimento ser utilizado pelo cirurgião é necessário que as suas fases, líquida e sólida, se encontrem completamente misturadas<sup>85</sup> e, idealmente, sem bolhas de ar na pasta cimentícia.<sup>86</sup>

A mistura dos pós de partida com os líquidos reativos para obter as pastas cimentícias pode ser feita manualmente, através de mistura mecânica com ou sem aplicação de vácuo.<sup>39</sup>

Na mistura manual, os CPCs são misturados no interior de uma tigela polimérica de polipropileno ou polietileno, com uma espátula do mesmo material, a uma velocidade de 1 ou 2 Hz, durante 45–120 s.<sup>39</sup> No entanto, este método de mistura gera preocupações, pois por vezes, o grau de homogeneidade pode ser insuficiente e comprometer as propriedades do cimento.<sup>87</sup> A mistura mecânica surgiu mais recentemente visando colmatar tais deficiências. Existem formulações de cimentos no mercado que são fornecidas com o equipamento de mistura. Alguns exemplos são a máquina de mistura acionada eletricamente, no caso do Norian<sup>®</sup>SRS, ou o sistema de mistura Mini-malax<sup>®</sup> para o Cementek<sup>®</sup>. Nestes equipamentos as pastas cimentícias são misturadas durante 60–80 s e os sistemas de mistura permitem, caso necessário, efetuar o enchimento de uma seringa de forma rápida e fiável.<sup>64</sup> No entanto, a viscosidade média das pastas cimentícias assim preparadas é menor,<sup>88</sup> e as propriedades mecânicas dos cimentos não são significativamente melhoradas.<sup>89</sup>

### 2.2.4.2 Tempos de presa (*setting time*)

O tempo de presa dos cimentos ósseos é um processo contínuo que envolve três fases: (1) dissolução dos reagentes, (2) nucleação de novos cristais e (3) crescimento dos cristais. Após estes processos os novos cristais cruzam-se entre si e o cimento perde as propriedades viscoelásticas e transforma-se num corpo sólido.<sup>90</sup>

Este tempo define-se como o tempo necessário para que o CPC se torne suficientemente forte para resistir a qualquer força aplicada.<sup>61</sup> Existem dois métodos tradicionais padronizados para avaliar o endurecimento do cimento: método da agulha de Vicat [*Standard Test Method for Time of Setting of Hydraulic Cement by Vicat Needle* (ASTM C191-92)] e o método das agulhas Gillmore [*Standard Test Method for Time-of Setting of Hydraulic-Cement Paste by Gillmore Needles* (ASTM C266-89)]<sup>91</sup>, sendo este último o mais comumente usado.<sup>61</sup> Ambos os métodos consistem na inspeção visual da superfície do cimento, após a indentação na superfície do cimento com a agulha. Quando a agulha já não deixar qualquer tipo de marca, considera-se que o cimento já se encontra solidificado e, assim, consegue medir-se os tempos de presa.<sup>92</sup> O método de Vicat apenas utiliza uma agulha que permite determinar o *setting time* inicial (IST) ou final (FST), dependendo do diâmetro da agulha e do seu peso. O método de Gillmore usa duas agulhas diferentes (Anexo 1) que permitem não só medir o IST, com uma agulha leve e grossa, mas também o FST, com uma agulha pesada e fina.<sup>11</sup>

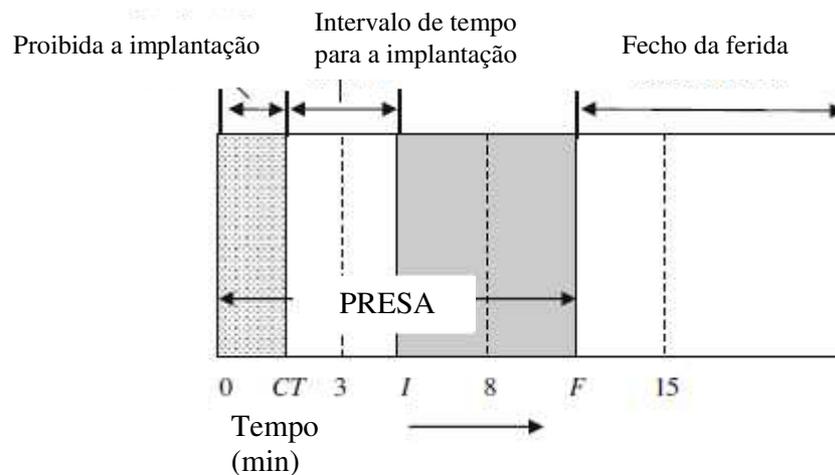
Ainda não existe um consenso total no que diz respeito aos valores ideais de IST e FST, tendo sido já apresentados vários estudos sobre esta temática. De acordo com Khairoun *et al.* (1998),<sup>93</sup> para aplicações dentárias, o IST deve estar próximo dos 3 min, devendo aproximar-se dos 8 min no caso de aplicações ortopédicas; por outro lado, o FST não deve ser superior a 15 min para ambos os casos. Já Driessens *et al.* (1993)<sup>94</sup> afirmaram que as formulações só são adequadas para cirurgia ou dentária quando o IST é superior a 5 minutos. Huan *et al.* (2009)<sup>95</sup> diz que o cimento deve ser aplicado/injetado antes do IST. Apesar da falta de consenso, a primeira tentativa de formular as necessidades clínicas em termos de tempo de presa e de coesão, surgiu por parte de Ginebra<sup>96</sup> e Khairoun<sup>97</sup> e seus colaboradores. O princípio por eles formulado indica que o cimento deve ser implantado antes do IST e a ferida pode ser fechada depois do FST, tal como é possível visualizar no esquema da Figura 2.6. O cimento não deve ser deformado entre os tempos de IST e FST pois pode interferir com os processos de *setting* e induzir fraturas. Desta forma, foram formulados os tempos de *setting time*, em minutos, para o correto manuseamento dos CPC, nomeadamente<sup>96,97</sup>:

$$3 \leq \text{IST} < 8 \quad (4)$$

$$\text{FST} \leq 15 \quad (5)$$

$$\text{IST-CT} \gg 1 \quad (6)$$

O requisito (6) significa que o tempo de coesão (tempo a partir do qual não ocorre mais desintegração do cimento quando em contacto com um fluido), deve ocorrer pelo menos 1 min antes do IST. Em termos clínicos significa que o cirurgião possui pelo menos 1 min para aplicar e moldar o material. A aplicação do cimento pode ser feita através de uma espátula, seringa ou mesmo através das próprias mãos, moldando-o com os dedos, obtendo assim a forma desejada.<sup>96,97</sup> Os cimentos injetáveis podem tornar o processo da cirurgia mais demorado, pois após a sua preparação é necessário colocá-los no interior de uma seringa, em plena cirurgia. Nestes casos é desejável que o tempo de presa inicial se aproxime dos 8 min, permitindo ao cirurgião ter tempo de preparar o material enquanto ainda é possível a deformação do cimento.<sup>98</sup>



**Figura 2.6** Diagrama dos tempos de presa tem em conta aplicações clínicas. **I:** tempo de presa inicial (IST); **F:** tempo de presa final (FST); **CT:** tempo de coesão. Adaptado de: (Dorozhkin, S. V, 2008)<sup>11</sup>

Este parâmetro é muito importante e, como tal, deve ser bem controlado, pois existem diversos fatores que podem alterar o *setting time*, entre os quais (i) tamanho das partículas (menor tamanho, *setting time* mais curto), (ii) cristalinidade, (iii) composição do líquido na mistura, (iv) temperatura ambiente e (v) RLP.<sup>99</sup>

### 2.2.4.3 Tempo de coesão

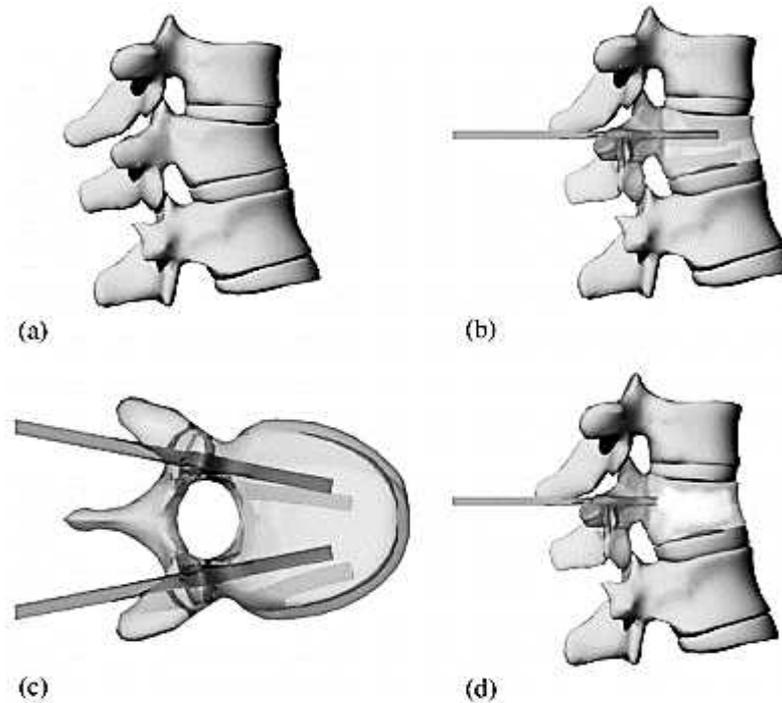
As pastas dos CPCs são implantadas no interior do organismo, ficando em contacto com o sangue ou com outros fluidos fisiológicos. É importante, por isso, que as pastas cimentícias sejam suficientemente coesas e não sofram desintegração depois de aplicadas.<sup>79</sup> A coesão de um CPC define-se como sendo a capacidade que este possui, em manter a sua integridade geométrica quando em contacto com um fluido.<sup>100</sup>

Para a avaliação desta propriedade não existe nenhum método normalizado. No entanto, esta propriedade pode ser avaliada através de um teste de imersão das pastas cimentícias em água, numa solução de Ringer ou em fluido corporal simulado (*simulated body fluid*, SBF).<sup>79</sup> A coesão de um CPC verifica-se quando as forças atrativas entre as partículas prevalecem sobre as forças repulsivas.<sup>100</sup> Assim, esta propriedade pode ser melhorada através de fatores que reforcem as forças atrativas (de Van der Waals, floculação por formação de pontes, etc.) e diminuam as forças repulsivas de natureza eletrostática e estérea.<sup>100</sup> Deste modo, a adição de alguns polímeros tais como alginato de sódio e derivados de celulose, ou de quitosano, na fase líquida tem provado ser eficaz e melhorar a coesão das pastas.<sup>101</sup> Uma fraca coesão tem sido comumente associada a reações inflamatórias e deficiente biocompatibilidade.<sup>102</sup>

### 2.2.4.4 Injetabilidade

Em situações clínicas, os CPCs tanto podem ser aplicados com os dedos do cirurgião ou injetados através de uma seringa para o interior do defeito ósseo.<sup>85</sup> Em situações mais delicadas, como é o caso de defeitos ósseos com acessibilidade limitada ou cavidades estreitas e, quando se utilizam técnicas cirúrgicas minimamente invasivas, como por exemplo na vertebroplastia (Figura 2.7) e a cifoplastia, há a necessidade de aplicar o CPC de forma precisa. Isto significa que injetabilidade é uma das propriedades mais importantes dos CPCs.<sup>103-105</sup> De acordo com diferentes autores, um substituto ósseo injetável ideal deverá possuir um conjunto de propriedades diversas, tais como as listadas na Tabela 2.5.

As vantagens dos cimentos injetáveis incluem: (i) a preparação *in situ*; (ii) a redução do tempo de cirurgia; (iii) a colocação dos CPCs em cavidades extremamente pequenas e de difícil acesso; (iv) a capacidade de se ajustarem perfeitamente ao defeito ósseo, aumentando a qualidade de vida do doente.<sup>77</sup>



**Figura 2.7** Demonstração esquemática do procedimento da vertebroplastia numa fratura da vertebra por compressão: (a) segmento da lombar com uma vertebra fraturada por compressão; (b) introdução de duas agulhas largas no interior do corpo vertebral; (c) colocação das agulhas em vista transversal; (d) estabilização do corpo vertebral comprimido com cimento ósseo. Retirado de: (Verlaan et. Al, 2006).<sup>225</sup>

**Tabela 2.5** Propriedades desejáveis para um substituo ósseo injetável ideal. Adaptado de: (Low *et al.*, 2010).<sup>106</sup>

#### Propriedades desejáveis de um substituo ósseo injetável

Radiopacidade muito elevada

Fácil injetabilidade no corpo de uma vertebra colapsada

Tempo de presa cerca de 15 minutos

Propriedades mecânicas adequadas que permitam o reforço imediato do corpo vertebral

Coesão apropriada

Microporosidade que permita a circulação do fluido corporal (diâmetro medio de poro < 10 $\mu$ m)

Macroporosidade que promova a colonização das células (diâmetro medio de poro > 100 $\mu$ m)

Pelas razões anteriormente descritas, o interesse no desenvolvimento de pastas cimentícias injetáveis tem-se tornado cada vez maior, no entanto, a obtenção deste tipo de pastas é ainda um grande desafio, pois as suas propriedades de fluxo são altamente afetadas por diversos fatores, nomeadamente:<sup>11,64,84,99,106-108</sup>

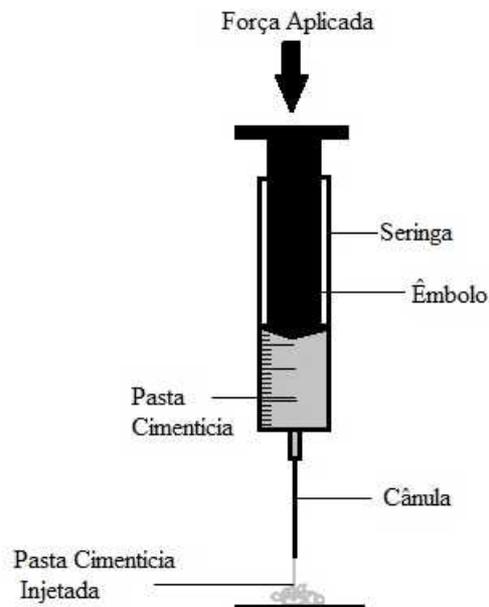
- Tamanho médio de partícula;
- DTP;
- Proporção e natureza das fases apresentadas;
- Presença de partículas fortemente agregadas;
- Forma das partículas;
- RLP;
- Presença de modificadores reológicos e/ou aditivos com funções específicas;
- Viscosidade adequada.

Na comunidade científica não existe, ainda, um consenso geral acerca do significado preciso do termo injetabilidade. Para muitos autores a injetabilidade está relacionada com a força que é necessário aplicar na seringa de modo a dispensar a pasta de cimentícia.<sup>84,95,105,109</sup> No entanto, esta definição parece realçar mais a facilidade de injeção da pasta do que a injetabilidade, que envolve um conceito mais amplo que inclui a quantidade (percentagem) de pasta extrudida e a eventual ocorrência de efeitos de segregação associados à extrusão. Com efeito, a separação dos componentes (sólido/líquido) induzida pela força aplicada na seringa é um fenómeno comumente observado e denominado de “*filter-pressing effect*”. Este fenómeno ocorre quando as pastas não fluem de forma homogénea, as partículas de pó mais grossas, ou os aglomerados de maiores dimensões colidem uns com os outros e tendem a formar uma espécie de filtro que vai deixando passar algum líquido e as partículas mais finas e que acaba por bloquear as agulhas de injeção. Este comportamento reológico inadequado traduz-se, assim, numa pasta extrudida com uma razão líquido/pó superior à da pasta inicial.<sup>108</sup> Por estas razões, a ausência de “*filter-pressing effect*” tem vindo a ser adotada como o critério mais sólido subjacente à condição de injetabilidade.<sup>61</sup> Bohner e Baroud<sup>84</sup> redefiniram injetabilidade de uma pasta cimentícia como sendo a capacidade desta se manter homogénea durante a sua injeção, ou seja, não apresentar separação dos componentes (sólido/líquido) usados na preparação.

Assim sendo, a injetabilidade é definida como a capacidade que o cimento possui para ser extrudido de uma seringa padrão através de uma agulha longa e fina (10 cm de comprimento, 2 mm de diâmetro), pressionando o êmbolo manualmente ou aplicando uma força de cerca de 100 N, aproximadamente. Na Figura 2.8 é possível visualizar um esquema do aparato experimental utilizado nos testes de injetabilidade. A percentagem de injetabilidade é determinada pela razão entre o peso de cimento que é injetado sem haver separação das fases, e relativamente ao peso total de pasta, acordo com a seguinte equação<sup>11,95</sup>:

$$\text{Injetabilidade (\%)} = \frac{\text{massa (ou volume) de pasta extrudada da seringa}}{\text{massa (ou volume) de pasta inserida inicialmente na seringa}} \quad (7)$$

O grande desafio da injetabilidade passa pelo controlo adequado das propriedades reológicas do cimento, as quais são transitórias e se encontram em constantes alterações. Quando os CPCs possuem tempos de presa reduzidos, o endurecimento pode iniciar-se no interior da seringa, reduzindo drasticamente a injetabilidade da pasta. Pelo contrário, cimentos com elevados tempos de presa podem causar constrangimentos no que diz respeito à sua inabilidade para suportar carga depois de injetados dentro desse período de tempo.<sup>105</sup>



**Figura 2.8** Representação esquemática do equipamento experimental usado para quantificar a injetabilidade dos CPCs.

Existem diversas maneiras de melhorar a injetabilidade e a coesão dos CPCs, aspetos cruciais para uma aplicação bem-sucedida.<sup>97</sup> A injetabilidade pode ser melhorada alterando alguns dos fatores mais determinantes das propriedades reológicas, tais como a própria composição do CPC, nomeadamente aumentar a razão líquido/pó, utilizar partículas de tamanho reduzido e com forma esférica, utilização de aditivos na composição líquida, tais como iões de citrato (retardantes da reação de *setting*) e adição de polímeros para prevenir o fenómeno de “*filter-pressing*”.<sup>105</sup> Para além das propriedades relacionadas com as pastas,

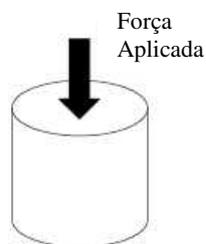
podem também ser melhoradas as propriedades relativas ao dispositivo utilizado, nomeadamente o aumento de diâmetro e a redução de comprimento das agulhas utilizadas, favorecendo assim a injetabilidade. <sup>105</sup>

No mercado encontram-se disponíveis formulações de CPCs injetáveis à base de  $\alpha$ -TCP, tais como o Norian<sup>®</sup>SRS<sup>®</sup>, Cementek<sup>®</sup>, Biopex<sup>®</sup> e Calcibon<sup>®</sup>, que possuem uma composição idêntica à composição desenvolvida neste trabalho. Num estudo realizado com o Norian<sup>®</sup>SRS<sup>®</sup> verificou-se que em 4,5 ml de pasta cimentícia, apenas são injetáveis cerca de 3 ml (67%), ficando 1,5 ml retidos no interior da seringa. Este fenómeno ocorre devido ao fraco comportamento reológico do cimento. <sup>110</sup>

### 2.2.4.5 Propriedades mecânicas

O comportamento mecânico dos CPCs é de extrema importância, pois, uma das principais funções dos ossos é suportar o peso do corpo. A resistência mecânica requerida para os CPCs deve ser pelo menos tão elevada como a do osso trabecular, <sup>39</sup> que é cerca de 10 MPa. <sup>18</sup> As propriedades mecânicas dos CPCs são relativamente baixas, limitando o seu uso a aplicações ortopédicas em locais não sujeitos a carga. <sup>111</sup> Visando o aumento das propriedades mecânicas dos cimentos, alguns autores têm recorrido à incorporação de fibras biodegradáveis <sup>64</sup> e de redes de Vicryl, bem como de quitosano. <sup>103</sup>

Um mecanismo particularmente importante para avaliar os CPCs é a resistência à compressão (RC) que requer uma amostra com diâmetro de 6 mm e uma altura de 12 mm (Figura 2.9), <sup>39</sup> colocados na posição vertical de acordo com a norma ASTM F 451-0891 utilizada para cimentos ósseos acrílicos. <sup>112</sup> A RC consiste na tensão máxima (MPa) a que uma amostra de material com uma determinada área de secção transversal, pode suportar sob esforços de compressão antes de ocorrer a fratura. Normalmente, este valor é calculado por um equipamento de ensaio universal que indica a força máxima que pode ser aplicada ao material.



**Figura 2.9** Representação esquemática das amostras para os testes experimentais para a medição da resistência à compressão. Adaptado de: (Pina, 2009) <sup>39</sup>

De uma forma geral, todos os fatores que influenciam a injetabilidade de uma pasta cimentícia, influencia também a RC. Na Tabela 2.6 encontram-se os fatores que podem afetar o comportamento mecânico dos CPCs.

**Tabela 2.6** Resumo dos fatores que podem afetar o comportamento mecânico dos CPCs

Fator	Consequência
<b>Proporção dos reagentes</b> <sup>113</sup>	Influencia a natureza do produto. O máximo de resistência pode variar para cada tipo de formulação.
<b>Razão Líquido/Pó</b> <sup>114</sup>	Quanto maior for a quantidade de líquido por grama de pó menor será a resistência à compressão.
<b>Tamanho das partículas</b> <sup>115</sup>	Fixando as outras variáveis, quanto menor for o tamanho da partícula maior será a resistência à compressão.
<b>Temperatura de incubação</b> <sup>116</sup>	Pode levar à desidratação do cimento, ao aumento da porosidade e, conseqüentemente ao seu enfraquecimento.

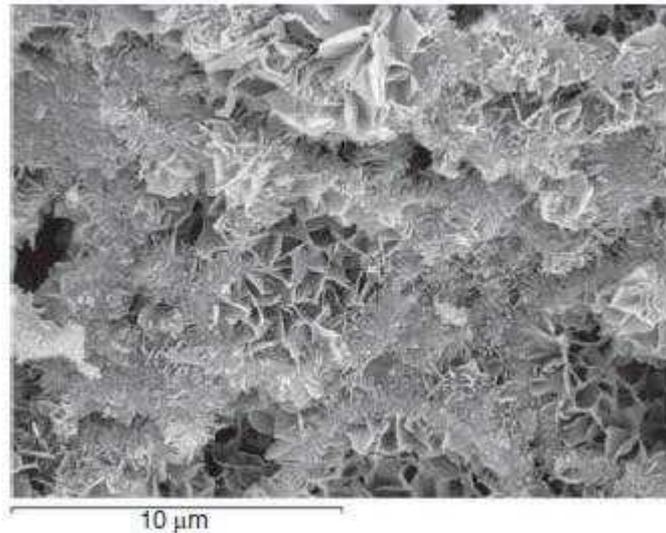
Apesar da RC ser uma propriedade de grande relevo para a caracterização dos CPCs, torna-se difícil efetuar comparações entre as diferentes formulações disponíveis no mercado e na literatura. Tal facto, deve-se, principalmente, às diversas condições de preparação das amostras (preparadas com ou sem pressão exercida sobre elas) ou o método utilizado para a medição (ensaios com amostras secas ou húmidas, ensaios efetuados a diversos tempos de endurecimento, a diversas temperaturas e humidade). Tais fatores, influenciam grandemente os valores de RC finais. <sup>78</sup>

Para CPCs apatíticos foram já registados valores de RC entre 20 MPa e 50 MPa, <sup>76,90,117</sup> no entanto, já foram reportadas formulações com valores de RC mais baixos e mais altos. <sup>118</sup> A nível das formulações apatíticas disponíveis no mercado, sabe-se que o Norian<sup>®</sup>SRS apresenta um valor de RC de  $33 \pm 5$  MPa, Cementek  $8 \pm 2$  MPa, <sup>78</sup> o Calcibon<sup>™</sup> de 60 MPa, e o Biopep<sup>®</sup> valores entre 60–90 MPa. <sup>79</sup>

#### 2.2.4.6 Microestrutura e Porosidade

Quimicamente, a reação de *setting* dos CPCs consiste, numa primeira fase, na dissolução de um ou mais constituintes do pó do cimento, seguindo-se a precipitação de diferentes CaPs. Fisicamente, ou seja, estruturalmente, ocorre a precipitação de um emaranhado dos cristais de CaP. <sup>79</sup>

Durante a reação de hidratação (Equação 3) nem toda a água é consumida, sendo esta a grande responsável pela porosidade nos CPCs, tornando-os, conseqüentemente, interiormente porosos. Na Figura 2.10 é mostrada a microestrutura de um cimento apatítico depois da reação de *setting*, sendo claro e visível que o desenvolvimento de uma estrutura altamente micro-nanoporosa. A porosidade dos CPCs relaciona-se com a RLP utilizada e, normalmente varia entre 30% e 50%. A DTP dos pós de partida pode modificar o tamanho dos cristais precipitados bem como a distribuição dos poros do CPC.<sup>76</sup>



**Figura 2.10** Micrografia obtida através de SEM de um cimento apatítico depois da reação de *setting*. Retirado de (Ginebra, 2008).<sup>79</sup>

### 2.2.5 Aplicações médicas e clínicas

Os CPCs injetáveis foram introduzidos no mercado como um complemento para a fixação interna no tratamento de fraturas. Ao longo dos anos os estudos realizados têm vindo a provar que os CPCs são materiais altamente biocompatíveis, osteocondutores e capazes de estimular a regeneração óssea.<sup>11</sup> A principal finalidade dos CPC é preencher lacunas no osso metafisário, reduzindo a necessidade de se recorrer a enxertos ósseos, embora estes também possam ter outras aplicações em medicina, nos campos ortopédico, dentário e maxilofacial.<sup>11</sup> Esta diversidade de aplicações clínicas deve-se a um conjunto de propriedades únicas destes materiais de enxerto. Para além das acima mencionadas, os CPCs são ainda: não citotóxicos, são reabsorvíveis, moldáveis e o seu endurecimento ocorre através de reações de baixa exotermicidade.

As maiores limitações prendem-se com o desempenho ainda insatisfatório desempenho mecânico após o endurecimento. A melhoria das propriedades mecânicas destes cimentos abriria ainda mais o seu leque de potenciais aplicações clínicas em áreas como: <sup>11</sup>

- Endodontia: no preenchimento do canal do dente e no preenchimento de lesões quísticas dos maxilares;
- Ortopedia: tratamento de fraturas, substituição óssea, cimentação de prótese; <sup>119</sup>
- Aplicações maxilofaciais e craniofaciais: reparação de furos e cortes devido a neurocirurgias e para aumento facial;
- Vertebroplastia e cifoplastia: restauro de fraturas vertebrais induzidas pela osteoporose;
- Sistemas de entrega terapêutica: incorporação de drogas para tratamento de diversas doenças ósseas, tais como a osteoporose, a osteomielite, e tumores malignos como o osteossarcoma.

## 2.3 Regulamentação dos Dispositivos Médicos

### 2.3.1 Diretiva 93/42/CEE

Para garantir um elevado nível de segurança dos doentes e um bom funcionamento do mercado, implementou-se legislação que permite controlar as normas de segurança e a qualidade dos dispositivos médicos, garantindo assim maior confiança aos doentes que necessitem da sua utilização. De acordo com a legislação em vigor na Europa, a Diretiva relativa aos dispositivos médicos é a Diretiva 93/42/CEE de junho de 1993. <sup>120</sup> Esta estabelece as regras para a investigação, para o fabrico e comercialização, para a entrada em serviço, vigilância e para a publicidade dos dispositivos médicos e respetivos acessórios. Em paralelo com esta Diretiva, todo o procedimento de produção, inspeção e ensaios finais devem alinhados com um sistema de gestão de qualidade, que no caso dos dispositivos médicos é definido pela norma EN ISO 13485:2003. <sup>121</sup>

Segundo o Artigo 1.º, alínea 2 a) da Diretiva 93/42/CEE, os cimentos ósseos de fosfato de cálcio classificam-se como dispositivos médicos pois:

*“Dispositivo médico: qualquer instrumento, aparelho, equipamento, software, material ou outro artigo, utilizado isoladamente ou em combinação, incluindo o software destinado pelo seu fabricante a ser utilizado especificamente para fins de diagnóstico e/ou terapêuticos e que seja necessário para o bom funcionamento do dispositivo médico, destinado pelo fabricante a ser utilizado em seres humanos para efeitos de:*

- *diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença,*
- *diagnóstico, controlo, tratamento, atenuação ou compensação de uma lesão ou de uma deficiência,*
- *estudo, substituição ou alteração da anatomia ou de um processo fisiológico,*
- *controlo da concepção,*

*cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios;”*

Pela análise da definição anterior, verifica-se que podem ser classificados como dispositivos médicos um elevado e variado número de dispositivos de variadas gamas que vão desde os mais simples aos mais complexos. Sendo assim, existe a necessidade de os classificar recorrendo a critérios de classificação, que têm em consideração o fim a que o dispositivo se destina e o potencial risco inerente a cada um. Posto isto, segundo o Artigo 9.º da Diretiva 93/42/CEE os dispositivos devem ser integrados nas seguintes classes:

- Classe I: dispositivo médico de baixo risco;
- Classe IIa: dispositivo médico de médio risco;
- Classe IIb: dispositivo médico de médio alto risco;
- Classe III: dispositivo médico de alto risco.

As regras de classificação dos dispositivos médicos encontram-se definidas no anexo IX da Diretiva 93/42/CEE. São alguns os critérios aos quais se deve obedecer no momento da classificação do dispositivo médico, nomeadamente:

- (i). Duração, ou seja, o tempo que o dispositivo se encontra em contacto com o organismo:
  - Temporário;
  - Curto prazo;
  - Longo prazo;
- (ii). Invasibilidade:
  - Invasivo;
  - Orifício corporal;
  - Invasivo de tipo cirúrgico;
  - Implantável;
- (iii). Aplicabilidade:
  - Instrumento cirúrgico reutilizável;

- Dispositivo medicinal ativo;
  - Dispositivo ativo de caráter terapêutico;
  - Dispositivo ativo para diagnóstico;
- (iv). Local do corpo afetado;
- (v). Esterilidade;

### 2.3.2 Registo da Marca CE

Para a comercialização de qualquer tipo de dispositivo médico na União Europeia é necessário os seus fabricantes obterem a marca CE, como parte integrante do processo do registo do dispositivo. Esta marca é um pré-requisito para a colocação do dispositivo no mercado e permite a livre circulação do mesmo e, para além disso, é uma garantia em como o produto está em conformidade com os requisitos essenciais estabelecidos no anexo I da Diretiva 93/42/CEE dos dispositivos médicos. Tal marca (Figura 2.11) deve ser legível, visível e indelével em todos os dispositivos médicos. <sup>120</sup>



**Figura 2.11** Símbolo utilizado para indicar a marca CE.

A demonstração da conformidade com os requisitos essenciais deve incluir uma avaliação clínica nos termos do anexo I da Diretiva 93/42/CEE, sendo necessário efetuar uma avaliação clínica, que pode ser realizada de duas formas distintas: pela avaliação crítica da literatura científica existente, tentando obter equivalência a dispositivos já comercializados, ou efetuando uma investigação clínica. Ambos os métodos para obter a marca CE exigem etapas rigorosas de investigação. <sup>120</sup>

Para efetuar a avaliação clínica através de uma revisão bibliográfica, ou seja, por comparação de outros produtos semelhantes já existente no mercado, é necessário avaliar a segurança, o desempenho, as características de conceção e o propósito do dispositivo médico. Numa primeira etapa deverá ser demonstrada a equivalência do dispositivo médico com outro semelhante que exista já no mercado, considerando aspetos técnicos, clínicos e biológicos. Por

fim é efetuado um relatório final onde se encontram incluídas o plano de seleção, os dados recolhidos e a sua análise, definição dos objetivos de avaliação, identificação dos dados recolhidos e respetivas publicações e conclusões obtidas.<sup>120</sup>

A elaboração de uma investigação clínica é outra via para obtenção da marca CE. Esta é um processo mais demorado que o anteriormente descrito. Para iniciar este processo é necessário elaborar um plano de investigação clínica que esteja de acordo com a ISO 14155:2011<sup>122</sup> e com a Declaração de Helsinki. Após a elaboração desse plano é feito um pedido de parecer à comissão de ética competente e é elaborada uma declaração para dispositivos médicos que se encontrem sob investigação clínica, disponível no Anexo VII da Diretiva 93/42/CEE.<sup>120</sup> Após preenchida a declaração é efetuada a sua submissão à Autoridade Competente, que avalia os riscos e os benefícios. Feita a avaliação, a realização do estudo é aprovada, caso os benefícios para os participantes excedam os possíveis riscos, caso contrário, o fabricante é notificado sobre a proibição da realização do estudo, parando por aí o processo. Caso o estudo seja aprovado, inicia-se a investigação clínica efetuando um relatório final do estudo que é avaliado pela Autoridade Competente em Portugal (Infarmed) e pela Comissão de Ética.<sup>120</sup>

Em ambos os casos, é elaborado um *dossier* técnico, onde é compilada toda a informação e documentação que descreve todos os aspetos referentes ao dispositivo médico. Este *dossier* técnico é depois sujeito a uma revisão por parte de um Organismo Notificado. Este Organismo tem como principal função a avaliação da conformidade para a obtenção da marca CE. Para a comercialização do dispositivo no mercado é efetuado um pedido de autorização à Autoridade Competente, correspondente a cada país, no caso de Portugal, ao Infarmed. Cabe também às Autoridades Competentes tomar as medidas necessárias para garantir que os dispositivos que se encontram no mercado cumprem os requisitos de qualidade, segurança e desempenho, assegurando, assim, elevados níveis de proteção para a Saúde Pública.<sup>123</sup>

# CAPÍTULO III

---

MATERIAIS E MÉTODOS



## Materiais e Métodos

De modo a cumprir os objetivos inicialmente propostos, a parte experimental deste trabalho foi dividida em diversas fases listadas e resumidas no fluxograma da Figura. 3.1. É de realçar que ao longo de todo o projeto foi desenvolvido a avaliação clínica por equivalência com CPCs comercializados, dando origem a um relatório de avaliação clínica (*Clinical Evaluation Report*).

1. **Escolha dos iões dopantes nos pós de CaPs.** Segundo o que se encontra relatado no estado de arte, os iões dopantes foram escolhidos tendo em conta critérios de radiopacidade, bioatividade, aceleração da mineralização óssea e regeneração da estrutura óssea.
2. **Síntese dos pós de CaPs.** Os pós foram preparados por via húmida. Esta etapa dividiu-se em quatro sub-etapas: (i) síntese do pó de  $\beta$ -TCP; (ii) síntese do pó  $\beta$ -TCP dopado; (iii) síntese do pó de  $\alpha$ -TCP e (iv) síntese do pó de  $\alpha$ -TCP dopado.
3. **Processamento e caracterização das matérias-primas.** Tendo em conta o descrito no estado de arte, o processamento da matéria-prima é uma etapa fulcral para obter pastas cimentícias com boas propriedades, principalmente a distribuição do tamanho e a morfologia de partícula. Nesta etapa procedeu-se à moagem dos pós de CaPs e posteriormente efetuou-se a caracterização das fases cristalinas, a morfologia e a distribuição do tamanho das partículas.
4. **Preparação dos CPCs de  $\alpha$ -TCP.** As diferentes formulações foram preparadas tendo em conta alguns fatores, nomeadamente os tempos de presa e, principalmente, a injetabilidade das pastas cimentícias.
5. **Caracterização dos CPCs de  $\alpha$ -TCP.** Os cimentos obtidos na etapa 4 foram caracterizados quanto às suas fases cristalinas, injetabilidade, propriedades mecânicas após imersão em PBS por 24 horas e porosidade total.

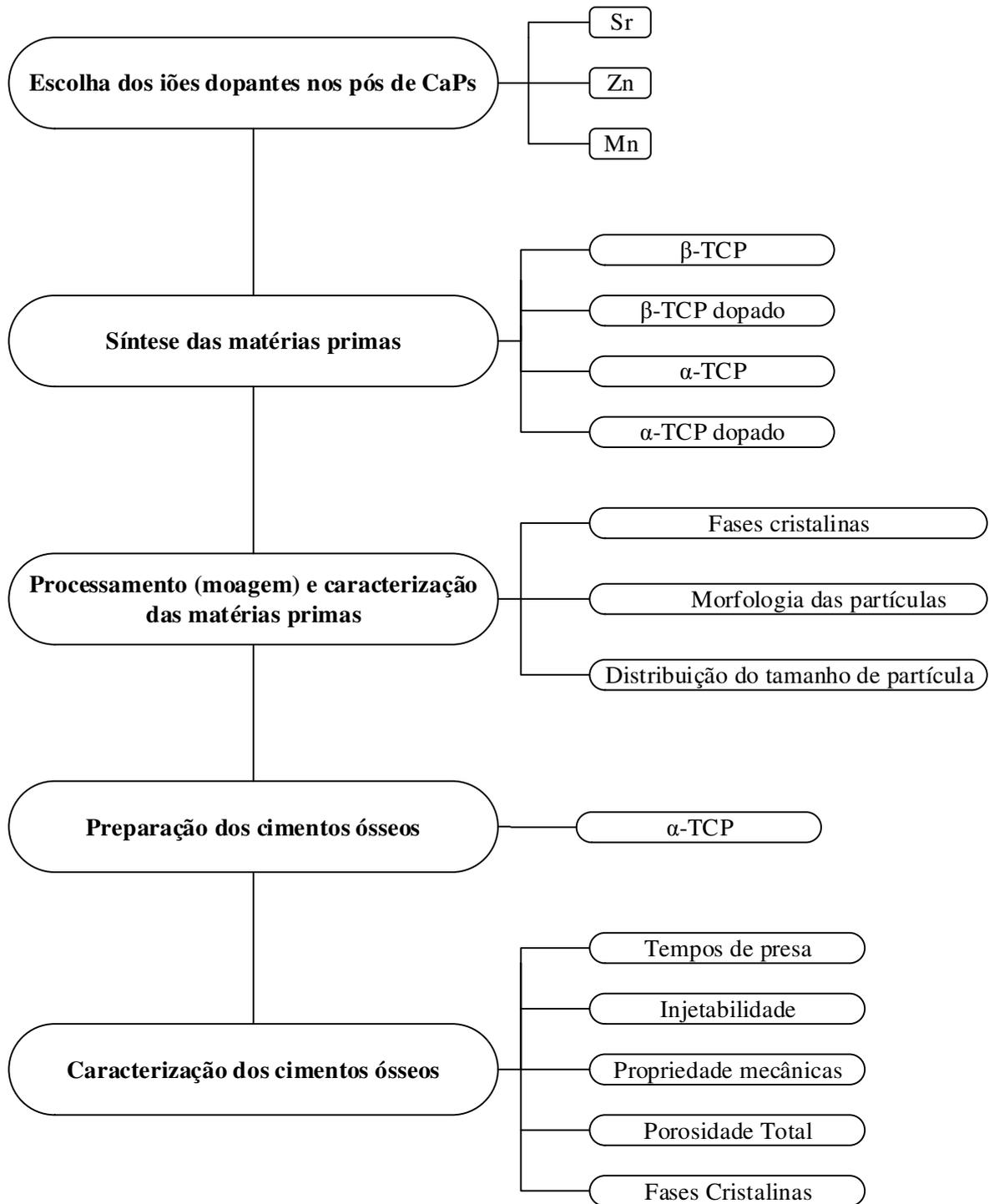
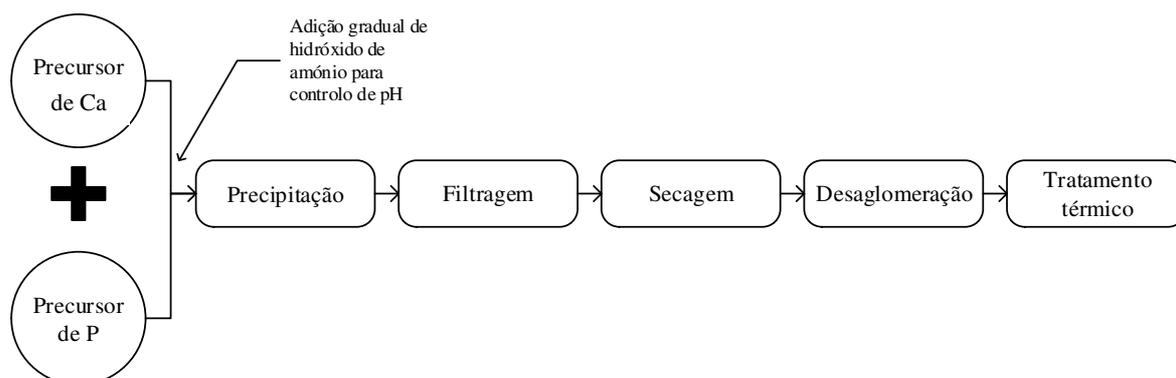


Figura 3.1 Fluxograma das etapas desenvolvidas ao longo do trabalho.

### 3.1 Síntese dos pós de CaP

O método utilizado para a síntese dos diferentes pós de CaPs foi a precipitação química por via húmida, seguindo-se a filtração sobre vácuo e a secagem numa estufa a 100 °C. Os pós

secos foram calcinados a 1000°C e depois moídos a seco. Este processo apresenta-se esquematizado na Figura 3.2.



**Figura 3.2** Esquema representativo do processo de síntese das matérias primas

### 3.1.1 $\beta$ -TCP

A síntese do pó de  $\beta$ -TCP puro iniciou-se com a preparação das soluções aquosas dos precursores de cálcio (Ca) (Nitrato de cálcio 4-Hidratado)  $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ , (Panreac, Espanha) e de fósforo (P) (Hidrogenofosfato de diamónio)  $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ , (Panreac, Espanha). Assumiu-se uma concentração inicial fixa de 0,6 M de P, sendo que a concentração da solução de Ca foi calculada de forma a manter a razão Ca/P=1,500, valor teórico para obter  $\beta$ -TCP puro.<sup>124</sup> Ambas as soluções foram preparadas com água desionizada em balões volumétricos de 2000 ml e de seguida colocadas no interior do reator a 30°C com agitação constante de 700 rpm, durante 4 horas. Inicialmente foram adicionados à solução de P 70 ml de uma solução de hidróxido de amónio  $[\text{NH}_4\text{OH}]$ , (Sigma-Aldrich, Alemanha) com o propósito de manter o pH da solução da mistura entre 7-8. O valor do pH foi medido e registado de 15 em 15 min com um medidor de pH (Consort C1010) durante o período total da síntese, sendo adicionada, sempre que necessário, a solução de hidróxido de amónio, com o intuito de manter o pH no intervalo de valores pretendido. As condições experimentais (temperatura, pH, Ca/P e tempo de maturação) foram ajustadas ao longo do trabalho de modo a evitar a formação de pirofosfato de cálcio.<sup>124</sup> No Capítulo IV serão estudadas em pormenor tais condições para a formação de HA. Após 4 h de reação, o precipitado foi retirado do interior do reator sendo separado por filtração sob vácuo e posteriormente seco a 100°C durante 72 h.

O precipitado seco foi triturado num moinho mecânico de bolas, numa razão 1:3 em peso de pó e bolas, durante 5 min, de modo a quebrar os aglomerados formados durante a secagem. Seguidamente o pó foi calcinado num forno Termolab a 1000°C, a uma taxa de aquecimento de 5°C/min, com um patamar de 2 h à temperatura máxima, seguindo-se um arrefecimento natural até à temperatura ambiente.<sup>125</sup> Após calcinação dos pós, procedeu-se à moagem dos mesmos num moinho de bolas, encontrando-se este estudo detalhado no Capítulo V.

### 3.1.2 $\alpha$ -TCP

O procedimento utilizado para a síntese do pó de  $\alpha$ -TCP foi o mesmo descrito anteriormente, residindo a única diferença no tratamento térmico do pó. Este estudo é apresentado detalhadamente no Capítulo IV.

### 3.1.3 $\beta$ -TCP dopado

Para a produção do pó de  $\beta$ -TCP dopado utilizou-se também o método de precipitação química por via húmida, sendo a formulação ajustada de modo a que a razão total entre catiões e o anião fosforo fosse  $(Ca+Sr+Zn+Mn)/P=1,510$ . Para tal, foram preparadas, de igual modo, duas soluções com os precursores Ca e P, no entanto, a quantidade de precursor de cálcio utilizada foi parcialmente substituída pelos precursores dos catiões dopantes, nomeadamente, por Nitrato de Estrôncio  $[Sr(NO_3)_2]$ , (Sigma-Aldrich, Alemanha), Nitrato de Zinco hexahidratado  $[Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O]$ , (Sigma-Aldrich, Alemanha) e Nitrato de Manganês (II) hidratado  $[Mn(NO_3)_2 \cdot xH_2O]$ , (Sigma-Aldrich, Alemanha). O restante procedimento foi idêntico ao anteriormente descrito com a diferença ao nível dos valores de pH. O valor de pH pretendido era de 7, mas os valores experimentais encontraram-se entre 6,5–7 pela adição de solução de hidróxido de amónio  $[NH_4OH]$ , (Sigma-Aldrich, Alemanha). Neste tipo de sínteses é de extrema importância manter os valores de  $pH \leq 7$ , pois os iões  $Mn^{2+}$  são estáveis em soluções ácidas mas precipitam em  $Mn(OH)_2$  sob condições alcalinas (cor branca), podendo oxidar rapidamente em  $MnO(OH)_2$  (cor castanha).<sup>126</sup> O tratamento térmico utilizado foi o igual ao utilizado para o pó de  $\beta$ -TCP puro.

### 3.1.4 $\alpha$ -TCP dopado

O procedimento utilizado para a síntese do pó de  $\alpha$ -TCP dopado, foi o mesmo descrito anteriormente, residindo a única diferença no tratamento térmico do pó. O estudo do tratamento térmico deste pó encontra-se detalhado no Capítulo IV.

### 3.2 Preparação das pastas cimentícias

Ao longo deste trabalho as pastas cimentícias foram preparadas misturando manualmente a fase sólida (5 g de pó) com a fase líquida reativa, uma solução aquosa de 2,5 wt.% de fosfato dissódico anidro [ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ], (Merck, Alemanha). As duas fases foram misturadas num recipiente de plástico com a ajuda de uma espátula, durante 1 min, a uma temperatura entre 18°C–23°C. Em algumas preparações foram adicionados à fase líquida alguns modificadores reológicos com vista a ajustar a coesão e a injetabilidade das pastas. Assim, testaram-se três outras soluções aquosas derivadas da solução reativa através da adição de (i) 15 wt% de polietileno glicol 600 (PG 600, Clariant); ou de duas quantidades diferentes [(ii) 0,25 wt%, e (iii) 0,5 wt%] de um agente superficialmente ativo e gelificante, Aristoflex<sup>®</sup>TAC (Clariant, Espanha).

