

**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS**

SILVIA SCHIAVO SIQUEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAIS PARA TRATAMENTO DE LESÕES
DA CARTILAGEM ARTICULAR**

**BELO HORIZONTE
2015**

SILVIA SCHIAVO SIQUEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAIS PARA TRATAMENTO DE LESÕES
DA CARTILAGEM ARTICULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Curso de Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientador: Sidney Nicodemos da Silva

**BELO HORIZONTE
2015**

SILVIA SCHIAVO SIQUEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAIS PARA TRATAMENTO DE LESÕES
DA CARTILAGEM ARTICULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à Comissão Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Graduação em Engenharia de Materiais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

Professora Doutora Aline Bruna da Silva

Professora Doutora Danielle Marra de Freitas Silva Azevedo

Professor Doutor Sidney Nicodemos da Silva
(Orientador)

*Dedico este trabalho aos meus
pais Ione e Antônio, aos meus
irmãos Igor, Leandro e Marina e
ao meu namorado Bernardo, grata
pelo amor e suporte sempre
presentes.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as oportunidades que me tem dado. Oportunidades estas, que somadas, me fizeram chegar onde estou.

Agradeço à minha família pelo amor, companheirismo, incentivo, conselhos e suporte.

Agradeço ao meu namorado Bernardo pela infinita amizade, ajuda, conforto e compreensão.

Agradeço ao meu orientador Professor Doutor Sidney Nicodemos da Silva pelo conhecimento transmitido, pela paciência, pela generosidade e pela boa vontade.

Agradeço a todos os professores que contribuíram para a minha formação.

Agradeço a todos os colegas pelos momentos vividos juntos, que nos fizeram crescer nos mais variados sentidos.

“Feliz aquele que transfere o que
sabe e aprende o que ensina”. Cora
Coralina

RESUMO

As lesões das articulações acometem indivíduos de todas as faixas etárias. Elas podem ser derivadas de vários fatores, tais como: atletas que sofrem entorses, indivíduos que apresentam doenças degenerativas do sistema músculo-esquelético, sobrepeso e o processo de envelhecimento. Apesar da cartilagem articular deter a capacidade de lidar com grandes forças por vários ciclos, ela possui baixo poder de regeneração devido à sua natureza avascular, aneural e alinfática. As lesões são classificadas de acordo com a sua espessura, sendo denominadas lesões condrais quando afetam apenas a cartilagem e intituladas lesões osteocondrais quando atingem o osso subcondral. Os métodos tradicionais de tratamento que interferem na placa óssea subcondral, tais como perfurações, microfratura e mosaicoplastia, podem até regenerar a superfície da cartilagem, porém, não restauram as propriedades mecânicas desse tecido de modo que este retorne ao seu aspecto original. Diante disso, o desenvolvimento de biomateriais injetáveis na forma de compósitos de hidrogéis poliméricos e biocerâmicas têm sido alvo de constantes estudos para o reparo de regiões osteocondrais. Eles apresentam além de biocompatibilidade, potenciais aplicações clínicas em liberação controlada de fármacos e viabilidade para a sua utilização com células tronco. A celulose é o polissacarídeo mais renovável, biodegradável e que se apresenta em maior quantidade na natureza, possuindo interação celular intrínseca e comportamento físico-químico semelhante ao do ácido hialurônico. Já o fosfato de cálcio bifásico (BCP) pode ser utilizado para a substituição do tecido ósseo, pois apresenta constituição química semelhante a este tecido, além de não ser tóxico, ser reabsorvível e possuir capacidade osteocondutiva. O compósito formado pela mistura de carboximetilcelulose, fosfato de cálcio bifásico e água proporciona um tratamento minimamente invasivo, com propriedades reológicas adequadas para uma boa injetabilidade.

Palavras-chave: hidrogéis, cartilagem articular, carboximetilcelulose, fosfato de cálcio bifásico, lesões osteocondrais

ABSTRACT

The damage of the joints can affect individuals of all age groups. It can be a result of various factors, such as: athletes suffering sprains, people with degenerative diseases of the musculoskeletal system, overweight and the aging process. Despite the articular cartilage hold the ability to handle large forces for several cycles, it has low power regeneration because it has avascular and aneural nature. Lesions are classified according to their thickness, being called chondral lesions when only affect cartilage and entitled osteochondral lesions when they reach the subchondral bone. Traditional methods of treatment that influence the subchondral bone, such as drilling, microfracture and mosaicplasty, can even regenerate cartilage surface, however, do not restore the mechanical properties of this tissue, that do not return to its original aspect. Therefore, the development of injectable biomaterials in the form of composite polymeric hydrogels and bioceramics have been the target of constant studies for repair osteochondral regions, since they have beyond the biocompatibility, potential clinical applications in drug delivery systems and availability to be used with stem cells. Cellulose is the more renewable and biodegradable polysaccharide, which is presented in greater quantities in nature, having intrinsic cell interaction and physicochemical behavior similar to hyaluronic acid. Biphasic calcium phosphate (BCP) can be used to replace the bone tissue because it has a similar chemical composition to that tissue, it is not toxic, it is resorbable and has osteoconductive capacity. The composite formed by carboxymethylcellulose, biphasic calcium phosphate and water provides a minimally invasive treatment, with adequate rheological properties, being easy to be injectable.