A seleção do agente de presa ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) bem como dos modificadores reológicos (PG 600 e TAC) para os líquidos de presa deveu-se, principalmente, ao facto de serem aditivos de natureza não tóxica, usados comumente em vários alimentos e bebidas, bem como em produtos de cosmética. O  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  é um sal inodoro e higroscópico usado na indústria alimentícia. Já o PG 600 (nome comercial) é um polietileno glicol com peso molecular 600, não tóxico, utilizado em produtos de cosmética, na indústria alimentar e farmacêutica, nomeadamente no revestimento de algumas drogas.<sup>127</sup> O Aristoflex<sup>®</sup>TAC é um polímero sintético que fornece um excelente limite de elasticidade, mesmo em baixa concentração, sendo utilizado em produtos de cosmética tais como géis de banho e em cremes de limpeza facial.<sup>128</sup> Na Tabela 3.2 são apresentadas as composições das fases líquidas dos cimentos, bem como a sua nomenclatura.

No Capítulo V é apresentado um estudo detalhado dos cimentos preparados neste trabalho.

**Tabela 3.1** Concentrações em peso (wt.%) dos compostos das fases líquidas e sua nomenclatura.

Nomenclatura	wt % dos compostos da fase líquida		
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	PG 600	TAC
L0	-	-	-
L2	2	-	-
L2.5	2,5	-	-
L3	3	-	-
L2,5_15PG	2,5	15	-
L2,5_0,25TAC	2,5	-	0,25
L2,5_0,5TAC	2,5	-	0,5

### 3.3. Caracterização dos CPCs

As propriedades principais dos CPCs produzidos neste estudo foram avaliadas através de várias técnicas de caracterização, incluindo a análise da morfologia e das fases que os constituem.

#### 3.3.1 Medição do IST e FST

Os tempos de início de presa (IST) e de final de presa (FST) dos CPCs foram determinados pelo método das agulhas de Gillmore, Figura 3.3 (a), de acordo com a norma internacional ASTM C266-89.<sup>91</sup>

Após 1 minuto de mistura das fases sólida e líquida, a pasta cimentícia foi colocada num molde de silicone com 3 cm de diâmetro e 1 cm de espessura como o mostrado na Figura 3.3 (b). O molde foi de seguida introduzido numa estufa a 37°C, numa caixa com ambiente húmido. Decorridos cerca de 30 s após a colocação na estufa, o molde foi retirado e efetuou-se a primeira medição utilizando a agulha com menos peso. Verificou-se a existência, ou não, de algum tipo de indentação e, o processo foi repetido em intervalos  $\approx 30$  s até não ser possível identificar qualquer tipo de marca na superfície do CPC. O intervalo de tempo decorrido corresponde ao IST. De seguida, procedendo-se à medição do FST com recurso à agulha mais pesada. Todo o processo é repetido, de igual forma, até não ser verificada nenhuma marca na superfície. Para cada CPC, a medição destes parâmetros foi efetuada em três amostras diferentes.

Após a medição do IST e do FST, os CPCs foram colocados numa caixa com ambiente húmido no interior da estufa a 37°C, durante 24 horas e a reação de presa foi interrompida

através da trituração e imersão em acetona [ $\text{CH}_3(\text{CO})\text{CH}_3$ ], (Panreac, Espanha). Os pós resultantes deste processo foram secos na estufa a  $40^\circ\text{C}$  e utilizados, posteriormente, para quantificar as fases cristalinas formadas, através da difração de raios-X.



(a)



(b)

**Figura 3.3** (a) Agulhas de Gillmore; (b) Molde de silicone e CPC produzido no molde.

### 3.3.2 Avaliação da Injetabilidade e do “*filter-pressing effect*”

Os testes de injetabilidade das pastas cimentícias foram feitos de acordo com os procedimentos descritos em diversas publicações.<sup>9,84,129,130</sup> Neste estudo utilizou-se uma seringa de 6 ml com 12,4 mm de diâmetro interior e 70 mm de comprimento. A pasta cimentícia (5 g de pó e a quantidade necessária de líquido) foi misturada durante 1 min e colocada no interior da seringa. Esta foi introduzida num dispositivo de fixação adequado, produzido no laboratório, Figura 3.4 (b), e o conjunto foi de seguida colocado na máquina de ensaios mecânicos (Shimadzu Autograph, traezium 2, Japan). O aparato pode ser visualizado na Figura 3.4 (a). Os testes foram realizados sob uma temperatura ambiente de cerca de  $18^\circ\text{C}$ . A extrusão das pastas cimentícias iniciou-se após 2 min e 30 s, contados desde o começo da mistura da pasta, tendo os testes sido realizados a uma velocidade de  $15\text{ mm min}^{-1}$  e até uma força máxima de 300 N. Esta carga máxima foi selecionada de modo a garantir uma gama de forças mais alargada relativamente àquela exercida aquando a injeção manual que vai até cerca de 100 N.<sup>85</sup>

A percentagem de injetabilidade foi determinada a partir da massa da pasta que foi expelida, dividindo esse valor pela massa inicial que se encontrava no interior da seringa, tal como apresentado na Equação (7), descrita no Capítulo II. Cada teste de injetabilidade foi repetido três vezes sendo calculada a sua média. Para avaliar o efeito de “*filter-pressing*”, recolheram-se amostras ao longo do processo de extrusão, nomeadamente, em cada intervalo

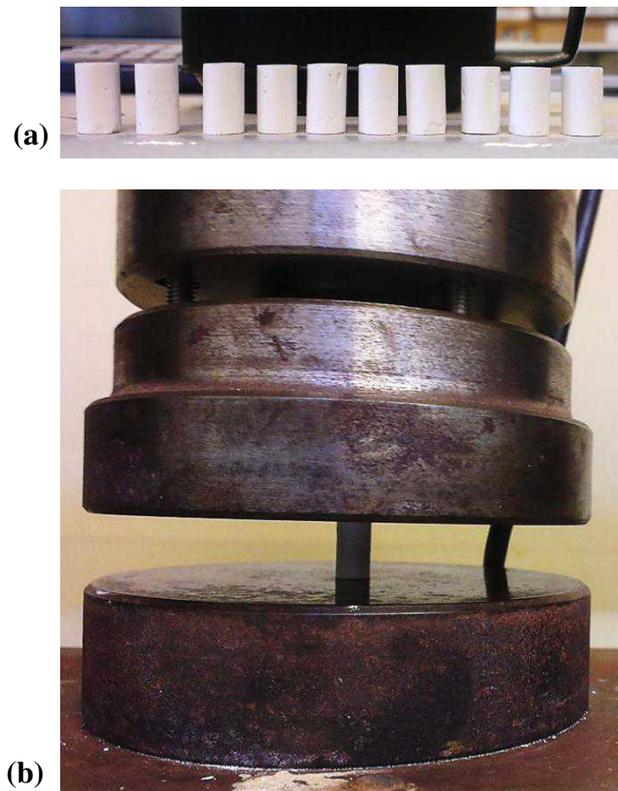
30 s, contabilizados a partir do início do processo de extrusão. Terminado o processo de extrusão, recolheu-se também a pasta que permaneceu na seringa. Todas as amostras recolhidas foram pesadas logo a seguir à extrusão e após secagem na estufa a 100°C, durante 48 h, para assim poder determinar os seus valores de RLP. <sup>9</sup>



**Figura 3.4** (a) Aparato utilizado nos testes de injetabilidade (Shimadzu Autograph, traezium 2, Japan); (b) dispositivo de fixação com seringa introduzida.

### 3.3.3 Avaliação das propriedades mecânicas

As pastas cimentícias foram vertidas em moldes cilíndricos ( $\phi$  6 mm, altura 12 mm) de PTFE de modo a formar provetes para medição da resistência à compressão, Figura 3.5 (a). O molde foi colocado no interior de uma caixa com 100% de humidade a 37°C, durante 2 horas. De seguida, os CPCs foram retirados do interior do molde seguindo-se a retificação das faces de forma a obter superfícies lisas e paralelas entre si. Os provetes retificados foram colocados numa solução de PBS (1,37 M NaCl, 27 mM KCl, 80,6 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 19,4 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) durante 24 h, a 37°C e 100% de humidade. Decorrido este período, os CPCs foram imediatamente sujeitos ao teste de compressão no equipamento Shimadzu Autograph, Japan. Colocaram-se os provetes entre as duas placas de compressão, Figura 3.5 (b), usando uma célula de carga de 10 kN e uma velocidade de deformação de 1 mm min<sup>-1</sup>. O *software* utilizado para o cálculo da resistência à compressão foi o Trapezium 2.



**Figura 3.5** (a) Provetes de CPC para medição da resistência à compressão; (b) Provette entre as placas de compressão durante o teste.

### 3.3.4 Porosidade total, densidade real e densidade aparente

A porosidade total (aberta e fechada) que pode existir em simultâneo no mesmo material consiste na relação entre o volume total dos poros e o volume aparente do material. Para o cálculo desta propriedade é necessário conhecer a densidade real e a densidade aparente do material, tal como é possível verificar pela Equação 8. De seguida apresentam-se as definições de cada conceito envolvido no cálculo da porosidade:

- Porosidade aberta: apresenta-se sob a forma de uma rede de finos capilares comunicantes entre si e com a superfície;
- Porosidade fechada: consiste nos poros que se encontram completamente cercados por material, isolados uns dos outros;
- Densidade aparente: razão entre o peso e o volume aparente;
- Densidade real: diferença entre o volume real (volume aparente) e o volume total dos poros (abertos e fechados).<sup>131</sup>

$$\text{Porosidade total (aberta e fechada)} = \frac{\text{densidade real} - \text{densidade aparente}}{\text{densidade real}} \quad (8)$$

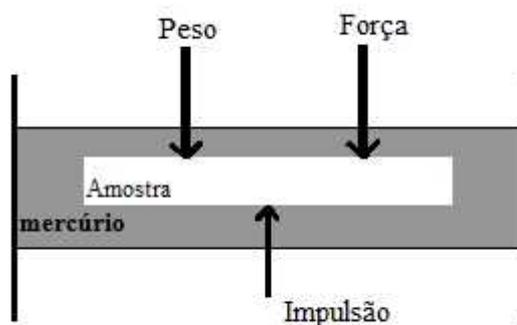
### 3.3.4.1 Densidade real

A densidade real dos cimentos foi calculada através de um picnómetro de hélio, o Multipycnometer Quantumchrome, USA. Este aparelho baseia-se no princípio de Arquimedes, em que o volume é determinado a partir do deslocamento de um fluido. O gás utilizado pelo equipamento é o hélio, um gás perfeito que pode penetrar em poros com dimensões  $\approx 1 \text{ \AA}$  ( $10^{-10} \text{ m}$ ), devido ao seu reduzido tamanho atómico.

O equipamento determina a densidade real dos pós, através da diferença de pressão, quando um determinado volume de hélio passa através de um porta-amostras que contém o pó.<sup>131</sup> Para efetuar este teste utilizaram-se 7 g de cimento moído num almofariz de ágata, previamente seco a  $37^\circ\text{C}$  durante alguns dias.

### 3.3.4.2 Densidade Aparente

A densidade aparente dos CPCs foi calculada através do método de imersão em mercúrio, também baseado no princípio de Arquimedes. Com a imersão do provete em mercúrio, este fica sujeito à ação da força de impulsão ( $I$ ) que contraria o peso da amostra ( $P_s$ ) e a força necessária para manter o provete imerso ( $F_i$ ), como é possível visualizar na Figura 3.6.



**Figura 3.6** Esquema representativo do sistema de forças que atuam na amostra imersa no interior do mercúrio. Adaptado de: (Bó et al, 2002)<sup>226</sup>

No estado de equilíbrio é válida a Equação 9:

$$I = P_s + F_i \quad (9)$$

O peso, as forças de imersão e de impulsão do mercúrio, são calculadas pelas equações 10, 11 e 12, respetivamente.

$$P_s = m_s g \quad (10)$$

$$F_i = m_i g \quad (11)$$

$$I = \rho_{Hg} V_{desl.} g \quad (12)$$

Onde :

$m_s$ : massa da amostra seca;

$m_i$ : massa da amostra imersa;

$g$ : constante de gravidade;

$\rho_{Hg}$ : densidade do mercúrio;

$V_{desl.}$ : volume de mercúrio deslocado devido à imersão da amostra. Então

$$\rho_{Hg} V_{desl.} g = m_s g + m_i g \quad (13)$$

Neste caso, o volume aparente da amostra ( $V_{ap.}$ ) é igual ao volume do mercúrio deslocado, sendo assim, representa-se a igualdade pela Equação 14:

$$V_{desl.} = V_{ap.} \quad (14)$$

Efetuada a substituição de 14 em 13, tem-se:

$$V_{ap.} = \frac{m_s + m_i}{\rho_{Hg}} \quad (15)$$

Partindo da definição, a densidade aparente é assim calculada pela razão entre a massa da amostra e o seu volume aparente, como indica a Equação 16:

$$\rho_{ap.} = \frac{m_s}{V_{ap.}} \quad (16)$$

Para determinar a densidade aparente, as amostras foram previamente secas na estufa a 40°C durante alguns dias, sendo depois pesadas ( $m_s$ ) e colocadas no interior do densímetro de mercúrio, o equipamento utilizado para medir a densidade aparente. É de realçar que o mercúrio, metal líquido, é de elevada perigosidade, com risco de intoxicação por contacto ou inalação. Para minimizar esses riscos, o dispositivo utilizado foi construído no laboratório, permitindo efetuar as medições sem contacto direto com o mercúrio. É possível visualizar o equipamento na Figura 3.7. Ele é constituído por um pistão micrométrico que se encontra acoplado a uma câmara. Esta, por sua vez, contém o mercúrio bem como a amostra e, é o avanço ou recuo do pistão, que permite medir o volume aparente. Neste ensaio foram utilizados 5 provetes de cada CPC.



**Figura 3.7** Densímetro para sólidos, concebido no laboratório de investigação do Professor José M. F. Ferreira.

### 3.4 Técnicas de caracterização

As técnicas de caracterização utilizadas neste trabalho serviram para caracterizar tanto as matérias-primas (pós de partida) como os CPCs produzidos. Ambos os tipos de materiais foram caracterizados quanto às composições das fases cristalinas e a morfologia das partículas. Os pós de partida foram ainda caracterizados quanto às suas distribuições granulométricas.

#### 3.4.1 Difração de raios-X

A identificação das fases cristalinas dos pós de partida e dos CPCs foi efetuada através da difração de raios-X (DRX). As amostras para este tipo de análise foram secas e finamente moídas, retirando-se uma amostra representativa de cada material a testar, permitindo assim

uma orientação aleatória dos cristais. As amostras em pó foram colocadas num difractómetro de alta resolução (Bruker D8 Advance DaVinci) com radiação Cu K $\alpha$  com comprimento de onda  $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$ , num intervalo de varrimento ( $2\theta$ ) de  $5^\circ$  a  $70^\circ$  e uma largura de passo de  $0,0130^\circ 2\theta \cdot s^{-1}$ . A identificação de cada fase cristalina foi feita recorrendo à ajuda do software associado ao equipamento, que efetua a comparação entre o difractograma obtido e os difratogramas padrões das fases detetadas, cujos valores das distâncias interplanares e as respetivas intensidades se encontram identificados e tabelados.

### 3.4.1.1 Análise semi-quantitativa

A análise semi-quantitativa das fases cristalinas foi efetuada pelo software que está associado ao equipamento e o método utilizado para tal foi o método RIR (Reference Intensity Ratio).

Este método utiliza as intensidades relativas da fase em estudo em relação a uma outra fase, a fase padrão, utilizando um ou mais picos selecionados, normalmente os mais intensos do difractograma.<sup>132</sup> O parâmetro RIR é calculado para 100% da intensidade relativa dos picos de ambas as fases, sendo que algumas vezes este parâmetro é definido como  $\frac{I}{I_c}$ , onde  $I$  corresponde ao pico de maior intensidade da fase  $\alpha$  e  $I_c$  ao pico de maior intensidade do corindo (fase padrão). Este método é um dos mais utilizados podendo ser encontrados já valores tabelados em bases de dados, por exemplo na ICDD. No entanto, para a utilização deste método há cuidados a ter, nomeadamente na escolha de um valor RIR apropriado para a análise em questão, sendo que estes valores dependem da estratégia analítica (como por exemplo, a altura e a área do pico ou o comprimento de onda utilizado) implementada pelo utilizador.<sup>133</sup>

### 3.4.2 Análises granulométricas

As distribuições de tamanhos de partículas (DTP) foram determinadas utilizando o Coulter LS 230, Reino Unido, modelo ótico Fraunhofer. Opera com difração de radiação laser e permite a medição de partículas com tamanho entre  $0,4 \mu\text{m}$  e  $2000 \mu\text{m}$ .

Para a caracterização dos pós segundo a DTP é necessário dispersar bem as amostras num líquido, neste caso água, com o intuito de obter uma distribuição representativa de tamanhos. Para tal, uma pequena porção da amostra foi dispersa em água destilada (suspensão bastante diluída), adicionando algumas gotas de desfloculante para melhorar a dispersão. De

seguida a suspensão foi colocada num banho de água com ultrassons durante 5 minutos, sem aumento de temperatura.

### **3.4.3 Microscopia eletrónica de varrimento**

Para a análise da morfologia das partículas e da microestrutura dos CPCs, foi utilizada a microscopia eletrónica de varrimento (SEM, Hitachi S-4100, Japão). Este equipamento é provido de um sistema de emissões de eletrões com um filamento de tungsténio. Foi utilizada uma aceleração de 25 kV e diferentes resoluções foram utilizadas (x100, x1000, x3000, x10000).

Para a preparação das amostras dos pós de partida foram feitas suspensões em etanol, colocando uma gota de cada suspensão sobre uma lamela fixa no porta-amostras de alumínio, através de cola de carbono. Já para a preparação das amostras dos CPCs utilizaram-se pedaços quebrados, visualizando-se a zona da fratura e a zona da superfície externa. Estes pedaços foram fixos ao porta-amostras através de cola de carbono. As amostras foram colocadas na estufa a 40°C durante 48 horas seguindo-se a deposição de um filme de carbono no equipamento Emitech K950.

### **3.4.4 Espectroscopia de infravermelhos por Transformada de Fourier**

A espectroscopia de infravermelhos por transformada de Fourier (FTIR) é uma importante técnica de caracterização que permite identificar a natureza química dos materiais, nomeadamente os diferentes grupos constituintes. Este tipo de análise tem por base a vibração das ligações químicas, às quais correspondem níveis energéticos específicos de cada molécula.<sup>134</sup>

A utilização desta técnica nos pós de partida e nos CPCs teve como o intuito a confirmação da presença dos grupos funcionais característicos das fases cristalinas identificadas pela técnica de DRX.

O equipamento utilizado para esta análise foi um espectrofotómetro Bruker Tensor 27, adquirindo os espectros na região entre 4000 a 350  $\text{cm}^{-1}$ , com uma resolução de 4 e 128  $\text{cm}^{-1}$  varrimentos, no modo de transmitância.

# CAPÍTULO IV

---

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS DE  $\alpha$  -TCP**



## Obtenção e caracterização dos pós de $\alpha$ -TCP

Este Capítulo descreve os procedimentos usados nas etapas de preparação e de caracterização dos pós de  $\beta$ -TCP e de  $\alpha$ -TCP, os quais foram depois utilizados nas formulações dos CPCs relatadas no Capítulo V. Sabe-se que a formação do polimorfo  $\alpha$ -TCP é determinada por uma série de fatores que incluem o ciclo de tratamento térmico (temperatura, tempo) e a composição dos pós de partida. Mas o papel específico de cada um deles e a sua interdependência, ainda não se encontram bem estabelecidos, especialmente em composições dopadas com elementos com interesse terapêutico. O trabalho apresentado neste Capítulo visa contribuir para uma melhor compreensão dos efeitos da adição de elementos dopantes (Zn, Sr e Mn) na estabilidade térmica das fases  $\beta$ -TCP e  $\alpha$ -TCP. Os efeitos da presença de impurezas de CPP ou de HA na transformação de fases  $\beta \leftrightarrow \alpha$ -TCP e a sua dependência das condições de preparação (pH, elementos dopantes) serão também discutidos.

### 4.1 Introdução

Os fosfatos de cálcio à base de  $\beta$ -TCP e  $\alpha$ -TCP têm sido foco de grande atenção no que diz respeito à sua utilização como matérias-primas para a reparação óssea. Podem encontrar-se no mercado sob diversas formas, nomeadamente em grânulos, blocos ou em CPCs hidráulicos injetáveis.<sup>135</sup> Segundo Carrodegua e De Aza,<sup>43</sup> a principal razão do crescente interesse no  $\alpha$ -TCP como biomaterial para implantes ósseos está relacionada com a sua maior capacidade de ser substituído por novo osso mais rapidamente do que qualquer outro CaP disponível no mercado. Em aplicações que requerem maior biodegradabilidade, o  $\alpha$ -TCP leva vantagem relativamente à HA e ao  $\beta$ -TCP, o que o torna num material de implante ideal nestas situações.

Como referido já no tópico 2.2.1 do Capítulo II, existem três polimorfos que correspondem à composição  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , sendo eles:  $\beta$ -TCP (de baixa temperatura),  $\alpha$ -TCP e  $\alpha'$ -TCP (de alta temperatura). A fase  $\beta$  é estável até à temperatura de 1125°C; entre 1125°C e 1430°C encontra-se na fase  $\alpha$ , podendo ser mantida à temperatura ambiente como uma fase metastável consoante a composição inicial e as condições de arrefecimento. Entre 1430°C e 1765°C a fase formada é  $\alpha'$  que, quando arrefecida se torna instável, revertendo quase instantânea para  $\alpha$ -TCP abaixo da temperatura de transição.<sup>43</sup>

Os graus de pureza dos produtos de  $\beta$ -TCP e de  $\alpha$ -TCP disponíveis no mercado são geralmente muito diferentes, mesmo quando o  $\alpha$ -TCP deriva de um  $\beta$ -TCP de elevada pureza. O menor grau de pureza em termos de fase de  $\alpha$ -TCP dos produtos deve-se geralmente a uma

transformação incompleta  $\beta$ -TCP  $\rightarrow$   $\alpha$ -TCP e/ou a uma reversão parcial  $\alpha$ -TCP  $\rightarrow$   $\beta$ -TCP durante o arrefecimento. Os fornecedores de  $\alpha$ -TCP, para além de serem bastante raros no mundo, <sup>43</sup> praticam preços muito elevados. Cada embalagem de 100 g de  $\alpha$ -TCP ( $\alpha$ -TCP: >75% Sigma-Aldrich) custa 1240 €, <sup>136</sup> enquanto o mesmo peso de  $\beta$ -TCP ( $\beta$ -TCP:  $\geq$  98%, Sigma-Aldrich) custa 507 €. <sup>137</sup> Isto ajuda a compreender o porquê de na maioria dos estudos publicados os autores recorrem à produção de  $\alpha$ -TCP nos seus próprios laboratórios. <sup>43</sup>

Os métodos de síntese do  $\alpha$ -TCP utilizando uma razão molar Ca/P $\approx$ 1,5, incluem: (i) reação no estado sólido a partir de precursores de Ca e de P; <sup>69,138-140</sup> (ii) a combustão autossustentada; <sup>141-138</sup> (iii) a transformação térmica de fases como o  $\beta$ -TCP, a CDHA ou o ACP, obtidos previamente. <sup>82,107,142,143</sup> A transformação térmica de  $\beta$ -TCP cristalino em  $\alpha$ -TCP é o método mais direto, e talvez o mais simples e económico para a síntese de  $\alpha$ -TCP, <sup>144</sup> tendo sido por isso o escolhido no âmbito deste trabalho. A transição da fase polimórfica  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP foi detetada a 1115°C, <sup>145</sup> 1125°C, <sup>146</sup> 1135°C, <sup>147</sup> 1150°C, <sup>124,148</sup> 1160°C. <sup>149</sup> As razões desta variabilidade ainda não estão totalmente compreendidas, <sup>43</sup> e diversos estudos têm relatado a presença de pequenas frações de outras fases cristalinas no produto final tais como CPP, <sup>43</sup>  $\beta$ -TCP <sup>69,73,82,139,150</sup> e/ou HA. <sup>75,107,151</sup>

A presença de  $\beta$ -TCP é frequentemente associada à reversão parcial durante o arrefecimento lento <sup>69</sup> ou devido a um elevado tempo de permanência a temperaturas inferiores à temperatura de transformação, <sup>152</sup> promovendo assim a nucleação do  $\beta$ -TCP. <sup>69</sup> De acordo com a classificação de Buerger, <sup>153</sup> a transformação polimórfica  $\beta \leftrightarrow \alpha$  é reconstrutiva pois “envolve uma grande reorganização da estrutura cristalina, em que muitas ligações têm que ser quebradas e formadas novas ligações”. Isso explica a necessidade de fornecer energia aos sistemas para que a transformação de um polimorfo para o outro ocorra. Muitos investigadores defendem o uso da têmpera (arrefecimento rápido - *quenching*) para congelar a estrutura e evitar a reversão da fase  $\alpha \rightarrow \beta$ . <sup>107,140,154</sup> Mas outros autores defendem que é possível obter a fase  $\alpha$  através de arrefecimento a uma velocidade moderada (5°C/min <sup>145,148,155</sup> e 10°C/min <sup>145,155,156</sup>).

A presença de  $\beta$ -TCP no produto final pode indicar que:

- a) O equilíbrio não foi atingido, sendo necessário um tempo de permanência mais longo acima da temperatura de transformação do polimorfo;
- b) O equilíbrio foi atingido, mas a temperatura de transformação do polimorfo é superior à esperada devido à presença de impurezas que estabilizam a fase  $\beta$ ;

- c) A reversão parcial da fase  $\alpha$  ocorreu devido a uma velocidade de arrefecimento muito lenta. Nestes casos, poder-se-á aumentar a velocidade de arrefecimento ou diminuir o volume de massa de produto para assim melhorar a condução de calor no interior.<sup>43</sup>

Quando o processamento do  $\beta$ -TCP é efetuado sob condições de humidade, podem ocorrer pequenos desvios (positivos ou negativos) na razão molar teórica de  $\text{Ca/P}=1,5$ <sup>43</sup> de forma involuntária. Eles podem derivar de erros na pesagem dos percussores, especialmente quando os reagentes apresentam caracter higroscópico. No entanto, estes desvios podem ocorrer também de forma intencional, de modo a obter determinados efeitos específicos. Estes desvios podem levar ao aparecimento de fases secundárias no produto final, como é possível verificar pela análise do diagrama de fases  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$  (Figura 2.3). Um desvio positivo ( $\text{Ca/P} > 1,5$ ) favorece o aparecimento de pequenas quantidades de HA. Por outro lado, quando o desvio é negativo ( $\text{Ca/P} < 1,5$ ) dá origem à formação de pequenas quantidades de CPP.

Em 1996, Bohner *et al.*<sup>156</sup> mostraram que pequenas quantidades de CPP reduzem o teor da fase  $\alpha$ -TCP no produto final. Já Welch e Gutt<sup>157</sup> observaram que a presença de CPP acelera a transformação de  $\alpha \rightarrow \beta$ -TCP. Segundo Torres *et al.*<sup>155</sup> a presença de pequenas quantidades de CPP origina a formação de um ponto eutético a  $1286 \pm 0,8^\circ\text{C}$  e que a fase líquida formada diminui consideravelmente a energia de ativação necessária para ocorrer a transformação polimórfica  $\alpha \leftrightarrow \beta$ -TCP, facilitando a reversão de  $\alpha \rightarrow \beta$  com o arrefecimento.

A presença nos biomateriais de pequenas quantidades de alguns elementos tais como Sr, Zn e Mn, promove efeitos benéficos nos processos biológicos, após a sua implantação,<sup>158-160</sup> o que justifica o crescente interesse na sua incorporação na rede do TCP.<sup>52,53,56,161,162</sup> No entanto, a estabilidade térmica dos polimorfos  $\alpha$ - e  $\beta$ -TCP é alterada.<sup>145,163,164</sup> Os iões com raio iónico menor que o do cálcio (0,099 nm), como por exemplo o  $\text{Mn}^{2+}$  (raio iónio 0,090 nm) e o  $\text{Zn}^{2+}$  (raio iónio 0,075 nm), tendem a estabilizar a fase cristalina  $\beta$ -TCP. Por outro lado, os iões com raio iónico maior, tal como  $\text{Sr}^{2+}$  (0,12 nm) são mais facilmente acomodados na estrutura do  $\alpha$ -TCP.<sup>160</sup> De uma forma geral, a incorporação destes iões na rede aumenta a temperatura de transição de  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP.<sup>155,160,161</sup>

Este estudo tem por objetivo contribuir para uma melhor compreensão da influência de vários fatores relevantes na transformação de  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP. Para tal, foi estudada a presença de pequenas quantidades de fases minoritárias tais como o CPP, HA e elementos dopantes (Sr, Zn, Mn) incorporados nos pós de partida de  $\beta$ -TCP. Os efeitos da taxa de arrefecimento e do

tempo de permanência à temperatura máxima de cada ciclo de tratamento térmico testado foram também estudados.

## 4.2 Materiais e Métodos

### 4.2.1 Síntese e caracterização dos pós de partida

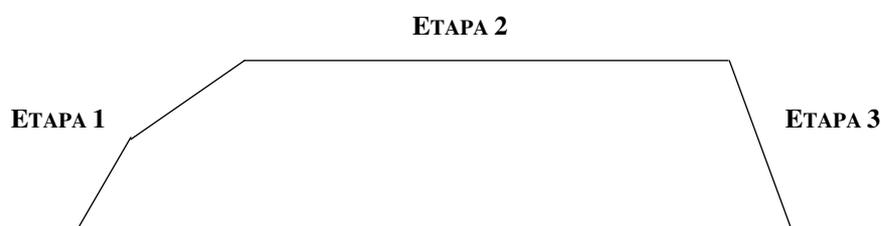
O processo de síntese dos pós de partida para este estudo encontra-se descrito no Capítulo III. O pH utilizado não foi sempre o mesmo, variando consoante se pretendia favorecer o aparecimento de alguma fase secundária. Assim, para favorecer a formação de  $\beta$ -CPP como fase secundária nos pós de  $\beta$ -TCP, o pH do meio de precipitação era mantido próximo de 7. Por outro lado, o uso de um valor de pH  $\approx 8$ , dava origem à formação da HA como fase secundária.<sup>124</sup>

Prepararam-se pós à base de  $\beta$ -TCP não dopados e dopados com diferentes razões molares Ca/P, de modo a investigar quais as condições mais propícias à formação de quantidades residuais de CPP e de HA. As diferentes razões Ca/P utilizadas, as respetivas concentrações molares dos precursores, bem como a nomenclatura utilizada para identificar os pós produzidos encontram-se detalhadas na Tabela 4.1. Nos códigos das amostras, a letra ‘B’ está para ‘ $\beta$ -TCP’, a letra ‘P’ significa pó não dopado (‘Puro’), a letra ‘D’ significa pó dopado e, os algarismos correspondem à parte decimal da razão (Ca+Sr+Zn+Mn)/P.

**Tabela 4.1** Razões molares Ca/P utilizadas na preparação dos pós de partida bem como a nomenclatura atribuída para a identificação dos mesmos.

	Nomenclatura	Razões molares		Concentração Molar dos Precursores (M)			
		Ca/P	(Ca+Sr+Zn+Mn)/P	Ca	Sr	Zn	Mn
Não dopado	<b>B-P49</b>	1,49	1,49	0,8940	–	–	–
	<b>B-P50</b>	1,50	1,50	0,9000	–	–	–
	<b>B-P51</b>	1,51	1,51	0,9060	–	–	–
Dopado	<b>B-D49</b>	1,38	1,49	0,8270	0,0447	0,0179	0,0045
	<b>B-D51</b>	1,40	1,51	0,8381	0,0453	0,0181	0,0045
	<b>B-D52</b>	1,41	1,52	0,8436	0,0456	0,0182	0,0046
	<b>B-D53</b>	1,42	1,53	0,8492	0,0459	0,0184	0,0046
	<b>B-D55</b>	1,43	1,55	0,8603	0,0465	0,0186	0,0047
	<b>B-D60</b>	1,48	1,60	0,8880	0,0480	0,0192	0,0048

Depois de secos numa estufa a 100°C, os pós foram tratados termicamente a 1000°C com uma taxa de aquecimento de 5°Cmin<sup>-1</sup>, 2 h de patamar à temperatura máxima, seguindo-se um arrefecimento natural até à temperatura ambiente, de modo a obter a fase de  $\beta$ -TCP. De seguida, os pós de  $\beta$ -TCP foram submetidos a ciclos térmicos diferentes com vista à avaliação dos efeitos das variáveis experimentais [(i) temperatura máxima de calcinação; (ii) tempo de permanência à temperatura máxima (patamar); (iii) taxa de arrefecimento] no seu grau de conversão em  $\alpha$ -TCP. Para tal, pesou-se cerca de 30 g de cada pó de  $\beta$ -TCP em cadinhos de alumina. Os cadinhos foram colocados num forno Termolab com arrefecimento controlado e submetidos a tratamentos térmicos pré-definidos. Em alguns casos recorreu-se ao processo de têmpera para preservar a estrutura formada a alta temperatura através de um congelamento rápido (*quenching*). Nestes casos, a quantidade de pó foi reduzida para cerca de 10 g de modo a garantir uniformidade no arrefecimento da amostra. A Figura 4.1 apresenta um esquema geral das etapas do ciclo térmico utilizado.



**Figura 4.1** Esquema representativo do ciclo térmico utilizado **Etapa 1:** Taxa de aquecimento (°C min<sup>-1</sup>); **Etapa 2:** Patamar (h) **Etapa 3:** Taxa de arrefecimento (°C min<sup>-1</sup>).

O ciclo térmico é dividido em três etapas. A etapa 1 incluiu duas rampas de aquecimento, uma primeira mais rápida (10°C min<sup>-1</sup>) até aos 1000°C (temperatura de calcinação dos pós de  $\beta$ -TCP) e uma segunda com uma taxa de aquecimento mais lenta (5°C min<sup>-1</sup>) até à temperatura de calcinação pretendida. A etapa 2 consistiu de patamar à temperatura máxima durante um certo tempo de permanência. A última etapa do processo correspondeu ao arrefecimento a uma taxa de arrefecimento controlada. Foram testadas duas temperaturas máximas de calcinação (1250°C e 1500°C) e várias taxas de arrefecimento com o objetivo de avaliar quais as condições de calcinação que permitem obter um maior teor de  $\alpha$ -TCP no pó final.

As condições experimentais utilizadas para os pós não dopados e para os pós dopados encontram-se resumidas na Tabela 4.2, e na Tabela 4.3, respetivamente. As Tabelas também

incluem a nomenclatura dos pós produzidos, construída com base na designação dos pós de partida e no ciclo térmico aplicado. Por exemplo o pó B-P49, submetido a uma temperatura máxima de calcinação 1500°C (1500) durante 10 horas (10), seguida de um arrefecimento de 0,5°Cmin<sup>-1</sup> (0,5), foi designado por B-P49-10-0,5-1500.

**Tabela 4.2** Ciclos térmicos aplicados aos pós de  $\beta$ -TCP não dopados e pré-calcinados a 1000°C.

Pós de partida	Nomenclatura	Patamar (h)	Temperatura de calcinação (°C)	Taxa de arrefecimento (°Cmin <sup>-1</sup> )	
B-P49	B-P49-10-0,5-1500	10	1500	0,5	
	B-P49-10-1-1500			1	
	B-P49-10-5-1500			5	
	B-P49-10-20-1500			20	
	B-P49-2-Q-1500			2	<i>Quenching</i>
	B-P49-15-20-1500			15	20
B-P50	B-P50-2-Q-1500	2	1500	<i>Quenching</i>	
	B-P50-10-0,5-1500	10		0,5	
	B-P50-10-5-1500			5	
	B-P50-10-20-1500			20	
B-P51	B-P51-10-0,5-1500		10	1500	0,5
	B-P51-10-1-1500	1			
	B-P51-10-5-1500	5			
	B-P51-10-20-1500	20			
	B-P51-10-20-1250	1250			20
	B-P51-15-20-1500	15			1500

**Tabela 4.3** Ciclos térmicos aplicados aos pós de  $\beta$ -TCP dopados e pré-calcinados a 1000°C.

Pós de partida	Nomenclatura	Patamar (h)	Temperatura de calcinação (°C)	Taxa de arrefecimento (°Cmin <sup>-1</sup> )
B-D49	B-D49-3-Q-1500	3	1500	<i>Quenching</i>
B-D60	B-D60-3-Q-1500	3	1500	<i>Quenching</i>
	B-D60-10-0,5-1500	10		0,5
	B-D60-10-5-1500	10		5
	B-D60-10-20-1500	10		20

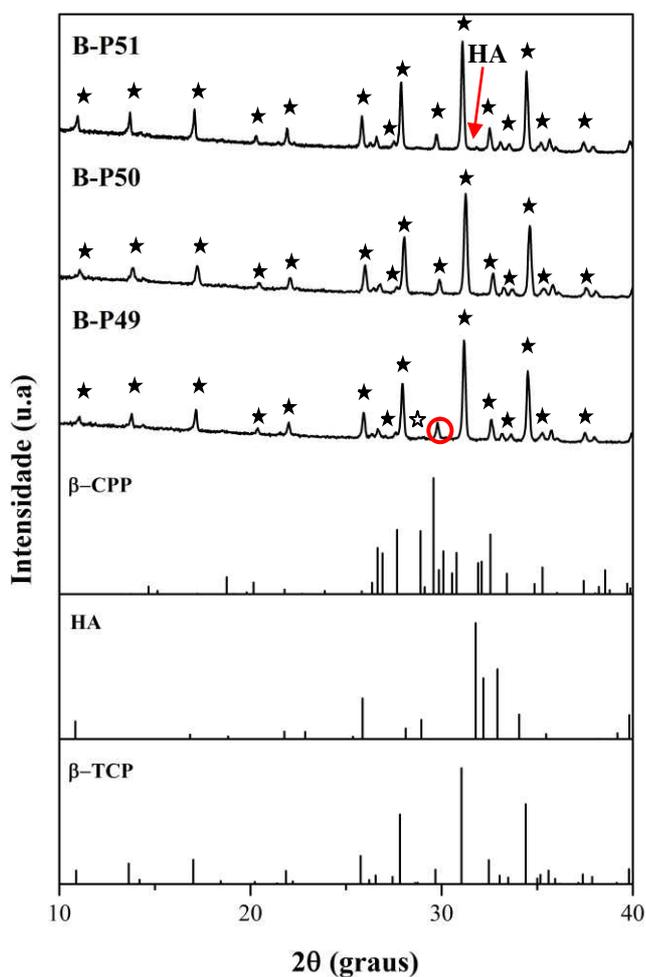
A análise das fases cristalinas presentes nos pós calcinados às várias temperaturas (1000°C, 1250°C, 1500°C) foi feita por DRX. Para isso, os pós foram moídos e peneirados numa malha com abertura de 40  $\mu\text{m}$  de modo a homogeneizar as amostras e minimizar os erros devido a possíveis orientações preferenciais. A análise foi realizada de uma forma qualitativa, e semi-quantitativa através do método RIR disponibilizado pelo *software* HighScore Plus Xpert-pro PANalytical associado ao equipamento, permitindo assim obter uma estimativa acerca da percentagem das fases presentes. É de notar que esta quantificação das fases cristalinas tem um erro associado de cerca de 5% e que a fase amorfa não foi contabilizada. Esta técnica de caracterização bem como as condições/parâmetros usados encontram-se descritos no Capítulo III.

Numa primeira fase procedeu-se à caracterização dos pós de  $\beta$ -TCP não dopados e dopados calcinados a 1000°C, colecionando assim dados essenciais para averiguar a influência da composição de fases dos pós de partida no seu grau de conversão em  $\alpha$ -TCP durante os tratamentos térmicos posteriores.

## 4.3 Resultados e Discussão

### 4.3.1 $\beta$ -TCP não dopado

As fases cristalinas presentes nos pós de  $\beta$ -TCP não dopados foram identificadas por comparação com os padrões das fichas PFD (*powder diffraction files*) registados pelo centro internacional de dados de difração (ICCD). As fichas PDF escolhidas para identificar as fases cristalinas foram: 04-006-9376 para o  $\beta$ -TCP, 04-015-7245 para HA e 04-009-3876 para o  $\beta$ -CPP. A Figura 4.2 compara os difratogramas de raio-X dos pós não dopados produzidos no laboratório com as linhas de difração dos padrões escolhidas para a identificação de fases. A Tabela 4.4 apresenta resultados complementares obtidos pela análise semi-quantitativa efetuada através do método RIR.



**Figura 4.2** Difratomogramas dos pós de partida de  $\beta$ -TCP sintetizados com diferentes razões Ca/P e calcinados a 1000°C. Para fins de comparação apresentam-se também as fichas PDF utilizadas: 04-006-9376 para o  $\beta$ -TCP (★), 04 015-7245 para HA e 04-009-3876 para o  $\beta$ -CPP ( ☆ ).

**Tabela 4.4** Análise semi-quantitativa obtida pelo método de RIR das fases cristalinas presentes nos vários pós não dopados calcinados a 1000°C.

Nomenclatura	Análise semi-quantitativa de fases ( $\pm 5\%$ )			
	$\beta$ -TCP	$\beta$ -CPP	HA	$\alpha$ -TCP
B-P49	96	4	–	–
B-P50	100	–	–	–
B-P51	99	–	1	–

Verifica-se que o pó B-P49 é constituído predominantemente por  $\beta$ -TCP, a que correspondem os picos de maior intensidade, e por uma pequena quantidade de  $\beta$ -CPP

identificada através de um pequeno pico correspondente ao terceiro pico de maior intensidade localizado a  $2\theta = 28,9^\circ$ . Este resultado revela que nas condições de precipitação usadas (temperatura =  $30^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} \approx 7-8$ ) esta ligeira deficiência em cálcio ( $\text{Ca/P}=1,490$ ) favoreceu a formação de  $\beta$ -CPP como fase minoritária.<sup>124</sup> A identificação de baixo teor da fase  $\beta$ -CPP não é de fácil identificação, pois o seu pico de difração principal (intensidade relativa de 100%), ou seja, o pico mais intenso situa-se em  $2\theta=29,6^\circ$ , encontrando-se este sobreposto com um pico de difração da fase  $\beta$ -TCP (zona assinalada com círculo). O segundo pico de difração mais intenso da fase  $\beta$ -CPP (intensidade relativa de 45%) a  $2\theta = 27,6^\circ$  encontra-se quase sobreposto com um pico de difração da fase  $\beta$ -TCP, tornando assim, difícil a sua identificação. O que indica a presença desta fase é o ligeiro pico visível a  $2\theta = 28,9^\circ$ , que corresponde ao terceiro pico mais intenso desta fase, não se encontrando este sobreposto com qualquer pico correspondente à fase  $\beta$ -TCP.

O pó sintetizado com a composição estequiométrica  $\text{Ca/P}=1,500$  (B-P50) resultou em  $\beta$ -TCP aparentemente puro. Com o aumento da razão molar para  $\text{Ca/P}=1,510$  (B-P51) formou-se o  $\beta$ -TCP como fase cristalina maioritária em conjunto com uma quantidade residual (cerca de 1%) de HA como fase secundária (Tabela 4.4). Com efeito, o seu difractograma correspondente na Figura 4.2 revela um pico de difração típico da HA ( $2\theta=31,8^\circ$ ). A identificação da fase cristalina da HA é mais simples do que no caso do  $\beta$ -CPP uma vez que o seu pico de difração mais intenso não aparece sobreposto com picos de outras fases.

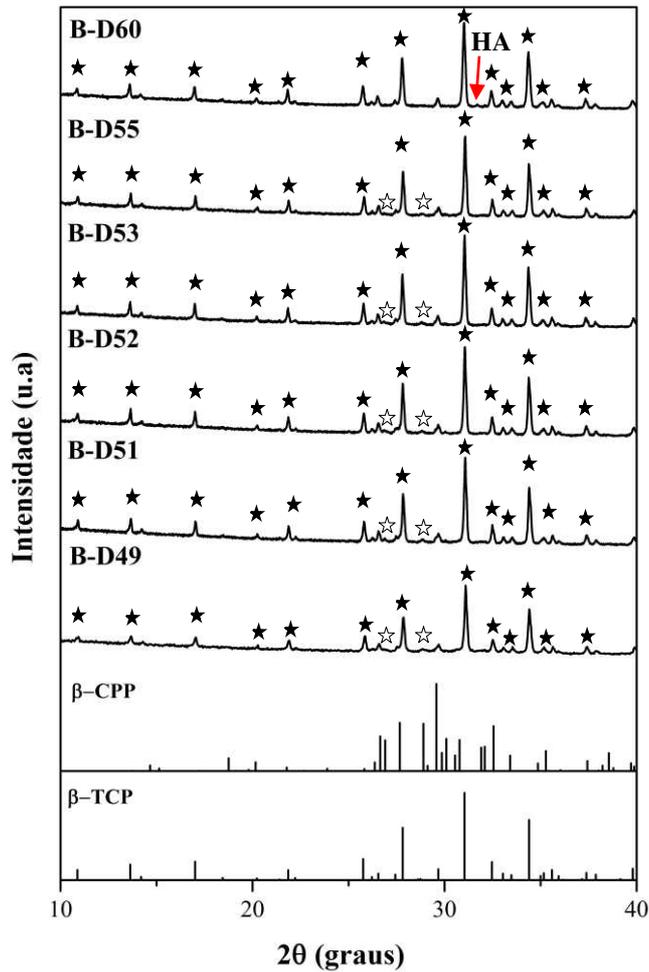
Em resumo, os resultados mostram que a síntese de pós com uma razão  $\text{Ca/P} < 1,5$  levou ao aparecimento de  $\beta$ -CPP como fase cristalina secundária e que o aumento da razão  $\text{Ca/P}$  para um valor superior a 1,5 tende a formar a HA como outra fase secundária.

### 4.3.2 $\beta$ -TCP Dopado

Após tratamento térmico, uma das características visíveis destes pós foi a sua coloração rosa que varia de acordo com a razão molar  $(\text{Ca}+\text{Sr}+\text{Zn}+\text{Mn})/\text{P}$ , ficando menos intensa para razões superiores. A tonalidade rosa é conferida pelo manganês e está relacionada com o seu estado de oxidação mais estável Mn(II) que confere uma cor rosa claro.<sup>126</sup>

A Figura 4.3 apresenta os difractogramas dos vários pós de  $\beta$ -TCP dopados, sintetizados com diferentes razões molares  $(\text{Ca}+\text{Sr}+\text{Zn}+\text{Mn})/\text{P}$ , bem como as fichas PDF utilizadas para a identificação das fases cristalinas, nomeadamente, a ficha 04-006-9376 para a identificação da fase  $\beta$ -TCP, a ficha 04-015-7245 para HA e 04-009-3876 para identificar o  $\beta$ -CPP.

A Tabela 4.5 apresenta os resultados da análise semi-quantitativa de fases cristalinas presentes nos pós, obtidos pelo método RIR.



**Figura 4.3** Difractogramas dos pós de  $\beta$ -TCP dopados, sintetizados com diferentes razões Ca/P e calcinados a 1000°C. Para efeitos de comparação, apresentam-se também as linhas de difração das fichas PDF utilizadas como padrão para a identificação das fases: 04-006-9376 para o  $\beta$ -TCP (★) 04-015-7245 para HA e 04-009-3876 para o  $\beta$ -CPP (☆).

**Tabela 4.5** Análise semi-quantitativa obtida pelo método de RIR das fases cristalinas presentes nos vários pós dopados calcinados a 1000°C.

Nomenclatura	Análise semi-quantitativa ( $\pm 5$ )			
	$\beta$ -TCP	$\beta$ -CPP	HA	$\alpha$ -TCP
<b>B-D49</b>	87	13	–	–
<b>B-D51</b>	88	12	–	–
<b>B-D52</b>	98	2	–	–
<b>B-D53</b>	96	4	–	–
<b>B-D55</b>	95	5	–	–
<b>B-D60</b>	97	–	3	–

Pela análise da Figura 4.3 e da Tabela 4.5, verifica-se que o  $\beta$ -TCP é a fase cristalina maioritária em todos os pós dopados. Para as razões  $(Ca+Sr+Zn+Mn)/P$  mais baixas (inferiores a 1,6) formou-se ainda o  $\beta$ -CPP como fase cristalina secundária. Apesar da identificação do  $\beta$ -CPP ser difícil devido à sobreposição de picos anteriormente referida, o terceiro pico de difração mais intenso a  $2\theta=28,9^\circ$  é perceptível em todos os pós à exceção do B-D60. O aumento da razão  $(Ca+Sr+Zn+Mn)/P$  leva a um aumento da quantidade de  $\beta$ -TCP, comprovada por uma tendência de aumento da intensidade do pico principal desta fase a  $2\theta=31,03^\circ$  e, conseqüentemente, a uma diminuição do teor de  $\beta$ -CPP. Esta fase só desapareceu para dar lugar à formação de uma pequena quantidade de HA para  $(Ca+Sr+Zn+Mn)/P=1,6$ . A formação da HA é comprovada pelo aparecimento do pico de difração mais intenso da fase HA a  $2\theta=31,8^\circ$ , assinalado com a seta a vermelho. Com base nos resultados das análises de fases cristalinas, verifica-se que a presença dos iões dopantes torna a obtenção de  $\beta$ -TCP como fase única mais difícil em comparação com os pós não dopados. Por exemplo, no pó não dopado, B-P51 (Tabela 4.4) observa-se a presença da HA como fase secundária, enquanto no pó dopado, B-D51 (Tabela 4.5) se formou o  $\beta$ -CPP como fase minoritária. Esta diferença pode ser atribuída aos valores de pH mais baixos usados na síntese dos pós dopados, como facilmente se depreende das isotérmicas de solubilidade dos diferentes CaPs em água (Figura 2.4). A solubilidade é maior a menores valores de pH, significando que a quantidade total de iões de cálcio (ou outros catiões) na solução aumenta, originando um sólido mais deficiente em cálcio. Nestas condições torna-se mais difícil abolir a fase  $\beta$ -CPP dos pós dopados do que no caso dos pós não dopados para as mesmas razões molares  $(Ca+Sr+Zn+Mn)/P$ .

O uso de valores de pH mais baixos na síntese dos pós dopados justifica-se pelo facto de o manganês ser um dos elementos dopantes e de se querer preservar o seu estado de oxidação (II), com interesse terapêutico. As condições de pH usadas na síntese dos pós não dopados (pH = 7–8) tendem a aumentar o grau de oxidação do manganês, tornando-o citotóxico.<sup>158</sup> Assim, uma maneira de forçar a entrada dos catiões na rede cristalina mantendo um valor de pH compatível com o  $Mn^{2+}$  é aumentar a razão molar (Ca+Sr+Zn+Mn)/P, tendo sido essa a estratégia adotada, mantendo constantes as proporções molares entre os diferentes catiões. Contudo, a opção de manter constantes as proporções molares entre os diferentes catiões nas soluções dos precursores, não significa que elas sejam assim transpostas para os sólidos precipitados. Na verdade, sabe-se que a afinidade dos iões dopantes para ocupar as posições de  $Ca^{2+}$  na rede cristalina varia com o raio iónico<sup>165</sup> e com a solubilidade dos compostos que podem formar.

### **4.3.3 Transformação térmica dos pós de $\beta$ -TCP em $\alpha$ -TCP**

Como referido na secção 4.2.1, os efeitos dos diferentes ciclos térmicos aplicados aos pós de  $\beta$ -TCP calcinados a 1000°C, foram avaliados através da análise qualitativa e semi-quantitativa pelo método de RIR, de modo a conhecer a composição de fases cristalinas obtidas. Consideraram-se as mesmas fichas PDF usadas anteriormente e adicionou-se a ficha 04-010-4348 correspondente ao  $\alpha$ -TCP. A discussão dos resultados será feita por partes, iniciando-se com os pós não dopados, e depois com os pós dopados, e dentro de cada grupo, a discussão será ainda subdividida por blocos de amostras de acordo com a razão Ca/P usada durante a síntese do  $\beta$ -TCP.

#### **4.3.3.1 Pós $\alpha$ -TCP a partir de pós de $\beta$ -TCP não dopados**

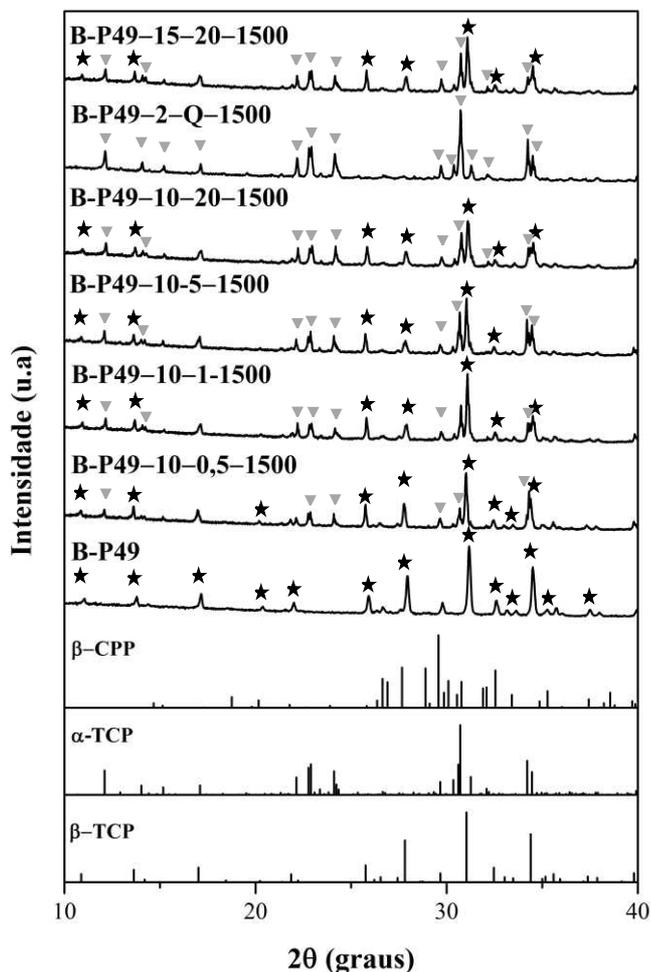
A Tabela 4.6 apresenta os resultados da análise semi-quantitativa obtida pelo método de RIR das fases cristalinas presentes nos pós não dopados após diferentes tratamentos térmicos.

**Tabela 4.6** Análise semi-quantitativa obtida pelo método de RIR das fases cristalinas presentes nos vários pós não dopados depois de submetidos a diferentes ciclos de tratamento térmico.

Nomenclatura	Análise semi-quantitativa ( $\pm 5\%$ )			
	$\beta$ -TCP	$\beta$ -CPP	HA	$\alpha$ -TCP
B-P49-10-0,5-1500	53	–	–	47
B-P49-10-1-1500	47	–	–	53
B-P49-10-5-1500	36	–	–	64
B-P49-10-20-1500	36	–	–	64
B-P49-2-Q-1500	1	–	–	99
B-P49-15-20-1500	48	–	–	52
B-P50-10-0,5-1500	3	–	–	97
B-P50-10-5-1500	4	–	–	96
B-P50-10-20-1500	7	–	–	93
B-P50-2-Q-1500	–	–	–	100
B-P51-10-0,5-1500	8	–	–	92
B-P51-10-1-1500	2	–	–	98
B-P51-10-5-1500	–	–	–	100
B-P51-10-20-1500	–	–	–	100
B-P51-10-20-1250	–	–	–	100
B-P51-15-20-1500	–	–	–	100

#### A partir do pó de $\beta$ -TCP com pequena quantidade de CPP (B-P49)

Como reportado na Tabela 4.4, o pó B-P49 contém um pequeno teor de  $\beta$ -CPP. Os difractogramas depois dos tratamentos térmicos a alta temperatura estão apresentados na Figura 4.4 e os resultados da análise semi-quantitativa encontram-se resumidos na Tabela 4.6. Da análise destes resultados, verifica-se que todas as amostras arrefecidas a velocidades controladas apresentam proporções consideráveis de  $\beta$ -TCP, exceto a que foi arrefecida bruscamente (*quenching*) que consiste em  $\approx 99\%$  de  $\alpha$ -TCP e  $\approx 1\%$   $\beta$ -TCP.



**Figura 4.4** Difratogramas do pó de partida de  $\beta$ -TCP puro e dos pós sujeitos a diferentes tratamentos térmicos. Para fins de comparação apresentam-se as fichas PDF utilizadas: 04-006-9376 para o  $\beta$ -TCP (★), 04-010-4348 para o  $\alpha$ -TCP (▼) e 04-009-3876 para o  $\beta$ -CPP.

Verifica-se também que a taxa de arrefecimento exerce um papel determinante na composição das fases cristalinas resultantes. Por exemplo, o pico de difração principal correspondente à fase  $\beta$ -TCP ( $2\theta=31^\circ$ ) é mais intenso para a amostra arrefecida lentamente ( $0,5^\circ\text{Cmin}^{-1}$ ) quando comparado com o da amostra arrefecida a uma taxa de  $5^\circ\text{C min}^{-1}$ . Taxas de arrefecimento entre  $5\text{--}20^\circ\text{C min}^{-1}$  parecem não afetar significativamente a composição de fases no produto final, contrariamente às observações anteriores. Estes resultados divergem dos reportados por Torres *et al.*<sup>155</sup> que mostraram uma tendência oposta, ou seja, uma menor quantidade de  $\alpha$ -TCP retida com o aumento da taxa de arrefecimento.<sup>155</sup> Algumas discrepâncias entre os dois estudos poderão estar relacionadas com diferentes quantidades de pós utilizadas. Quanto maior for a quantidade de pó mais difícil se torna efetuar um

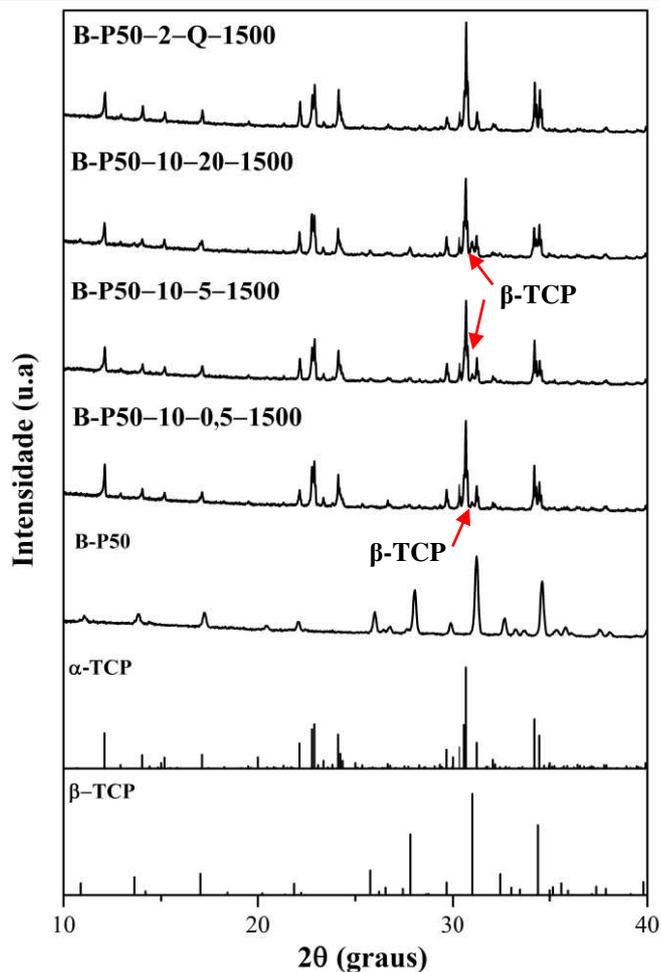
arrefecimento uniforme em toda a amostra, especialmente quando se impõe uma taxa de arrefecimento mais rápida, pois o arrefecimento no interior da amostra ocorre de forma mais lenta do que na superfície.

Sabe-se que a presença de  $\beta$ -CPP origina a formação de uma fase líquida a  $1286,1 \pm 0,3^\circ\text{C}$  que atrasa a transição de  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP, deslocando a transformação para temperaturas superiores. Num estudo efetuado por Ryu *et al.*<sup>166</sup> verificou-se que a presença de 3 wt.% de  $\beta$ -CPP aumentou a temperatura de transição em  $50^\circ\text{C}$ . Torres *et al.*<sup>155</sup> verificaram que a maior parte da transformação de fase  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP num pó com 4 wt.% de  $\beta$ -CPP ocorria na faixa ente os  $1150\text{--}1200^\circ\text{C}$ , continuando depois de uma forma progressiva acima dessa gama de temperaturas. Este estudo mostrou ainda que a presença de uma pequena quantidade de  $\beta$ -CPP facilita a reversão de  $\alpha \rightarrow \beta$ -TCP devido à presença de fase líquida acima do eutético a  $1286,1 \pm 0,3^\circ\text{C}$ . Nestas condições, não é possível a obtenção da fase pura de  $\alpha$ -TCP através de taxas de arrefecimento controladas. Só mesmo um arrefecimento brusco (*quenching*, taxa de arrefecimento  $\gg 20^\circ\text{C}/\text{min}$ ) poderá congelar a composição de fases obtida a alta temperatura. Segundo o diagrama de fases  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$  (Figura 2.3), a fase cristalina formada a  $1500^\circ\text{C}$  ( $\alpha'$ -TCP) é incapaz de permanecer a temperatura ambiente e, quando arrefecida rapidamente, transforma-se em fase amorfa. Apesar desta não ter sido quantificada, é de esperar que o seu teor seja maior nas amostras arrefecidas bruscamente (*quenching*) como concluíram Torres *et al.*<sup>155</sup>

Uma observação qualitativa dos difratogramas da Figura 4.4 permite retirar algumas ilações complementares à análise semi-quantitativa de fases. Pode visualizar-se que a intensidade dos principais picos de difração da fase  $\alpha$ -TCP ( $2\theta=30,7^\circ$ ,  $2\theta=34,2^\circ$ ) aumenta quando a taxa de arrefecimento aumenta desde  $0,5^\circ\text{Cmin}^{-1}$  até  $5^\circ\text{Cmin}^{-1}$ , e depois tende a diminuir para arrefecimentos mais rápidos, à exceção da amostra arrefecida bruscamente. Para além da composição de fases cristalinas, estas variações na intensidade dos picos com a taxa de arrefecimento podem ainda estar relacionadas com diferentes graus de cristalinidade de cada uma das fases. Por exemplo, as amostras arrefecidas a  $5^\circ\text{Cmin}^{-1}$  e a  $20^\circ\text{Cmin}^{-1}$  possuem idêntica composição de fases, mas os picos de difração da amostra arrefecida a  $5^\circ\text{Cmin}^{-1}$  são mais intensos do que os da amostra arrefecida a  $20^\circ\text{Cmin}^{-1}$ . As diferenças na intensidade dos picos podem derivar de um maior grau de amorfização da amostra arrefecida mais rapidamente.

**A partir do pó de  $\beta$ -TCP puro (B-P50)**

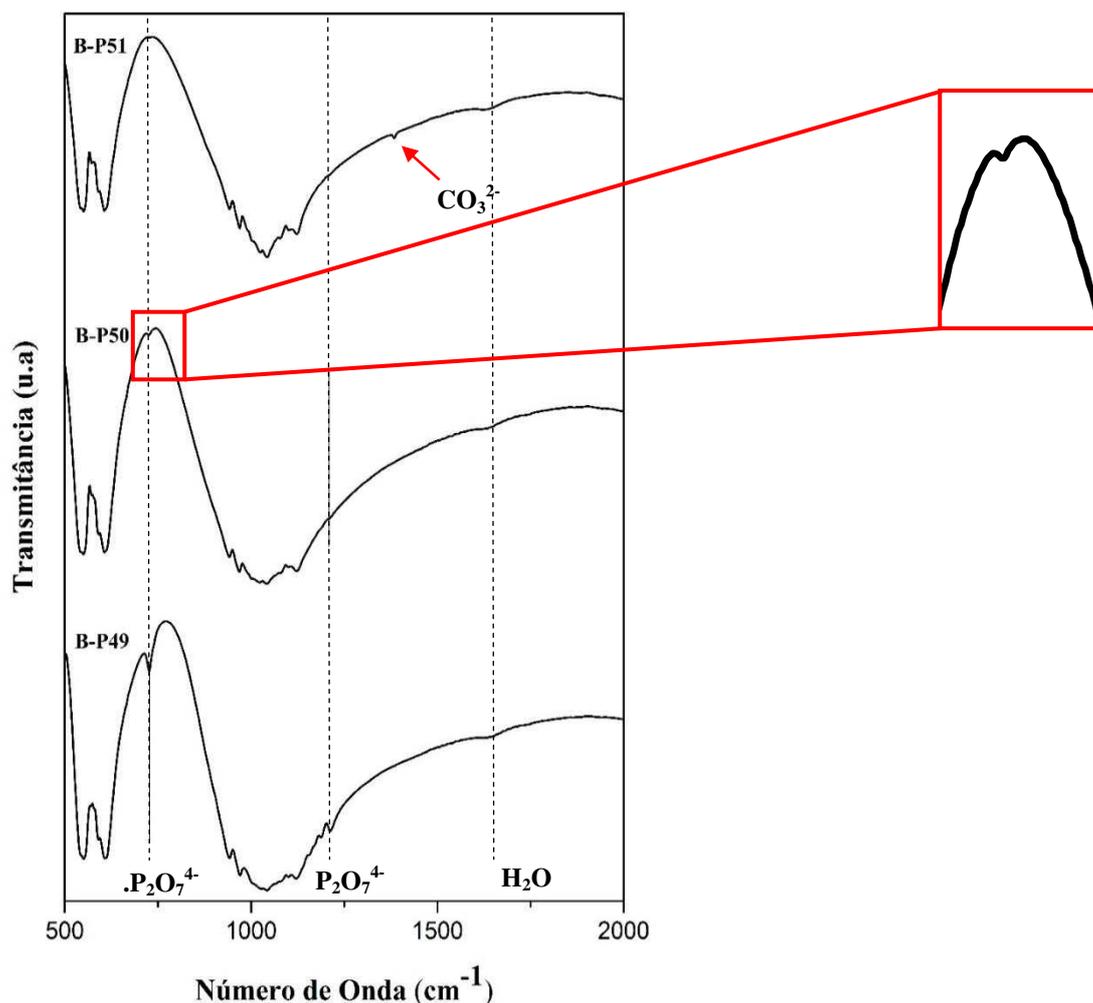
Segundo os resultados de DRX, o pó B-P50 é constituído por uma única fase cristalina, o  $\beta$ -TCP. Em ensaios preliminares verificou-se que o tempo de patamar não influenciava significativamente a obtenção de pós de  $\alpha$ -TCP, pelo que se adotou sempre um patamar fixo de 10 h. A Tabela 4.6 resume os vários ciclos térmicos a que foi sujeito este pó e os resultados da análise semi-quantitativa de fases cristalinas. A Figura 4.5 mostra os difractogramas das amostras após arrefecimento. Estes indicam que o  $\alpha$ -TCP é a fase maioritariamente formada, com o seu pico de difração mais intenso bem visível a  $2\theta=30,7^\circ$ . Através da análise de todos estes resultados é possível concluir que a obtenção da fase  $\alpha$ -TCP é muito mais fácil a partir desta composição estequiométrica, permitindo atingir graus de conversão elevados ( $\geq 93\%$ ) quando se usa um arrefecimento controlado. Os graus de conversão são idênticos ( $\approx 96-97\%$ ) quando o arrefecimento é efetuado a  $0,5^\circ\text{C min}^{-1}$  e a  $5^\circ\text{C min}^{-1}$ , decrescendo ligeiramente para  $93\%$  com o aumento da taxa de arrefecimento para  $20^\circ\text{C min}^{-1}$ . Para a amostra submetida ao processo de *quenching* é evidente que todos os picos de difração são coincidentes com os da ficha PDF do padrão relativo à fase  $\alpha$ -TCP, indicando assim que o produto final (B-D50-2-Q-1500) é constituído por  $100\%$  da fase de  $\alpha$ -TCP. Isto significa que a transformação  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP ocorreu na totalidade e que o arrefecimento brusco (*quenching*) permitiu reter, na sua totalidade, esta fase no produto final. A utilização de uma menor quantidade de pó ( $\approx 10$  g) terá ajudado a um congelamento mais efetivo das fases formadas a alta temperatura.



**Figura 4.5** Difratogramas do pó de  $\beta$ -TCP puro (B-P50) calcinado a 1000°C, e depois de ser sujeito a diferentes tratamentos térmicos. Para fins de comparação apresentam-se também as fichas PDF utilizadas: 04-006-9376 para o  $\beta$ -TCP, 04-010-4348 para o  $\alpha$ -TCP

À parte os graus de conversão relativamente mais elevados obtidos com o pó B-P50, o sentido da variação do teor de fase  $\alpha$ -TCP no produto final, com a taxa de arrefecimento, é aparentemente contraintuitivo, (i.e., uma diminuição com a aceleração do arrefecimento). Este facto sugere a possibilidade de o pó B-P50 não ser rigorosamente constituído por uma só fase, podendo conter também vestígios de  $\beta$ -CPP não detetados por DRX. Esta interpretação está em consonância com as conclusões retiradas por Torres *et al.*<sup>155</sup> acerca das transformações de fases em pós de  $\beta$ -TCP com pequenos teores de  $\beta$ -CPP durante ciclos térmicos semelhantes.

A eventual presença de  $\beta$ -CPP no pó B-P50 foi investigada por recurso à FTIR. Os espectros de FTIR dos três diferentes pós de partida, não dopados, estão apresentados na Figura 4.6.



**Figura 4.6** Espectros de FTIR dos pós de  $\beta$ -TCP não dopados e calcinados a  $1000^{\circ}\text{C}$  e ampliação da zona da banda de absorção correspondente ao grupo  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  da amostra B-P50.

Os modos vibracionais característicos dos tetraedros  $\text{PO}_4$  confirmam a formação da fase  $\beta$ -TCP como fase cristalina predominante. Algumas bandas de absorção características e visíveis destas ligações encontram-se a cerca de  $550\text{ cm}^{-1}$ ,  $607\text{ cm}^{-1}$ ,  $942\text{ cm}^{-1}$ ,  $970\text{ cm}^{-1}$  e  $1042\text{ cm}^{-1}$ .<sup>167</sup> A  $1384\text{ cm}^{-1}$  encontra-se assinalado um grupo carbonato  $\text{CO}_3^{2-}$ . As bandas de absorção observadas a  $727\text{ cm}^{-1}$  e  $1212\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas à presença de grupos de característicos do  $\beta$ -CPP ( $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ) e em particular às ligações P-O-P. Estas bandas são bem perceptíveis no pó B-P49, indicando a presença de CPP, tal como confirmado pela análise de DRX. Já no pó B-P50, a banda a  $727\text{ cm}^{-1}$  é bem menos notória do que no pó B-P49, mas ainda visível, enquanto a banda a  $1212\text{ cm}^{-1}$  é praticamente impercetível. Estes resultados confirmam a presença de vestígios de  $\beta$ -CPP no pó B-P50, não detetável por DRX (Figura 4.2 e Tabela 4.4). Como referido acima, pequenos teores desta fase conduzem à formação da uma

fase líquida que facilita a reversão parcial do  $\alpha$ -TCP formado a alta temperatura em  $\beta$ -CPP,<sup>155</sup> limitando assim o grau de pureza do produto final pretendido.

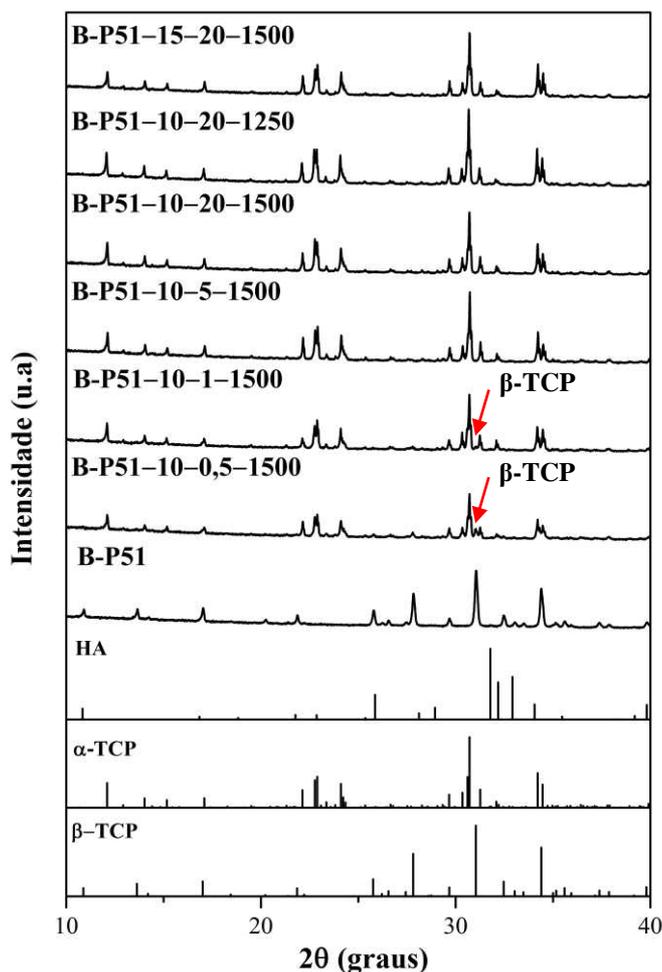
#### **A partir do pó de $\beta$ -TCP com pequena quantidade de HA (B-P51)**

O pó B-P51, além de ser constituído maioritariamente pela fase  $\beta$ -TCP, possui uma pequena quantidade de HA na sua composição. Aplicaram-se diferentes ciclos térmicos para testar a influência da HA na transformação  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP. Os resultados qualitativos apresentam-se na Figura 4.7 e os resultados semi-quantitativos na Tabela 4.6.

Os picos de difração correspondentes à fase  $\alpha$ -TCP são bem notórios em todos os difratogramas da Figura 4.7. Os difratogramas das amostras B-P51-10-0,5-1500 e B-P51-10-1-1500 apresentam ainda um pico de fraca intensidade a  $2\theta=31^\circ$ , assinalado com a seta, correspondente à fase  $\beta$ -TCP, e os picos da fase  $\alpha$ -TCP são de menor intensidade quando comparados com os das outras amostras. Verifica-se ainda que os picos de difração da fase  $\alpha$ -TCP são mais intensos na amostra tratada termicamente a  $1250^\circ\text{C}$  quando comparados com os da amostra tratada a  $1500^\circ\text{C}$ . A diferença pode atribuir-se a uma amorfização mais extensiva na amostra tratada à temperatura mais elevada.

Estes resultados são interessantes pois demonstram que o uso da temperatura mais baixa não tem qualquer inconveniente, apresentando obvias vantagens em termos energéticos, de características requeridas para os materiais e equipamentos usados na calcinação, bem como na moagem dos pós calcinados.

Tanto a análise qualitativa dos difratogramas apresentados na Figura 4.7 como os resultados da análise semi-quantitativos de fases cristalinas (Tabela 4.6) demonstram que o tempo de patamar não influencia a transformação  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP. Já a velocidade de arrefecimento afeta de certo modo esta transformação, mas não de uma forma tão significativa como no pó B-P49. Essa fraca influência é exercida especialmente nos arrefecimentos mais lentos. A ausência de  $\beta$ -CPP no pó e, conseqüente ausência da fase líquida facilita a obtenção do  $\alpha$ -TCP, sendo o processo muito pouco afetado pelo ciclo térmico.



**Figura 4.7** Difratogramas do pó de  $\beta$ -TCP não dopado (B-P51) calcinado a 1000°C, e depois de ser sujeito a diferentes tratamentos térmicos. Para fins de comparação apresentam-se também as fichas PDF utilizadas: 04-006-9376 para o  $\beta$ -TCP, 04-015-7245, 04-010-4348 para o  $\alpha$ -TCP e 04-015-7245 para HA.

A fase  $\alpha$ -TCP é única para velocidades de arrefecimento entre  $5^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$  e  $20^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$ , sendo maioritária a  $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$  (98%) e a  $0,5^{\circ}\text{C min}^{-1}$  (92%). Carrodegua e Aza<sup>43</sup> referem que uma velocidade de arrefecimento muito lenta favorece a reversão  $\alpha \rightarrow \beta$ -TCP, pois existe tempo suficiente para que ocorra a recristalização da estrutura cristalina, uma vez que esta transformação é reconstitutiva. Como referido anteriormente, vários outros autores mostram que é possível obter a fase pura de  $\alpha$ -TCP a uma velocidade de arrefecimento moderada de  $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ,<sup>145,148,155</sup> ou de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ,<sup>145,155,156</sup> quando um pó de  $\beta$ -TCP puro. Assim, os resultados obtidos neste estudo partindo do pó B-P51 estão de acordo com os relatos anteriores. Ficou também demonstrado que, independentemente da temperatura máxima (1250°C ou 1500°C), e da duração do patamar (10h ou 15h) que foram testados neste estudo, é

possível obter 100% da fase de  $\alpha$ -TCP usando taxas de arrefecimento entre  $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

Comparando a análise qualitativa com a análise semi-quantitativa é perceptível que ambas convergem para os mesmos resultados, mostrando que é possível obter pós puros de  $\alpha$ -TCP a partir de pós de  $\beta$ -TCP com pequenas quantidades de HA quando se aplicam velocidades de arrefecimento  $\geq 5^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

### A partir de $\beta$ -TCP Dopado

A Tabela 4.7 apresenta os resultados da análise semi-quantitativa obtida pelo método de RIR das fases cristalinas presentes nos pós dopados após diferentes tratamentos térmicos.

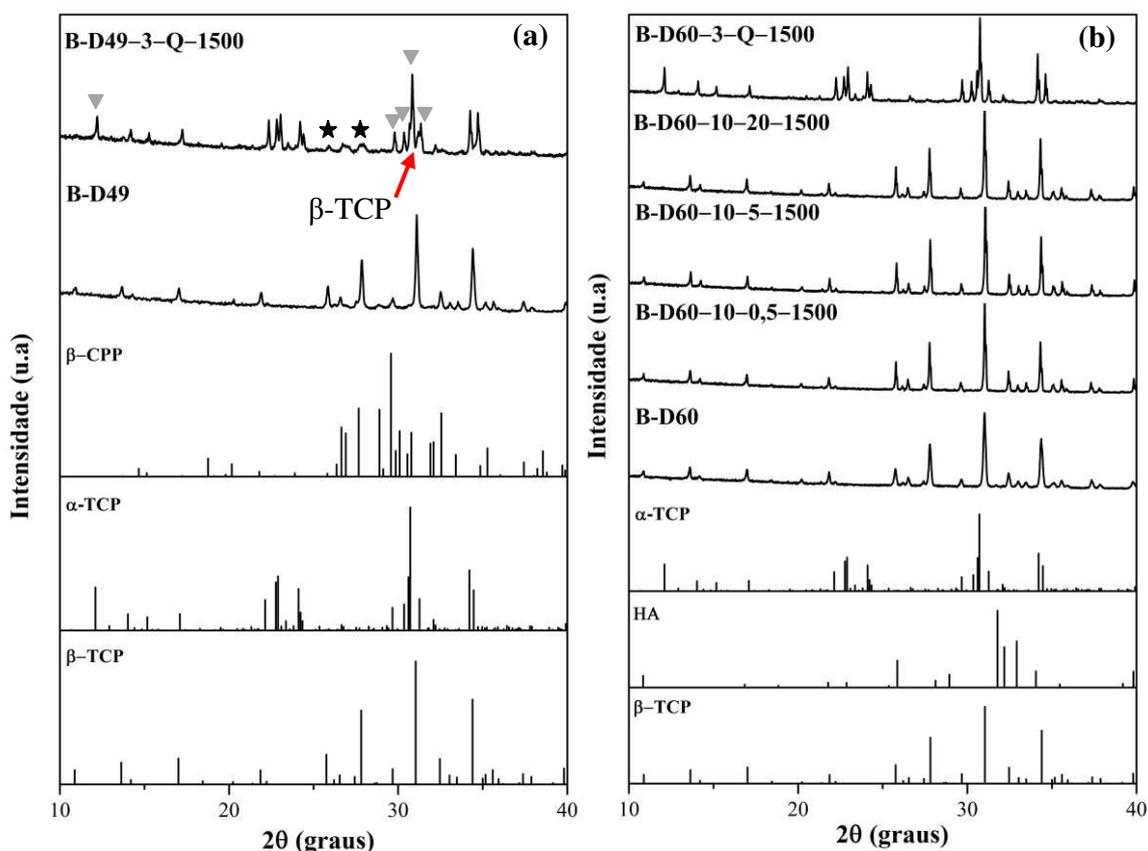
**Tabela 4.7** Análise semi-quantitativa em percentagem ponderal das fases presentes nas amostras derivadas dos pós de  $\beta$ -TCP dopados sujeitos a diferentes tratamentos térmicos.

Nomenclatura	Análise semi-quantitativa ( $\pm 5\%$ )			
	$\beta$ -TCP	$\beta$ -CPP	HA	$\alpha$ -TCP
B-D49-3-Q-1500	20	–	–	80
B-D60-10-0,5-1500	100	–	–	–
B-D60-10-5-1500	100	–	–	–
B-D60-10-20-1500	100	–	–	–
B-D60-3-Q-1500	–	–	–	100

Os resultados dos pós não dopados acima discutidos deixaram claro o efeito da taxa de arrefecimento na retenção da fase  $\alpha$ -TCP formada a alta temperatura. Assim, de entre todos os pós dopados, selecionaram-se as composições extremas, B-D49 e B-D60, para testar a transformação  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP, a primeira por conter uma quantidade apreciável de  $\beta$ -CPP ( $\approx 13\%$ ), e a segunda por conter cerca de 3% de HA para além da fase  $\beta$ -TCP maioritária.

A Figura 4.8 apresenta os difratogramas dos pós de partida, calcinados a  $1000^{\circ}\text{C}$ , e depois de serem sujeitos a diferentes tratamentos térmicos posteriores (ver Tabela 4.3). A Tabela 4.5 resume os resultados da análise semi-quantitativa de fases cristalinas. Na Figura 4.8 (a), a análise do difratogramas do pó de B-D49 tratado termicamente a  $1500^{\circ}\text{C}$  durante 3 h e depois arrefecido bruscamente (*quenching*), indica que esta amostra é constituída maioritariamente por  $\alpha$ -TCP, podendo os picos característicos da fase  $\beta$ -TCP ser também identificados, nomeadamente, o pico bem visível a  $2\theta=31^{\circ}$ . Da observação dos difratogramas apresentados na Figura 4.8 (b) é claro que o  $\beta$ -TCP é a única fase que se forma a partir do pó

B-D60 quando o arrefecimento é feito a velocidades controladas. Isto significa que a fase  $\alpha$ -TCP formada a alta temperatura não pode ser retida, revertendo para  $\beta$ -TCP devido à maior estabilidade térmica desta última fase quando dopada com outros íons.<sup>145,163,164</sup> Já no difratograma da amostra B-D60-3-Q-1500, que foi arrefecida bruscamente (*quenching*), todos os picos correspondem aos da fase  $\alpha$ -TCP. Todas estas observações estão de acordo com os resultados da análise semi-quantitativa de fases cristalinas apresentados na Tabela 4.6. Os teores de fase  $\alpha$ -TCP determinados para as amostras sujeitas a *quenching* foram de cerca de 80% e de 100%, partindo dos pós B-D49 e B-D60, respetivamente.



**Figura 4.8** Difratogramas dos pós de  $\beta$ -TCP dopados calcinados a 1000°C, e depois de sujeitos a diferentes tratamentos térmicos posteriores: (a) B-D49; (b) B-D60. Para fins de comparação apresentam-se também as fichas PDF utilizadas na identificação das fases cristalinas: 04-006-9376 para o  $\beta$ -TCP (★), 04-015-7245 para HA, 04-010-4348 para o  $\alpha$ -TCP (▼) e 04-009-3876 para o  $\beta$ -CPP.

Os resultados da Tabela 4.7 confirmam que a presença dos íons dopantes tende a aumentar a estabilidade térmica da fase  $\beta$ -TCP, facilitam reversão completa  $\alpha \rightarrow \beta$ -TCP durante o arrefecimento controlado. Por outro lado, tal como observado nos pós não dopados, a presença de  $\beta$ -CPP no pó B-D49 deverá atrasar a transformação  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP durante o tratamento térmico a alta temperatura e, a concomitante formação de uma fase líquida também

contribui para uma reversão  $\alpha \rightarrow \beta$ -TCP mais facilmente. Isto explica porque é que o teor de  $\alpha$ -TCP é superior (100%) no caso da amostra B-D60-3-Q-1500, quando comparado com o da amostra B-D49-3-Q-1500 (80%).

Uma descrição mais detalhada das transições de fase que ocorrem ao longo dos ciclos térmicos só pode ser conseguida através de análises térmicas. Usando pós de  $\beta$ -TCP dopados com vários teores de magnésio (1–5 mol%), e contendo pequenas quantidades de  $\beta$ -CPP, Torres *et al.*<sup>155</sup> mostraram através de análises térmicas e complementadas com outras técnicas de caracterização, que as temperaturas de transição  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP aumentavam com adições crescentes do dopante, chegando mesmo a confundir-se com as temperaturas de transição  $\alpha \rightarrow \alpha'$ -TCP.

Como acima referido, os pós dopados e com razões (Ca+Sr+Zn+Mn)/P próximas da estequiométrica (1,5) adquiriam uma cor rosada devida à substituição parcial do  $\text{Ca}^{2+}$  pelo  $\text{Mn}^{2+}$  na rede cristalina do  $\beta$ -TCP. Contudo, a necessidade de manter a valência (II) do manganês, a única que exerce efeitos biológicos benéficos,<sup>158</sup> obrigou ao uso de valores de  $\text{pH} \leq 7$  aquando da precipitação dos pós, uma vez que condições mais alcalinas tendem a aumentar o estado de oxidação, tornando este metal citotóxico.<sup>158</sup> Também, como foi justificado anteriormente, o uso de condições de precipitação ligeiramente mais ácidas faziam com que concentrações mais elevadas das espécies catiónicas ficassem em solução, originando assim sólidos com razões molares (Ca+Sr+Zn+Mn)/P inferiores às planeadas. O resultado foi a formação de maiores quantidades de  $\beta$ -CPP, uma fase mais ácida do que o  $\beta$ -TCP (Figura 4.3, Tabela 4.5). A estratégia para evitar a formação do  $\beta$ -CPP foi aumentar gradualmente a razão molar total (Ca+Sr+Zn+Mn)/P até que esta fase desaparecesse, o que veio a acontecer para o pó B-D60.

O problema causado pela presença do  $\beta$ -CPP foi, portanto, resolvido. Contudo, a tonalidade rosa característica do manganês foi-se desvanecendo gradualmente à medida que se aumentava a razão molar total (Ca+Sr+Zn+Mn)/P, na qual as proporções entre todos os catiões foi mantida constante em todas as preparações. Esta observação sugere que o manganês não foi incorporado na rede cristalina na mesma proporção com que se encontrava na solução dos precursores, e que os pós resultantes deverão possuir teores decrescentes de Mn com o aumento da razão molar total (Ca+Sr+Zn+Mn)/P. É ainda provável que algo semelhante ocorra com os outros dopantes, não necessariamente na mesma extensão. Com efeito, sabe-se que a facilidade com que o  $\text{Ca}^{2+}$  é parcialmente substituído na rede cristalina do  $\beta$ -TCP por outros catiões depende muito do seu raio iónico.<sup>125,165</sup> Enquanto o  $\text{Sr}^{2+}$  se instala com facilidade na

rede cristalina do  $\beta$ -TCP, o mesmo não acontece com os outros dois íons dopantes.<sup>125,165</sup> Estas hipóteses deveriam ser aqui confirmadas através de análises químicas. Infelizmente, as análises por ICP não foram disponibilizadas no âmbito deste trabalho, por serem caras e por as propinas não serem usadas para cobrir os custos derivados do trabalho experimental.

#### 4.4 Conclusão

O objetivo principal deste estudo foi a obtenção de pós à base de  $\alpha$ -TCP. Sendo a disponibilidade desta matéria-prima no mercado muito limitada e os preços incontroláveis, o plano estabelecido para este estudo incluiu a síntese deste composto. Alguns aspetos relevantes que influenciam a transformação dos polimorfos  $\beta \leftrightarrow \alpha$ -TCP ainda não são bem compreendidos, especialmente no caso de pós de  $\beta$ -TCP dopados com outros elementos de interesse terapêutico. Assim, um outro objetivo subordinado era contribuir para o esclarecimento do papel exercido pela presença de impurezas de  $\beta$ -CPP, de HA e de íons dopantes (Sr, Zn, Mn) na composição de fases cristalinas dos pós iniciais à base de  $\beta$ -TCP antes e depois de submetidos a diferentes ciclos de tratamento térmico e, especialmente, a interdependência entre a composição e a cinética de arrefecimento. As principais conclusões que podem retirar-se deste estudo encontram-se a seguir listadas:

1. O ajuste adequado da razão molar Ca/P e do pH durante a precipitação permite obter a composição de fases desejada após calcinação a 1000°C.
2. Eliminar a fase  $\beta$ -CPP de pós dopados com Sr, Zn e Mn torna-se mais difícil do que nos pós não dopados. Tal facto deve-se à utilização de valores de pH inferiores a 7, para evitar estados de oxidação do manganês superiores ao  $Mn^{2+}$ , e ao consequente défice de catiões no sólido precipitado que origina razões molares  $(Ca+Sr+Zn+Mn)/P < 1,500$ .
3. A proporção dos catiões existente na solução dos precursores não é transposta para o sólido precipitado devido à menor afinidade de alguns dopantes para ocuparem os sítios do  $Ca^{2+}$  na rede cristalina.
4. A transformação dos polimorfos  $\beta \leftrightarrow \alpha$ -TCP é influenciada por:
  - a) Presença de fases secundárias tais como o  $\beta$ -CPP ou a HA. O primeiro atrasa a transformação  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP no aquecimento e facilita a reversão  $\alpha \rightarrow \beta$ -TCP no arrefecimento, devida à formação de uma fase líquida. Isto impossibilita a obtenção da fase pura de  $\alpha$ -TCP através de arrefecimentos

controlados. Nestas condições, só procedendo a arrefecimentos bruscos (*quenching*) é que foi possível obter  $\approx 99$  wt.% de  $\alpha$ -TCP. A presença de uma pequena quantidade de HA torna mais fácil a obtenção de pós puros de  $\alpha$ -TCP para taxas de arrefecimento  $\geq 5^\circ\text{Cmin}^{-1}$ . Taxas de arrefecimento  $\leq 1^\circ\text{Cmin}^{-1}$  permitem uma reversão parcial  $\alpha \rightarrow \beta$ -TCP por permitirem mais tempo para que esta transformação reconstrutiva ocorra, de acordo com o esperado.

- b) A incorporação na rede cristalina dos iões dopantes (Sr, Zn e Mn) aumenta a estabilidade térmica da fase  $\beta$ -TCP, pelo que atrasa a transformação  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP no aquecimento e facilita a reversão  $\alpha \rightarrow \beta$ -TCP no arrefecimento. Isto impossibilita a obtenção da fase pura de  $\alpha$ -TCP através de arrefecimentos controlados.
  - c) A taxa de arrefecimento tem um papel determinante na obtenção da fase  $\alpha$ -TCP, especialmente na presença de fases minoritárias ( $\beta$ -CPP, HA), ou de iões dopantes na rede cristalina. O aumento da taxa de arrefecimento tende a favorecer a formação de  $\alpha$ -TCP no produto final, especialmente na ausência de  $\beta$ -CPP.
  - d) A duração do patamar não foi um fator muito determinante na obtenção da fase de  $\alpha$ -TCP. Os resultados experimentais se mostraram que pode produzir-se cerca de 150 g de  $\alpha$ -TCP puro num ciclo térmico total de 15 h.
5. É possível obter pós de  $\alpha$ -TCP com elevada pureza a  $1250^\circ\text{C}$  a partir de pós com uma pequena quantidade de HA. O produto final, assim obtido, fica menos aglomerado e facilita o pós-processamento dos pós calcinados e torna o processo mais simples e económico.

Dos resultados acima apresentados e discutidos, pode concluir-se que as condições de preparação do polimorfo  $\alpha$ -TCP ficaram agora melhor clarificadas. Trata-se de um processo demorado que inclui várias etapas, as quais precisam de ser mantidas sob controlo rigoroso de modo a garantir a formação das fases desejadas no produto final.



# CAPÍTULO V

---

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CIMENTOS ÓSSEOS  
INJETÁVEIS**



## Preparação e caracterização de cimentos ósseos injetáveis

A preparação de pastas cimentícias injetáveis é um processo extremamente complexo, pois, como já referido no Capítulo II, a injetabilidade é influenciada por diversos fatores. Este Capítulo reporta acerca da influência de alguns dos fatores mais relevantes que determinam a injetabilidade de uma pasta cimentícia, bem como das suas propriedades, incluindo o IST, FST, propriedades mecânicas, porosidade total, composição de fases cristalina e aspetos microestruturais. As principais variáveis experimentais estudadas incluíram o tamanho e a DTP dos pós de partida na formulação do CPC, a RLP e a adição de aditivos para controlo das propriedades de fluxo. Utilizaram-se os pós de  $\alpha$ -TCP produzidos e caracterizados de acordo com o descrito no Capítulo IV. O trabalho exposto neste Capítulo pretende contribuir para uma melhor compreensão acerca dos efeitos das variáveis estudadas na injetabilidade das pastas cimentícias e nas outras propriedades acima mencionadas.

### 5.1 Introdução

Os CPCs têm vindo a ser cada vez mais utilizados em intervenções cirúrgicas minimamente invasivas, pois possuem um elevado número de propriedades interessantes para o tratamento de fraturas frágeis,<sup>10</sup> associadas a baixa densidade mineral do osso.<sup>168</sup> Este tipo de técnica cirúrgica oferece muitos benefícios ao doente quando comparada com as técnicas cirúrgicas mais tradicionais, pois, além de provocarem menos lesões associadas e menos dor, o doente tem uma recuperação mais rápida e, conseqüentemente, os custos de saúde são reduzidos.<sup>169</sup> No entanto, este tipo de técnica requer uma nova geração de biomateriais injetáveis, com capacidade de serem implantados através de pequenas incisões.<sup>85</sup>

A estrutura e a composição semelhante à dos ossos humanos, tornam os CPCs materiais biocompatíveis, osteoindutivos, reabsorvíveis, com capacidade de estabelecerem ligações com os tecidos ósseos, etc.<sup>42,85,99</sup> Contudo estes tipos de cimentos possuem alguns inconvenientes, sendo um deles a fraca capacidade de serem injetados através de uma cânula longa e estreita ligada a uma seringa, dispositivo utilizado nas cirurgias minimamente invasivas.<sup>84,109,170</sup> As formulações de CPCs disponíveis no mercado não são completamente satisfatórias,<sup>78,100</sup> falhando principalmente na insuficiente força mecânica e na pobre injetabilidade, propriedades cruciais em procedimentos cirúrgicos para a correção de fraturas de vértebras por compressão, causadas pela osteoporose.

Apesar das muitas contribuições dadas ao longo da última década, <sup>9,45,107,108,129,130,162,171,172</sup> ainda existem diversas questões para resolver no que diz respeito à compreensão dos fenômenos subjacentes à injetabilidade dos CPCs. São diversos os fatores que afetam as propriedades de fluxo das pastas cimentícias e, conseqüentemente a injetabilidade: (a) tamanho médio de partícula; (b) DTP; (c) proporção e natureza das fases cristalinas dos pós de partida; (d) presença de partículas fortemente agregadas; (e) forma das partículas; (f) RLP; (g) presença de modificadores reológicos e/ou aditivos com funções específicas. <sup>11,64,84,99,106-108</sup> Todos estes fatores contribuem para o complexo sistema reológico. Além disso, a evolução das propriedades reológicas durante a reação de cura (*setting*) aumenta ainda mais essa complexidade. <sup>107</sup> Alguns investigadores <sup>84,108,129</sup> focaram os seus estudos em pastas cimentícias com menor reatividade com vista a poderem identificar melhor os parâmetros que controlam a injetabilidade. Para tal utilizaram pós de  $\beta$ -TCP uma vez que estes possuem bastante similaridade com pós à base de  $\alpha$ -TCP e, para além disso possuiu uma baixa solubilidade em água ( $-\log K_s=28.9$  a  $25^\circ\text{C}$ ) <sup>173</sup> quando comparado com o  $\alpha$ -TCP ( $-\log K_s= 25.5$  a  $25^\circ\text{C}$ ), <sup>174</sup> prevenindo, assim, a reação de *setting*. Além de explicarem alguns mecanismos por detrás da injetabilidade, identificam também as variáveis mais relevantes, nomeadamente, a RLP, o tamanho médio e morfologia das partículas, e a viscosidade da fase líquida. <sup>84</sup>

Uma estreita distribuição de tamanhos de partícula, e/ou a presença de agregados (partículas fortemente ligadas) são aspetos relevantes que influenciam a injetabilidade de uma pasta cimentícia, pois tendem a conferir um comportamento reoespessante aumentando a tendência de segregação das partículas durante a extrusão. Torres *et al.* <sup>9</sup> e Montufar *et al.* <sup>107</sup> estudaram alguns dos fatores que influenciam a injetabilidade de pastas cimentícias de  $\beta$ -TCP e  $\alpha$ -TCP/ $\beta$ -TCP, respetivamente. Com o objetivo de contribuir para uma clarificação sobre os efeitos do tamanho, distribuição e agregação das partículas na injetabilidade e no efeito de “*filter pressing*”, Torres *et al.* <sup>9</sup> concluíram que tais aspetos são a chave que determinam a boa injetabilidade de uma pasta. Montufar *et al.* <sup>107</sup> testaram o efeito da reação de *setting* na injetabilidade em pós com diferentes tamanhos e distribuições de partículas (finos e grossos), e concluíram que a reação de *setting* não influenciava a injetabilidade (uma conclusão simplista que não pode ser generalizada nem se aplica quando reação de *setting* for muito rápida). Verificaram, ainda, que as pastas cimentícias de  $\alpha$ -TCP injetavam pior do que as pastas de  $\beta$ -TCP.

O grande objetivo deste estudo é produzir pastas cimentícias injetáveis à base de  $\alpha$ -TCP tendo em conta os fatores anteriormente referidos. Para tal, foram preparadas pastas

cimentícias com pós de  $\alpha$ -TCP obtidos a 1250°C e 1500°C, com diferentes distribuições de tamanhos de partículas, efetuando, também, misturas de pós com diferentes tempos de moagem, com vista a obter um leque mais alargado de distribuições. Para além disso, foram adicionados diferentes aditivos comumente utilizados para acelerar a reação de *setting*, uma solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  que, devido ao efeito do ião comum modifica o equilíbrio da Equação 3 (Capítulo II, secção 2.2.3), promovendo a precipitação da CDHA. De forma a melhorar a coesão das pastas foram ainda adicionados modificadores das propriedades reológicas (PEG 600 e Aristoflex®TAC).

## 5.2 Materiais e Métodos

### 5.2.1 Preparação e caracterização dos pós de partida

Para a elaboração deste estudo foram utilizados os pós puros de  $\alpha$ -TCP produzidos de acordo com o descrito no Capítulo IV. Utilizaram-se os pós tratados termicamente a 1250°C (A-1250) e a 1500°C (A-1500). Cada um dos pós foi submetido separadamente a diferentes tempos de moagem de 6, 24, e 45 min (A-1250) e de 6, 24 e 300 min (A-1500). A desaglomeração/moagem dos pós foi feita num moinho de bolas usando uma proporção em peso de bolas/pó de 3:1. Os códigos utilizados para cada pó têm por base a temperatura de calcinação e a duração do tempo de moagem a que foram submetidos. Por exemplo, A-1250-24 refere-se ao pó calcinado a 1250°C e moído durante 24 min; enquanto A-1500-300 refere-se ao pó calcinado a 1500°C e moído durante 300 min. Foram ainda preparadas misturas de pós encontrando-se estas apresentadas na Tabela 5.1, bem como a nomenclatura aplicada a cada mistura. Após moagem os pós foram passados através de uma malha de 40  $\mu\text{m}$ , utilizando um peneiro automático (Retsch AS200), de modo a evitar que partículas maiores prejudicassem a extrusão.

Após o tratamento anteriormente explicado, os pós foram caracterizados de forma:

1. Qualitativa e quantitativa: determinação das fases cristalinas, através do método de DRX e dos grupos funcionais através de FTIR;
2. Física: medição da distribuição granulométrica, através do equipamento Coulter LS 230 que opera segundo o modelo ótico Fraunhofer;
3. Morfológica: visualização da forma das partículas através do SEM.

### **5.2.2 Desenho do estudo experimental**

O principal objetivo deste estudo é produzir pastas cimentícias injetáveis. Como já tem vindo a ser referido ao longo deste trabalho, a injetabilidade das pastas cimentícias, bem como as propriedades dos cimentos endurecidos, são afetadas por diversos fatores, sendo necessário compreender a influência de cada um deles. No presente estudo estudaram-se os efeitos da distribuição dos tamanhos de partícula, da RLP, e da adição de coadjuvantes poliméricos no IST, FST, na injetabilidade das pastas cimentícias, na resistência mecânica à compressão e na porosidade total dos cimentos endurecidos.

### **5.2.3 Preparação e caracterização das pastas cimentícias**

No Capítulo III encontra-se descrito o procedimento aplicado na preparação das pastas cimentícias utilizadas neste estudo. Prepararam-se diversas formulações a partir dos pós de  $\alpha$ -TCP e de diversas fases líquidas expressas na Tabela 3.1 (Capítulo III, secção 3.2). A nomenclatura adotada para cada CPC, apresentada na Tabela 5.1, teve em conta os pós utilizados, atribuído a cada um, um código específico, a composição do líquido e a RLP. Por exemplo, o CPC denominado por T2-300.L0-0,28, indica que foi utilizado o pó A-1500-300 (T2-300), com o líquido L0 (constituído apenas por água desionizada) utilizando uma RLP de 0,28 ml g<sup>-1</sup>.

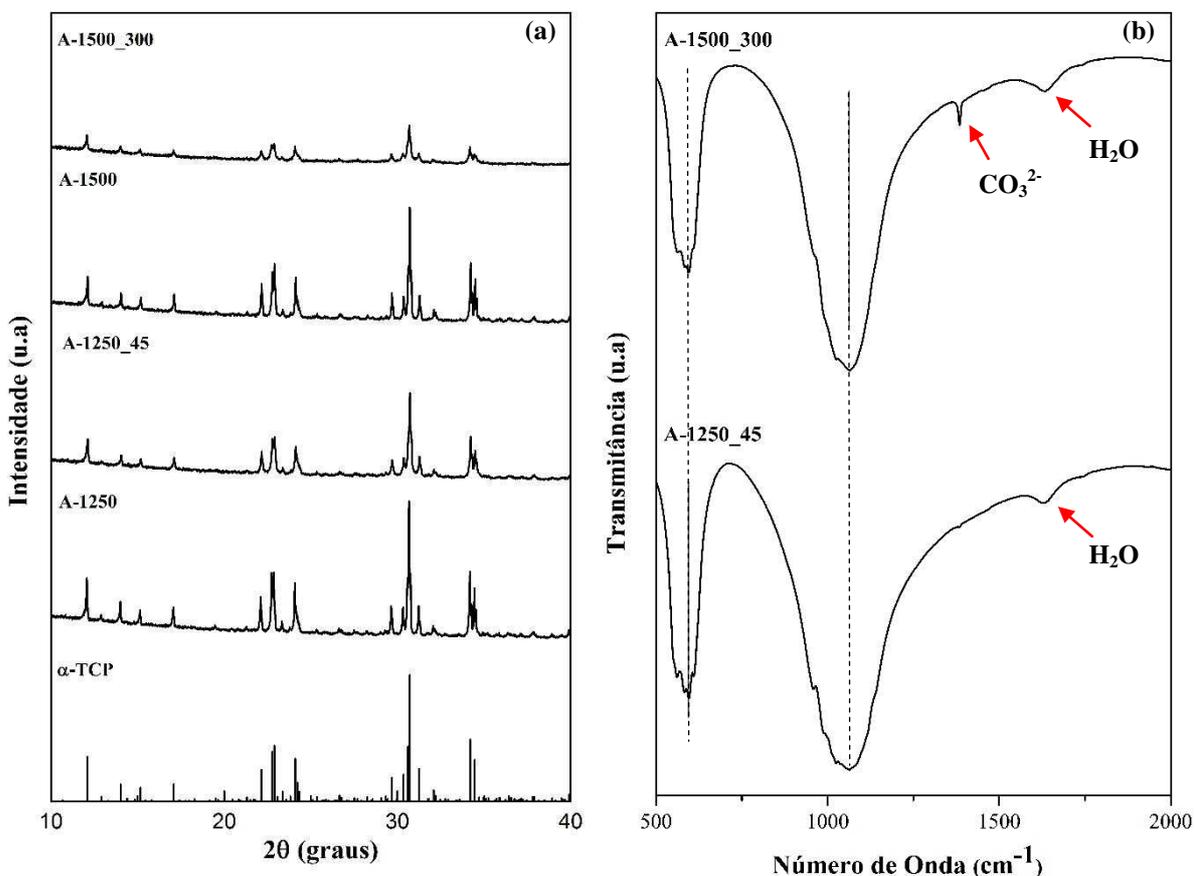
**Tabela 5.1** Nomenclatura utilizada para denominar os CPCs produzidos, tendo em conta o pó de partida, a fase líquida e a RLP utilizada.

Pó de partida	Nº do pó de partida	Líquido	RLP			
			0,28	0,32	0,34	0,36
<b>A-1500-300</b>	T2-300	L0	T2-300.L0-0,28	-	-	-
		L2,5	T2-300.L2,5-0,28	-	T2-300.L2,5-0,34	-
		L3	T2-300.L3-0,28	-	-	-
<b>A-1250-45</b>	T1-45	L2,5	-	-	T1-45.L2,5-0,34	-
		L2,5-15PG	-	-	T1-45.L2,5-15PG-0,34	-
<b>Mistura 85:15</b> (85T1-45 + 15T1-24)	M85	L2,5	-	-	M85.L2,5-0,34	-
<b>Mistura 90:10</b> (90T1-45 + 10T1-24)	M90	L2,5	-	M90.L2,5-0,32	M90.L2,5-0,34	M90.L2,5-0,36
		L2,5-15PG	-	-	M90.L2,5-15PG-0,34	-
		L2,5-0,25TAC	-	-	M90.L2,5-0,25TAC-0,34	-
		L2,5-0,5TAC	-	-	M90.L2,5-0,5TAC-0,34	-
<b>Mistura 95:5</b> (95T1-45 + 5T1-24)	M95	L2,5	-	-	M95.L2,5-0,34	-

## 5.3 Resultados e discussão

### 5.3.1 Pós de partida

Na Figura 5.1 (a) são apresentados os difratogramas dos pós iniciais e dos pós moídos bem como a ficha PDF 04-010-4348 que identifica a fase  $\alpha$ -TCP. Já na Figura 5.1 (b) apresentam-se os espectros de FTIR dos pós moídos que foram utilizados para a produção das pastas cimentícias.



**Figura 5.1** (a) Difratogramas dos pós de partida de  $\alpha$ -TCP (antes e após o processo de moagem) para a produção dos CPCs. A ficha PDF utilizada para fins de comparação foi 04-010-4348 (b) Espectros de FTIR dos pós de  $\alpha$ -TCP após moagem.

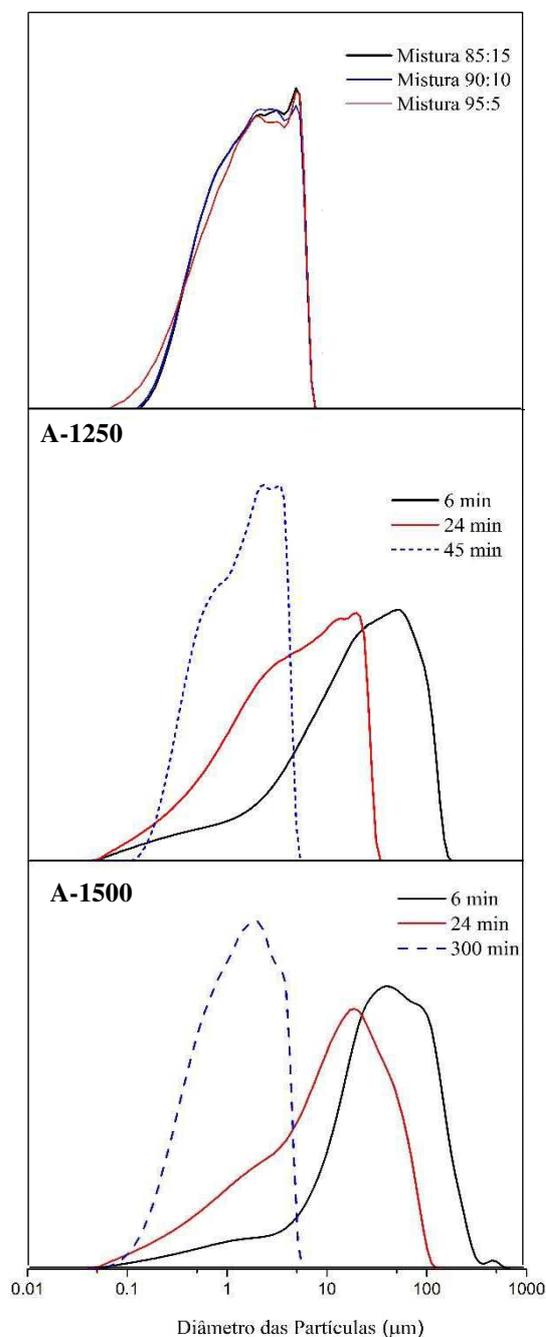
Verifica-se que todos os picos de difração de ambos os pós utilizados na preparação das pastas cimentícias correspondem às linhas de difração do padrão da fase  $\alpha$ -TCP, não tendo sido detetada qualquer outra fase cristalina. A intensidade dos picos relaciona-se com o grau de cristalinidade do material, ou seja, quanto mais intensos forem os picos maior é o grau de cristalinidade do material. Um facto notório e bastante visível é a diminuição da intensidade dos picos de difração com a moagem. Assim, facilmente se infere a o processo de moagem causa uma diminuição significativa na intensidade dos picos de difração devida a uma

amorfização gradual da estrutura cristalina formada durante o tratamento dos pós. Bohner *et al.*<sup>150</sup> referem a observação óbvia que a amorfização tende a aumentar a reatividade dos pós.

Os espectros de FTIR confirmam os resultados obtidos pelo DRX, indicando que a fase presente é  $\alpha$ -TCP. As linhas a tracejado, a  $595\text{ cm}^{-1}$  e  $1063\text{ cm}^{-1}$ , indicam modos vibracionais  $\text{PO}_4$  característicos da fase  $\alpha$ -TCP. Existem ainda bandas de absorção que representam modos vibracionais do mesmo composto, tais como,  $551\text{ cm}^{-1}$ ,  $563\text{ cm}^{-1}$ ,  $584\text{ cm}^{-1}$ ,  $613\text{ cm}^{-1}$ ,  $1025\text{ cm}^{-1}$  e  $1055\text{ cm}^{-1}$ .<sup>167</sup> A banda de absorção presente por volta dos  $1630\text{ cm}^{-1}$  indica a presença de água que pode ficar adsorvida nas partículas do pó. A banda presente a  $1384\text{ cm}^{-1}$  mais visível para o pó A-1500300 corresponde à presença do grupo de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) devido ao contacto dos pós com a atmosfera.<sup>175</sup>

As curvas de DTP dos diferentes pós individuais e das suas misturas encontram-se representadas na Figura 5.2. A característica mais evidente destas curvas é a sua forma tendencialmente unimodal e um tanto assimétrica. Outra característica notória nas curvas é a presença de pequenos “ombros” especialmente na zona de maiores tamanhos para o pó A-1500, os quais se devem à presença de partículas/aglomerados de maiores dimensões. Verifica-se ainda que a diferença entre as curvas obtidas ao fim de 6 min e ao fim de 24 min são mais evidentes para o pó A-1250 do que para o pó A-1500, e que o mesmo tempo de moagem causa maior efeito no pó calcinado a  $1250^\circ\text{C}$  do que o pó calcinado a  $1500^\circ\text{C}$ . Tal facto seria de esperar, pois os pós tratados a temperaturas mais elevadas causam ligações mais fortes entre as partículas, tornando-se mais difícil a sua desaglomeração. Para os primeiros tempos de moagem, as curvas são mais alargadas quando comparadas as obtidas para tempos de moagem mais longos. As curvas de distribuição relativas às misturas do pó A-1250-24 e A-1250-45 não apresentam diferenças significativas, o que não é muito surpreendente considerando que a proporção do componente mais grosso variou apenas entre 5-15%.

Alguns autores referem que um tamanho reduzido de partícula favorece a injetabilidade.<sup>105</sup> Embora esta afirmação seja muito simplista, a presença de partículas finas é essencial para melhorar o comportamento reológico. Mas na verdade, as propriedades de fluxo das pastas/suspensões são melhoradas com uma distribuição granulométrica alargada.<sup>176</sup> O processo de moagem foi conduzido com vista à obtenção de um pó com um tamanho médio de partícula o mais reduzido possível, o qual deveria ser depois misturado com outro mais grosso de forma a obter uma distribuição mais conveniente.



**Figura 5.2** Curvas de distribuição dos tamanhos de partículas dos pós de partida dos CPCs

No entanto, a obtenção da tal distribuição ideal implica a elaboração de testes sistemáticos que consomem mais tempo do disponível no âmbito de uma tese de mestrado. Esse estudo de otimização deverá ser continuado em trabalhos futuros. Outra dificuldade encontrada foi a fraca capacidade do granulómetro para dar uma boa descrição da DTP real da amostra. Nem sempre as medidas feitas com a mesma amostra davam curvas reproduzíveis. A presença de alguns aglomerados mais grossos que passaram a malha de 40 µm, tendiam a

depositar no fundo do coletor da amostra aquando a sua introdução, falseando de certa forma os resultados.

A Tabela 5.2 resume os diâmetros equivalentes de partículas ( $D_{10}$ ,  $D_{50}$ ,  $D_{90}$ ) abaixo dos quais existem determinadas percentagens volumétricas do pó (10%, 50% e 90%), respetivamente (curva cumulativa inferior).

**Tabela 5.2** Distribuição dos tamanhos de partículas dos pós de  $\alpha$ -TCP após diferentes tempos de moagem

Temp. Calcinação (°C)	Tempo de Moagem (min)	$D_{10}^a$ ( $\mu\text{m}$ )	$D_{50}^b$ ( $\mu\text{m}$ )	$D_{90}^c$ ( $\mu\text{m}$ )	$D_{\text{médio}}^d$ ( $\mu\text{m}$ )
<b>1500</b>	6	4,6	38,7	139,9	59,9
	24	0,8	11,5	49,3	18,8
	300	0,3	1,3	3,6	1,6
<b>1250</b>	6	1,6	22,7	92,4	35,9
	24	0,6	4,9	21,4	8,1
	45	0,4	1,5	3,8	1,8
	M85 (85T1-45 + 15T1-24)	0,4	1,8	5,4	2,4
	M90 (90T1-45 + 10T1-24)	0,4	1,8	5,3	2,3
	M95 (95T1-45 + 5T1-24)	0,4	1,7	5,4	2,3

<sup>a</sup> $D_{10}$ : Tamanho das partículas para o qual 10% do volume é mais fino

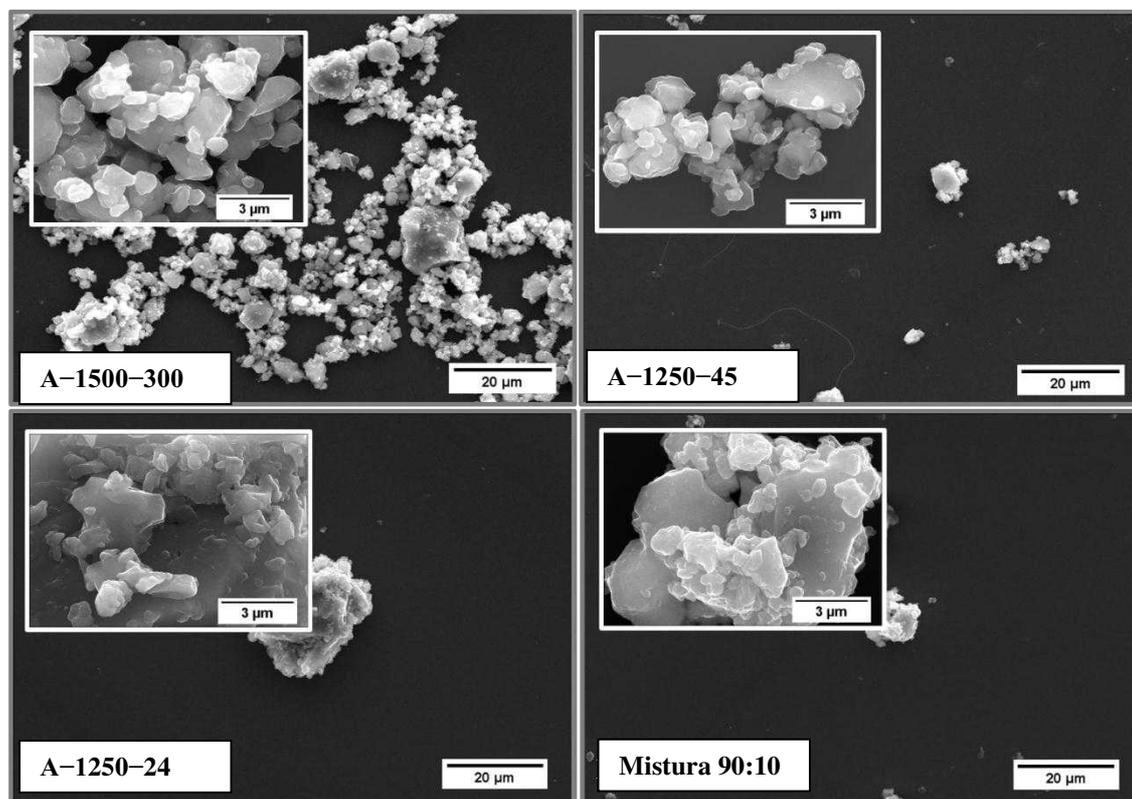
<sup>b</sup> $D_{50}$ : Tamanho das partículas para o qual 50% do volume é mais fino

<sup>c</sup> $D_{90}$ : Tamanho das partículas para o qual 90% do volume é mais fino

<sup>d</sup> $D_{\text{médio}}$ : Tamanho médio das partículas

Verifica-se que tempos de moagem bastantes distintos, 300 min (A-1500-300) e 45 min (A-1250-45) geram tamanhos médios de partícula muito próximos, nomeadamente de 1,6  $\mu\text{m}$  e 1,8  $\mu\text{m}$ , respetivamente. Relativamente às misturas, verifica-se que a adição do pó com  $D_{\text{médio}} = 8,1 \mu\text{m}$  (A-1250-24) ao pó com  $D_{\text{médio}} = 1,8 \mu\text{m}$  resulta num  $D_{\text{médio}}$  intermédio (2,3-2,4  $\mu\text{m}$ ), como seria de esperar, embora não se tenham notado diferenças entre as misturas M90 e M95, o que atesta a fraca reprodutibilidade das medidas de distribuição granulométrica.

A morfologia dos pós foi analisada por SEM. A Figura 5.3 apresenta algumas micrografias dos pós individuais A-1500-300, A-1250-24, A-1250-45 e da mistura M90, com ampliações diferentes (x1000 e x10000). No caso das misturas, optou-se por apresentar apenas as imagens relativas à amostra M90, pois as outras apresentam características morfológicas muito idênticas.



**Figura 5.3** Micrografias obtidas através de SEM com ampliações de x100 e x10000 dos pós de  $\alpha$ -TCP utilizados nas formulações dos CPCs.

Através da observação destas micrografias verifica-se que os tamanhos das partículas são consistentes com as curvas de DTP apresentadas na Figura 5.3. A morfologia é típica de um material que sofreu uma ação de cominuição. Observa-se também a presença de aglomerados resultes do tratamento térmico dos pós a altas temperaturas e que não foram eficazmente destruídos no processo de moagem a seco. Nas micrografias do pó A-1500-300 observam-se partículas de pequenos tamanhos à mistura com outras de tamanhos maiores. O pó A-1250-24 apresenta partículas com tamanhos extremamente elevados e outras com um tamanho bastante reduzido. Esta disparidade deve-se ao facto deste pó calcinado a temperatura mais baixa ser mais fácil de desaglomerar e de o tempo de moagem ter sido insuficiente para se obter uma distribuição mais uniforme.

No pó A-1250-45 observam-se partículas que, de uma forma geral, são maiores do que as partículas que constituem o pó A-1500-300. Na mistura M90 observam-se aspetos morfológicos e de tamanhos característicos de ambos os componentes na mistura. Os resultados obtidos através da análise granulométrica estão de acordo com o que se encontra

presente nas micrografias. No entanto, nem sempre é fácil distinguir bem entre partículas de grandes dimensões e aglomerados de partículas.

### 5.3.2 Pastas cimentícias

#### 5.3.2.1 IST e FST

No primeiro conjunto de experiências preliminares para avaliar os tempos de presa, testou-se o pó A-1500-300 e a mistura M90 e estudaram-se os efeitos da proporção do líquido de reação ( $RLP = 0,28 \text{ ml g}^{-1}$  e  $RLP = 0,34 \text{ ml g}^{-1}$ ) e da sua composição (L0, L2, L2,5, L3) no IST e no FST das pastas cimentícias. Os resultados obtidos para o IST e o FST encontram-se representados na Figura 5.4 para os vários líquidos, à exceção da água, por serem bastante distintos. Neste último caso, os valores de IST e FST foram superiores a 1 h (2 h 14 min e  $\gg 2 \text{ h } 40 \text{ min}$ , respetivamente). A Figura 5.4 mostra os resultados para cinco formulações de CPCs distintas.

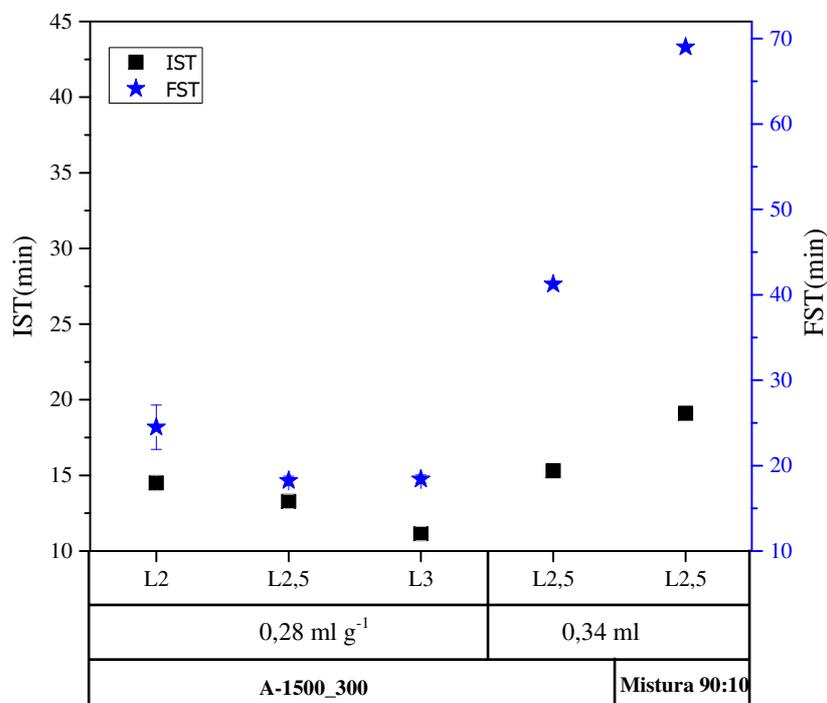


Figura 5.4 IST e FST das pastas cimentícias produzidas

A Figura 5.4 mostra que o uso dos outros líquidos resultou numa aceleração acentuada da reação de endurecimento e em reduções drásticas do IST e do FST. Para  $RLP = 0,28 \text{ ml g}^{-1}$ , verifica-se um decréscimo gradual do IST com o aumento da concentração de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  no líquido. Estes resultados confirmam o papel de acelerador do  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  na reação de *setting*,

devido ao efeito do ião comum que modifica o equilíbrio da equação e promove a precipitação de CDHA.<sup>80</sup>

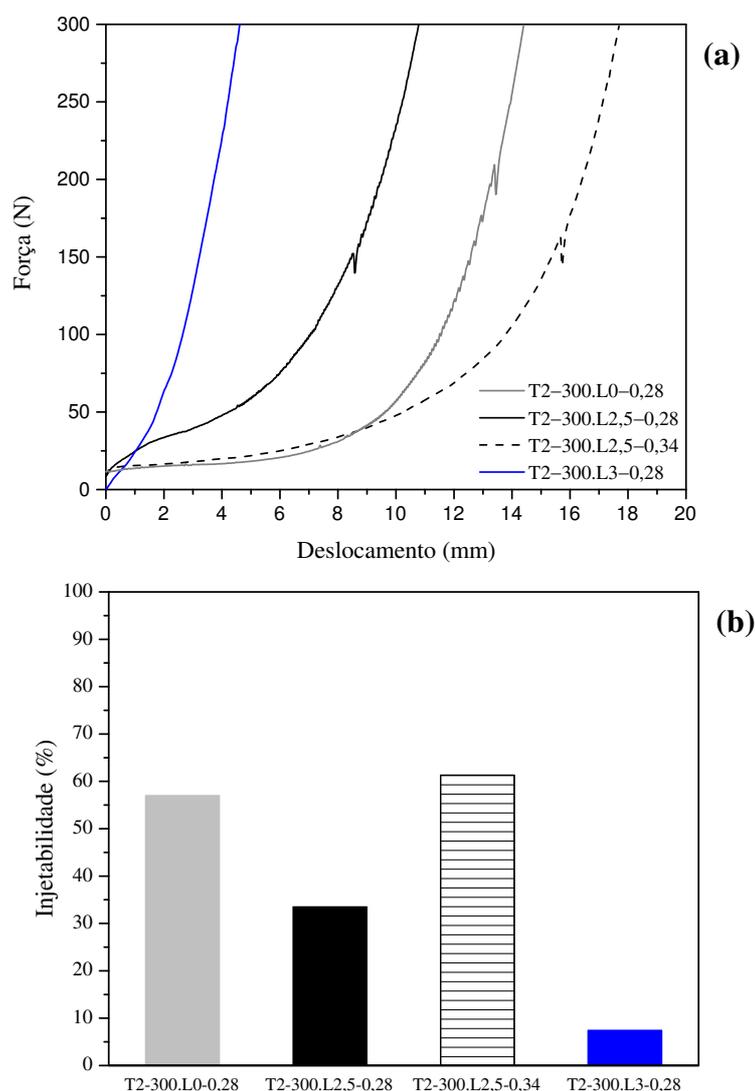
Por outro lado, para  $RLP = 0,34 \text{ ml g}^{-1}$  e uma concentração fixa de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  no líquido, observa-se que o pó A-1500-300 é mais reativo como se infere pelos menores valores de IST e FST, em comparação com os da mistura M90. Esta diferença é consistente com o menor tamanho médio de partícula e um grau de amorfização superior do pó A-1500-300 promovido pela moagem mais severa a que foi sujeito.<sup>99</sup> Um menor tamanho de partícula (maior área específica) significa uma maior área de contacto entre o sólido e o líquido, originando uma reação de *setting* mais rápida. Para além disso, verifica-se ainda que o IST e o FST se aproximam mais um do outro a  $RLP = 0,28 \text{ ml g}^{-1}$  aparecendo mais separados a  $RLP = 0,34 \text{ ml g}^{-1}$ . Os resultados obtidos confirmam que a reação de *setting* dos CPCs é acelerada por um menor tamanho de partícula, uma RLP mais baixa, e pelo aumento da concentração do  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  na solução aquosa reativa.

### 5.3.2.2 Avaliação dos testes de injetabilidade

No primeiro conjunto de experiências preliminares de injetabilidade fixou-se o pó (A-1500-300) e estudaram os efeitos da composição do líquido de reação (L0, L2,5, L3) para um valor fixo de  $RLP = 0,28 \text{ ml g}^{-1}$ . Para avaliar o efeito da RLP, fixou-se a composição do líquido de reação (L2,5) e prepararam-se também pastas com  $RLP = 0,34 \text{ ml g}^{-1}$ . A Figura 5.5 mostra as curvas de força de extrusão vs deslocamento (a) e as percentagens de injetabilidade correspondentes (b). As curvas exibem perfis típicos de pastas pouco extrudíveis,<sup>84,107,162</sup> especialmente no caso de menor RLP e da concentração mais elevada de acelerador.

Estes resultados não são surpreendentes uma vez que a quantidade de líquido é baixa e a reatividade do sistema é maior nestas condições. As curvas de extrusão das pastas cimentícias com elevada percentagem de injetabilidade exibem normalmente três fases distintas. Numa primeira fase ocorre um regime transitório inicial, em que se dá um ligeiro aumento rápido da carga inicial aplicada necessária para se iniciar a extrusão (ponto de cedência da pasta). A segunda consiste num patamar ao longo do qual a extrusão ocorre a uma carga aproximadamente constante. Na terceira e última fase, a força aplicada aumenta de forma acentuada indiciando o fim do processo de extrusão.<sup>9,107</sup>

Nas pastas com reduzida injetabilidade, como as usadas nestes testes preliminares, a segunda fase desaparece ou torna-se menos evidente, e o declive das curvas aumenta devido à segregação de fases sólida/líquida causada pelo fraco escoamento da pasta como um todo.<sup>84</sup>



**Figura 5.5** Influência da composição do líquido de reação e da RLP na injetabilidade dos CPCs: **(a)** curvas de força de extrusão vs deslocamento do êmbolo da seringa; **(b)** percentagem de injetabilidade.

Esta segregação, denominada de “*filter pressing effect*” é claramente mais acentuada na pasta T2-300.L3-0,28 (Figura 5.5 (a)) e decresce pela seguinte ordem: T2-300.L2,5-0,28 < T2-300.L0-0,28 < T2-300.L2,5-0,34. O processo de extrusão foi interrompido quando a força máxima pré-estabelecida de 300 N foi atingida. Nas curvas T2-300.L2,5-0,28, T2-300.L2,5-0,34 e T2-300.L0-0,28 são visíveis picos de alívio momentâneo da força aplicada coincidentes com a cessação do processo de extrusão, seguidos da retoma do andamento da curva de força vs deslocamento.<sup>107</sup>

Analisando a percentagem de pasta cimentícia extrudida (Figura 5.5 (b)) verifica-se que nenhuma das formulações das pastas cimentícias extrudiu bem. O melhor valor de injetabilidade (61%) foi obtido para a pasta T2-300.L2,5-0,34. Sabe-se que a adição de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> à fase líquida do cimento causa uma diminuição no IST, pelo que o processo de extrusão termina mais cedo. Esta situação agrava-se especialmente quando a quantidade de líquido é escassa (RLP = 0,28 ml g<sup>-1</sup>). Com o aumento da RLP para 0,34 ml g<sup>-1</sup> verificou-se um aumento pouco significativo do IST, mas a injetabilidade aumentou para aproximadamente o dobro, passando de cerca de 34% para 61%. Desta forma e como já relatado por Montufar *et al.*<sup>107</sup> pode dizer-se que não se verifica uma correlação direta entre a injetabilidade e o IST, nomeadamente quando outros fatores mais determinantes para a injetabilidade (ex.: DTP) estão em jogo.

A avaliação do “*filter pressing effect*” ajuda a perceber se a homogeneidade inicial das pastas cimentícias se mantém ou não durante o processo de extrusão. Esta avaliação é efetuada através das variações da RLP determinadas em amostras recolhidas durante o processo de extrusão. Os resultados encontram-se expressos na Tabela 5.3.

**Tabela 5.3** Avaliação da ocorrência do “*filter pressing effect*” durante a extrusão das pastas cimentícias.

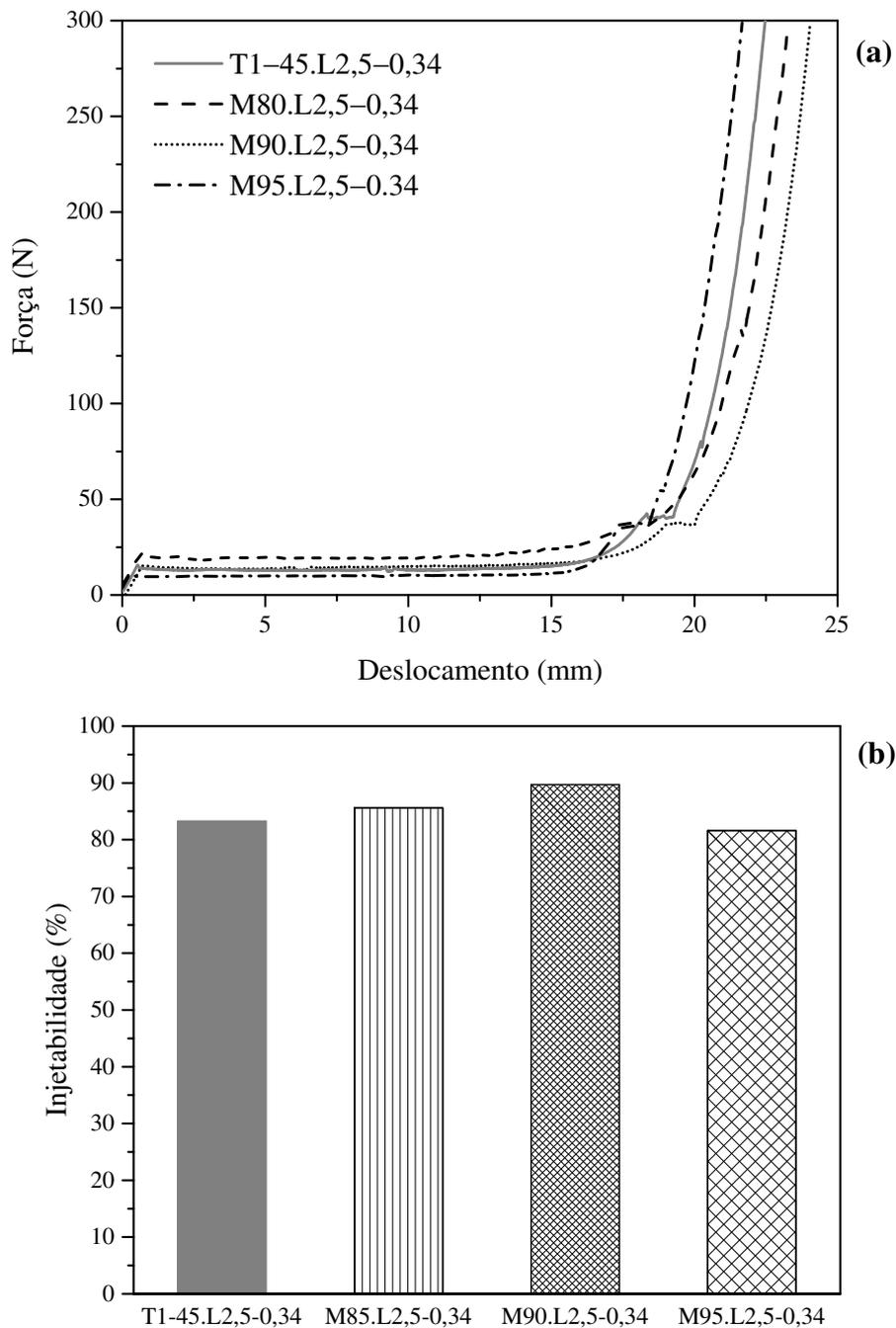
Pastas Cimentícias	RLP (ml g <sup>-1</sup> )			Pasta não extrudida
	A1*	A2*	A3*	
T2-300.L0-0,28	0,30	0,30	-	0,22
T2-300.L2,5-0,28	0,27	0,31	-	0,21
T2-300.L2,5-0,34	0,34	0,31	-	0,18
T2-300.L3-0,28	0,39	-	-	0,23

\*A1,A2 e A3: amostras das pastas injetadas durante a extrusão

Analisando os resultados da Tabela 5.3 verifica-se que a homogeneidade inicial das pastas não se manteve ao longo do processo de extrusão. Os valores de RLP das primeiras amostras recolhidas (A1, A2) são mais elevados; o processo parou antes da terceira amostra (A3) poder ser recolhida; os valores de RLP das porções de pastas retidas na seringa são significativamente mais baixos do que os da pasta inicial. Estes resultados evidenciam que o “*filter pressing effect*” ocorreu de forma extensiva nestas pastas cimentícias. Este fenómeno deve-se a uma DTP inadequada. Sob a ação da força aplicada que origina a deformação da pasta, as partículas e os aglomerados de maiores dimensões colidem uns com os outros e o

sistema vai perdendo gradualmente a capacidade de escoar de forma homogênea. As partículas e os aglomerados de maiores dimensões tendem a formar uma estrutura permeável que vai deixando passar o líquido e partículas mais finas. Isso explica o porquê da primeira parte a ser extrudida é mais húmida (maior RLP). A exaustão gradual do líquido que permitia o fluxo faz com que o processo de extrusão pare explicando porque é que a pasta retida na seringa fica com uma RLP mas baixa.

A segunda série de testes preliminares consistiu no estudo da influência da DTP na injetabilidade das pastas cimentícias. Para tal fixaram-se a fase líquida (L2,5) e a RLP (0,34 ml g<sup>-1</sup>). Testaram-se quatro pós diferentes os seguintes pós (T1-45, M85, M90, M95). A Figura 5.6 (a) apresenta curvas de força aplicada *vs* deslocamento do êmbolo da seringa. Contrariamente às curvas anteriormente mostradas, estas apresentam um patamar longo durante a maior parte do processo de extrusão. Esta característica revela que a injetabilidade foi significativamente melhorada, como se confirma pelo gráfico da Figura 5.6 (b) que mostra a percentagem de pasta extrudida. O tamanho médio ( $D_{50}$ ) dos pós utilizados nestas formulações de pastas variou de acordo com a seguinte ordem crescente: T1-45 < M90  $\approx$  M95 < M85. Confirma-se, assim, que a injetabilidade é muito sensível a variações da distribuição granulométrica dos pós de partida, tal como tem vindo a ser referenciado ao longo deste trabalho. No entanto, estes resultados não suportam algumas opiniões simplistas publicadas na literatura, segundo as quais, quanto mais finas as partículas melhor é a injetabilidade.<sup>105</sup> Com efeito, a injetabilidade da pasta cimentícia preparada com o pó mais fino foi de 83%, portanto inferior aos 86% de M85 e 90% de M90, decrescendo depois para 82% no caso da pasta M95. Os dados da Tabela 5.2, a Figura 5.2 e a Figura 5.3 mostram que as distribuições granulométricas usadas aqui não são muito distintas entre si, no entanto, as pequenas diferenças existentes entre os pós, alteram a capacidade de extrusão das pastas, como se conclui ao observar os resultados apresentados na Figura 5.6 (a) e (b).



**Figura 5.6** Influência da distribuição granulométrica na injetabilidade dos CPCs: (a) curvas de força de extrusão em função do deslocamento do êmbolo da seringa; (b) percentagem de injetabilidade.

Estes resultados provam que o tamanho e a distribuição granulométrica das partículas são fatores cruciais na determinação da injetabilidade de uma pasta. No entanto, não confirmam as tendências relatadas na literatura de melhoria da injetabilidade com a redução dos tamanhos das partículas. A melhoria desta propriedade passa por um ajuste adequado do tamanho e da DTP.

Tal como no anterior conjunto de testes preliminares, também neste caso se avaliou a homogeneidade das pastas durante o processo de extrusão das mesmas. Os resultados de RLP obtidos para as amostras sucessivamente recolhidas ao longo do processo de extrusão estão apresentados na Tabela 5.4.

**Tabela 5.4** Avaliação da homogeneidade das pastas cimentícias com diferentes tamanhos e distribuições de partícula, durante e após a extrusão.

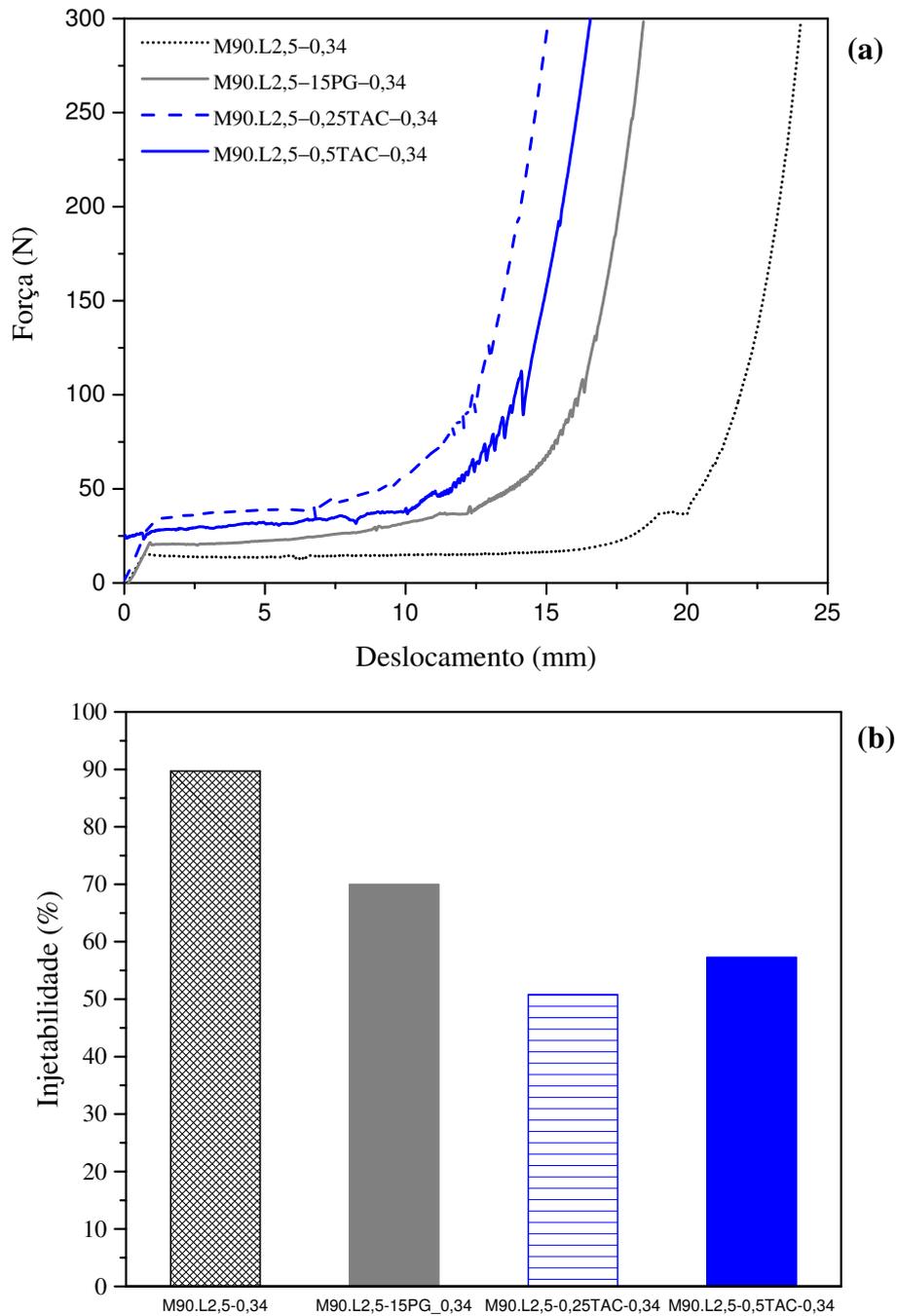
Pastas Cimentícias	RLP (ml g <sup>-1</sup> )			Pasta não extrudida
	A1*	A2*	A3*	
T1-45.L2,5-0,34	0,31	0,28	0,30	0,15
M85.L2,5-0,34	0,30	0,32	0,32	0,26
M90.L2,5-0,34	0,33	0,29	0,30	0,22
M85.L2,5-0,34	0,32	0,31	0,29	0,23

\*A1,A2 e A3: amostras das pastas injetadas durante a extrusão

Pela observação dos resultados presentes na Tabela 5.4, verifica-se que o “*filter pressing effect*” também ocorreu nestas pastas mas não de forma tão extensiva como nas pastas estudadas anteriormente. Consequentemente, estas pastas mantiveram um grau de homogeneidade superior nas três amostras recolhidas ao longo do processo de extrusão, baixando drasticamente a RLP na pasta remanescente no interior da seringa.

O terceiro conjunto de experiências consistiu no estudo da influência de aditivos na fase líquida na injetabilidade de pastas cimentícias preparadas com a mistura de pós M90 que no segundo conjunto de testes extrudiu cerca de 90%. Sabendo que a homogeneidade de uma pasta cimentícia é melhor preservada quando a viscosidade intrínseca da fase líquida é superior,<sup>84</sup> testaram-se os efeitos da adição separada de dois polímeros modificadores da reologia das pastas, nomeadamente o PEG 600 (15%) e o Aristoflex<sup>®</sup> TAC (0,25% e 0,5%).

A Figura 5.7 (a) apresenta as curvas de extrusão das várias formulações e a Figura 5.7 (b) mostra as respetivas percentagens de injetabilidade. Os resultados revelam que os modificadores reológicos adicionados ao líquido para aumentarem a sua viscosidade intrínseca pioraram a injetabilidade das pastas. É ainda notável que causam perturbações nos perfis das curvas ao longo da segunda fase de extrusão. Verifica-se ainda que o aumento da quantidade de Aristoflex<sup>®</sup> TAC favorece a injetabilidade quando comparado com uma menor quantidade do mesmo aditivo.



**Figura 5.7** Influência dos aditivos na fase líquida na injetabilidade dos CPCs: (a) curvas de força de extrusão em função do deslocamento do êmbolo da seringa; (b) percentagem de injetabilidade.

Segundo Pina *et al.*<sup>82</sup> a adição de PEG aumenta o tempo de presa, pois sendo um agente hidrofílico atrai para si as moléculas de água que se tornam menos livres para reagirem com a fase sólida. No entanto, no presente estudo, a sua adição não teve o intuito de alterar o IST mas sim alterar a viscosidade das pastas, uma vez que este agente favorece o fluxo e

impede a aglomeração de partículas durante o processo de extrusão.<sup>82,177</sup> Assim sendo, o efeito esperado seria o melhoramento da injetabilidade das pastas através da adição quer de PEG 600 quer de Aristoflex<sup>®</sup> TAC. Todavia, tal facto, não se verificou.

As perturbações observadas nas curvas de extrusão, e os patamares mais curtos durante a segunda fase do processo sugerem que os aditivos testados exacerbaram a tendência das pastas cimentícias para a segregação, um facto que é confirmado pelos resultados de avaliação do “*filter pressing effect*” apresentados na Tabela 5.5.

**Tabela 5.5** Avaliação da homogeneidade das pastas cimentícias com diferentes fases líquidas, durante e após a extrusão.

Pastas Cimentícias	RLP (ml g <sup>-1</sup> )			Pasta não extrudida
	A1*	A2*	A3*	
<b>M90.L2,5–15PG–0,34</b>	0,33	0,35	0,31	0,20
<b>M90.L2,5–0,25TAC–0,34</b>	0,33	0,34	–	0,25
<b>M90.L2,5–0,5TAC–0,34</b>	0,33	0,35	–	0,24

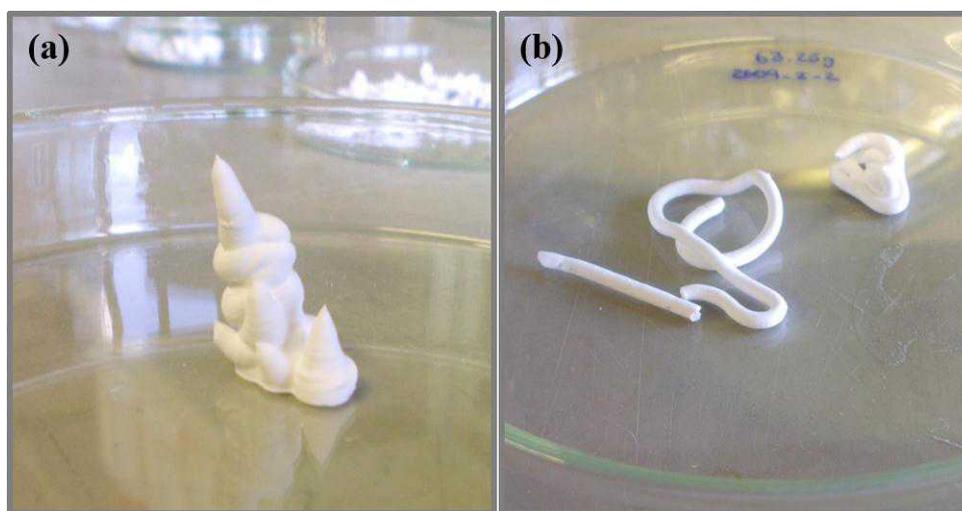
\*A1, A2 e A3: amostras das pastas injetadas durante a extrusão

Os resultados da Tabela 5.5 mostram que nas formulações com Aristoflex<sup>®</sup> TAC, a primeira amostra recolhida tem uma RLP semelhante à da pasta inicial, seguindo-se um aumento da RLP na segunda amostra e, finalmente, a cessação do processo de extrusão. O enriquecimento da segunda amostra em líquido é consistente com a tendência de bloqueio gradual do fluxo devido à segregação e com o decréscimo da RLP na pasta remanescente na seringa. Em contrapartida, a pasta M90.L2,5–15PG–0,34, parece não ser tão homogénea, pois os valores de RLP ao longo do processo de extrusão variam consideravelmente. É de realçar que as formulações com os aditivos aparentavam possuir uma viscosidade adequada para as pastas de CPCs injetáveis, tanto durante o processo de mistura como durante o processo de extrusão. Mas os resultados apresentados na Figura 5.7 e na Tabela 5.5 não suportam quaisquer benefícios derivados da adição destes polímeros.

Convém realçar aqui que estes resultados contraintuitivos não põem necessariamente em causa a razoabilidade do princípio que norteou a adição dos modificadores reológicos, isto é, a procura de benefícios esperados, em termos de injetabilidade e de homogeneidade de uma pasta cimentícia, quando a viscosidade intrínseca da fase líquida é aumentada.<sup>84</sup> Serão necessários estudos adicionais para compreender melhor as razões que estão por detrás deste comportamento aparentemente anómalo. Com base nos resultados obtidos admite-se que estes

aditivos interajam de algum modo com a superfície das partículas do pó e/ou com as espécies iônicas em solução derivadas da dissolução do  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , conferindo ao sistema uma certa estruturação interna que altera negativamente o comportamento reológico.

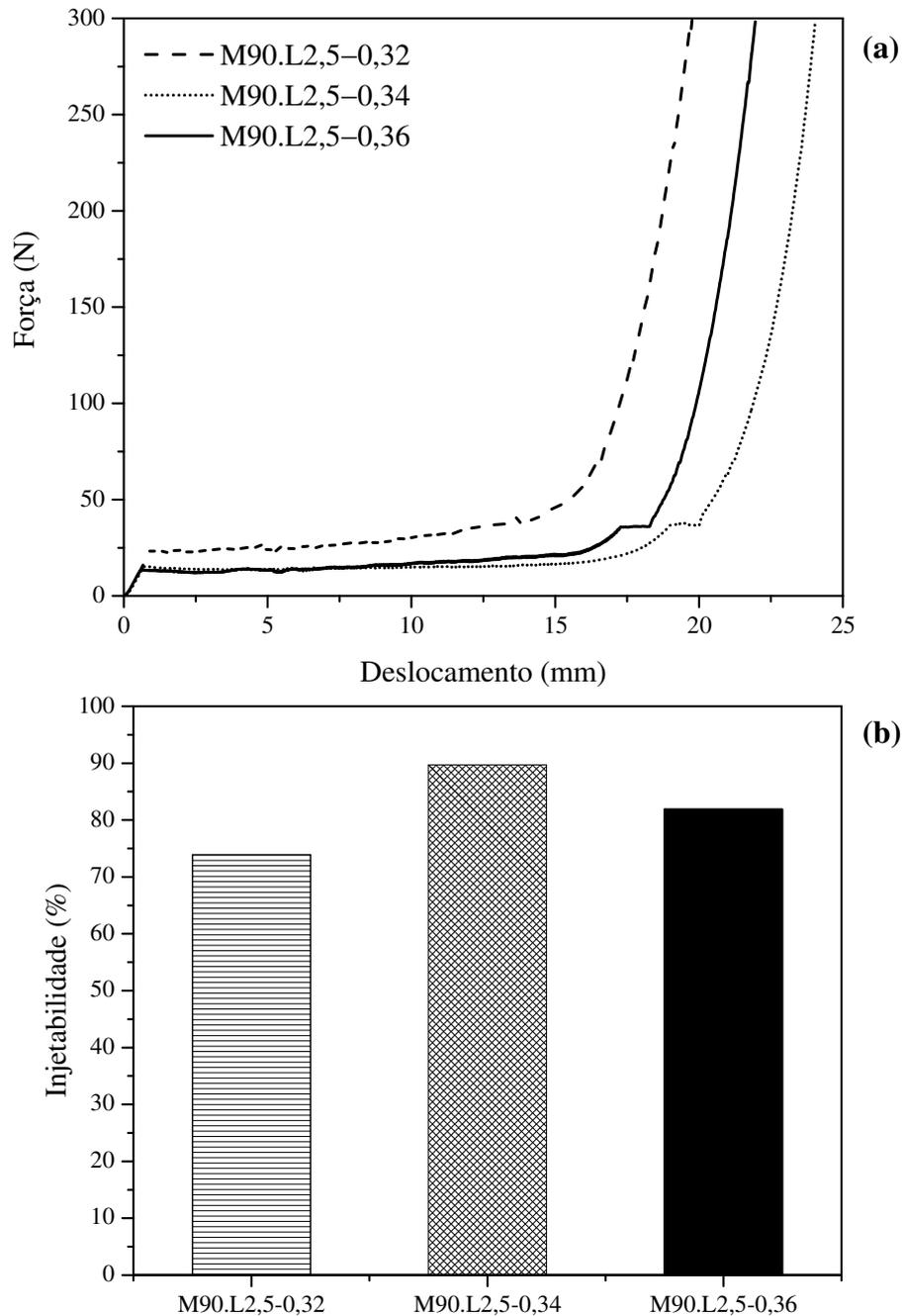
A coesão das pastas cimentícias é uma outra característica essencial, como referido no Capítulo II, secção 2.2.4.3, embora não exista ainda um consenso entre investigadores acerca de como esta propriedade deve ser medida.<sup>79</sup> Devido a escassez de tempo disponível para executar o trabalho experimental no âmbito desta tese, esta característica não pode ser avaliada de uma forma sistemática. Contudo, verificou-se que um dos benefícios dos aditivos foi a melhoria significativa da coesão das pastas cimentícias como se infere das fotografias das amostras extrudidas apresentadas na Figura 5.8. A forma cilíndrica do extrudido era retida nas pastas com os aditivos, enquanto na ausência destes a pasta se amontoava em formas menos definidas.



**Figura 5.8** Porções de pastas cimentícias injetadas após secagem durante 48 h a  $100^\circ\text{C}$ . (a) M90.L2,5-0,34 e (b) M90.L2,5-0,25TAC-0,34.

No último conjunto de experiências estudou-se o efeito da RLP na injetabilidade das pastas cimentícias. Para este estudo selecionou-se a mistura de pós M90 e o líquido L2,5. Os novos valores da RLP testados foram:  $0,32 \text{ ml g}^{-1}$ ,  $0,36 \text{ ml g}^{-1}$  e  $0,38 \text{ ml g}^{-1}$ , os quais serão comparados com os obtidos a  $\text{RLP} = 0,34 \text{ ml g}^{-1}$ , acima discutidos.

Estranhamente, verificou-se que a percentagem de injetabilidade era máxima para  $\text{RLP} = 0,34 \text{ ml g}^{-1}$ , diminuindo, portanto com o aumento da RLP. Quando a RLP foi aumentada para  $0,38 \text{ ml g}^{-1}$ , a injetabilidade da pasta foi praticamente nula. Por isso, só os resultados de injetabilidade das outras pastas estão apresentados na Figura 5.9.



**Figura 5.9** Influência da RLP na injetabilidade dos CPCs (a) curvas de força de extrusão em função do deslocamento do êmbolo da seringa; (b) percentagem de injetabilidade.

As curvas de extrusão em função do deslocamento do êmbolo da seringa (Figura 5.9 (a)) e a percentagem de injetabilidade (Figura 5.9 (b)) são muito consistentes, sendo afetadas do mesmo modo pela RLP. Esta dependência atípica e contraintuitiva das curvas de extrusão contraria tudo o que até agora tem sido relatado acerca dos efeitos desta

variável experimental.<sup>9,45,84,107,162</sup> Contudo, uma reflexão mais aprofundada pode trazer uma melhor compreensão para a tendência observada. Foi demonstrado que o fluxo promovido pela sucção de moldes de gesso aquando do enchimento por barbotina usando suspensões de misturas bimodais de partículas de SiC dispersas em soluções aquosas de dispersantes promovia a segregação por tamanhos, fenómeno conhecido por “*Clogging Effect*”.<sup>178</sup> A parte interna de amostras maciças consolidadas por esta técnica ficava enriquecida em partículas grossas, enquanto as partículas finas formavam uma camada periférica, visíveis a olho nu devido à coloração diferente dos pós fino e grosso, sendo a razão de tamanhos médios grosso/fino de cerca de 10. Esta segregação era mais acentuada em condições de máxima desfloculação (0,15 wt.%) e para o teor mais baixo de sólidos em suspensão (62,5 wt.%). O afastamento destas condições (teor insuficiente ou excessivo de desfloculante, ou aumento da concentração de sólidos) tendiam a reduzir a segregação. A máxima extensão do fenómeno de segregação foi atribuída à maior liberdade das partículas dispersas para se moverem individualmente sob a ação da sucção capilar dos moldes de gesso, e para se depositarem nas paredes do molde de modo a formarem um empacotamento denso e pouco permeável. Note-se que a razão entre a massa de uma partícula com, por exemplo, 10  $\mu\text{m}$  e 1  $\mu\text{m}$  é de 1000. Não admira, pois que as partículas finas sejam muito mais levas a depositarem-se. Os resultados apresentados na Figura 5.9 podem ser igualmente explicados com base neste conceito do “*Clogging Effect*”. Com efeito, a força motriz do processo de segregação em pastas cimentícias é a deformação provocada pela força aplicada. Quando a força motriz do processo é suficientemente elevada, tal como no enchimento sob pressão, a segregação não tem tempo de ocorrer.<sup>178</sup> Isso foi também confirmado por Bohner *et al.*<sup>129</sup> em pastas cimentícias à base de CaP. Estes autores referem que a tendência para a segregação era mitigada com uma elevada velocidade de extrusão (254  $\text{mm min}^{-1}$ ).

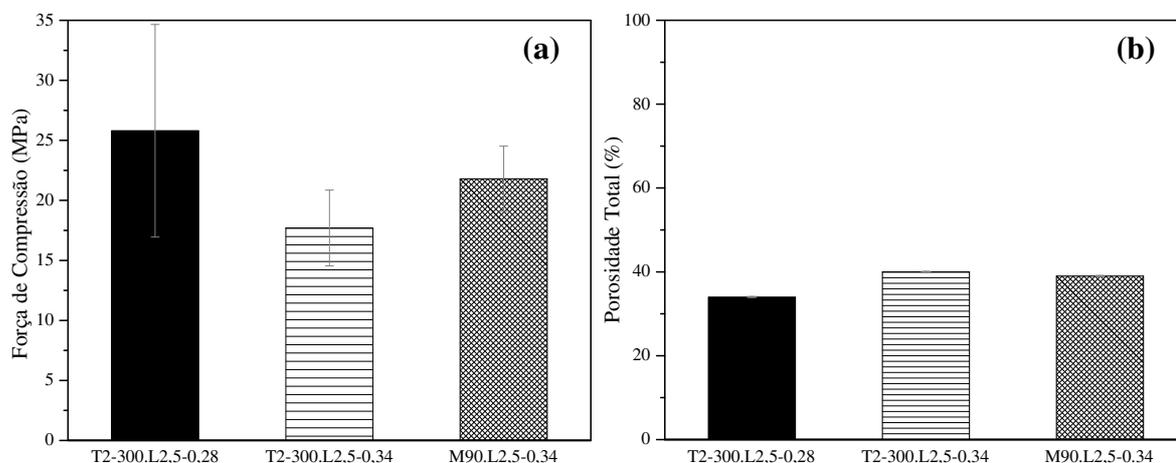
Nas condições de extrusão usadas neste trabalho (velocidade do êmbolo da seringa de 15  $\text{mm min}^{-1}$ ) as partículas finas têm tempo suficiente para se movimentarem através do bolo de partículas/aglomerados mais grossos que se vai formando gradualmente devido às suas colisões durante o fluxo e que atua como uma espécie de filtro. A liberdade das partículas finas aumenta com a diminuição da viscosidade da pasta, a qual, por sua vez diminui com o aumento da RLP. Por outras palavras, os resultados obtidos no âmbito deste trabalho são perfeitamente enquadráveis no conceito do “*Clogging Effect*” acima referido, sendo uma “nova” interpretação nesta área das pastas cimentícias. Estes resultados atestam também que a distribuição granulométrica do pó ainda está afastada das condições ideais para ser extrudida na ausência de aditivos ou na presença dos aditivos testados no âmbito deste trabalho.

Admite-se que a escolha de aditivos poliméricos mais adequados, nomeadamente, de cadeia mais longa possa trazer benefícios em termos de injetabilidade partindo do mesmo pó.

Em resumo, os resultados obtidos no âmbito deste trabalho confirmam que as pastas cimentícias são sistemas muito complexos e que as suas propriedades de fluxo dependem de numerosos fatores com papéis interdependentes, tornando a destrição entre cada um deles por vezes muito difícil. No entanto, a distribuição dos tamanhos de partícula é um dos fatores mais cruciais e deve ser objeto de um estudo futuro sistemático e prioritário. Só depois desta abordagem é que faz sentido fazerem-se outros refinamentos das propriedades das pastas cimentícias através da variação de outros fatores relevantes tais como a viscosidade intrínseca do líquido, a RLP e a presença de aditivos.

### 5.3.2.3 Avaliação das propriedades mecânicas e porosidade

A dependência das propriedades mecânicas e da porosidade dos CPCs foi estudada em função da RLP em três composições distintas de cimentos: T2-300.L2,5-0,28, T2-300.L2,5-0,34 e M90.L2,5-0,34. Pretendeu-se, com esta escolha, averiguar também, de forma indireta, os efeitos da temperatura de calcinação (1250°C e 1500°C). Os valores da RC foram medidos após o endurecimento das pastas cimentícias imersas durante 24 h em PBS a 37°C. Estes valores são mostrados na Figura 5.10 (a). A Figura 5.10 (b) apresenta os valores da porosidade dos CPCs. Os valores médios de RC dos CPCs situam-se entre 22–26 MPa, sendo a formulação T2-300.L2,5-0,28 aquela que demonstrou melhor desempenho. A mesma formulação com uma RLP superior (RLP=0,34 ml g<sup>-1</sup>) resultou em valores de RC inferiores como seria de esperar da maior quantidade de fase líquida usada. No entanto, para a mesma RLP=0,34 ml g<sup>-1</sup>, o uso da mistura de pós M90.L2,5-0,34 resultou em valores de RC superiores. Esta diferença pode ser atribuída a uma melhoria do empacotamento das partículas. Esta hipótese é pelo menos em parte confirmada por uma ligeira redução concomitante da porosidade dos CPCs. Assim, confirma-se que a distribuição granulométrica das partículas também influencia a RC e a porosidade dos CPCs para além da RLP.



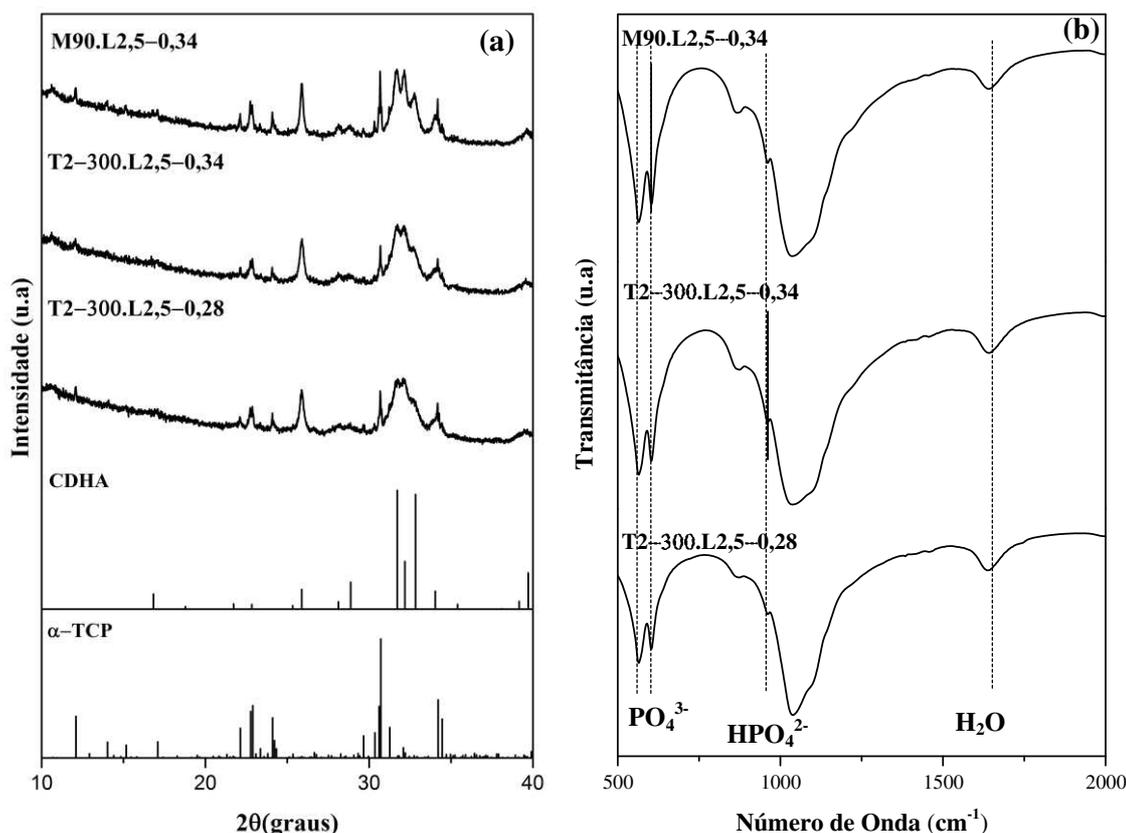
**Figura 5.10** (a) Resistência dos CPCs à compressão; (b) porosidade total dos CPCs

Nos gráficos da Figura 5.10 mostram uma boa correlação entre si, isto é, os valores de RC e porosidade são inversamente proporcionais. É de realçar que os valores de RC medidos para a formulação T2-300.L2,5-0,28 apresentam um desvio padrão relativamente elevado, pois os valores obtidos encontram-se num intervalo amplo, sendo que o valor máximo registado foi de 38 MPa e o valor mínimo foi de 19 MPa. Tais discrepâncias podem estar relacionadas com diferenças de tamanho dos defeitos estruturais derivados da oclusão de bolhas de ar aquando da preparação dos provetes. Este facto foi mais notório especialmente no caso da menor RPL, cuja pasta mais viscosa era mais propícia à retenção de bolhas de ar. A retenção de bolhas de ar era menos evidente nas outras duas formulações, resultando num menor desvio padrão. Desvios de paralelismo entre as faces dos provetes (retificadas manualmente) usados nos testes mecânicos são outras causas possíveis das discrepâncias observadas. Para a formulação T2-300.L2,5-0,34 obteve-se o valor máximo de 22 MPa e mínimo de 15 MPa. Já para M90.L2,5-0,34 o valor máximo de RC foi de 26 MPa e o mínimo de foi de 17 MPa. Observa-se assim que as RC medidas em provetes húmidos se encontram dentro da gama de valores reportados para o osso esponjoso (10–30 MPa).<sup>21</sup>

É conhecido que a RC dos CPCs se encontra relacionada com o desenvolvimento e o crescimento de um emaranhado de agulhas dos cristais precipitados,<sup>90</sup> sendo que a presença de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  acelera a formação da CDHA devido ao efeito do ião comum,<sup>80</sup> proporcionando ao CPC boas resistências à compressão, após 24 h. O aumento contínuo das propriedades mecânicas de CPCs de apatite foi reportado num estudo *in vivo*.<sup>179</sup> Estudos adicionais seriam necessários para verificar a evolução da RC dos CPCs produzidos neste estudo ao longo do tempo.

### 5.3.2.4 Fases cristalinas e microestrutura

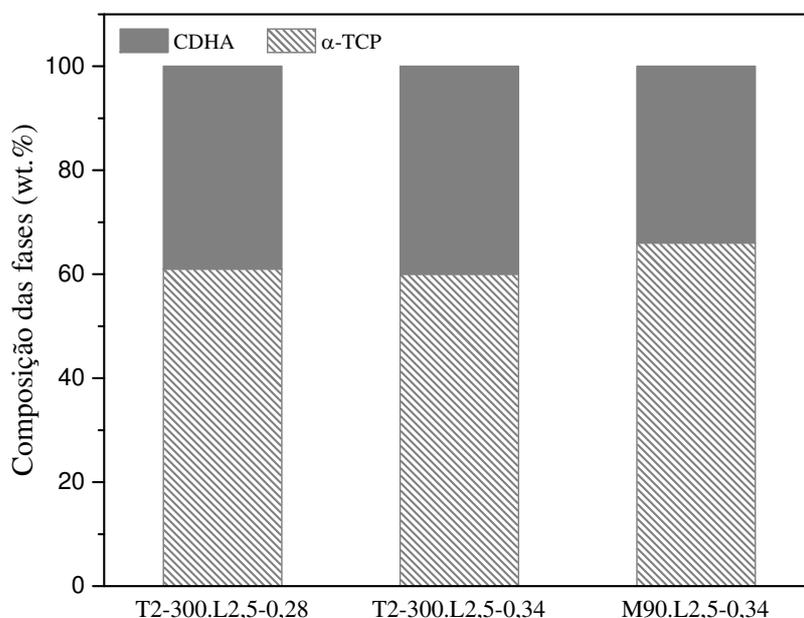
De acordo com a Equação 3 (Capítulo II, secção 2.2.3) é espetável a ocorrência da formação de  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$  (CDHA) nos CPCs. De forma a verificar quais as fases cristalinas formadas, os CPCs imersos em PBS durante 24 h a 37°C e a 100% de humidade, foram caracterizados através de DRX e FTIR. Os difratogramas de DRX dos diferentes CPCs estão apresentados na Figura 5.11 (a), conjuntamente com as fichas padrão da CDHA (PDF 01-071-6794) e do  $\alpha$ -TCP (PDF 04-010-4348) usadas na identificação das fases cristalinas. A análise qualitativa destes difratogramas permite identificar a presença de duas fases distintas, o  $\alpha$ -TCP com picos de difração notórios a  $2\theta=30.7^\circ$  e na zona entre  $22^\circ$ – $23^\circ$ , e a CDHA com picos de difração bem visíveis a  $2\theta=32^\circ$  e a  $33^\circ$ , tornando-se difícil avaliar qual delas é a fase maioritária. A presença do  $\alpha$ -TCP nos CPCs indica que esta fase não foi totalmente hidrolisada para CDHA durante o período de 24 h de imersão em PBS.



**Figura 5.11** (a) Difratogramas dos CPCs (b) espectros de FTIR. Ambos foram obtidos após imersão em PBS durante 24h a 100% de humidade. Para identificação das fases cristalinas no DRX utilizaram-se as fichas PDF 01-071-6794 para CDHA e 04-010-4348 para o  $\alpha$ -TCP.

Os resultados obtidos através de DRX foram complementados com a análise por FTIR. Nos espectros de FTIR apresentados na Figura 5.11 (b) são visíveis bandas de absorção a  $563\text{ cm}^{-1}$  e a  $603\text{ cm}^{-1}$  correspondentes aos modos vibracionais do tetraedro  $\text{PO}_4$ . Podem ainda observar-se outras bandas devidas a este grupo, nomeadamente a  $961\text{ cm}^{-1}$  e a  $1037\text{ cm}^{-1}$ . Tais bandas confirmam a presença de  $\alpha$ -TCP. <sup>167</sup> A  $875\text{ cm}^{-1}$  encontra-se assinalada uma banda de absorção que é comum aos três CPCs produzidos. Esta banda corresponde a uma ligação que é característica de CDHA. <sup>180</sup> Os modos vibracionais presentes nos espectros de FTIR confirmam a presença das duas fases identificadas pelo método de DRX.

De modo a perceber qual a fase cristalina maioritária nos CPCs, procedeu-se a uma análise semi-quantitativa que tem associado a um erro de  $\pm 5\text{ wt.}\%$ . Através da observação da Figura 5.12 verifica-se que o  $\alpha$ -TCP é a fase cristalina maioritária (60–63%) nos CPCs após 24 h de imersão em PBS, a  $37^\circ\text{C}$  e 100% de humidade.



**Figura 5.12** Composição dos CPCs (wt.%) obtida por análise semi-quantitativa efetuada através do método RIR.

As características morfológicas das fases presentes nos CPCs visualizadas por SEM estão apresentadas na Figura 5.13. Foram obtidas imagens da superfície exterior bem como de superfícies de fratura dos CPCs imersos em PBS durante 24 h a  $37^\circ\text{C}$  a 100% de humidade.

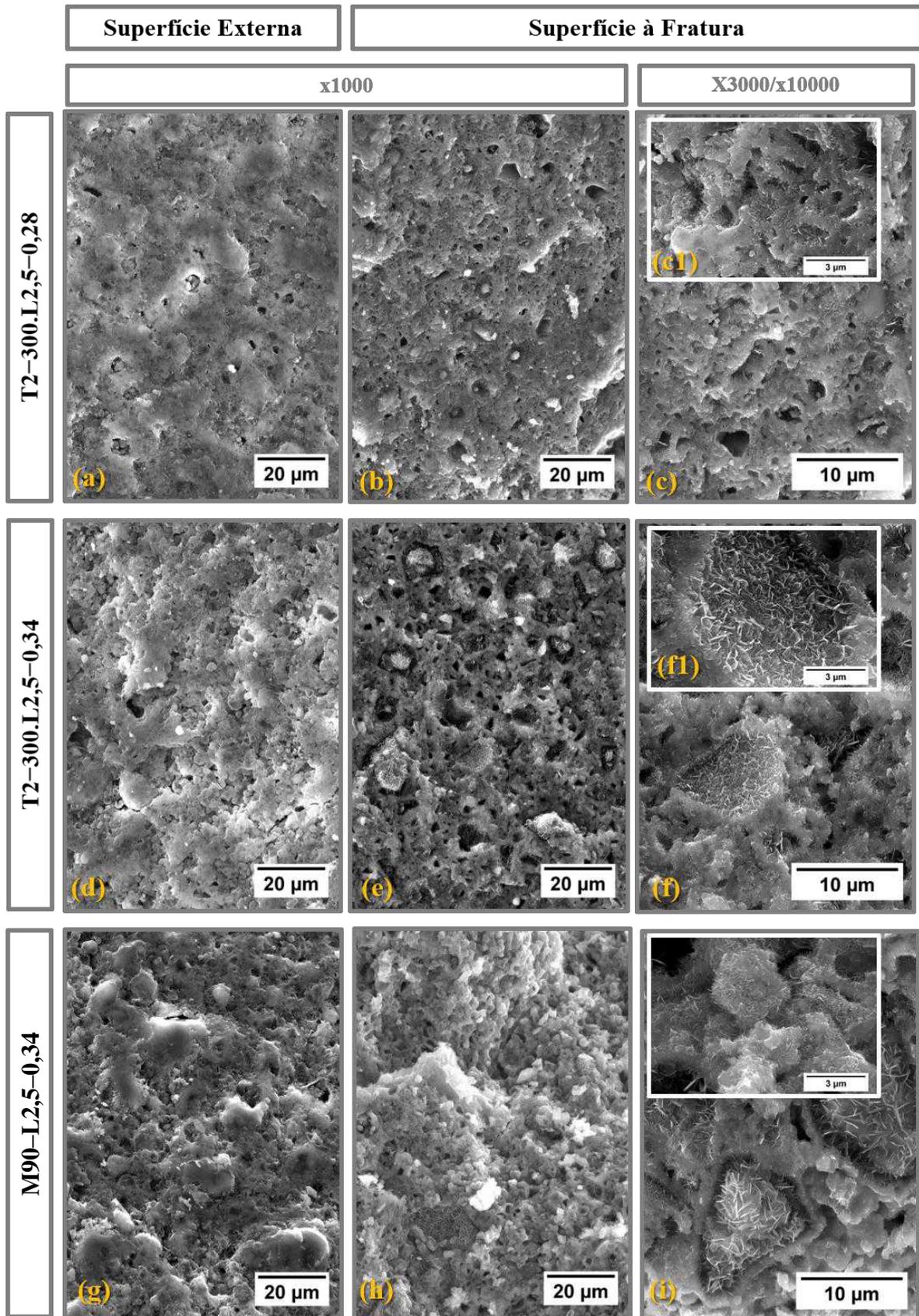


Figura 5.13 Micrografias dos CPCs imersos em PBS durante 24 h, a 37°C e humidade 100%.

As características mais visíveis numa primeira análise às micrografias são a existência de dois tipos distintos de microestruturas e também os diferentes níveis de porosidade existentes nos CPCs. Analisando a superfície externa dos CPCs verifica-se a existência de apenas um tipo de microestrutura correspondente ao  $\alpha$ -TCP. Quando se analisam as micrografias obtidas numa superfície fraturada conseguem observar-se dois tipos distintos de microestruturas, nomeadamente na zona de fractura e no interior dos poros. Para além disso verifica-se que os CPCs produzidos com uma RLP mais elevada são mais porosos, como seria de esperar. A formação de cristais de CDHA emaranhados é particularmente visível no interior dos poros que foram impregnados com a solução de PBS durante o período de imersão, promovendo a hidrólise do  $\alpha$ -TCP. Na micrografia (i) são bem visíveis os cristais que se formaram no interior dos poros abertos. Nas formulações com maior RLP o crescimento desses cristais é mais perceptível. Estas micrografias confirmam o que anteriormente foi observado e relatado, ou seja, a formação de duas fases cristalinas distintas nos CPCs após endurecimento.

### 5.3.3 Possíveis estratégias para melhorar a injetabilidade de CPCs

O objetivo primordial deste trabalho consistiu na produção de pastas cimentícias injetáveis à base de  $\alpha$ -TCP. Como tem vindo a ser relatado ao longo do estudo, são diversos os fatores envolvidos que determinam as propriedades de fluxo de uma pasta cimentícia. Os vários conjuntos de testes realizados confirmaram que esses fatores não exercem efeitos separados, mas interdependentes, os quais importam harmonizar de modo a que o fluxo se faça de uma forma homogénea e sem a ocorrência do “*filter pressing effect*”. Os numerosos estudos que incidem a sua pesquisa na injetabilidade das pastas cimentícias dá conta da relevância deste tópico,<sup>9,45,107,108,129,130,162,171,172</sup> já que um bom comportamento no fluxo é um requisito essencial para a utilização dos CPCs em cirurgias minimamente invasivas. Assim o esforço actual vai no sentido de encontrar estratégias para o melhoramento da injetabilidade, incluindo a utilização de partículas de forma esférica,<sup>9</sup> a adição de iões dopantes à fase sólida e de aditivos poliméricos modificadores de reologia.<sup>162</sup>

Os testes preliminares permitiram alguns progressos na compreensão do papel de alguns desses fatores e o ajuste gradual das formulações que conduziram a percentagens de injetabilidade relativamente elevadas (cerca de 90% do volume total), superior, portanto aos cerca de 66% reportados para de pastas cimentícias à base de  $\alpha$ -TCP, tais como o Norian<sup>®</sup>SRS.<sup>110</sup> Apesar de alguns progressos feitos, ficou claro que a otimização de todos os fatores relevantes requiere ainda esforços continuados.

A DTP joga um papel mais importante do que o tamanho médio de partícula. Assim, a primeira estratégia a adotar consiste na busca da distribuição granulométrica ideal para um dado conjunto de outras condições experimentais fixas. Melhorias adicionais são possíveis através do aumento da viscosidade intrínseca do líquido, o que pode conseguir-se usando aditivos de elevado peso molecular. As outras variáveis incluem a composição da fase líquida que determina a reatividade e os tempos de presa (IST, FST) e a sua fração nas pastas cimentícias (RLP), pelo que devem ser exploradas como fatores subordinados aos primeiros.

Algumas distribuições granulométricas ideais foram encontradas em determinados contextos, nomeadamente em pastas cimentícias CPCs à base de  $\beta$ -TCP+MCPM que extrudiram na sua totalidade.<sup>9</sup> No entanto, a transposição dessas condições para pastas cimentícias à base de  $\alpha$ -TCP não é trivial porque o  $\alpha$ -TCP é formado a temperaturas mais elevadas, fica fortemente aglomerado, e a sua moagem gera distribuições granulométricas não completamente previsíveis. Por outro lado, nos CPCs à base de  $\beta$ -TCP+MCPM o tamanho das partículas do MCPM (mais solúvel) não costuma ser considerado. Além disso, a composição da fase líquida é também diferente. Portanto, torna-se relevante efetuar um estudo sistemático de forma a conhecer e a controlar a DTP ideal para extrudir.

A medição e controlo da viscosidade das propriedades de fluxo das pastas cimentícias é de elevada importância. Pastas com um comportamento reoespessante não devem ser submetidas a testes de injetabilidade, já que este comportamento deixa antever a ocorrência do “*filter pressing effect*”. Por outro lado, testes reológicos em modo oscilatório podem ser de grande utilidade na descrição da consistência interna das pastas, do modo como a sua estrutura é destruída durante a extrusão, e como volta a ser recuperada após a extrusão. Este tipo de informação pode ser de grande utilidade para ajudar a prever a coesão das pastas.

## 5.4 Conclusão

Os resultados apresentados e discutidos ao longo deste Capítulo demonstraram que o objetivo inicialmente proposto para pastas cimentícia injetáveis à base de  $\alpha$ -TPC foi atingido num grau satisfatório com percentagens de injetabilidade de cerca de 90%. Para além disso, este estudo contribuiu para uma melhor compreensão acerca dos fatores que influenciam a injetabilidade de uma pasta. Relativamente às propriedades dos CPCs estudadas neste trabalho pode concluir-se que:

1. O IST e FST das pastas produzidas encontram-se acima dos valores de referência considerados ideais para aplicações clínicas. No entanto, os valores obtidos podem ser considerados razoáveis para aplicações clínicas. Estes parâmetros podem ser alterados através de um melhor ajuste da distribuição granulométrica e com a adição de acelerador à fase líquida, tal como o  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .
2. As pastas cimentícias exibiram diferentes graus de injetabilidade, sendo que a formulação M90.L2,5-0,34 foi a que melhor se comportou, injetando cerca de 90 wt.%. Este valor é superior aos relatados na literatura e também superior às formulações à base de  $\alpha$ -TCP disponíveis no mercado.
3. Apesar de não serem feitos testes de coesão, a visualização da forma da pasta injectada permite concluir que esta não apresenta grande coesão.
4. A resistência à compressão medida a húmido e a porosidade total dos CPCs apresentam valores satisfatórios, idênticos aos valores de resistência à compressão do osso trabecular. Estes valores são difíceis de comparar com as formulações que existem no mercado, pois não é conhecido o método utilizado para a medição desta propriedade, uma vez que, quando medida a seco, o valor aumenta significativamente.
5. Verificou-se a hidrólise gradual do  $\alpha$ -TCP para CDHA, tal como esperado. Ao fim de 24 h de imersão em PBS, o grau de transformação variou entre 37–40% tendo sido ligeiramente mais extensivo no caso de partículas mais finas de  $\alpha$ -TCP.

# CAPÍTULO VI

---

CLINICAL EVALUATION REPORT



## Clinical evaluation report (CER)

No âmbito deste projeto em parceria com a Reg4life, foi efetuado o relatório da avaliação clínica que permite efetuar a avaliação e a análise de dados clínicos relativos a um determinado dispositivo médico, neste caso, do InjectOs, apresentado neste Capítulo. Esta avaliação tem como objetivo principal verificar o desempenho do InjectOs por equivalência com CPCs comercializados e também a sua segurança aquando a utilização em doentes. Com o intuito de colocar um produto no mercado há a necessidade de efetuar um CER que tem por base a MEDDEV 2.7.1, garantindo assim que o dispositivo atende a todos os requisitos essenciais. A avaliação clínica foi efetuada através de comparação por outros CPCs idênticos já disponíveis no mercado. Para tal, foi efetuada uma pesquisa com o intuito de conhecer quais os produtos disponíveis no mercado que apresentam semelhanças à formulação desenvolvida em laboratório, sendo os que mais parecem apresentar o Norian<sup>®</sup>SRS, Cementek<sup>®</sup>, Calcibon<sup>®</sup> e Biopex<sup>®</sup>. É de realçar que este Capítulo se encontra escrito na língua inglesa, língua universal e obrigatória, uma vez que se trata de legislação a nível europeu e, também porque não existe nenhum Organismo Notificado em Portugal. Para além disso é ainda importante frisar que o CER foi elaborado para uma formulação que será produzida posteriormente em laboratório e que não se encontra descrita no Capítulo anterior.

A Reg4life é uma empresa de Serviços Médicos Especializados, focada em I&D de materiais e dispositivos biomédicos especialmente para regeneração óssea em odontologia, ortopedia e aplicações em engenharia de tecido. Têm como principal missão ser uma referência na investigação e na prestação das melhores soluções de saúde nas áreas da medicina regenerativa.



Biocant - Parque Tecnológico de Cantanhede Núcleo 4, Lote 14  
3060-197 Cantanhede  
Portugal  
+351 231 419 041  
Email : geral@reg4life.com  
www.reg4life.com

# InjectOs

## 6.1 About this document

Structure of this document is supported on document “MEDDEV. 2.7.1 Rev.3: CLINICAL EVALUATION: A GUIDE FOR MANUFACTURERS AND NOTIFIED BODIES” and Reg4life procedure WP 15 - Clinical Evaluation.

### 6.1.1 Revision History

Edition nº	Reason for this revision	Date
1	First publish	2016/05/24

### 6.1.1 Team Identification

Name	Function	Responsibility	Relevant Training and Experience please see CV attached	Signature
José Ferreira	Administration RDI Representative	Assign team members CE report approval	B.Sc. in Ceramic and Glass Engineering. PhD on Materials Science and Engineering.	
José Ferreira	MD RDI Researcher	Technical characteristics expertise Provides to all team members, all the design characteristics, specifications, physiochemical properties including energy intensity, deployment methods, critical performance requirements, principles of operation Coordinates activities of clinical evaluation Keep Clinical Evaluation Report and plan updated	29 years of experience in research and teaching.	
Ana Brito	Coordinator	Receive information from PMS, Vigilance, Risk Management and determine the need for CER review Identifies standards and other relevant documents and determine CE procedures Determine and specify device application, including foreseeable misuse Identifies Clinical Data and applies CE procedures, including	MSc in Biomedical Engineering. PhD in Biomedical Sciences. 7 years of experience in research.	
Daniela Brazete	Clinical Researcher	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identify and analysis of Pre-Clinical Studies</li> <li>• Identify Clinical Data</li> <li>• Appraisal of Clinical Data</li> <li>• Analysis of relevant Clinical Data</li> </ul> Coordinates with Clinical Expertise the Clinical Trials Studies Elaborates CE report	Biomedical Engineering Degree Master student in materials and biomedical devices	

## 6.1.2 Product

---

Product Reference **02**

Product name **InjectOs**

Generic Medical Device Name **Synthetic bone graft**

MDD 93/42/EEC Ann. IX classification rule **R8**

Risk classification acc. to Directive 93/42/EEC **III**

Is the device placed on the market in sterile condition? **Yes. The product is sterilized using gamma radiation**

Single use device? **Yes**

---

## 6.2 General details

Device name: InjectOs

Device manufacturer: Reg4life – Regeneration Technology, S.A.

## 6.3 Description of the device and its intended application

InjectOs is a material designed to fill bone defects. It is an injectable bone cement. It's a synthetic, biodegradable, biocompatible and bioactive calcium phosphate that sets at body temperature into carbonated apatite. InjectOs closely resembles the mineral phase of bone and gradually remodels to bone via osteoclastic resorption and osteoblastic new bone formation.

InjectOs consists of a powder phase and a liquid phase. InjectOs powder is synthesised from calcium and phosphate salts. It consists of  $\alpha$ -tricalcium phosphate and  $\beta$ -tricalcium phosphate. InjectOs liquid is an aqueous di-sodium hydrogen phosphate anhydrous solution. The two parts of material are mixed during the operation from a liquid and a powder part which can be injected using a syringe. The resulting paste is applied directly and hardens at body temperature. The chemical composition and crystalline structure of the hardened material mimic the mineral part of natural bone.

This medical device (MD) can be clinically applied for the regeneration of hard tissues. The device is implantable, slowly resorbed and replaced by new bone tissue during the healing process. InjectOs is indicated to be packed into bone voids or gaps to fill and/or augment orthopaedics.

For more information, please see Product Description (PD 02\_01) (Anexo 2), Datasheet (DS 02\_01) (Anexo 3), and Instructions for Use (IFU 02\_01) (Anexo 4).

## 6.4 Intended therapeutic indications and claims

InjectOs is intended for use in orthopaedics defects. Should be used in bony voids, which have been stabilized using standard AO ASIF orthopaedic techniques and implants, i.e. K-wires, external fixation, screws and plates. These bony voids may be created surgically, result from traumatic injury or other genesis. InjectOs is a single use medical device which stay in place until it will be biodegraded.

This can be applied for:

- Repairing bone defects;
- Repairing and strengthening/supporting broken bones;
- Reinforcing orthopaedic screws and implants;
- Filling of cystic lesions;
- Filling gaps between cement-less artificial joints and bones.

Instruction For Use (IFU 02\_01) describe the correct use and application.

## 6.5 Context of the evaluation and choice of clinical data types

InjectOs is a calcium phosphate cement (CPC) with a solid phase and a liquid phase. The solid phase of InjectOs is a calcium phosphate powder and consists only of elements naturally existing in the body, namely  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{PO}_4^{3-}$  as main elements and  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  as doping trace elements. The liquid phase of InjectOS consists of an aqueous solution of sodium hydrogen phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). CPCs are a family of materials that has great potential in bone regeneration due to their unique properties of bioactivity, injectability and in vivo setting ability.<sup>79</sup> Because of their biocompatibility and osteoconductivity, various calcium phosphate biomaterials are used as bone substitutes in orthopaedic, reconstructive, and maxillofacial surgery.<sup>181</sup>

At the beginning of the 1980s, *Brown* and *Chow*,<sup>58</sup> discovered CPCs, which are produced by a chemical reaction between two phases, a solid and a liquid, which, when mixed, form a paste which progressively sets<sup>61</sup> as a result of a dissolution and precipitation process<sup>79</sup> and hardens into a solid mass.<sup>61</sup> After mixing of the solid and liquid phases, CPCs

form a viscous paste, which can be easily manipulated and shaped, and can be injected into a defect area, not only avoiding invasive surgical procedures but also providing intimate adaptation to the surrounding bone even for irregularly shaped cavities, representing a unique advantage over bioceramics, which are difficult to machine and shape <sup>181</sup>.

There are reports in literature based on characterization of the *in vivo* behaviour of CPCs revealing biocompatibility and osteoconductive nature of the CPCs that can stimulate tissue regeneration. CPCs have shown rapid bone formation after implantation without any inflammatory tissue response. <sup>182</sup> These materials act as osteoconductive scaffolds when implanted, however get degraded with time and are replaced by bone during the re-modelling process. <sup>183,184</sup> In case of apatitic cements studied in present work, the material resorbed via cell mediated processes where osteoclastic cells degrade the materials layer by layer starting from bone–cement interphase to its inner core. <sup>79</sup> The resorption of implanted calcium phosphates might possibly be by two mechanisms as: (i) an active resorption, mediated by the cellular activity of macrophages, osteoclasts and phagocytosis; <sup>185,186,187</sup> and (ii) passive resorption, mediated either due to chemical dissolution <sup>41</sup> in the body fluids. However, the studies based on factors affecting the biodegradation of calcium phosphate biomaterials are scarce and yet to completely elucidated in literature. Biodegradation can be influenced by the certain conditions including implantation sites, animal species and experimental models. <sup>186</sup> The chemical composition, physical characteristics and crystal structures play an important role in the biological behavior of calcium phosphates.

It is worthy to note that calcium phosphate cements provide short-term biodegradable bone substitute that been replaced by a new bone with time. <sup>188</sup> However, the growth rate of a newly forming bone depends on age, sex and general metabolic health of the recipient. In addition, as the growth rate also depend on the anatomic site, porosity, bulk site, crystallinity, chemical composition, particle sizes and P/L ratio of the implanted cements. In general, it takes up to 3 to 36 months for calcium phosphate cements to be completely resorbed and replaced by bones. <sup>189</sup>

Due to its composition, mechanism of action and intended use, InjectOs is equivalent to the calcium phosphate bone cements mentioned in the Table 6.1. Table 6.1 describes the solid phase compositions (in wt%) and Table 6.2 describes the liquid phase composition of InjectOs and commercial equivalent calcium phosphate bone cements. Therefore, the clinical data used in this Clinical Evaluation Report are for these equivalent devices.

**Table 6.1** Comparison of the various solid phase compositions (in wt%) of as-prepared calcium phosphate bone cements (CPC) named InjectOs with commercial available CPCs.

Brand Name	Solid phase composition (wt%)								
	$\alpha$ -TCP	$\beta$ -TCP	TTCP	CaCO <sub>3</sub>	CaHPO <sub>4</sub>	DCP D	HaP	Glicerophosphate	MCPM
Biopex®	75	0	18-20	0	0	5	2	0	0
Calcibon™	61	0	0	10	26	0	3	0	0
Norian SRS®	85	0	0	12	0	0	0	0	3
Cementek LV®	38	0	49	0	0	0	0	13	0
<b>InjectOs</b>	80	20	0	0	0	0	0	0	0

**Table 6.2** Comparison of the various liquid phase compositions (in wt%) of as-prepared calcium phosphate bone cements (CPC) named InjectOs with commercial available CPCs.

Brand Name	Liquid phase composition (wt%)					
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> O	Sodium Succinate	Sodium Chondroitin Sulfate	Ca(OH) <sub>2</sub>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
Biopex®	0	n.d	12-13	5-5.4	0	0
Calcibon™	n.d	n.d	0	0	0	0
Norian SRS®	n.d	n.d	0	0	0	0
Cementek LV®	0	n.d	0	0	n.d	n.d
<b>InjectOs</b>	2.5	97.5	0	0	0	0

Table 6.1 and 6.2 illustrate the various solid and liquid phase compositions of as-prepared calcium phosphate bone cements (CPC) named InjectOs with other commercial available CPCs, respectively. When compared with commercial CPCs, InjectOs was found to contain almost same components as that of commercialized ones. The major difference in compositions component observed in case of InjectOs when compared to commercial ones is that it includes a certain content of  $\beta$ -TCP phase, whereas no  $\beta$ -TCP phase content has been observed in case of commercial available CPCs material compositions. In addition, the  $\beta$ -TCP composition used in synthesis of InjectOs include other doping elements, namely, strontium (Sr), zinc (Zn) and manganese (Mn). The presence of these ions in calcium phosphate powder would further change significantly the structural, physico-chemical and biological properties.<sup>47</sup>

Sr has a beneficial effect on bone, it is a trace element present in the human body that permits radiographic visualization without need of the introduction of traditional radio pacifier particles such as barium sulphate or zirconia.<sup>49</sup> The incorporation of Sr results in an increase in solubility of calcium phosphate<sup>50</sup> which further promotes the osseointegration of the bone cement. There are studies in literature that shows that Sr incorporation improves osteoporosis by reducing bone resorption and increasing bone formation, thereby reducing the risk of fracture.<sup>51</sup> *In vitro* studies have shown that Sr enhances the replication of preosteoblastic cells, and stimulates bone formation in cell cultures derived from foetal rat cranial tissue.<sup>190</sup>

Regarding Zinc (Zn), it is another important element in the growth and normal development of skeletal system. The lack of Zn in human body may harm the development of bone mass. It has been shown that Zn influences the behaviour of osteoblasts and osteoclasts, thus indicating its importance in bone metabolism.<sup>52</sup> Considering the benefits of Zn, this element has been chosen to introduce into the calcium phosphate materials with the expectation to promote new bone formation.<sup>53</sup>

Manganese (Mn) is another element that has been used as doping element in  $\beta$ -TCP used in InjectOs. Although the studies based on Mn doped calcium phosphate for biomedical applications are scarce, this element is important cofactor for many enzymes involved in remodelling of extracellular matrix in human bone.<sup>54</sup> A deficiency of Mn in human body impairs the synthesis of matrix and also the cartilage, resulting in slowing of endochondral ossification. It also has a great importance in regards to the affinity of the connections of integrins, receptors that mediate cellular interactions and activate cell adhesion.<sup>54,55</sup> Recently, Torres *et al.* (2014)<sup>56</sup> has reported that doping  $\beta$ -TCP with Mn resulted in the positive effects on proliferation and differentiation of a pre-osteoblasts cell line. The results show the potential use of Mn doped  $\beta$ -TCP bone cements as osteoregenerative materials.

The incorporation of doping elements in the structure of the starting CaP powders enhances the thermal stability of  $\beta$ -TCP phase and hinders its transformation into the high temperature polymorph ( $\alpha$ -TCP). Moreover, doping elements hamper the preservation of the desired phase in the final product used in the formulation of InjectOs ( $\alpha$ -TCP) upon cooling from high temperature. Therefore, the doping elements are incorporated in the  $\beta$ -TCP phase in a suitable concentration to allow the required levels in the InjectOs to be achieved upon adding up to about 20% of doped  $\beta$ -TCP as a non-reactive setting component. This also allows better tailoring the overall particle size distribution of the starting powders for enhancing the flow properties of InjectOs pastes.

## 6.6 Summary of the clinical data and appraisal

A bibliographic research was conducted by clinical researcher in PubMed in order to identify clinical studies performed using injectable  $\alpha$ -TCP cements in different situations. The following strategy was used in the research: calcium phosphate cements, or injectable cements, or Biopex<sup>®</sup>, or Calcibon<sup>®</sup>, or Norian<sup>®</sup> SRS and Cementek<sup>®</sup>.

Pubmed database was chosen because provides quality control in scientific publishing. Is a free search engine accessing primarily the MEDLINE database of references and abstracts on

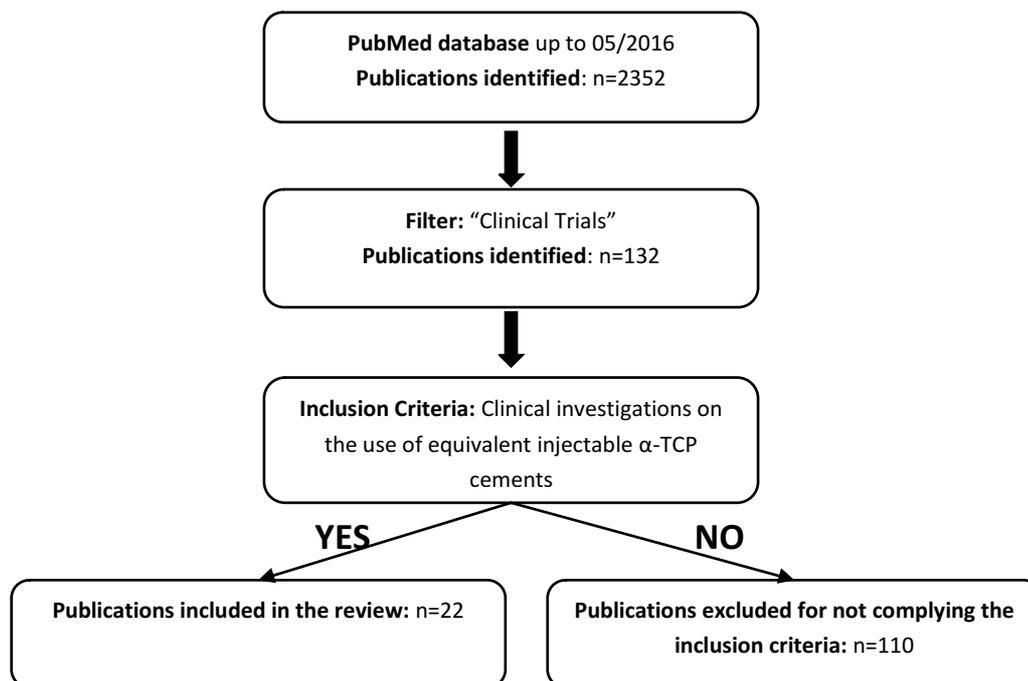
life sciences and biomedical topics. PubMed comprises more than 26 million citations for biomedical literature from MEDLINE, life science journals, and online books. PubMed citations and abstracts include the fields of biomedicine and health care, covering portions of the life sciences, behavioural sciences, chemical sciences, bioengineering, medicine, pharmacy, nursing, dentistry and veterinary medicine.

On the other hand, these medical devices (Biopex®, Calcibon®, Norian® SRS® and Cementek®) were chosen because they are substantially equivalent to InjectOs since all the products are intended to be used as bone cavity filling materials and consist of calcium phosphate cements with only minor compositional differences (Tables 6.1 and 6.2).

The clinical studies performed feature the following aspects:

- Medical specialties in which the devices were applied and clinical conditions for their use;
- Methodological features of the studies;
- Evaluated products.

The selection process of clinical studies, as well as the number of publications included and excluded from this review are presented in Figure 6.1.



**Figure 6.1** Identification of publications relating to clinical investigations on the use of injectable  $\alpha$ -TCP Cements using the search strategy: Biopex®, or Calcibon®, or Norian® SRS and Cementek®. These are calcium phosphate bone cements that are currently on the market.

The 22 articles selected from PubMed were subsequently subjected to a criteria analysis for suitability according to Table D1, present in the annex. (Anexo 5)

Taking into account the internal criteria, all clinical studies evaluated the items "other device" (D3), with "major deviation" in the device application (A3), to consider "different people" group (P3) or "insufficient information "(R3) were considered inadequate. This analysis is present in Table 6.3.

**Table 6.3** Publication suitability evaluation.

Article	Appropriate device	Appropriate device application	Appropriate patient group	Acceptable report / data collation	Suitability
Three-year Outcomes after Kyphoplasty in Patients with Osteoporosis with Painful Vertebral Fractures <sup>191</sup>	D2	A1	P2	R2	YES
Norian SRS versus functional treatment in redisplaced distal radial fractures: a randomized study in 20 patients <sup>192</sup>	D2	A1	P2	R2	YES
Norian SRS Cement Compared with Conventional Fixation in Distal Radial Fractures <sup>193</sup>	D2	A1	P1	R1	YES
Injectable Calcium-Phosphate Bone Cement (Norian) for Reconstruction of a Large Mandibular Defect: A Case Report <sup>194</sup>	D2	A1	P2	R3	NO
Degradable injectable bone cement in maxillofacial surgery: indications and clinical experience in 27 patients <sup>195</sup>	D2	A1	P1	R2	YES
Resorbable cement for the augmentation of internally-fixed unstable trochanteric fractures <sup>196</sup>	D2	A1	P1	R2	YES
Treatment of Painful Vertebral Fractures by Kyphoplasty in Patients With Primary Osteoporosis: A Prospective Nonrandomized Controlled Study <sup>197</sup>	D2	A1	P1	R2	YES
Treatment of fractures of the distal radius with a remodelable bone cement <sup>198</sup>	D2	A1	P1	R1	YES
Cement pinning of osteoporotic distal radius fractures with an injectable calcium phosphate bone substitute: report of 6 cases <sup>199</sup>	D2	A1	P2	R2	YES
Reduction of pain and fracture incidence after kyphoplasty: 1-year outcomes of a prospective controlled trial of patients with primary osteoporosis <sup>200</sup>	D2	A1	P1	R2	YES
Vertebroplasty Using Calcium Phosphate Cement for Osteoporotic Vertebral Fractures: Study of Outcomes at a Minimum Follow-up of Two Years <sup>201</sup>	D2	A1	P1	R2	YES
Comparison of kyphoplasty with use of a calcium phosphate cement and non-operative therapy in patients with traumatic non-osteoporotic vertebral fractures <sup>202</sup>	D2	A1	P1	R1	YES
Radiostereometric analysis of distal radial fracture displacement during treatment. A randomized study comparing Norian SRS and external fixation in 23 patients <sup>203</sup>	D2	A1	P1	R2	YES
Clinical Applications of Norian SRS (Calcium Phosphate Cement) in Craniofacial Reconstruction in Children: Our Experience at Hospital La Paz Since 2001 <sup>204</sup>	D2	A2	P2	R2	YES
Repair of Five Distal Radius Fractures with an Investigational Cancellous Bone Cement: A Preliminary Report <sup>205</sup>	D2	A1	P2	R2	YES
A prospective study of percutaneous balloon kyphoplasty with calcium phosphate cement in traumatic vertebral fractures: 10-year results <sup>206</sup>	D2	A1	P1	R2	YES

Prospective study of standalone balloon kyphoplasty with calcium phosphate cement augmentation in traumatic fractures <sup>207</sup>	D2	A1	P1	R2	YES
Calcium phosphate cement for augmentation did not improve results after internal fixation of displaced femoral neck fractures: A randomized study of 118 patients <sup>208</sup>	D2	A2	P1	R2	YES
Use of an Injectable Calcium Phosphate Bone Cement in the Treatment of Tibial Plateau Fractures: A Prospective Study of Twenty-Six Cases With Twenty-Month Mean Follow-Up <sup>209</sup>	D2	A2	P1	R1	YES
Treatment of bone defect with calcium phosphate cement subsequent to tumor curettage in pediatric patients <sup>210</sup>	D2	A2	P1	R2	YES
Calcium phosphate cement augmentation in the treatment of depressed tibial plateau fractures with open reduction and internal fixation <sup>211</sup>	D2	A1	P1	R1	YES
Painful soft-tissue reaction to injectable Norian SRS calcium phosphate cement after curettage of enchondromas <sup>212</sup>	D2	A2	P2	R3	NO

After analysis of 22 articles and taking into account Table 4, were considered unsuitable 2 articles. Thereafter, 20 articles were selected for further data contribution analysis to be performed through the Table D2, which is attached (Anexo 6) This analysis is present I find in Table 6.4.

Given the inclusion criteria defined in table D2, an article is considered inappropriate when it is classified as of the following items: when the design of the study was considered inappropriate (T2), the outcome measures reported did not reflect the intended performance of de device (O2), the follow-up was considered inappropriate (F2), when it was not provided statistical analysis or the same was inadequate (S2) or the magnitude of the treatment effect observed was clinically insignificant (C2).

**Table 6.4** Data contribution analysis.

Article	Data source type	Outcome measures	Follow up	Statistical significance	Clinical significance	Data Contribution
Three-year Outcomes after Kyphoplasty in Patients with Osteoporosis with Painful Vertebral Fractures <sup>191</sup>	T1	O2	F1	S1	C1	NO
Norian SRS versus functional treatment in redisplaced distal radial fractures: a randomized study in 20 patients <sup>192</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Norian SRS Cement Compared with Conventional Fixation in Distal Radial Fractures <sup>193</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Degradable injectable bone cement in maxillofacial surgery: indications and clinical experience in 27 patients <sup>195</sup>	T1	O1	F1	S2	C1	NO
Resorbable cement for the augmentation of internally-fixed unstable trochanteric fractures <sup>196</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Treatment of Painful Vertebral Fractures by Kyphoplasty in Patients With Primary Osteoporosis: A Prospective Nonrandomized Controlled Study <sup>197</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES

Treatment of fractures of the distal radius with a remodelable bone cement <sup>198</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Cement pinning of osteoporotic distal radius fractures with an injectable calcium phosphate bone substitute: report of 6 cases <sup>199</sup>	T2	O1	F1	S2	C1	NO
Reduction of pain and fracture incidence after kyphoplasty: 1-year outcomes of a prospective controlled trial of patients with primary osteoporosis <sup>200</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Vertebroplasty Using Calcium Phosphate Cement for Osteoporotic Vertebral Fractures: Study of Outcomes at a Minimum Follow-up of Two Years <sup>201</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Comparison of kyphoplasty with use of a calcium phosphate cement and non-operative therapy in patients with traumatic non-osteoporotic vertebral fractures <sup>202</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Radiostereometric analysis of distal radial fracture displacement during treatment. A randomized study comparing Norian SRS and external fixation in 23 patients <sup>203</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Clinical Applications of Norian SRS (Calcium Phosphate Cement) in Craniofacial Reconstruction in Children: Our Experience at Hospital La Paz Since 2001 <sup>204</sup>	T1	O1	F1	S2	C1	NO
Repair of Five Distal Radius Fractures with an Investigational Cancellous Bone Cement: A Preliminary Report <sup>205</sup>	T1	O1	F1	S2	C1	NO
A prospective study of percutaneous balloon kyphoplasty with calcium phosphate cement in traumatic vertebral fractures: 10-year results <sup>206</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Prospective study of standalone balloon kyphoplasty with calcium phosphate cement augmentation in traumatic fractures <sup>207</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Calcium phosphate cement for augmentation did not improve results after internal fixation of displaced femoral neck fractures: A randomized study of 118 patients <sup>208</sup>	T1	O1	F1	S1	C1	YES
Use of an Injectable Calcium Phosphate Bone Cement in the Treatment of Tibial Plateau Fractures: A Prospective Study of Twenty-Six Cases With Twenty-Month Mean Follow-Up <sup>209</sup>	T1	O1	F1	S2	C1	NO
Treatment of bone defect with calcium phosphate cement subsequent to tumor curettage in pediatric patients <sup>210</sup>	T1	O1	F1	S2	C1	NO
Calcium phosphate cement augmentation in the treatment of depressed tibial plateau fractures with open reduction and internal fixation <sup>211</sup>	T1	O1	F1	S2	C1	YES

According to the analysis performed were selected 13 clinical studies with significant contribution to this study.

## 6.7 Data analysis

The 13 studies <sup>192,193,196–198,200–203,206–208,211</sup> resulting from previous analysis will be described below with respect to performance (6.7.1) and safety (6.7.2). According to the reported studies, the main applications of injectable bone cements are in orthopaedics, namely, in vertebroplasty and kyphoplasty.

### 6.7.1 Performance

A clinical research study to the treatment of fractures of distal radius with a remodellable bone cement (Norian® skeletal repair system (SRS)) was published in 2000. <sup>198</sup> This clinical trial aimed to compare the outcome of conservative treatment using remodellable bone cement and immobilisation in a cast for two weeks, on patients with fractures of the distal radius. The results at one year after the fracture were satisfactory in 81.54% of patients treated with SRS and 55.55% of the control group. The rates of malunion were 18.2% and 41.8%, respectively. There was a significant relationship between the functional and radiological results. Soft-tissue extrusion was present initially in 69.1% of the SRS patients; most deposits disappeared progressively, but persisted in 32.73% at one year. Patients treated with SRS had less pain and earlier restoration of movement and grip strength. This clinical study concludes that the injection of a remodellable bone cement into the trabecular defect of fractures of the distal radius provides a better clinical and radiological results than conventional treatment.

In 2001, Kopylov *et al.*, <sup>203</sup> published a clinical randomized study which performs a radiostereometric analysis (RSA) of distal radial fracture displacement comparing the use of Norian® SRS and external fixation. During the operation, the fracture fragments were marked with tantalum markers, so that loss of reduction during the immobilization and after mobilization could be studied with RSA. From the first to the last investigation, 7/12 patients with Norian®SRS and 4/11 with external fixation lost more than 2 mm of the reduction along the longitudinal axis. The mean loss of reduction measured on the conventional radiographs in the Norian® SRS group was 4 degrees of the radial angle, 7 degrees of the dorsal angle and 2.8 mm of ulnar variance. The mean loss of reduction measured on the conventional radiographs in the Norian® SRS group was 4 degrees of the radial angle, 7 degrees of the dorsal angle and 2.8 mm of ulnar variance. The corresponding figures for external fixation were 4 degrees, 2 degrees and 1.1 mm respectively. In extra articular fractures, there was a clear correlation ( $r^2 = 0.5$ ,  $p = 0.04$ ) between the longitudinal RSA displacement from the first to the last investigation and axial compression measured on the conventional radiographs (ulnar variance). The same correlation was found for radial compression ( $r^2 = 0.5$ ,  $p = 0.04$ ).

No correlation was found for intraarticular fractures. In all fractures there was a good correlation ( $r^2 = 0.93$ ,  $p = 0.0001$ ) between the longitudinal RSA displacement from the first to the last investigation and MTPM. The authors concluded that the results were positive because the use of Norian®SRS induced a decrease in immobilization time to 2 weeks but additional hardware may have to be used to ensure stability of the fracture system.

A year later, Kopylov and co-workers published a clinical study using Norian® SRS in patients who had a distal radial fracture.<sup>192</sup> The aim of this randomized study is compare Norian® SRS treatment with functional treatment in patients with redisplaced distal radial fractures. The redisplaced fractures were either re-reduced and stabilized by Norian® SRS, or the displaced position was accepted and was not re-reduced. The clinical results at 6 months in both groups were similar. At the 7 weeks follow-up the functionally treated group had 54% (95% CI, 38–69) and the Norian SRS group 45% (95% CI, 35–54) of the grip strength of the contralateral side. In relation to the mean pain visual analogue scale (VAS) scores at 7 weeks were 27mm (95% CI, 7–47) and 11 mm (95% CI, 5–17) in the functional and Norian® SRS groups respectively and improved with time. The initial redisplacement of the fractures in both groups was similar and the re-reduction of the fractures, only performed in the Norian SRS group, was successful in all instances. The authors did not found differences between the two treatment groups concluding that aggressive treatment of redisplaced fractures of the distal radius may be unnecessary in most women aged 50 years or more. Authors concluded that patients in the Norian ®SRS group had better fracture alignment, but some loss of the re-reduction occurred during the treatment.

In 2003 Cassidy *et al.*<sup>193</sup> published a prospective, randomized multicentre study that was made a comparison between Norian® SRS cement and conventional fixation in distal radial fractures. The aim of this clinical trial was to determine the safety and effectiveness of Norian® SRS cement compared with conventional treatment in patients with unstable and/or displaced fractures of the distal end of the radius. Were made two groups randomly treated with or without Norian® SRS cement. Supplemental Kirschner wires were used in specific instances in both groups. Patients were followed clinically and radiographically and the average change in ulnar variance was greater in the patients treated with Norian SRS (+2.0 mm) than in the control group (+1.4 mm) ( $p < 0.02$ ). The authors concluded that fixation of a distal radial fracture with Norian® SRS cement may allow for accelerated rehabilitation. A limited open approach and supplemental fixation with Kirschner wires are recommended. Additional or alternate fixation is necessary for complex articular fractures.

In 2005, Kasperk *et al.*,<sup>198</sup> published a prospective nonrandomized controlled study. This study investigates the effects of kyphoplasty on pain and mobility in patients with osteoporosis and painful vertebral fractures compared with conventional medical management. In this study, the reconstructive material used was Calcibon®. Kyphoplasty increased midline vertebral height of the treated vertebral bodies by 12.1%, whereas in the control group, vertebral height decreased by 8.2% (p=0.001). Augmentation and internal stabilization by kyphoplasty resulted in a reduction of back pain. VAS pain scores improved in the kyphoplasty group from 26.2 ± 2 to 44.2 ± 3.3 (SD; p=0.007) and in the control group from 33.6 ± 4.1 to 35.6 ± 4.1 (not significant), whereas the EVOS score increased in the kyphoplasty group from 43.8 ± 2.4 to 54.5 ± 2.7 (p=0.031) and in the control group from 39.8 ± 4.5 to 43.8 ± 4.6 (not significant). The number of back pain–related doctor visits within the 6-month follow-up period decreased significantly after kyphoplasty compared with controls: mean of 3.3 visits/patient in the kyphoplasty group and a mean of 8.6 visits/patient in the control group (p=0.0147). In this prospective nonrandomized controlled study, they observed a positive effect of kyphoplasty on vertebral morphology and patient’s pain, level of activity, and health care use after 6 months.

In the same year, Grafe *et al.*,<sup>200</sup> following the previous study, published a clinical research study that aimed evaluating the reduction of pain and fracture incidence after kyphoplasty in patients with primary osteoporosis. In this study, the authors extended their previous work to assess occurrence of new vertebral fractures and clinical parameters 1 year after kyphoplasty compared with a conservatively treated control group. The reconstructive material used in this study was Calcibon®. They verified which there were significantly fewer patients with new vertebral fractures of the thoracic and lumbar spine, after 12 months, in the kyphoplasty group than in the control group (P=0.0084). Pain scores improved from 26.2 to 44.4 in the kyphoplasty group and changed from 33.6 to 34.3 in the control group (P=0.008). Kyphoplasty treated patients required a mean of 5.3 back-pain-related doctors’ visits per patient compared with 11.6 in the control group during 12 months follow-up (p=0.006). The midline vertebral body height was significantly increased in the kyphoplasty group compared with that at baseline (p<0.0001). At 6 months and 12 months the midline vertebral body height was significantly greater in the kyphoplasty group than in controls (p<0.0001 for both).

Also in 2005, was published a prospective, randomised multicentre study performed by Mattsson *et al.*<sup>196</sup> This study evaluated if internal fixation with a sliding screw device combined with augmentation using a calcium phosphate degradable cement (Norian®SRS) could improve the clinical, functional and radiological outcome when compared with fractures

treated with sliding screw device alone. Two groups were made and there was no statistical difference between them in terms of age, gender, affected hip and walking-aid requirements at the time of fracture. Six weeks after surgery, the patients in the augmented group had significantly lower global and functional pain scores ( $p < 0.003$ ), less pain after walking 50 feet ( $p < 0.01$ ), and a better return to the activities of daily living ( $p < 0.05$ ). At follow-up at six weeks and six months, those in the augmented group showed a significant improvement compared with the control group in the SF-36 score. The authors concluded that augmentation with CPC in unstable trochanteric fractures provides a modest reduction in pain and a slight improvement in the quality of life during the course of healing when compared with conventional fixation with a sliding screw device alone.

One year later, in 2006, Maestretti *et al.*<sup>207</sup> conducting a prospective consecutive series cases study to investigate the clinical and radiological results of standalone balloon kyphoplasty and cement augmentation with calcium phosphate (Calcibon®) in traumatic fractures. Regarding the obtained results, the mean cement resorption after 1 year was 20.3% (0.3–35.3%) and is related to the individual biological resorption process and is not predictable. At the CT-scan control, the authors found partial cement resorption without visible bone formation and in the biopsy they found a new bone formation without signs of inflammation or necrosis. Standalone balloon kyphoplasty is a potential alternative minimally-invasive technique to reduce the fractures. However, due to the intrinsic characteristic of CPC (Calcibon®) they recommend the application of this biological cement for standalone reduction and stabilisation only in fractures type A1 and A3.1 in young patient. This study having regard to the pointed out indications, their preliminary results demonstrate a new possibility to treat this kind of fractures, allowing a rapid handling of pain, early discharge and return to normal activities. The obtained results indicate that kyphoplasty and cementation with Calcibon® can be used as a potential alternative therapy to acute thoracolumbar fractures.

In the same year, Mattsson and Larsson<sup>208</sup> published a clinical study using Norian® SRS. They wanted to evaluate whether augmentation with calcium phosphate cement can improve clinical and functional outcome following internal fixation of displaced femoral neck fractures. There was no difference in pain or muscle strength between groups. Some activities of daily living (ADLs) were slightly better in the augmented patients during the first weeks, while there were no differences between groups later on. The obtained results show that due to a trend towards more reoperations in the augmented group, and only a temporary clinical improvement during the early rehabilitation, augmentation as they used it cannot be recommended.

Schmelzer-Schmied *et al.*,<sup>202</sup> in the year of 2009, published a clinical study for comparison of kyphoplasty using a calcium phosphate cement (Calcibon®) and non-operative therapy in patients with traumatic non-osteoporotic vertebral fractures. The purpose of this prospective study was to clarify whether patients with acute traumatic vertebral fractures benefit more from kyphoplasty or from conservative treatment with a brace. Outcome was measured using several functional, clinical and morphological tests. Have made two groups, one group was treated non-operatively with a brace and the other group was treated with balloon-kyphoplasty within 7 days after the fracture occurred. Pain was evaluated using the VAS. Functional criteria and patient satisfaction were evaluated using the Hannover VAS-Spine score that has been validated for patients with spinal injuries. Midline vertebral height and kyphosis angle were measured on lateral X-rays of the spine according to standard morphological analysis. Patients of the kyphoplasty group showed an immediate beneficial effect postoperatively, and better outcomes 1 month and 3 months after operation compared to the conservatively treated group. This study supports the use of kyphoplasty with use of a CPC, in addition to non-operative analgetic therapy as an effective method to improve and stabilize vertebral deformities due to acute trauma. Kyphoplasty provides early and lasting reduction of pain and improvement of daily activity. However, there were clinically asymptomatic cement leakages in up to 45% of which they do not know the consequences in the long term but which may as well be absorbed.

In 2010, Öztürkmen *et al.*<sup>211</sup> published a study that aimed to evaluate the clinical and radiological outcomes of open reduction and internal fixation augmented with CPC in the treatment of depressed tibial plateau fractures. The CPC used in this study was Cementek®. Union was achieved in all patients with a mean follow-up of 22.2 months (range 6-36 months). There were no intraoperative complications. At the latest follow-up radiographs, resorption of the graft was observed in 25 knees (89%). Rasmussen's radiologic score was excellent in 17 patients (61%), good in 9 patients (32%), and fair in 2 patients (7%). Rasmussen's clinical score was excellent in 9 patients (32%), good in 18 patients (64%), and fair in 1 patient (4%). According to the Lysholm knee score, functional results were excellent in 16 patients (57%), good in 8 patients (29%), and fair in 4 patients (14%). Twenty-two patients (78%) achieved the preoperative activity level after surgery, and there was no significant difference between the mean preoperative and postoperative Tegner scores ( $4.11 \pm 0.68$  and  $4.04 \pm 0.64$ , respectively,  $p=0.161$ ). The authors concluded that CPC is a biomaterial with many advantages in augmenting the open reduction and internal fixation of depressed tibial plateau fractures, including elimination of morbidity associated with bone graft harvesting, the unlimited supply

of bone substitute, the optimum filling of irregular bone defects, and shortening of the postoperative full weight-bearing time.

Latter, in 2012 Nakano and colleagues<sup>201</sup> published a clinical study whose purpose was to assess the long-term clinical and radiographic outcomes after vertebroplasty using a CPC to the treatment of osteoporotic vertebral fractures (OVF). Biopex<sup>®</sup> was the CPC used in this study. All patients reported decreased pain according to the VAS immediately after vertebroplasty, and pain relief was maintained at the last follow-up in all patients without new OVFs. Complete bone union was observed in all cases at six months after surgery. The mean recovery rate of deformity index was 5.9% in procedure A (vertebroplasty using CPC was performed in patients with osteoporotic burst fracture and pseudoarthrosis) and 0.02% in procedure B (vertebroplasty was also performed in patients with osteoporotic compression fractures) at the final follow-up visit. Satisfactory bone union was demonstrated on CT or sagittal tomographic images in all cases until 6 months after surgery. The injected CPC gradually tended to disappear and be replaced by newly developed bone as demonstrated on CT images. The conclusions drawn from the study were that vertebroplasty using CPC gave a satisfactory outcome in elderly patients with osteoporotic vertebral fractures at follow-up times of at least two years.

More recently, in 2014, Maestretti *et al.*,<sup>206</sup> published a prospective study which investigate the clinical and radiological results 10 years after percutaneous balloon kyphoplasty and cement augmentation with CPC in traumatic vertebral fractures type A. The main objective of this study was to evaluate a 10-year follow-up with radiological and computed tomography results, calculated by 2 independent radiologists, as well as VAS, Roland Morris score, Oswestry Disability Index (ODI) score, Denis work scale and clinical examination in patients with traumatic compression fractures type A, who were treated with a balloon kyphoplasty with CPC Calcibon<sup>®</sup>. The VAS score demonstrated an increase over time from a mean of 1 (0–5) at the 2-year follow-up to 2.3 (0–8) at the 10-year follow-up. The Roland Morris disability score also increased over time from 2 (0–8) 2 years postoperative to a mean of 3.6 (0–18) at the 10 years follow-up. The authors recognized an increase of the median value for the vertebral kyphosis angle about 1° (0°–4°) (p<0.0001). The median value of the disc height diminution over the 10 years was 0.7 mm (0–3.9) (p<0.0001). For the anterior wall of the fractured VB the decrease of the median value was about 1 mm (0–3) (p<0.0001) and for the posterior wall it was 0 mm (0–2) (p<0.0039). So the beck index decreased from 0.80 (0.65–0.97) to 0.77 (0.62–0.97) at the 10-year follow-up, which means a decrease of the median value of 0.03 (0–0.07) (p<0.0039). The authors noticed a median value for the cement volume

of 4.2 cc (2.0-8.6) postoperative and at the 10-year follow-up of 3.2 cc (1.3-7.8), which means a resorption of the cement volume about 22.9 % (0.8-55.5 %) ( $p < 0.0001$ ). With this study, the authors concluded that there was a partial resorption of the cement but not as much as they expected with variable bone formation. The long follow-up about 10 years of kyphoplasty show very good clinical and radiological results and the authors consider this treatment an option for traumatic selected vertebral type A fractures also in young patients.

### 6.7.2 Safety

In their 2000 study, Sanchez-Sotelo and colleagues<sup>198</sup> included 110 patients, 97 females and 13 males with 50-85 years old. They consider for the study all patients received at their institution between January and May 1998 with a fracture of distal radius. The 110 patients were randomly selected for either closed reduction, stabilisation by Norian® SRS and a cast for two weeks (SRS group, 55 patients) or closed reduction and a cast for six weeks (control group, 55 patients). In the SRS group the fracture was reduced in traction and after this an elevator was introduced into the site of the fracture through a dorsal, longitudinal, incision of 1 cm to remove haematoma, debris and loose fragments both towards the subchondral area and proximally to provide a regular cavity which was flushed with saline. A 5 cm<sup>3</sup> Norian® SRS pack was then mixed and injected, filling the defect. The time of injection was always less than two minutes and the limb was then kept immobile for a further ten minutes to avoid disruption of the cement. Anteroposterior and lateral radiographs of the fractured wrist were taken immediately after treatment and at one, two and six weeks and at three, six and 12 months after the fracture. Authors refers the main complication of treatment with SRS was an extraosseous extrusion but the infection did not occur in any patient. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training.

In a 2001 clinical study,<sup>203</sup> 23 osteoporotic patients with a distal radial fracture and loss of reduction after 1 week were recruited for the present RSA study, 12 in the Norian® SRS group with a mean age of 68 years (5 extra- and 7 intra-articular fractures) and 11 in the external fixation group with a mean age of 65 years (5 extra- and 6 intra-articular fractures). The fracture was re-reduced. In one group, a self-setting hydroxyapatite, Norian® SRS, was injected into the fracture and the wrist was immobilized for 2 weeks with a dorsal splint. In the other group, the fracture was immobilized for 5 weeks with an external fixator. The fractures were re-reduced by traction with finger traps and the arm in 60 degrees of abduction, using an extension table. This position ensured stability during the Norian®SRS setting time. The entire

procedure was controlled with image intensification. Stereoradiographs were obtained after the operation, before mobilization and at 3 months, with the wrist in a calibration cage. At the same time, conventional radiographs were taken and axial, dorsal and radial compression loads were measured. The stereo-radiographs were digitized using a high-precision tablet and the x and y coordinates fed into IBM AT clone micro-computer. Using the RSA software package, the 3-D coordinates of the patient markers were obtained. Then the migration of the fracture fragments relative to the radius diaphysis was obtained by Euler rigid-body kinematics. No clinical complications during the clinical follow-up period occurred in any patient. In addition to surgical training, no special training by the user doctor was necessary.

In 2002, Kopylov *et al.*<sup>192</sup> included in their randomized study 20 patients, 9 in the Norian® SRS group and 11 in the functional treatment group, with the mean ages of 65 and 67 years, respectively. All of them agreed to participate in the study after written and verbal information. They were enrolled in the study during a period of 2 years (1997-1998). The patients included in the study suffered from fractures distal radial fractures treated by closed reduction and cast immobilization. All wrists were immobilized in a short-arm dorsal splint for 1 week, followed by a removable splint for another 3 weeks. The chosen primary effect variable was grip strength at 7 weeks, and this did not differ between the two treatment groups. Two patients, one in each group, refused to attend follow-up appointments after 4 weeks and 3 months respectively. 7.5% of all the planned follow-up visits were missed and more than 90% of the required data was collected. All the follow-up visits occurred within 2 weeks of the scheduled time. The patients in the Norian® SRS group underwent surgery under general or regional anaesthesia. The fractures were partially exposed through a dorsal incision (less than 5 cm long) and, if necessary, further reduced through the wound. Hematoma, callus and debris were scraped out from the fracture defect, which was cleaned with saline. Norian® SRS was then injected into the defect, filling it from palmar to dorsal. In this group three patients reported post-operative pain, which we think was due to Norian® SRS extrusion into the dorsal soft tissues. Two of these patients had transient difficulty extending their thumbs but rupture of the extensor pollicis longus did not occur. In addition to surgical training, no special training by the user doctor was necessary.

In the randomized, prospective, active concurrently controlled clinical trial of Cassidy *et al.*<sup>193</sup> included a total of 323 patients with a distal radial fracture, 272 females and 51 males and the average age was 64 years. The patients were assigned to one of the treatment groups (Norian® SRS or conventional therapy) randomly. The randomization was based on four parameters: fracture type, bone mineral density, side of injury and the type of designated

conventional immobilization. Follow-up evaluations were specified at 1, 2, 4, and between 6 and 8 weeks, and at 3, 6, and 12 months after treatment for all patients. Standard posteroanterior and lateral radiographs were made at each follow-up visit. No differences were seen in the total number of complications, including loss of reduction. The infection rate was significantly higher ( $p < 0.001$ ) in the control group (16.7%) than in the group treated with Norian® SRS (2.5%) and the infections were always related to external fixator pins or Kirschner wires. Four patients with intra-articular extravasation of cement were identified and no sequelae were observed at twenty-four months. Cement was seen in extraosseous locations in 112 (70%) of the SRS-treated patients. The extraosseous material had disappeared in eighty-three of the 112 patients by twelve months. In addition to surgical training, no special training by the user doctor was necessary.

In the nonrandomized controlled study performed by Kasperk and colleagues<sup>197</sup> were included 60 patients with primary osteoporosis and painful vertebral fractures presenting for >12 months. 24 hours before performing kyphoplasty with Calcibon®, the patients self-determined their inclusion into the kyphoplasty or control group. Thus, 40 patients were treated with kyphoplasty, whereas 20 served as controls. This study assessed changes in radiomorphology, pain VAS score, daily activities (European Vertebral Osteoporosis Study [EVOS] score), number of new vertebral fractures, and health care use. Outcomes were assessed before treatment and at 3 and 6 months of follow-up. All patients received standard medical treatment (1 g calcium, 1000 IE vitamin D3, standard dose of oral aminobisphosphonate, pain medication, and physical therapy). Two adverse events occurred among the first nine cases but it was not related with bone cement. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training.

For the study of Grafe *et al.*<sup>200</sup> were recruited sixty patients with osteoporotic vertebral fractures due to primary osteoporosis, 40 patients treated with kyphoplasty and 20 served as controls. All patients received standard medical treatment. Morphological characteristics, new vertebral fractures, pain (visual analog scale), physical function (EVOS score) (range 0–100 each) and back-painrelated doctors' visits were re-assessed 12 months after kyphoplasty. All patients were examined postoperatively and at 6 months and 12 months. No neurological, embolic or cardiovascular complications were observed in any patient under the study group during or following kyphoplasty. No device-related adverse events occurred. No cement dislocation was seen during the follow-up period. There were clinically asymptomatic cement

leaks in 12 treated vertebral bodies (9.0%; five ventral leaks, seven lateral leaks, no posterior leaks).

In the study published in 2005 by Mattsson *et al.*<sup>196</sup>, were included 112 patients (21 males and 91 females) with a mean age of 81.6 years old. The study design includes two groups, cement (Norian ®SRS) augmented group with 55 patients and the group treated with a sliding screw device alone (controls) with 57 patients. Pain, activities of daily living, health status, the strength of the hip abductor muscles and radiological outcome were analysed. The radiological outcome included assessment of reduction of the fracture, the adequacy of fixation, failure of the implant, sliding of the lag screw and healing of the fracture. Seven patients in each group were lost to follow-up because of concurrent illness or weakness which made it impossible for them to attend for review. Five patients died, three in the augmented group and two in the control group. None of the deaths was related to the surgical procedure. The remaining 93 patients were followed up according to the study protocol. The follow-up was 1 week, 6 weeks and 6 months after the procedure. There was no breakage or pull-out of screws or other complications of hardware in the control group. There were no cut-outs or screw penetrations in either group. In addition to surgical training, no special training by the user doctor was necessary.

In their 2006 study, Maestretti *et al.*<sup>207</sup> included 28 patients (10 females and 18 males) with 33 acute traumatic vertebral type A fractures without neurology under the mean age of 38 (range 17–64). The follow-up with a mean of 30 months was 100%. Six patients had additional fractures. It was performed an independent observer evaluation of radiological and computer tomography results, VAS, Roland–Morris score and complications with acute traumatic compression fractures type A, treated with a standalone balloon kyphoplasty and cement augmentation with Calcibon®. All patients were evaluated with plain supine X-rays pre- and post-operatively and a CT-scan was performed pre-operatively. The kyphoplasty procedure is performed in the operating room under general anaesthesia and antibiotic prophylaxis to enable conversion to an open procedure in the event of cement extravasation in the spinal canal or insufficient correction. Kyphon 1.5 cc bone filler are pre-filled quickly, and the distal end obtruded with bone wax to protect the cement from early contact with blood, as blood also increase crystallisation. The surgical procedure is difficult to perform and necessities a large experience with the conventional poly(methyl methacrylate) (PMMA) cement to prevent complications. No long-term clinical complications were detected at the last follow-up. In majority of the cases the cement was not completely substituted at the last follow-up. In addition to surgical training, no special training by the user doctor was necessary.

In the Mattsson and Larsson 2006<sup>208</sup> study were included 118 patients (aged 60–98 years, 95 women and 23 men) with a displaced femoral neck fracture. 58 patients were randomized to augmentation with Norian®SRS (augmented group) and 60 to fixation with screws alone (control group). All patients were allowed free weight bearing. Clinical and radiographic examinations were done by a physiotherapist directly after surgery, at 1 and 6 weeks, and at 6, 12 and 24 months. There was 1 deep infection (augmented group). Another 34 patients were reoperated with a total arthroplasty (20 in augmented group and 14 in control group) due to loss of reduction, nonunion or avascular necrosis ( $p=0,1$ ). In addition to surgical training, no special training by the user doctor was necessary.

For the study of Schmelzer-Schmied *et al.*<sup>202</sup>, were included 40 patients with painful traumatic vertebral body fractures and without osteoporosis, from October 2003 to February 2007. Of all patients, 27 were male and 13 female aged between 18 and 63 years (median of 38 years). 20 patients were treated non-operatively with a brace and the others 20 patients were treated with ballon-kyphoplasty. Kyphoplasty was performed bitranspedicularly according to standard procedure protocol and a resorbable osteoconductive calcium phosphate cement (Calcibon®) was used. The amount of cement injected into one vertebral body was 3–8 ml (median of 5,3 ml). The follow-up period was 12 months. Patients were examined before and 1, 3, 6 and 12 months after the beginning of treatment. Midline vertebral height and kyphosis angle were measured on lateral X-rays of the spine according to standard morphological analysis. There were no complications in the group treated with braces. Patients with kyphoplasty showed clinically asymptomatic cement leakages in 9 of 20 cases (45%), only diagnosed in routine postoperative CT scans. There were no neurological, embolic or cardiovascular problems during or after operation. During the time of follow-up, no new adjacent or non-adjacent vertebral fractures were detected in either group. In addition to surgical training, no special training by the user doctor was necessary to manipulate the medical device.

For the 2010 study performed by Öztürkmen<sup>211</sup> and collaborators were included twenty-eight knees of 28 patients (19 males and 9 females, mean age 41.2 years, range 22-72 years) who had open reduction and internal fixation combined with CPC augmentation. All patients were controlled in their outpatient clinics at 1, 3, 6, and 12 months after surgery. Cementek® was used to fill the subchondral bone defects in all knees. Fixation of the fragments was done with screws in 3 knees (10%). Standard proximal tibial plates or buttress plates were used in 25 knees (90%) with an additional split fragment extending distally to achieve internal fixation. Full weight-bearing was allowed in 6.4 weeks (range 6-12 weeks) after surgery. Resorption of

CPC granules was defined as the decrease in the size and density of grafting material on radiographs. Rasmussen's radiological and clinical scores were determined postoperatively. Functionality was assessed with Lysholm knee scoring system. Activity was graded with Tegner's activity scale. No adverse effects secondary to the cement itself were registered during this study and the authors concluded that CPC is a safe biomaterial. In addition to surgical training, no special training by the user doctor was necessary.

The 2012 study published by Nakano *et al.*<sup>201</sup> was performed in 106 consecutive patients undergoing 123 vertebroplasty procedures using Biopex®. The mean age at time of surgery was 77 years old (range, 60 to 95 years). Following repositioning and curettage of the pathological soft tissue of the vertebral body (VB), vertebroplasty using CPC was performed in patients with osteoporotic burst fracture and pseudoarthrosis (procedure A). Vertebroplasty was also performed in patients with osteoporotic compression fractures (procedure B). Back pain and lower back pain were evaluated using VAS score. The VB deformity index was measured in a lateral radiograph as the ratio of the VB's height to its longitudinal diameter. Each outcome was obtained before surgery and daily up to two weeks (with VAS score), at 1, 2, 3, 6, 12 and 24 months postoperatively, and at the final follow-up visit. Eight patients (9.3%) died after less than two years follow-up as a result of causes that were unrelated to the vertebroplasty, and twelve patients (11,3%) were lost to follow-up. Thus, eighty-six patients (22 men and 64 women) had a minimum of two years of follow-up. One patient suffered from temporary respiratory insufficiency during the CPC injection in procedure B (0.9%). In this patient, there was no evidence of a pulmonary embolism induced by CPC on postoperative lung CT image and radiograph. There was a small amount of CPC leakage into the spinal canal in seven cases (6.6%), into the intervertebral disc in seven cases (6.6%), and into the paravertebral muscle in one (0.9%); however, no patients presented with neurological abnormalities or infection or required revision surgery. In addition to surgical training, no special training by the user doctor was necessary.

In Maestretti and colleagues 2014 study<sup>206</sup> were included 21 patients, 8 females and 13 males, aged between 26 and 76 years. Patients were evaluated clinically and radiologically 10 years postoperative and compared them with the same group of 28 patients they operated between 2002 and 2003 for traumatic vertebral fractures type A with balloon kyphoplasty and Calcibon®. Over the 10 years, 7 patients were lost of follow-up. 3 of them were not clinically impaired but did not want to participate in the study and 4 patients were untraceable. All 21 patients underwent standard X-ray (standing) and a CT. They measured the volume of the cement, the resorption the last 10 years and the disc height in the CT and the segmental and

vertebral kyphosis angle in the X-ray and compared them with the X-ray (standing) and CT done directly postoperatively. The authors recognized no complications and no reoperations were necessary. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training.

**Table 6.5** Summary of selected and articles performance and safety.

InjectOs intended use	Article information				
	Intended use	Article	Equivalent MD	Performance Summary	Safety Summary
Orthopaedics Bone cavity filling	Treatment of distal radius fractures	Treatment of fractures of the distal radius with a remodellable bone cement <sup>198</sup>	Norian®SRS	The material provides a better clinical and radiological results than conventional treatment.	The main complication of treatment with CPC was an extraosseous extrusion but the infection did not occur in any patient. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
		Radiostereometric analysis of distal radial fracture displacement during treatment <sup>203</sup>	Norian®SRS	Norian®SRS induced a decrease in immobilization time to 2 weeks.	No clinical complications during the clinical follow-up period occurred in any patient. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
		Norian®SRS versus functional treatment in redisplaced distal radial fractures: a randomized study in 20 patients <sup>192</sup>	Norian®SRS	Norian® SRS group had better fracture alignment.	3 patients reported post-operative pain. 2 patients had transient difficulty extending their thumbs. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
		Norian SRS cement compared with conventional fixation in distal radial fractures <sup>193</sup>	Norian®SRS	The fixation of a distal radial fracture with Norian SRS cement may allow for accelerated rehabilitation.	The infection rate was to 2.5% due to external fixator pins or Kirschner wires. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
	Treatment of vertebral fractures	Reduction of pain and fracture incidence after kyphoplasty: 1-year outcomes of a prospective controlled trial of patients with primary osteoporosis <sup>200</sup>	Calcibon®	Pain scores improved. The midline vertebral body height was significantly increased.	Safe. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
		Treatment of painful vertebral fractures by kyphoplasty in patients with primary osteoporosis: a prospective nonrandomized controlled study. <sup>197</sup>	Calcibon®	Significantly increased vertebral height, reduce pain and improved mobility in patients after kyphoplasty	Safe. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
		Comparison of kyphoplasty with use of	Calcibon®	The use of kyphoplasty with use of a CPC in	Safe. Safety characteristics and

	a calcium phosphate cement and non-operative therapy in patients with traumatic non-osteoporotic vertebral fractures. <sup>202</sup>		addition to non-operative an algetic therapy as an effective method to improve and stabilize vertebral deformities due to acute trauma	intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
	Vertebroplasty using calcium phosphate cement for osteoporotic vertebral fractures: study of outcomes at a minimum follow-u of two years. <sup>201</sup>	Biopex®	The material gave a satisfactory outcome in elderly patients with osteoporotic vertebral fractures at follow-up times of at least two years.	Safe. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
	A prospective study of percutaneous ballon kyphoplasty with calcium phosphate cement in traumatic vertebral fractures: 10-year results. <sup>206</sup>	Calcibon®	The long follow-up about 10 years of kyphoplasty show very good clinical and radiological results and the authors consider this treatment an option for traumatic selected vertebral type A fractures also in young patients.	Safe. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
Treatment of trochanteric fractures	Resorbable cement for the augmentation of internally-fixed unstable trochanteric fractures. <sup>196</sup>	Norian®SRS	The material provides a modest reduction in pain and a slight improvement in the quality of life.	Safe. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
Treatment of femoral neck fractures	Calcium phosphate cement for augmentation did not improve results after fixation of displaced femoral neck fractures. <sup>208</sup>	Norian®SRS	The obtained results show that due to a trend towards more reoperations in the augmented group, and only a temporary clinical improvement during the early rehabilitation, augmentation as they used it cannot be recommended	There was 1 deep infection. 34 patients were re-operated with a total arthroplasty. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
Treatment of thoracolumbar fractures	Prospective study of standalone ballon kyphoplasty with calcium phosphate cement augmentation in traumatic fractures. <sup>207</sup>	Calcibon®	The material allowing a rapid handling of pain, early discharge and return to normal activities.	Safe. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.
Treatment of depressed tibial plateau fractures	Calcium phosphate cement augmentation in the treatment of depressed tibial plateau fractures with open reduction and internal fixation <sup>211</sup>	Cementek®	The material eliminated morbidity associated with bone graft harvesting, the unlimited supply of bone substitute, the optimum filling of irregular bone defects, and shortening of the postoperative full weight-bearing time	Safe. Safety characteristics and intended purpose of the device does not require specific training in addition to surgical training that the doctor should have.

### 6.7.2.1 Surveillance safety survey

On September 7, 2016, a survey was carried out on alerts published during the last 16 years on the FDA MAUD website. A search was performed using Biopex®, Calcibon®, Norian®SRS, Cementek® terms.

On the FDA site were reported 11 occurrences concerning Norian®SRS:

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=3404590](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=3404590)<sup>213</sup>

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=3404587](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=3404587)<sup>214</sup>

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=3003429](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=3003429)<sup>215</sup>

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=3014712](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=3014712)<sup>216</sup>

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=2985774](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=2985774)<sup>217</sup>

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=2142471](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=2142471)<sup>218</sup>

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=2010662](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=2010662)<sup>219</sup>

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=1651380](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=1651380)<sup>220</sup>

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=722803](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=722803)<sup>221</sup>

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=684817](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=684817)<sup>222</sup>

[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_id=681210](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi_id=681210)<sup>221</sup>

The main reported occurrences are relate to injury,<sup>213,214,219-222</sup> malfunction<sup>215-217</sup> and one death was registered.<sup>218</sup>

In 4 of the cases of injury,<sup>213,214,220,221</sup> the patients have experienced pain, swelling, inflammatory reaction and difficulty walking. Was reported cracks in the bone cement. However, the cement could not remove because of the proximity to the cochlea.<sup>50</sup> One patient<sup>51</sup> was operated on to remove the cement. In this case the surgeons found the bone had leaked over the endolymphatic sac and the patient lost hearing in high frequencies. Was registered the removed of the cement in 2 cases<sup>220,221</sup> and in one case, the Norian®SRS was replaced because the cement did not set after 50 minutes for a lateral proximal tibia

procedure.<sup>220</sup> In other case, <sup>222</sup> Norian<sup>®</sup>SRS was used in a calcaneal fracture, however fracture was revealed to have gone non-union and the revision surgery was performed and Norian<sup>®</sup>SRS was found not harden. Finally, during a journal review, it was noted that 5 patients were treated for craniofacial malformations using Norian<sup>®</sup>SRS. At 5 months' post-operative, one patient presented with an infection caused of the cement. Infection was treated with clindamicin and gentamicin. The patient then underwent surgical wound cleansing, including partial calcium phosphate removal. Infection was successfully eradicated 10 days after surgery.<sup>219</sup>

In relation to malfunction occurrences, two cases were related with the expired date of the product.<sup>215,216</sup> In the other case, it was reported <sup>217</sup> that during surgery the Norian<sup>®</sup>SRS rotary mix would not mix and go into the syringe. There was no patient injury but surgery was extended approximately 20 minutes.

The most serious case reported was the death of a patient.<sup>218</sup> In this case, the patient had proximal tibia lateral plateau fracture. Surgery took 4-5 hours to complete. First surgeon performed dissection and was unable to achieve fracture reduction. Second surgeon reduced fracture, implanted plate with screws and injected Norian<sup>®</sup>SRS into the lateral proximal tibia. No abnormal bleeding was noted. Three hours' post-operative patient expired.

On the FDA site no records were found with Biopex<sup>®</sup>, Calcibon<sup>®</sup> and Cementek<sup>®</sup>.

On the same date was also carried out a survey on the MHRA (<http://www.mhra.gov.uk/Safetyinformation/Safetywarningsalertsandrecalls/MedicalDeviceAlerts/index.htm>) and Infarmed ([http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MONITORIZACAO\\_DO\\_MERCADO](http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MONITORIZACAO_DO_MERCADO)) websites. Did not match any occurrence reports.

### 6.7.3 Product Literature and Instructions for Use

In addition to this report are available:

- Product Description (PD 02\_01)
- DataSheet (DS 02\_01)
- Instructions For Use (IFU 02\_01)

These documents are consistent with the clinical data and cover all the hazards and other clinically relevant information that may impact on the use of the medical device.

## 6.8 Equivalence statement

InjectOs, Norian®SRS, Calcibon®, Biopex® and Cementek® are used as biocompatible materials for filling bone voids and provide an environment for bone regeneration. InjectOs is a CPC equivalent to those on the market with minor differences in the composition, as stated before. For all these MDs the mechanism of action is the same, i.e. the host bone resorption process occurring via cell mediated processes where osteoclastic cells degrade the materials layer by layer starting from bone–cement interphase to its inner core. The graft materials are slowly resorbed and replaced by the host bone. InjectOs, Norian®SRS, Calcibon®, Biopex® and Cementek® have the same mode of action; therefore, no new issues of safety or performance are presented.

The following table (Table 6.6) makes a comparison between InjectOs and equivalent MDs.

**Table 6.6** Comparison of InjectOs with the marketed predicate devices.

<b>Substantial equivalence comparison</b>	<b>InjectOs</b>	<b>Norias®SRS</b>	<b>Calcibon®</b>	<b>Cementek®</b>	<b>Biopex®</b>
<b>Intended use</b>	Bioactive and osteoconductive bone void filler device for the regeneration of hard tissues.	Same as new device			
<b>Indications</b>	Is indicated to be packed into bone voids or gaps to fill and/or augment orthopaedics.	Same as new device			
<b>Material</b>	This is a bioactive calcium phosphate that consists only of elements naturally existing in the body (Ca <sup>2+</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Sr <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> )	Ca <sup>2+</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>			
<b>Device action</b>	The resorption process occurring via cell mediated processes where osteoclastic cells degrade the materials layer by layer starting from bone–cement interphase to its inner core.	Same as new device			
<b>Performance</b>	Bone infiltration occurs throughout the graft site via osteoconduction, resulting in increased graft site mechanical stiffness and strength.	Same as new device			
<b>Bone remodelling</b>	New bone grows into the graft area via osteoconduction. The material is slowly resorbed and replaced by the host bone.	Same as new device			

## 6.9 Conclusions

There are several CPCs available in the market, with Norian®SRS being the most used one in numerous studies. None of the CPC compositions existing in the market contain both  $\alpha$ -TCP and  $\beta$ -TCP phases. The same applies concerning doping ions capable of promoting bone regeneration more rapidly. Therefore, a CPC with these new compositional features was created.

The doping elements are carried by the  $\beta$ -TCP phase for do not disturbing the  $\beta$ -TCP  $\rightarrow$   $\alpha$ -TCP phase transformation upon heating and preventing the reverse transformation upon cooling.

In addition to the already known effects of calcium phosphates, the presence of small amounts of dopant ions brings benefits at a biological level, promoting bone regeneration (Zn), osseointegration of the CPC to the bone and radiographic visualization minimizing the placement errors of the CPC (Sr) and osteoregeneration by the presence of Mn.

Based on the performance data and specifications presented, it can be concluded that the intended use, material composition and scientific technology, degradation properties, bioactive, osteoconductive and osteostimulative properties of InjectOS is substantially equivalent with the CPCs marketed, when used in the indications for use described above and do not raise new questions of safety and performance. So injectOs and the referred marketed CPCs are equivalent MDs.



# CAPÍTULO VII

---

CONCLUSÕES GERAIS E TRABALHOS FUTUROS



## Conclusões gerais e trabalhos futuros

### 7.1 Conclusões gerais

O grande objetivo deste estudo foi a produção de CPCs injetáveis à base de  $\alpha$ -TCP com vista no tratamento de fraturas ósseas vertebrais de forma minimamente invasiva (vertebroplastia). Para este tipo de cirurgias surge a necessidade da produção de materiais com capacidade de serem injetados para o interior do corpo vertebral, de forma homogênea. Os cirurgiões reconhecem que as formulações disponíveis no mercado ainda carecem de melhorias em alguns aspetos, daí o contínuo esforço por parte dos investigadores na procura de uma formulação com as características ideais. Essas características passam, principalmente, pela produção de pastas cimentícias com uma boa capacidade de extrusão através de uma seringa e de uma cânula fina e comprida e, conseqüentemente, a produção de CPCs com um bom comportamento mecânico e biológico. Esta problemática foi encarada como um grande desafio e motivação na procura de resultados satisfatórios, sendo que foram diversas as etapas percorridas até a obtenção final do cimento. Tido como um estudo preliminar, pode considerar-se que os objetivos inicialmente propostos foram alcançados de forma satisfatória.

Para além da produção de CPCs, um dos objetivos deste trabalho foi perceber qual a forma mais apropriada de obtenção de pós puros de  $\alpha$ -TCP. Estes pós foram produzidos pelo processo de precipitação química por via húmida a 30°C e calcinados a uma temperatura de 1000°C, originando pós de  $\beta$ -TCP com pequenas quantidades de  $\beta$ -CPP (Ca/P = 1,490) ou de HA (Ca/P = 1,510), dependendo da razão molar Ca/P utilizada. Estes pós foram depois sujeitos a tratamentos térmicos distintos para transformação da fase  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP (fase de alta temperatura). Os resultados obtidos mostraram que esta transformação é fortemente influenciada pelas diversas variáveis estudadas, nomeadamente a presença de impurezas e a taxa de arrefecimento imposta. Verificou-se que na presença de pequenas quantidades de  $\beta$ -CPP não existe possibilidade de obter a fase pura de  $\alpha$ -TCP. Por outro lado, na presença de pequenas quantidades de HA é possível a produção de pós puros de  $\alpha$ -TCP. Para além do estudo efetuado com estas impurezas, testou-se a possibilidade de obter pós de  $\alpha$ -TCP dopados com iões de Sr, Zn e Mn. Os resultados obtidos para este caso indicam que a presença destes iões, e a necessidade do uso de valores de pH neutrais ou ligeiramente ácidos tornara mais difícil a eliminação da fase  $\beta$ -CPP, prejudicial à transformação  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP. Isso obrigou à utilização de razões molares (Ca+Sr+Zn+Mn)/P significativamente superiores à estequiometria do TCP. No caso da transformação  $\beta$ -TCP dopado  $\rightarrow \alpha$ -TCP verificou-se que os iões dopantes

estabilizam a fase  $\beta$ , deslocando a transformação  $\beta \rightarrow \alpha$ -TCP para temperaturas superiores, e tende a reverter a transformação de fase ( $\alpha \rightarrow \beta$ -TCP) durante o arrefecimento.

Na produção dos CPCs foram utilizados pós de  $\alpha$ -TCP obtidos a 1500°C e a 1250°C. Estes pós sofreram um longo processo de moagem, principalmente o pó calcinado a 1500°C, para reduzir adequadamente o tamanho das partículas. Esta etapa é uma das mais morosas devido à necessidade de destruir os fortes aglomerados de partículas formados durante a calcinação a elevadas temperaturas. Esta etapa precisa ainda de ser mais explorada de modo a otimizar todo o processo.

De entre todas as formulações de pastas cimentícias testadas, a M90.L2,5-0,34 foi a que melhor se comportou aquando o teste de injetabilidade. Esta formulação resultou num cimento apatítico com propriedades interessantes do ponto de vista da injetabilidade, microestrutura, porosidade, e resistência mecânica, e fases cristalinas formadas. Os valores dos tempos de presa (IST  $\approx$ 19 min, e FST  $\approx$ 70 min) para esta formulação são ainda demasiado longos. A injetabilidade desta pasta foi cerca de 90%, apresentando alguma separação de fases. A resistência à compressão de amostras em húmido após imersão numa solução de PBS durante 24 h foi de  $\approx$ 22 MPa. A porosidade total foi de  $\approx$ 39%, e as fases cristalinas formadas foram o  $\alpha$ -TCP e a CDHA, tal como era esperado. Para além desta A formulação T2-300.L2,5-0,28 apresentou um elevado desempenho mecânico e tempos de presa mais curtos, mas injetabilidade muito fraca. A formulação T2-300.L2,5-0,34 injetou melhor comparada com a T2-300.L2,5-0,28, mas teve um desempenho mecânico mais fraco. Os resultados obtidos para estas formulações permitem confirmar que uma RLP menor proporciona maior resistência mecânica e menor porosidade. De uma forma geral conclui-se que a obtenção de uma pasta cimentícia com as características ideais para ser injetável é um processo longo e que requer o estudo e a otimização de diversos fatores, principalmente a distribuição granulométrica dos pós que revelou ser o fator mais determinante na injetabilidade das pastas.

Com vista ao pedido de marca CE, foi dado um contributo para a preparação do *dossier* técnico. Um dos documentos necessários para a elaboração deste dossier é um relatório de avaliação clínica. Este foi efetuado por equivalência a CPCs já comercializados, para uma formulação com composição  $\alpha$ -TCP/ $\beta$ -TCP dopado com Sr, Zn e Mn, denominada de InjectOS. Este relatório que compara o InjectOS com outros CPCs já disponíveis no mercado relata estudos clínicos efetuados com os mesmos, permitindo concluir que este dispositivo médico é substancialmente equivalente aos CPCs comercializados.

## 7.2 Trabalhos Futuros

Apesar de os resultados obtidos ao longo desta tese serem promissores, existem ainda aspetos que precisam de ser melhor estudados em trabalhos futuros. Encontradas as condições ideais conducentes à formação de  $\alpha$ -TCP puro durante o tratamento térmico, será ainda necessário levar a cabo um estudo detalhado e sistemático acerca do processamento do pó calcinado com vista à obtenção da distribuição granulométrica ideal. Deste modo, sugerem-se um conjunto de ações:

- Melhorar e otimizar o processo de moagem dos pós de  $\alpha$ -TCP;
- Efetuar um estudo sistemático acerca da DTP dos pós de partida para identificar qual a DTP ideal e otimizar o processo para que seja reprodutível;
- Estudar o comportamento reológico das pastas cimentícias ao longo do tempo e compará-lo com o comportamento de sistemas não reativos;
- Implementar condições de mistura que garantam graus de homogeneidade superiores e redução da quantidade de bolhas de ar formadas, como por exemplo, efetuar uma mistura mecânica e sob vácuo;
- Melhorar o método de preparação dos provetes para os ensaios mecânicos e realizar ensaios a diferentes tempos de modo a perceber a evolução do comportamento do CPC à RC;
- Criar um método eficaz e coerente para a avaliação da coesão das pastas cimentícias preparadas;
- Formular novas composições de CPCs, nomeadamente, CPCs que contenham na sua composição iões dopantes como o Sr, Zn e Mn, avaliando a radiopacidade destes, pois, esta propriedade permite acompanhar a evolução do CPC durante e depois da implantação;
- Efetuar estudos *in vitro* em células indiferenciadas mesenquimais de forma a avaliar a biocompatibilidade, a taxa de reabsorção do CPC e da formação de novo osso;
- Efetuar estudos *in vivo* de modo a avaliar a toxicidade do CPC, avaliar a osteocondutividade e verificar a eficácia do CPC como substituto ósseo;
- Dar continuidade à elaboração do *dossier* técnico de modo a reunir toda a informação acerca do InjectOs para futuramente ser colocado no mercado.



---

## Referências Bibliográficas

- (1) Nilsson, M. Injectable Calcium Sulphate and Calcium Phosphate Bone Substitutes. Department of Orthopaedics, Lund University, Thesis, **2003**.
- (2) Frazão, P.; Naveira, M. Fatores Associados À Baixa Densidade Mineral Óssea Em Mulheres Brancas. *Rev. Saúde Pública*. **2007**.
- (3) Jordan, K. M.; Cooper, C. Epidemiology of Osteoporosis. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* **2002**, *16* (5), 795–806.
- (4) Lewis, G. Injectable Bone Cements for Use in Vertebroplasty and Kyphoplasty: State-of-the-Art Review. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* **2006**, *76* (2), 456–468.
- (5) Adelaide, C. Fraturas Osteoporóticas Proximais Do Fémur Estudo Da Mortalidade E Custos Hospitalares, Universidade da Beira Interior, 2013.
- (6) Driessens, F.; Planell, J.; Gil, F. Calcium Phosphate Bone Cement. *Encycl. Handb. Biomater. Bioeng. Appl.* **1995**, *2*, 885.
- (7) Webb, J. C. J.; Spencer, R. F. The Role of Polymethylmethacrylate Bone Cement in Modern Orthopaedic Surgery. *J. Bone Joint Surg. Br.* **2007**, *89* (7), 851–857.
- (8) Cotrim, R. P.; Federal, U.; Gerais, D. M.; Odontologia, F. De; Horizonte, B. Polimetilmetacrilato E Suas Aplicações Na Cirurgia Bucomaxilofacial Polimetilmetacrilato E Suas Aplicações Na Cirurgia Bucomaxilofacial, Universidade Federal de Minas Gerais, **2013**.
- (9) Torres, P. M. C.; Gouveia, S.; Olhero, S.; Kaushal, A.; Ferreira, J. M. F. Injectability of Calcium Phosphate Pastes: Effects of Particle Size and State of Aggregation of B–tricalcium Phosphate Powders. *Acta Biomater.* **2015**, *21*, 204–216.
- (10) Brown, W. E.; Chow, L. C. A New Calcium Phosphate Water Setting Cement. *Cem. Res. progress, Westerv. Am. Ceram. Soc.* **1986**, 352.
- (11) Dorozhkin, S. V. Calcium Orthophosphate Cements for Biomedical Application. *J. Mater. Sci.* **2008**, *43* (9), 3028–3057.
- (12) Stewart, G. J. *The Skeletal and Muscular Systems*; 2004; Vol. 53.
- (13) Griffiths, G. W.; Schiesser, W. E. Histology and Cell Biology - Abraham Kierszenbaum. *Traveling Wave Analysis of Partial Differential Equations*. 2002, pp 1–422.
- (14) McGonnell, I. M.; Grigoriadis, A. E.; Lam, E. W. F.; Price, J. S.; Sunters, A.; Liu, L.; Parent, C. A.; Kini, U.; Nandeesh, B. N. Physiology of Bone Formation, Remodeling, and Metabolism. *Radionucl. Hybrid Bone Imaging* **2012**, *3* (July), 29–57.
- (15) Bilezikian, J. P.; Raisz, L. G.; Rodan, G. A. *Principles of Bone Biology Second Edition Volume1*, ACADEMIC P.; 2002.
- (16) Junqueira, L.; Carneiro, J. *Histologia Básica*, Décima Edi.; **2004**.
- (17) Gershkowitz, B. *Bone Mechanics: Handbook*, Second Edi.; Cowin, S. C., Ed.; **2001**.
- (18) Barinov, S. M. Calcium Phosphate-Based Ceramic and Composite Materials for Medicine. *Russ. Chem. Rev.* **2010**, *79* (1), 13–29.
- (19) Ontañón, M.; Aparicio, C.; Ginebra, M. P.; Planell, J. A. *Structure and Mechanical Properties of Bone*; Elices, M., Ed.; Pergamon Material Series. Elsevier Science: Oxford, UK, **2000**.
- (20) Burstein, A.; Reilly, D.; Martens, M. Aging of Bone Tissue: Mechanical Properties. *J Bone Jt Surg* **1976**, *58A*, 82–86.
- (21) Duck, F. A. *Physical Properties of Tissue: A Comprehensive Reference Book*; Academic: London, **1990**.

- (22) Zofková, I.; Nemcikova, P.; Matucha, P. Trace Elements and Bone Health. *Clin Chem Lab Med* **2013**, 1–7.
- (23) Percival, M. Bone Health and Osteoporosis. *Appl Nutr Sci Rep* **1999**, 5, 1–6.
- (24) Moonga, B. S.; Dempster, D. W. Zinc Is a Potent Inhibitor of Osteoclastic Bone Resorption in Vitro. *J Bone Min. Res Off. J Am Soc Bone Min. Res* **1995**, 10, 7–453.
- (25) Rokita, E.; Hermes, C.; Nolting, H.; Ryzek, J. Substitution of Calcium by Strontium within Selected Calcium Phosphates. *J. Cryst. Growth* **1993**, 130, 543–552.
- (26) Landete-Castillejos, T.; Molina-Quilez, I.; Estevez, J.; Ceacero, F.; Garcia, A.; Gallego, L. Alternative Hypothesis for the Origin of Osteoporosis: The Role of Mn. *Front. Biosci.* **2012**, E4 (January), 2328–2339.
- (27) Najjar, T.; Kahn, D. Comparative Study of Healing and Remodeling in Various Bones. *J Oral Surg* **1977**, 35 (5), 9–375.
- (28) Albrektsson, T.; Johansson, C. Osteoinduction, Osteoconduction and Osseointegration. *Eur. Spine J.* **2001**, 10 (SUPPL. 2), 96–101.
- (29) Nandi, S. K.; Roy, S.; Mukherjee, P.; Kundu, B.; Basu, D. Orthopaedic Applications of Bone Graft & Graft Substitutes : A Review. *Indian J Med Res* **2010**, 132 (July), 15–30.
- (30) Williams, D. F. On the Mechanisms of Biocompatibility. *Biomaterials* **2008**, 2941–2953.
- (31) Burchardt, H. Biology of Bone Transplantation. *Orthop. Clin. North Am.* **1987**, 18 (2), 187–196.
- (32) LeGeros, R. Calcium Phosphate-Based Osteoinductive Materials. *Chem. Rev.* **2008**, 108 (11), 4742–4753.
- (33) Williams, D. F. On the Nature of Biomaterials. *Biomaterials* **2009**, 30 (30), 5897–5909.
- (34) Aoki, H. Medical Applications of Hydroxyapatite. *Ishiyaku EuroAmerica* **1994**.
- (35) de Groot, K. *Bioceramics of Calcium Phosphate*; CRC Press: Boca Raton, **1983**.
- (36) LeGeros, R.; Daculsi, G. In Vivo Transformation of Biphasic Calcium Phosphate Ceramics: Ultrastructural and Physicochemical Characterizations. *Handbook of Bioactive Ceramics. Boca Rat. CRC Press* **1990**, 17–28.
- (37) De Bruijn, J. D.; Klein, C.P.A.T. De Groot, K. The Ultrastructure of the Bonehydroxyapatite Interface in Vitro. *J Biomed Mater Res A* **1992**, 26, 1365–1382.
- (38) Albee, F. Studies in Bone Growth: Triple CaP as a Stimulus to Osteogenesis. *Ann Surg* **1920**, 71, 32–36.
- (39) Pina, S. C. D. A. Cimentos de Fosfato de Cálcio Dopados Para Implantologia Óssea: Dissertação de Doutorado, Universidade de Aveiro, 2009.
- (40) Ratner, B.; Hoffman, A.; Schoen, F.; Lemons, J. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*; Ratner, B., Hoffman, A., Schoen, F., Lemons, J., Eds.; Academic Press, 1996.
- (41) Dorozhkin, S. V. Calcium Orthophosphates. *J. Mater. Sci.* **2007**, 42 (4), 1061–1095.
- (42) Böhner, M. Calcium Orthophosphates in Medicine: From Ceramics to Calcium Phosphate Cements. *Int. J. Care Inj.* **2000**, 31, 37–47.
- (43) Carrodeguas, R. G.; Aza, S.  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate: Synthesis, Properties and Biomedical Applications. *Acta Biomater.* **2011**, 7 (10), 3536–3546.
- (44) Benard, J. Combinaisons Avec Le Phosphore. *Nouv. Trait. Chim. Miner.* **1958**, 4, 455–488.
- (45) Alves, H. L. R.; Dos Santos, L. a; Bergmann, C. P. Injectability Evaluation of Tricalcium Phosphate Bone Cement. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2008**, 19 (January 2016), 2241–2246.

- (46) Driessens, F.; Verbeeck, R. Relation between Physico-Chemical Solubility and Biodegradability of Calcium Phosphates. *Implant Mater. biofunction. Adv. Biomater.* **1988**, 105–111.
- (47) Pina, S.; Ferreira, J. M. F. Brushite-Forming Mg-, Zn- and Sr-Substituted Bone Cements for Clinical Applications. *Materials (Basel)*. **2010**, 3 (1), 519–535.
- (48) Torres, P.; Marote, A.; Cerqueira, R.; Calado, A.; Abrantes, J.; Olhero, S.; Cruz e Silva, O.; Vieira, S.; Ferreira, J. Injectable MnSr-doped brushite bone cement with improved biological performance. *J. Mater Chem B (Sob revisão)*, **2016**.
- (49) Li, Z.; Yuan, N.; Lam, R. W. M.; Cui, Z.; Yang, X.; Lu, W. W. Preclinical Evaluation of Strontium-Containing Bioactive Bone Cement. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* **2013**, 33 (8), 5100–5104.
- (50) LeGeros, R.; Lin, S.; LeGeros, J.; Cazalbou, S.; Combes, C.; Dupin-Roger, I. Strontium Ranelate Treatment Preserves Bone Crystal Characteristics and Bone Mineral Reactivity. *Calcif. Tissue* **2004**, 74, S95–S95.
- (51) Dahl, S. G.; Allain, P.; Marie, P. J.; Mauras, Y.; Boivin, G.; Ammann, P.; Tsouderos, Y.; Delmas, P. D.; Christiansen, C. Incorporation and Distribution of Strontium in Bone. *Bone* **2001**, 28 (4), 446–453.
- (52) Luo, X.; Barbieri, D.; Davison, N.; Yan, Y.; De Bruijn, J. D.; Yuan, H. Zinc in Calcium Phosphate Mediates Bone Induction: In Vitro and in Vivo Model. *Acta Biomater.* **2014**, 10 (1), 477–485.
- (53) Ito, A.; Otsuka, M.; Kawamura, H.; Ikeuchi, M.; Ohgushi, H.; Sogo, Y.; Ichinose, N. Zinc-Containing Tricalcium Phosphate and Related Materials for Promoting Bone Formation. *Curr. Appl. Phys.* **2005**, 5 (5), 402–406.
- (54) Armulik, A.; Svineng, G.; Wennerberg, K.; Fässler, R.; Johansson, S. Expression of Integrin Subunit beta1B in Integrin beta1-Deficient GD25 Cells Does Not Interfere with alphaVbeta3 Functions. *Exp. Cell Res.* **2000**, 254 (1), 55–63.
- (55) Cashman, K.; Flynn, A. Trace Elements and Bone Metabolism. *Bibl Nutr Dieta* **1998**, 54, 150–164.
- (56) Torres, P.; Vieira, S.; Cerqueira, R.; Pina, S.; Da Cruz Silva, B.; Abrantes, J.; Ferreira, J. Effects of Mn-Doping on the Structure and Biological Properties of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate. *J. Inorg. Biochem.* **2014**, 136, 57–66.
- (57) ATCC. [http://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/CRL-2593.aspx?geo\\_country=pt](http://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/CRL-2593.aspx?geo_country=pt) (accessed Jan 29, 2016).
- (58) Brown, W.; Chow, L. A New Calcium-Phosphate Setting Cement. *J Dent Res* **1983**, 62, 672–672.
- (59) Han, B.; Ma, P. W.; Zhang, L. L.; Yin, Y. J.; Yao, K. De; Zhang, F. J.; Zhang, Y. D.; Li, X. L.; Nie, W.  $\beta$ -TCP/MCPM-Based Premixed Calcium Phosphate Cements. *Acta Biomater.* **2009**, 5 (8), 3165–3177.
- (60) Driessens, F. C. M. Calcium Phosphates and Ceramics Bone Cements vs. Acrylic Cements. *An. Química* **1997**, 93, S38–S43.
- (61) Zhang, J.; Liu, W.; Schnitzler, V.; Tancret, F.; Bouler, J.-M. Calcium Phosphate Cements for Bone Substitution: Chemistry, Handling and Mechanical Properties. *Acta Biomater.* **2014**, 10 (3), 1035–1049.
- (62) Gbureck, U.; Dembski, S.; Thull, R.; Barralet, J. E. Factors Influencing Calcium Phosphate Cement Shelf-Life. *Biomaterials* **2005**, 26 (17), 3691–3697.
- (63) Theiss, F.; Apelt, D.; Brand, B.; Kutter, A.; Zlinszky, K.; Bohner, M.; Matter, S.; Frei, C.; Auer, J. A.; von Rechenberg, B. Biocompatibility and Resorption of a Brushite Calcium Phosphate Cement. *Biomaterials* **2005**, 26 (21), 4383–4394.
- (64) Bohner, M.; Gbureck, U.; Barralet, J. E. Technological Issues for the Development of More Efficient Calcium Phosphate Bone Cements: A Critical Assessment. *Biomaterials* **2005**, 26 (33), 6423–6429.

- (65) Monma, H.; Kanazawa, T. The Hydration of  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate. *Yogo-Kyokai-shi* **1976**, *84*, 209-213.
- (66) Durucan, C.; Brown, P. W.  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate Hydrolysis to Hydroxyapatite at and near Physiological Temperature. *Mater. Sci. Mater. Med.* **2000**, *11*, 365-371.
- (67) Durucan, C.; Brown, P. W. Reactivity of  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate. *J. Mater. Sci.* **2002**, *37*, 963-969.
- (68) Bigi, A.; Boanini, E.; Botter, R.; Panzavolta, S.; Rubini, K.  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate Hydrolysis to Octacalcium Phosphate : Effect of Sodium Polyacrylate. *Biomaterials* **2002**, *23*, 1849-1854.
- (69) Ginebra, M.; Ferna, E.; Driessens, F. C. M.; Planell, J. A. Modeling of the Hydrolysis of a  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate. *J. Am. Ceram Soc.* **1999**, *82* (10), 2808-2812.
- (70) Sarda, S.; Fernández, E.; Llorens, J.; Martínez, S.; Nilsson, M.; Planell, J. A. Rheological Properties of an Apatitic Bone Cement during Initial Setting. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2001**, *12*, 905-909.
- (71) Driessens, F.; Boltong, M.; Bermudez, O.; Fernández, E.; Ginebra, M.; Planell, J. Common Ion Effect on Calcium Phosphate Cements. In *Proceedings of the 10th European Conference on Biomaterials*; 1994; p 30.
- (72) Fernández, E.; Gil, F. J.; Best, S. M.; Ginebra, M. P.; Driessens, F. C. M.; Planell, J. A. Improvement of the Mechanical Properties of New Calcium Phosphate Bone Cements in the  $\text{CaHPO}_4$ - $\alpha$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  System : Compressive Strength and Microstructural Development. *Key Eng Mater* **1998**, *3*, 560-567.
- (73) Fernández, E.; Ginebra, M. P.; Boltong, M. G.; Driessens, F. C. M.; Ginebra, J.; De Maeyer, E. A. P. Kinetic Study of the Setting - Reaction of a Calcium Phosphate Bone Cement. *J Biomed Mater Res* **1996**, *32*, 367-374.
- (74) Durucan, C.; Brown, P. W. Kinetic Model for  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate Hydrolysis. *J Am Ceram Soc* **2002**, *18* (8), 2013-2018.
- (75) Camiré, C. L.; Gbureck, U.; Hirsiger, W.; Bohner, M. Correlating Crystallinity and Reactivity in an  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate. *Biomaterials* **2005**, *26*, 2787-2794.
- (76) Ginebra, M. P.; Driessens, F. C. M.; Planell, J. A. Effect of the Particle Size on the Micro and Nanostructural Features of a Calcium Phosphate Cement : A Kinetic Analysis. *Biomaterials Fundam. e Apl.* **2004**, *25*, 3453-3462.
- (77) Alves, H. L. R.; Dos Santos, L. a; Bergmann, C. P. Injectability Evaluation of Tricalcium Phosphate Bone Cement. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2008**, *19*, 2241-2246.
- (78) Dorozhkin, S. V. Self-Setting Calcium Orthophosphate Formulations. *J. Funct. Biomater.* **2013**, *4*, 209-311.
- (79) Ginebra, M. P. Calcium Phosphate Bone Cements. In *Orthopaedic bone cements*; Deb, S., Ed.; **2008**; pp 206-230.
- (80) Fernández, E.; Planell, J. A.; Boltong, M. G.; Ginebra, M. P. Common Ion Effect on Some Calcium Phosphate Cements. *Clin. Mater.* **1994**, *16*, 99-103.
- (81) Sarda, S.; Fernández, E.; Nilsson, M.; Balcells, M.; Planell, J. A. Kinetic Study of Citric Acid Influence on Calcium Phosphate Bone Cements as Water-Reducing Agent. *J Biomed Mater Res* **2002**, *61*, 653-659.
- (82) Pina, S.; Olhero, S. M.; Gheduzzi, S.; Miles, A. W.; Ferreira, J. M. F. Influence of Setting Liquid Composition and Liquid-to-Powder Ratio on Properties of a Mg-Substituted Calcium Phosphate Cement. *Acta Biomater.* **2009**, *5*, 1233-1240.
- (83) Almirall, A.; Larrecq, G.; Delgado, J. A.; Mart, S. Fabrication of Low Temperature Macroporous Hydroxyapatite Scaffolds by Foaming and Hydrolysis of an  $\alpha$ -TCP Paste. *Biomaterials Fundam. e Apl.* **2004**, *25*, 3671-3680.
- (84) Bohner, M.; Baroud, G. Injectability of Calcium Phosphate Pastes. *Biomaterials* **2005**, *26*, 1553-1563.

- (85) Dorozhkin, S. *Calcium Orthophosphates: Applications in Nature, Biology, and Medicine*, Taylor & F.; **2012**.
- (86) Leung, K. S.; Siu, W. S.; Li, S. F.; Qin, L.; Cheung, W. H.; Tam, K. F.; Po, P.; Lui, Y. An In Vitro Optimized Injectable Calcium Phosphate Cement for Augmenting Screw Fixation in Osteopenic Goats. *J. Biomed. Mater. Res. B (Appl. Biomater.)* **2005**, 21–24.
- (87) Eames, W. B.; Monroe, S. D.; Roan, J. D.; Oneal, S. J. Proportioning and Mixing of Cements — Comparison of Working Times. *Oper. Dent* **1977**, 2, 97–104.
- (88) Baroud, G.; Matsushita, C.; Samara, M.; Beckman, L.; Steffen, T. Influence of Oscillatory Mixing on the Injectability of Three Acrylic and Two Calcium-Phosphate Bone Cements for Vertebroplasty. *J. Biomed. Mater. Res. B (Appl. Biomater.)* **2003**, 68B, 105–111.
- (89) Bohner, M. Physical and Chemical Aspects of Calcium Phosphates Used in Spinal Surgery. *Eur Spine J* **2001**, 10, 114–121.
- (90) Ginebra, M. P.; Fernandez, E.; De Maeyer, E. A. P.; Verbeeck, R. M. H.; Boltong, M. G.; Ginebra, J.; Driessens, F. C. M.; Planell, J. A. Setting Reaction and Hardening of an Apatitic Calcium Phosphate Cement. *J. Dent. Res.* **1997**, 76 (4), 905–912.
- (91) ASTM C266-89. Standard Test Method for Time of Setting of Hydraulic-Cement Paste by Gillmore Needles. ASTM C266–08, **2008**.
- (92) Komath, M.; Varma, H. K.; Sivakumar, R. On the Development of an Apatitic Calcium Phosphate Bone Cement. *Bull. Mater. Sci* **2000**, 23, 135–140.
- (93) Khairoun, I.; et al. Limited Compliance of Some Apatitic Calcium Phosphate Bone Cements with Clinical Requirements. *J. Mater. Sci. Med.* **1998**, 9 (11), 667–671.
- (94) Driessens, F. C. M.; et al. Formulation and Setting Times of Some Calcium Orthophosphate Cements - a Pilot-Study. *J. Mater. Sci. Med.* **1993**, 4 (5), 503–508.
- (95) Huan, Z.; Chang, J. Novel Bioactive Composite Bone Cements Based on the Beta-Tricalcium Phosphate-Monocalcium Phosphate Monohydrate Composite Cement System. *Acta Biomater.* **2009**, 5 (4), 1253–1264.
- (96) Ginebra, M. P.; Al., E. The Effects of Temperature on the Behaviour of Na Apatitic Calcium Phosphate Cement. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1995**, 857–860.
- (97) Khairoun, I.; Al., E. Limited Compliance of Some Apatitic Calcium Phosphate Bone Cements with Clinical Requirements. *J. Mater. Sci. Mater. Med* **1998**, 9, 667–671.
- (98) Leung, K. S.; Al., E. An In Vitro Optimized Injectable Calcium Phosphate Cement for Augmenting Screw Fixation in Osteopenic Goats. *J. Biomed. Mater. Res. Part. B Appl. Biomater* **2006**, 78B, 153-160.
- (99) Bohner, M. Reactivity of Calcium Phosphate Cements. *J Mater Chem* **2007**, 17, 3980–3986.
- (100) Bohner, M. Design of ceramic-based cements and putties for bone graft substitution. *Eur. Cells Mater.* **2010**, 20, 1–12.
- (101) Khairoun, I.; Driessens, F. C. M.; Boltong, M. G.; Planell, J. A.; Wenz, R. . Addition of Cohesion Promotors to Calcium Phosphate Cements. *Biomaterials* **1999**, 20, 393–398.
- (102) Miyamoto, Y.; Ishikawa, K.; Takechi, M.; Toh, T.; Yuasa, T.; Nagayama, M.; Suzuki, K. Histological and Compositional Evaluations of Three Types of Calcium Phosphate Cements When Implanted in Subcutaneous Tissue Immediately after Mixing. *J. Biomed Mater. Res. (Appl Biomater.)* **1999**, 48, 36–42.
- (103) Chow, L. C. Next Generation Calcium Phosphate-Based Biomaterials. *Dent Mater J.* **2009**, 28 (1), 1-10.
- (104) Xu, H. H.; Al., E. Injectable and Macroporous Calcium Phosphate Cement Scaffold. *Biomaterials* **2006**, 27 (24), 4279–4287.

- (105) Burguera, E. F.; Xu, H. H. K.; Sun, L. M. Injectable Calcium Phosphate Cement: Effects of Powder-to-Liquid Ratio and Needle Size. *J. Biomed. Mater. Res. Part B-Applied Biomater.* **2008**, *84B* (2), 493–502.
- (106) Low, K. L.; Tan, S. H.; Hussein, S.; Zein, S.; Roether, J. A.; Mourin, V. Review Calcium Phosphate-Based Composites as Injectable Bone Substitute Materials. *J. Biomed. Mater. Res. B (Appl. Biomater)* **2010**, *94B*, 273–286.
- (107) Montufar, E. B.; Maazouz, Y.; Ginebra, M. P. Relevance of the Setting Reaction to the Injectability of Tricalcium Phosphate Pastes. *Acta Biomater.* **2013**, *9* (4), 6188–6198.
- (108) Habib, M.; Al., E. Mechanisms Underlying the Limited Injectability of Hydraulic Calcium Phosphate Paste. Part II: Particle Separation Study. *Acta Biomater.* **2010**, *6* (1), 250–256.
- (109) Khairoun, I.; Al., E. Some Factors Controlling the Injectability of Calcium Phosphate Bone Cements. *J. Mater. Sci. Med.* **1998**, *9* (8425–428).
- (110) Driessens, F.; Planell, J.; Boltong, M.; Khairoun, I.; Ginebra, M. Osteotransductive Bone Cements. *Proc. Inst. Mech. Eng. H J. Eng. Med.* **1998**, *212* (July), 427–435.
- (111) Ikenaga, M.; Hardouin, P.; Lemaitre, J.; Andrianjatovo, H.; Flautre, B. Biomechanical Characterization of a Biodegradable Calcium Phosphate Hydraulic Cement: A Comparison with Porous Biphasic Calcium Phosphate Ceramics. *J Biomed Mater Res-Appl Biomater* **1998**, *40*, 139-144.
- (112) ASTM. Standard Specification for Acrylic Bone Cement. ASTM F451: ASTM International **2008**.
- (113) Bermúdez, O.; et al. Development of an Octocalcium Phosphate Cement. *J. Mater. Sci. Mater. Med* **1994**, *5*, 144–146.
- (114) Bermúdez, O.; Al., E. Optimization of a Calcium Orthophosphate Cement Formulation Occurring in the Combination of Monocalcium Phosphate Monohydrate with Calcium Oxide. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1994**, *5*, 67–71.
- (115) Chow, L. C.; et al. Self-Setting Calcium Phosphate Cements. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc* **1991**, *179*, 3–24.
- (116) Böhner, M.; Merkle, H. P.; Lemaître, J. In Vitro Aging of a Calcium Phosphate Cement. *J. Mater. Sci. Mater. Med* **2000**, *11*, 155–162.
- (117) Khairoun, I.; Boltong, M. G.; Driessens, F. C.; Planell, J. A. Effect of Calcium Carbonate on Clinical Compliance of Apatitic Calcium Phosphate Bone Cement. *J Biomed Mater Res* **1997**, *38* (4), 356-360.
- (118) Driessens, F. C. M. Chemistry and Applied Aspects of Calcium Phosphate Bone Cements. Concepts and Clinical Applications of Ionic Cements. In *Meeting of the European Society for Biomaterials*; Arcachon, France, **1999**.
- (119) Schwarz, P. D.; et al. Evaluation of an in Situ Setting Carbonated Calcium Phosphate Cement in a Dynamically Loaded Canine Femoral Component. In *European Conference on Biomaterials*; Davos, **1993**; p 8C.
- (120) Directiva 93/42/CEE Do Conselho de 14 de Junho de 1993 Relativa Aos Dispositivos. *JO* **1993**, *12* (7), 1.
- (121) ISO 13485:2003-Dispositivos Médicos Sistemas de Gestão Da Qualidade Requisitos Para Fins Regulamentares. 2004, pp 1–74.
- (122) ISO 14155:2011-Clinical Investigation of Medical Devices for Human Subjects - Good Clinical Practice. 2011, pp 1–58.
- (123) Infarmed. infarmed: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P [http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PERGUNTAS\\_FREQUENTES/DM](http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PERGUNTAS_FREQUENTES/DM) (accessed Jan 27, 2016).

- (124) Destainville, A.; Champion, E.; Laborde, E. Synthesis , Characterization and Thermal Behavior of Apatitic Tricalcium Phosphate. *Mater. Chem. Phys.* **2003**, *80*, 269–277.
- (125) Kannan, S.; Pina, S.; Ferreira, J. M. F. Formation of Strontium-Stabilized  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate from Calcium-Deficient Apatite. *J. Am. Ceram. Soc.* **2006**, *89* (10), 3277–3280.
- (126) Rayner-Canham, G.; Overton, T. *Descriptive Inorganic Chemistry*, Sixth Edit.; 2014.
- (127) Clariant Polyglykol Brochure. Your Universally Applicable Polymer: Functional Chemicals. 2007, pp 1–36.
- (128) Kunze, M.; Klug, P. Diamonds and Pearls: Aristoflex® TAC - Suspending Agent for Pearls, Bubbles and Optical Effects. Clariant 2011.
- (129) Habib, M.; Baroud, G.; Gitzhofer, F.; Bohner, M. Mechanisms Underlying the Limited Injectability of Hydraulic Calcium Phosphate Paste. *Acta Biomater.* **2008**, *4*, 1465–1471.
- (130) Wang, X.; Ye, J.; Wnag, H. Effects of Additives on the Rheological Properties and Injectability of a Calcium Phosphate Bone Substitute Material. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* **2006**, *78B*, 259–264.
- (131) Torres, P. Reciclagem de Lamas de Granito Ornamental Em Pastas Cerâmicas, Universidade de Aveiro, 2007.
- (132) Kirwan, L. J.; Deeney, F. A.; Croke, G. M.; Hodnett, K. Characterisation of Various Jamaican Bauxite Ores by Quantitative Rietveld X-Ray Powder Diffraction and  $^{57}\text{Fe}$  Mössbauer Spectroscopy. *Int. J. Miner. Process.* **2009**, *91* (1–2), 14–18.
- (133) Dinnebier, R. E.; Billinge, S. J. L. *Powder Diffraction: Theory and Practice*; Dinnebier, R. E., Billinge, S. J. L., Eds.; RSCPublishing, 2008.
- (134) Morrison, R.; Boyd, R. *Química Orgânica*, 15ª Edição.; Fundação Clouste Gulbenkian: Lisboa, 2009.
- (135) Bohner, M. Resorbable Biomaterials as Bone Graft Substitutes. *Mater Today* **2010**, No. 13, 24–30.
- (136) Sigma-Aldrich.  $\alpha$ -tri-Calcium phosphate puriss. p.a.,  $\geq 75\%$   $\alpha$ -phase basis (sintered powder)  
 Synonym:  $\alpha$ -TCP,  $\alpha$ -Tricalcium phosphate  
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/fluka/53737?lang=pt&region=PT>.
- (137) Sigma-Aldrich.  $\beta$ -tri-Calcium phosphate puriss. p.a.,  $\geq 98\%$   $\beta$ -phase basis (sintered Powder)  
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/fluka/49963?lang=pt&region=PT>.
- (138) Camirá, C.; Gbureck, U.; Hirsiger, W.; Bohner, M. Correlating Crystallinity and Reactivity in an  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate. *Biomaterials* **2005**, No. 26, 2787–2794.
- (139) Hurlé, K.; J., N.; Bohner, M.; Doebelin, N.; Goetz-Neunhoeffler, F. Effect of Amorphous Phases during the Hydraulic Conversion of  $\alpha$ -TCP into Calcium-Deficient Hydroxyapatite. *Acta Biomater* **2014**, No. 10, 3931–3941.
- (140) Gbureck, U.; Barralet, J. E.; Radu, L.; Klinger, H. G.; Thull, R. Amorphous Alpha-Tricalcium Phosphate: Preparation and Aqueous Setting Reaction. *J Am Ceram Soc* **2004**, No. 87, 1126–1132.
- (141) Burkes, D.; Moore, J.; Ayers, R. Method for Producing Calcium Phosphate Powders Using an Auto-Ignition Combustion Synthesis Reaction. US 2008/0112874 A1, 2008.
- (142) Jokic, B.; Jankovic-Castvan, I.; Veljovic, D.; Bucevac, D.; Obradovic-Djuricic, K.; Petrovic, R.; Al, E. Synthesis and Settings Behavior of Alpha-TCP from Calcium Deficient Hydroxyapatite Obtained by Hydrothermal Method. *J Optoelectron Adv Mater* **2007**, *9* (6), 1904–1910.
- (143) Döbelin, N.; Brunner, T.; Stark, W.; Fisch, M.; Conforto, E.; Bohner, M. Thermal Treatment of Flame-Synthesized Amorphous Tricalcium Phosphate Nanoparticles. *J Am Ceram Soc* **2010**, *93*, 3455–3463.
- (144) Kitamura, M.; Ohtsuki, C.; Iwasaki, H.; Ogata, S.; Tanihara, M.; Miyazaki, T. The Controlled Resorption of Porous  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate Using a Hydroxypropylcellulose Coating. *J Mater Sci Mater Med* **2004**, *15*, 1153–1158.

- 
- (145) Carrodeguas, R.; De Aza, A.; Turrillas, X.; Pena, P.; De Aza, S. New Approach to the Beta-Alpha Polymorphic Transformation in Magnesium-Substituted Tricalcium Phosphate and Its Practical Implications. *J Am Ceram Soc* **2008**, *91*, 1281–1286.
- (146) Welch, J. H.; Gutt, W. High-Temperature Studies of the System Calcium Oxide-Phosphorus Pentoxide. *J Chem Soc* **1961**, 4442–4444.
- (147) Kreidler, E. R.; Hummel, F. A. Phase Relationships in the System SrO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and the Influence of Water Vapor on the Formation of Sr<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>9</sub>. *Inorg Chem* **1967**, *6* (884–91).
- (148) Enderle, R.; Götz-Neunhoeffler, F.; Göbbels, M.; Müller, F.; Greil, P. Influence of Magnesium Doping on the Phase Transformation Temperature of  $\beta$ -TCP Ceramics Examined by Rietveld Refinement. *Biomaterials* **2005**, *26*, 3379–3384.
- (149) Gibson, I. R.; Rehman, I.; Best, S. M.; Bonfield, W. Characterization of the Transformation from Calcium-Deficient Apatite to  $\beta$ -Tricalcium Phosphate. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2000**, *11* (12), 799–804.
- (150) Bohner, M.; Luginbühl, R.; Reber, C.; Doebelin, N.; Baroud, G.; Conforto, E. A Physical Approach to Modify the Hydraulic Reactivity of  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate Powder. *Acta Biomater* **2009**, *5*, 3524–3535.
- (151) Camiré, C.; Nevsten, P.; Lidgren, L.; McCarthy, I. The Effect of Crystallinity on Strength Development of  $\alpha$ -TCP Bone Substitutes. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **2006**, *79B*, 159–165.
- (152) Monma, H.; Goto, M. Behavior of the Alpha-Beta Phase Transformation in Tricalcium Phosphate. *J Ceram Soc Jpn* **1983**, *91*, 473–475.
- (153) West, A. *Solid State Chemistry and Its Applications*; Wiley, J., Ed.; Chichester: Chichester, 1984.
- (154) Zhang, J.; Tancret, F.; Bouler, J. Fabrication and Mechanical Properties of Calcium Phosphate Cements (CPC) for Bone Substitution. *Mater Sci Eng C* **2011**, *31*, 740–747.
- (155) Torres, P. M. C.; Abrantes, J. C. C.; Kaushal, A.; Pina, S.; Döbelin, N.; Bohner, M.; Ferreira, J. M. F. Influence of Mg-Doping, Calcium Pyrophosphate Impurities and Cooling Rate on the Allotropic Alpha-Beta Tricalcium Phosphate Phase Transformations. *J. Eur. Ceram. Soc.* **2016**, *36*, 817–827.
- (156) Bohner, M.; Lemaître, J.; Legrand, A.; De la Caillerie, J.; Belgrand, P. Synthesis, X-Ray Diffraction and Solid-State <sup>31</sup>P Magic Angle Spinning NMR Study of  $\alpha$ -Tricalcium Orthophosphate. *J Mater Sci Mater Med* **1996**, *7*, 457–463.
- (157) Welch, J.; Gutt, W. High-Temperature Studies of the System Calcium Oxide-Phosphorus Pentoxide. *J Chem Soc* **1961**, 4442–4444.
- (158) Bracci, B.; Torricelli, P.; Panzavolta, S.; Boanini, E.; Giardino, R.; Bigi, A. Effect of Mg<sup>2+</sup>, Sr<sup>2+</sup>, and Mn<sup>2+</sup> on the Chemico-Physical and in Vitro Biological Properties of Calcium Phosphate Biomimetic Coatings. *J. Inorg. Biochem.* **2009**, *103* (12), 1666–1674.
- (159) Pina, S.; Vieira, S. I.; Rego, P.; Torres, P. M. C.; da Cruz e Silva, O. a B.; da Cruz e Silva, E. F.; Ferreira, J. M. F. Biological Responses of Brushite-Forming Zn- and ZnSr- Substituted Beta-Tricalcium Phosphate Bone Cements. *Eur. Cell. Mater.* **2010**, *20*, 162–177.
- (160) Boanini, E.; Gazzano, M.; Bigi, A. Ionic Substitutions in Calcium Phosphates Synthesized at Low Temperature. *Acta Biomater.* **2010**, *6* (6), 1882–1894.
- (161) Acchar, W.; Ramalho, E. G. Effect of MnO<sub>2</sub> Addition on Sintering Behavior of Tricalcium Phosphate: Preliminary Results. *Mater. Sci. Eng. C* **2008**, *28* (2), 248–252.
- (162) Pina, S.; Torres, P. M. C.; Ferreira, J. M. F. Injectability of Brushite-Forming Mg-Substituted and Sr-Substituted  $\alpha$ -TCP Bone Cements. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2010**, *21* (2), 431–438.
- (163) Xue, W.; Dahlquist, K.; Banerjee, A.; Bandyopadhyay, A.; Bose, S. Synthesis and Characterization of Tricalcium Phosphate with Zn and Mg Based Dopants. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2008**, *19* (7), 2669–2677.
-

- (164) Matsumoto, N.; Yoshida, K.; Hashimoto, K.; Toda, Y. Thermal Stability of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate Doped with Monovalent Metal Ions. *Mater. Res. Bull.* **2009**, *44* (9), 1889–1894.
- (165) Kannan, S.; Goetz-Neunhoeffler, F.; Neubauer, J.; Ferreira, J. M. F. Ionic Substitutions in Biphasic Hydroxyapatite and  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate Mixtures: Structural Analysis by Rietveld Refinement. *J. Am. Ceram. Soc.* **2008**, *91* (1), 1–12.
- (166) Ryu, H. S.; Youn, H. J.; Sun Hong, K.; Chang, B. S.; Lee, C. K.; Chung, S. S. An Improvement in Sintering Property of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate by Addition of Calcium Pyrophosphate. *Biomaterials* **2002**, *23* (3), 909–914.
- (167) Jilavenkatesa, A.; Condrate, S. R. A. The Infrared and Raman Spectra of  $\beta$ - and  $\alpha$ -tricalcium Phosphate ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ). *Spectrosc Lett* **1998**, *31* (8), 1619–1634.
- (168) Pietri, M.; Lucarini, S. The Orthopaedic Treatment of Fragility Fractures. *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* **2007**, *4* (2), 108–116.
- (169) Park, A.; Kavic, S. M.; Lee, T. H.; Heniford, B. T. Minimally Invasive Surgery: The Evolution of Fellowship. *Surgery* **2007**, *142* (4), 505–513.
- (170) Leroux, L.; Hatim, Z.; Frèche, M.; Lacout, J. L. Effects of Various Adjuvants (Lactic Acid, Glycerol, and Chitosan) on the Injectability of a Calcium Phosphate Cement. *Bone* **1999**, *25* (SUPPL. 1), 31–34.
- (171) Vorndran, E.; Geffers, M.; Ewald, A.; Lemm, M.; Nies, B.; Gbureck, U. Ready-to-Use Injectable Calcium Phosphate Bone Cement Paste as Drug Carrier. *Acta Biomater.* **2013**, *9* (12), 9558–9567.
- (172) Heinemann, S.; Rössler, S.; Lemm, M.; Ruhnow, M.; Nies, B. Properties of Injectable Ready-to-Use Calcium Phosphate Cement Based on Water-Immiscible Liquid. *Acta Biomater.* **2013**, *9* (4), 6199–6207.
- (173) Blitterswijk, C. A. Solubility of B-Ca<sub>3</sub>(P<sub>04</sub>)<sub>2</sub> in the System Ca(OH)<sub>2</sub>–H<sub>3</sub>P<sub>04</sub>–H<sub>2</sub>O at 5, 15, 25, and 37 C. *Res Natl Bur Stand* **1974**, *78*, 667–675.
- (174) Fowler, B. O.; Kuroda, S. Changes in Heated and in Laser-Irradiated Human Tooth Enamel and Their Probable Effects on Solubility. *Calcif Tissue Int* **1986**, *38*, 197–208.
- (175) Gibso, I.; Best, S.; Bonfield, W. Chemical Characterization of Silicon-Substituted Hydroxyapatite. *Biomed Mater Res* **1999**, *44*, 422–428.
- (176) Olhero, S. M.; Ferreira, J. M. F. Influence of Particle Size Distribution on Rheology and Particle Packing of Silica-Based Suspensions. *Powder Technol.* **2004**, *139* (1), 69–75.
- (177) Liu, W.; Zhang, J.; Weiss, P.; Tancret, F.; Bouler, J. M. The Influence of Different Cellulose Ethers on Both the Handling and Mechanical Properties of Calcium Phosphate Cements for Bone Substitution. *Acta Biomater.* **2013**, *9* (3), 5740–5750.
- (178) Ferreira, J. M. F. Role of the Clogging Effect in the Slip Casting Process. *J. Eur. Ceram. Soc.* **1998**, *18* (9), 1161–1169.
- (179) Miyamoto, Y.; Ishikawa, K.; Fukao, K.; Sawada, M.; Nagayama, M.; Kon, M.; Asaoka, K. In Vivo Setting Behavior of Fast-Setting Calcium Phosphate Cement. *Biomaterials*, **1995**, *16*, 855–860.
- (180) Raynaud, S.; Champion, E.; Bernache-Assollant, D.; Al., E. Calcium Phosphate Apatite with Variable Ca/P Atomic Ratio I. Synthesis, Characterisation and Thermal Stability of Powders. *Biomaterials* **2002**, *23*, 1065–1072.
- (181) Khairoun, I.; Magne, D.; Gauthier, O.; Bouler, J. M.; Aguado, E.; Daculsi, G.; Weiss, P. In Vitro Characterization and in Vivo Properties of a Carbonated Apatite Bone Cement. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **200AD**, *60* (4), 633–642.
- (182) Barralet, J. E.; Grover, L. M.; Gbureck, U. Ionic Modification of Calcium Phosphate Cement Viscosity . Part II: Hypodermic Injection and Strength Improvement of Brushite Cement. *Biomaterials* **2004**, *25*, 2197–2203.

- (183) Apelt, D.; Theiss, F.; El-warrak, A. O.; Zlinszky, K.; Bettschart-wolfisberger, R. In Vivo Behavior of Three Different Injectable Hydraulic Calcium Phosphate Cements. **2004**, 25, 1439–1451.
- (184) Ooms, E. M.; Wolke, J. G. C.; Heuvel, M. T. Van De; Jeschke, B.; Jansen, J. A. Histological Evaluation of the Bone Response to Calcium Phosphate Cement Implanted in Cortical Bone. *Biomaterials* **2003**, 24, 989–1000.
- (185) Bourgeois, B.; Laboux, O.; Obadia, L.; Gauthier, O.; Betti, E.; Aguado, E.; Daculsi, G.; Bouler, J. Calcium-Deficient Apatite : A First in Vivo Study Concerning Bone Ingrowth. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2003**, 65A, 402–408.
- (186) Lu, J.; Descamps, M.; Dejou, J.; Koubi, G.; Hardouin, P.; Lemaitre, J.; Proust, J. The Biodegradation Mechanism of Calcium Phosphate Biomaterials in Bone. *Inc. J Biomed Mater Res (Appl Biomater)* **2002**, 63, 408–412.
- (187) Wenisch, S.; Horas, U.; Heiss, C.; Kilian, O.; Trinkaus, K.; Hild, A.; Schnettler, R. In Vivo Mechanisms of Hydroxyapatite Ceramic Degradation by Osteoclasts : Fine Structural Microscopy. *J. Biomed. Mater. Res. A*, **2003**, 67A, 713–718.
- (188) Wen, C.; Qin, L.; Lee, K.; Chan, K. The Use of Brushite Calcium Phosphate Cement for Enhancement of Bone-Tendon Integration in an Anterior Cruciate Ligament Reconstruction Rabbit Model. *J. Biomed. Mater. Res. B (Appl. Biomater.)* **2008**, 89B, 466–474.
- (189) Ambard, A. J.; Mueninghoff, L. Calcium Phosphate Cement : Review of Mechanical and Biological Properties. *J Prosthodont* **2006**, 15 (5), 321–328.
- (190) Lariboisiere, H.; Cultures, C. The Divalent Strontium Salt S12911 Enhances Bone Cell. *Bone* **1996**, 18 (6), 517–523.
- (191) Kasperk, C.; Grafe, I. A.; Schmitt, S.; No, G.; Weiss, C.; Fonseca, K. Da; Hillmeier, J.; Libicher, M.; Sommer, U.; Rudofsky, G. Three-Year Outcomes after Kyphoplasty in Patients with Osteoporosis with Painful Vertebral Fractures. 701–709.
- (192) Kopylov, P.; Adalberth, K.; Jonsson, K.; Aspenberg, P. Norian srs versus functional treatment in redisplaced distal radial fractures : a randomized study in 20 patients. **2002**.
- (193) Cassidy, C.; Jupiter, J. B.; Cohen, M.; Delli-santi, M.; Fennell, C.; Leinberry, C.; Husband, J.; Ladd, A.; Seitz, W. R.; Constanz, B. Norian SRS Cement Compared with Conventional Fixation in Distal Radial Fractures. **2003**.
- (194) Stanton, D. C.; Chou, J. C. Injectable Calcium-Phosphate Bone Cement ( Norian ) for Reconstruction of a Large Mandibular Defect : A Case Report. **2004**, 235–240.
- (195) Wolff, K.; Swaid, S.; Nolte, D.; Roland, A. B.; Frank, H.; Christian, M. Degradable Injectable Bone Cement in Maxillofacial Surgery : Indications and Clinical Experience in 27 Patients. **2004**, 5182, 71–79.
- (196) Mattsson, P.; Alberts, A.; Dahlberg, G.; Sohlman, M.; Hyldahl, H. C.; Larsson, S. Resorbable Cement for the Augmentation of Internally-Fixed Unstable Trochanteric Fractures. **2005**, 87 (9), 1203–1209.
- (197) Kasperk, C.; Hillmeier, J.; Nöldge, G.; Grafe, I. A.; DaFonseca, K.; Raupp, D.; Bardenheuer, H.; Libicher, M.; Liegibel, U. M.; Sommer, U.; Hilscher, U.; Pyerin, W.; Vetter, M.; Meinzer, H.-P.; Meeder, P.-J.; Taylor, R. S.; Nawroth, P. Treatment of Painful Vertebral Fractures by Kyphoplasty in Patients With Primary Osteoporosis : A Prospective Nonrandomized Controlled Study. *J Bone Min. Res* **2005**, 20, 604–612.
- (198) Sanchez-Sotelo, J.; Munuera, L.; Madero, R. Treatment of Fractures of the Distal Radius with a Remodellable Bone Cement. **2000**, 856–863.
- (199) Liverneaux, P.; Vernet, P.; Robert, C.; Diacono, P. Cement Pinning of Osteoporotic Distal Radius Fractures with an Injectable Calcium Phosphate Bone Substitute : Report of 6 Cases. **2006**, 10–16.
- (200) Grafe, I. A.; Katharina, D. F.; Hillmeie, J.; Meeder, P.-J.; Martin, L.; Gerd, N.; Hubert, B.; Walter, P.; Basler, L.; Weiss, C.; Rod S., T.; Peter, N.; Christian, K. Reduction of Pain and Fracture

- Incidence after Kyphoplasty : 1-Year Outcomes of a Prospective Controlled Trial of Patients with Primary Osteoporosis. *Intenacional Osteoporos. Foundtion Natl. Osteoporos. Found.* **2005**, *16*, 2005–2012.
- (201) Nakano, M.; Hirano, N.; Zukawa, M.; Suzuki, K.; Hirose, J.; Kimura, T.; Kawaguchi, Y. Vertebroplasty Using Calcium Phosphate Cement for Osteoporotic Vertebral Fractures : Study of Outcomes at a Minimum Follow-up of Two Years. *Asian Spine J.* **2012**, *6* (1), 34–42.
- (202) Schmelzer-schmied, N.; Cartens, C.; Meeder, P. J.; Dafonseca, K. Comparison of Kyphoplasty with Use of a Calcium Phosphate Cement and Non-Operative Therapy in Patients with Traumatic Non-Osteoporotic Vertebral Fractures. **2009**, 624–629.
- (203) Kopylov, P.; Aspenberg, P.; Yuan, X.; Ryd, L. Radiostereometric Analysis of Distal Radial Fracture Displacement during Treatment Patients. **2001**, *72* (1), 57–61.
- (204) Gómez, E.; Martín, M.; Arias, J.; Carceller, F. Clinical Applications of Norian SRS ( Calcium Phosphate Cement ) in Craniofacial Reconstruction in Children : Our Experience at Hospital La Paz Since 2001. *J Oral Maxillofac Surg* **2005**, No. 63, 8–14.
- (205) Jupiter, J. B.; Winters, S.; Sigman, S.; Lowe, C.; Pappas, C.; Ladd, A.; Van Wagoner, M.; Smith, S. Repair of Five Distal Radius Fractures with an Investigational Cancellous Bone Cement : A Preliminary Report. *J. Orthop. Trauma* **1997**, *11* (March), 110–116.
- (206) Maestretti, G.; Sutter, P.; Monnard, E.; Ciarpaglini, R.; Wahl, P.; Hoogewoud, H.; Gautier, E. A Prospective Study of Percutaneous Balloon Kyphoplasty with Calcium Phosphate Cement in Traumatic Vertebral Fractures : 10-Year Results. *Eur Spine J* **2014**, *23*, 1354–1360.
- (207) Maestretti, G.; Cremer, C.; Otten, P.; Peter, Æ. R. Prospective Study of Standalone Balloon Kyphoplasty with Calcium Phosphate Cement Augmentation in Traumatic Fractures. *Eur Spine J* **2006**, *16*, 601–610.
- (208) Mattsson, P.; Larsson, S. Calcium Phosphate Cement for Augmentation Did Not Improve Results after Internal Fixation of Displaced Femoral Neck Fractures : A Randomized Study of 118 Patients Calcium Phosphate Cement for Augmentation Did Not Improve Results after Internal Fixation of. *Acta Orthop.* **2006**, *77* (2), 251–256.
- (209) Lobenhoffer, P.; Gerich, T.; Witte, F.; Tscherne, H. Use of an Injectable Calcium Phosphate Bone Cement in the Treatment of Tibial Plateau Fractures : A Prospective Study of Twenty-Six Cases With Twenty-Month Mean Follow-Up. *J. O* **2002**, *16* (3), 143–149.
- (210) Nakamura, T.; Matsumine, A.; Asanuma, K. Treatment of Bone Defect with Calcium Phosphate Cement Subsequent to Tumor Curettage in Pediatric Patients. **2016**, 247–252.
- (211) Öztürkmen, Y.; Can, M.; Lu, K. L. O.; Lu, M. K. Calcium Phosphate Cement Augmentation in the Treatment of Depressed Tibial Plateau Fractures with Open Reduction and Internal Fixation. *Acta Orthop. Traumatol. Turc.* **2010**, *44* (4), 262–269.
- (212) Welkerling, H.; Raith, J.; Kastner, N.; Marschall, C. Painful Soft-Tissue Reaction to Injectable Norian SRS Calcium Phosphate Cement after Curettage of Enchondromas. **2003**, 238–239.
- (213) MAUDE Adverse Event Report: SYNTHES NORIAN SRS-010-RMS 10CC BONE VOID FILLER [http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_\\_id=3404590](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi__id=3404590).
- (214) MAUDE adverse event report: SYNTHES NORIAN SRS-010-RMS 10CC BONE VOID FILLER [http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_\\_id=3404587](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi__id=3404587).
- (215) MAUDE Adverse Event Report: NORIAN NORIAN SRS BONE VOID FILLER ROTARY MIX 10CC-STERILE [http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_\\_id=3003429](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi__id=3003429).
- (216) MAUDE Adverse Event Report: NORIAN NORIAN SRS BONE VOID FILLER NONE [http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_\\_id=3014712](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi__id=3014712).

- (217) MAUDE Adverse Event Report: NORIAN NORIAN SRS BONE VOID FILLER ROTARY MIX 3CC STE NONE  
[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_\\_id=2985774](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi__id=2985774).
- (218) MAUDE Adverse Event Report: NORIAN CORPORATION NORIAN SRS BONE VOID FILLER ROTARY MIX 10CC-STERILE. **2011**.
- (219) MAUDE Adverse Event Report: NORIAN CORPORATION - PA NORIAN SRS BONE VOID FILLER ROTARY MIX 5CC-STERILE  
[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_\\_id=2010662](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi__id=2010662).
- (220) MAUDE Adverse Event Report: NORIAN CORPORATION NORIAN SRS FAST SET PUTTY.
- (221) MAUDE Adverse Event Report: SYNTHES (USA) NORIAN SRS BONE VOID FILLER ROTARY MIX 3CC-STERILE  
[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_\\_id=722803](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi__id=722803).
- (222) MAUDE Adverse Event Report: SYNTHES (USA) NORIAN SRS BONE VOID FILLER ROTARY MIX 5CC-STERILE  
[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi\\_\\_id=684817](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfMAUDE/detail.cfm?mdrfoi__id=684817).
- (223) Riboud, P. V. Composition et Stabilité Des Phases À Structure D'apatite Dans Le Système CaO-P2O5- de Fer-H2O À Haute Temperature. *Ann Chim* **1973**, 8, 381–390.
- (224) Chow, L. C. Development of Self-Setting Calcium Phosphate Cements. *J. Ceram Soc Jpn* **1991**, 99 (10), 954–964.
- (225) Verlaan, J.; Oner, F. C.; Dhert, W. J. A. Anterior Spinal Column Augmentation with Injectable Bone Cements. *Biomaterials* **2006**, 27, 290–301.
- (226) Bó, M. D.; Neves, W. F.; Amaral, S. Substituição Do Mercúrio Por Água Na Determinação Da Densidade Aparente Do Suporte Cerâmico Cru. *Cerâmica Ind.* **2002**, 7 (2), 42–46.
- (227) E.N.Marieb, K. Hoehn, Human Anatomy & Physiology, Pearson **2006**.

# **ANEXOS**

---



**Anexos****Anexo 1: Tabela do peso e diâmetro da ponta para as agulhas de Gilmore**

	<b>IST</b>	<b>FST</b>
<b>Peso (g)</b>	113,4±0,5	453,6±0,5
<b>Diâmetro da ponta (mm)</b>	2,12±0,05	1,06±0,05
<b>Equivalente a uma carga de (MPa)</b>	0,31	5,04

---



## **Anexo 2: Product Description**



## Information of raw materials

---

### a. Raw materials used

Calcium nitrate 4-hydrate pure,  $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$   
Di-ammonium hydrogen phosphate pure,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$   
Di-sodium hydrogen phosphate anhydrous  $(\text{Na}_2\text{HPO}_4)$   
Zinc Nitrate hexahydrate  $(\text{N}_2\text{O}_6\text{Zn})$   
Strontium Nitrate  $(\text{N}_2\text{O}_6\text{Sr})$   
Manganese (II) Nitrate Hydrate  $(\text{MnN}_2\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O})$

### b. Delivery method

The raw materials are delivered by carrier.

### c. Packaging

Raw materials are packed in plastic bottles or in poly drums, depending on the purchased amounts.

### d. Storage conditions

Raw materials are stored under normal temperature and humidity conditions.

### e. Preparation before use

No special preparation procedures are required before use.

## Information on product

---

### a. Chemical Composition

InjectOs is constituted by calcium phosphate powder and aqueous solution of  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

### b. Storage conditions

It is recommended to be store InjectOs under normal temperature and humidity conditions.

### c. Distribution conditions

The medical device is delivered by carrier.

### d. Potential users

Doctors, namely orthopaedists.

### e. Potential consumers

Patients needing bone system intervention.

### f. Especially vulnerable consumers

This type of medical devices should not be used in patients who have a systemic metabolic disorder known to adversely affect bone healing and mineralization, other than primary osteoporosis.

No studies have been conducted on pregnant women or on breastfeeding-women. For safety reasons, the implantation of InjectOs is inadvisable during pregnancy and breastfeeding.

**g. The intended use**

InjectOs is intended for use in orthopaedics.

This can be applied for:

- Repairing bone defects;
- Repairing and strengthening/supporting broken bones;
- Reinforcing orthopedic screws and implants;
- Filling of cystic lesions;
- Filling gaps between cement-less artificial joints and bones.

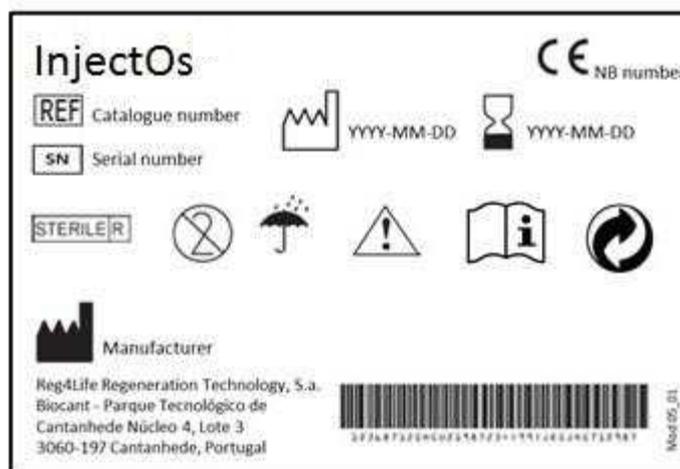
**h. Foreseeable misuse**

There are no foreseeable misuses outside those resulting from surgical technique.

**i. Preparation**

Mix the InjectOs powder phase with the liquid phase using a spatula in a sterile mixing cup. Mix with flat end of spatula for 1-minute at temperature 18<sup>o</sup>-23<sup>o</sup>C. After mixing, introduce the paste into the delivery syringe and use within 2-3 minutes. Attach the delivery needle to the syringe and insert the needle into the surgical site.

**j. Labelling**



**k. Specific requirements**

Specific requirements do not exist other than those requires for a surgical intervention.

**l. Product shelf-life**

Product shelf-life is determined by ageing tests.

**m. Sterilization**

Product is sterilized by gamma irradiation. Sterilization process was validated.



**Anexo 3: Data Sheet**



## Product identification

---

Name: InjectOs

## Manufacture

---

Reg4life Regeneration Technology, S.A.

Biocant - Parque Tecnológico de Cantanhede Núcleo 4, Lote 14

3060-197 Cantanhede

Portugal

## Classification of medical device (93/42EEC Directive)

---

Medical device – class III.

## Device description

---

InjectOs is a calcium phosphate bone cement (CPCs), biocompatible, bioactive and osteoconductive, presented on the form of powder and consists only of elements naturally existing in the body ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ). It is supplied sterile and is for single use.

This medical device can be clinically applied for the regeneration of hard tissues. The device is implantable, slowly absorbed and replaced by new bone tissue during the healing process. InjectOs is intended for use in orthopaedics. It's indicated to be injected into bony voids or gaps to fill and/or repairing bone defects.

InjectOs is sterilized by gamma irradiation and is available in different volumes.

## How InjectOs works

---

The resorption process of InjectOs occurring via cell mediated processes where osteoclastic cells degrade the materials layer by layer starting from bone–cement interphase to its inner core. The resorption of implanted calcium phosphates might possibly be by two mechanisms: (i) an active resorption, mediated by the cellular activity of macrophages, osteoclasts and phagocytosis; (ii) passive resorption, mediated due to chemical dissolution in the body fluid. The following scheme shows the postulated process of bone regeneration in a InjectOs-grafted bone defect area. When InjectOs is injected into a bone defect. After few minutes the material hardens and the binding initially occurs between the hardened body and the bone tissue. InjectOs have intrinsically a nano/micron sized porosity which enables fluid flow inside the materials (Fig 1 a)) The hardened body and the bone are bound to each other with few gaps at the interface between them. Various growth factors and cells binds to the cement surface (Fig 1 b)). The active and/or passive resorption of the calcium deficient hydroxyapatite (CDHA) and bone formation then proceed. In approximately 2 weeks after the surgery, woven bones form, and the filled site is then gradually converted to bone while maintaining the shape (Fig 1 c)). The surgical site is converted to bone almost completely within a few months (Fig 1 d)).

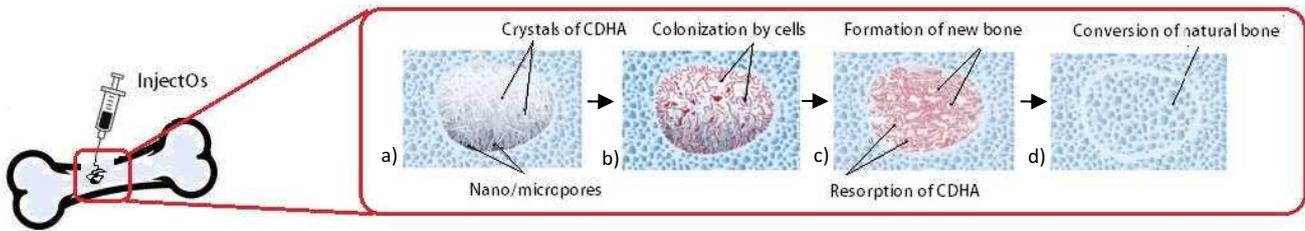


Fig.1. How to work InjectOS. Adapted from Dorozhkin, S. V. Self-Setting Calcium Orthophosphate Formulations. *J. Funct. Biomater.* **2013**, *4*, 209–311 DOI: 10.3390/jfb4040209

## Intended us

InjectOs is intended for use in orthopaedics. This can be applied for:

- Repairing bone defects;
- Repairing and strengthening/supporting broken bones;
- Reinforcing orthopedic screws and implants;
- Filling of cystic lesions;
- Filling gaps between cement-less artificial joints and bones.

## Administration

Prepare surgical site following standard procedures. Thorough debridement of osseous defect is important.

Mix the InjectOs solid phase with the InjectOs liquid phase with a spatula in a mixing cup. Mix with flat end of spatula for 1-minute at temperature 18°-23°C. After mixing, introduce the paste into the delivery syringe and use within 2-3 minutes. Attach the delivery needle to the syringe and insert the needle into the surgical site. Inject the total amount of material into the void and manipulate as necessary. Remove any excess material and close as per standard practice.

## Contraindications

InjectOs should **not** be applied in patients:

- With traumatic open injuries that are predisposed to infection
- Who are skeletally immature
- Who are receiving chemotherapy or radiation therapy
- When have had or are undergoing bone irritation
- With compromised health or metabolic disease known to adversely affect bone healing and mineralization (abnormal calcium metabolism, metabolic bone disease, vascular or severe neurological disease, immunologic deficiencies or systemic disorders)
- With severe hepatic and renal dysfunction

## Storage and Handling

---

No special precautions necessary. It is recommended that material be stored at room temperature and controlled humidity. Do not use the product if the sterile package is damaged. Do not use after the expiration date. The product is a sterile medical device for single use. Do not re-sterilize or re-use material.



**Anexo 4: Instruction for use**



# InjectOs

## Instruction for Use

### Components of the medical device

Inside the package there are two flasks, one containing the InjectOs powder component and the other containing the InjectOs liquid component. All components inside the package are sterile.

### Description

InjectOs is a calcium phosphate cement (CPC) with a solid phase and a liquid phase. The solid phase of InjectOs is a calcium phosphate powder and consists only of elements naturally existing in the body, namely  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{PO}_4^{3-}$  as main elements and  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  as doping trace elements. The liquid phase of InjectOS consists of an aqueous solution of sodium hydrogen phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) It is supplied sterile and is for single use. This medical device can be clinically applied for the regeneration of hard tissues. The device is implantable, slowly resorbed and replaced by new bone tissue during the healing process. InjectOs is intended for use in orthopaedics. It's indicated to be injected into bony voids or gaps to fill and/or repairing bone defects. InjectOs is sterilized by gamma irradiation and is available in different volumes.

### Indications for use

#### *Orthopaedics*

- Repairing bone defects;
- Repairing and strengthening/supporting broken bones;
- Reinforcing orthopedic screws and implants;
- Filling of cystic lesions;
- Filling gaps between cement-less artificial joints and bones.

### Contraindications

InjectOs should not be applied in patients:

- With traumatic open injuries that are predisposed to infection;
- Who are skeletally immature-;
- Who are receiving chemotherapy or radiation therapy-;
- When have had or are undergoing bone irritation;
- With compromised health or metabolic disease known to adversely affect bone healing and mineralization (abnormal calcium metabolism, metabolic bone disease, vascular or severe neurological disease, immunologic deficiencies or systemic disorders);
- With severe hepatic and renal dysfunction.

### Interactions with other agents

None known.

### Warnings and precautions

- InjectOs is intended for use only by medically qualified professionals, the professionals must be familiar with bone grafting and internal/external fixation techniques.
- InjectOs is not intended for use with defects other than those listed in the indications for use.

- No studies have been conducted on pregnant women or on breastfeeding-women. For safety reasons, the implantation of InjectOs is inadvisable during pregnancy and breastfeeding.

### Administration

Prepare surgical site following standard procedures. Thorough debridement of osseous defect is important. Mix de InjectOs powder with the InjectOs liquid with a spatula in a mixing cup. Mix with flat end of spatula for 1-minute at temperature  $18^{\circ}$ - $23^{\circ}$  C. After mixing, introduce the paste into the delivery syringe and use within 2-3 minutes. Attach the delivery needle to the syringe and insert the needle into the surgical site. Inject the total amount of material into the void and manipulate as necessary. Remove any excess material and close as per standard practice.

### Complications

Complications may include normal post-surgical related symptoms like oedema, redness, tenderness, pain, inflammatory reaction, swelling and fluid collection in the operation area. In case of any adverse effects occur, report to the doctor and / or manufacturer.

### Handling

- Do not use the product if the sterile package is damaged.
- Do not use after the shelf-life.
- The product must be promptly used after opening the package.
- The product is a sterile medical device for single use. Do not re-sterilize, re-use material or use leftover material.

### Storage

It is recommended that material be stored at room temperature and controlled humidity.



---

**Anexo 5: Table D1 Sample Appraisal Criteria for Suitability**

<b>Suitability Criteria</b>	<b>Description</b>	<b>Grading System</b>
Appropriate device	Were the data generated from the device in question?	D1 Actual device D2 Equivalent device D3 Other device
Appropriate device application	Was the device used for the same intended use (e.g., methods of deployment, application, etc.)?	A1 Same use A2 Minor deviation A3 Major deviation
Appropriate patient group	Where the data generated from a patient group that is representative of the intended treatment population e.g., age, sex, etc.) and clinical condition (i.e., disease, including state and severity)?	P1 Applicable P2 Limited P3 Different population
Acceptable report/data collation	Do the reports or collations of data contain sufficient information to be able to undertake a rational and objective assessment?	R1 High quality R2 Minor deficiencies R3 Insufficient information



---

**Anexo 6: Table D2 Sample Appraisal Criteria for Data Contribution**

<b>Data Contribution Criteria</b>	<b>Description</b>	<b>Grading System</b>
Data source type	Was the design of the study appropriate?	T1 Yes T2 No
Outcome measures	Do the outcome measures reported reflect the intended performance of the device?	O1 Yes O2 No
Follow up	Is the duration of follow-up long enough to assess whether duration of treatment effects and identify complications?	F1 Yes F2 No
Statistical significance	Has a statistical analysis of the data been provided and is it appropriate?	S1 Yes S2 No
Clinical significance	Was the magnitude of the treatment effect observed clinically significant?	C1 Yes C2 No