Keywords: hydrogels, articular cartilage, carboxymethylcellulose, biphasic calcium phosphate, osteochondral lesions

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Anatomia do joelho, na qual se pode observar a cartilagem articular envolvendo uma região do fêmur.	14
Figura 2 – Componentes morfoestruturais da cartilagem articular.	26
Figura 3 – Organização dos condrócitos nas camadas da cartilagem articular.	28
Figura 4 – Organização das fibras colágenas nas camadas da cartilagem articular.	28
Figura 5 – Efeito esponja responsável pela troca de líquidos da cartilagem.	30
Figura 6 – Comparação entre uma cartilagem normal e uma cartilagem lesionada na região do quadril	32
Figura 7 – Degradação da cartilagem: descamação, fibrilação e fendas. Os condrócitos se aglomeram nas regiões mais profundas como tentativa de regeneração.	33
Figura 8 – Comparação entre uma articulação do joelho saudável e uma lesionada.	35
Figura 9 – Técnica de mosaicoplastia, na qual se pode observar os cilindros de cartilagem que atuam como enxertos.	37
Figura 10 – Processo de intumescimento de hidrogéis.	41
Figura 11 – Representação dos hidrogéis químicos e físicos.	43
Figura 12- Estrutura cristalina da celulose, evidenciando sua unidade de repetição (celobiose) e as ligações de hidrogênio inter e intramoleculares.	45
Figura 13- Estrutura da celobiose e da ligação β -glucosídica na celulose, evidenciando a extremidade redutora e a não redutora.	46
Figura 14 – Molécula de carboximetilcelulose.	48
Figura 15 – Representação do monômero de CMC.	48
Figura 16- Representação da lei de Bragg.	54
Figura 17- Representação de um gráfico gerado pela técnica DSC.	56
Figura 18- Fluxograma relativo às etapas realizadas no trabalho.	58
Figura 19- Equipamento para granulometria a laser.	61
Figura 20- Dispositivo de injetabilidade desmontado.	63
Figura 21- Dispositivo de injetabilidade desmontado.	63
Figura 22- Difratoograma obtido para o pó de carboximetilcelulose.	64
Figura 23- Difratoograma de referência para a amostra de CMC.	64

Figura 24- Difratograma obtido para o pó de BCP.....	65
Figura 25- Difratograma de referência relativo à difração de raio X de microesferas de BCP.....	66
Figura 26- Gráfico gerado para a difração do hidrogel.....	67
Figura 27- Gráfico característico da amostra de CMC para o ensaio DSC.....	67
Figura 28- Gráfico característico da amostra de BCP para o ensaio DSC.....	68
Figura 29- Gráfico DSC para a amostra de hidrogel.....	69
Figura 30- MEV da amostra de carboximetilcelulose.....	70
Figura 31- MEV da amostra de BCP.....	71 e 72
Figura 32- Valores obtidos no ensaio de distribuição granulométrica do BCP.....	72
Figura 33- Gráfico gerado para a distribuição granulométrica do BCP.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação da osteoartrose.	33
Tabela 2 – Classificação das lesões condrais de acordo com a ICRS.....	34
Tabela 3 – Indicações e contraindicações para a mosaicoplastia.....	38
Tabela 4 - Estratégias e recomendações para tratamentos das lesões osteocondrais.....	40
Tabela 5 – Informações sobre a carboximetilcelulose.	49
Tabela 6- Proporção de BCP, CMC e água para a formação de hidrogel.....	62
Tabela 7- Média dos valores de massa encontrados para cada amostra, utilizando-se uma agulha G22 cheia e após a injeção.....	75
Tabela 8- Valores de desvio padrão relativos a cada amostra (1, 2 e 3).....	75
Tabela 9- Injetabilidade (%) da seringa G22 para as amostras 1, 2 e 3.....	75

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Justificativa	14
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 A década dos ossos e das articulações	18
3.2 O sistema locomotor	19
3.2.1 Sistema muscular	19
3.2.2 Sistema articular	21
3.2.3 Sistema esquelético	22
3.3 Regiões osteocondrais	24
3.4 Degradação de regiões osteocondrais	31
3.5 Tratamento para as lesões osteocondrais	36
3.6 Hidrogéis	41
3.7 Características da Carboximetilcelulose (CMC), suas aplicações e sua utilização como hidrogéis	45
3.8 Fosfato de cálcio bifásico	51
3.9 Técnicas de caracterização de materiais	53
3.9.1 Difração de raios X	53
3.9.2 Calorimetria exploratória diferencial	55
3.9.3 Microscopia eletrônica de varredura	56
3.9.4 Distribuição granulométrica	57
4. MATERIAIS E MÉTODOS	58
4.1 Procedimentos experimentais	58
4.2 Materiais	59
4.2.1 Fosfato de cálcio bifásico	59
4.2.2 Carboximetilcelulose	59
4.2.3 Água deionizada	59

4.3 Métodos.....	59
4.3.1 <i>Processamento do compósito</i>	60
4.4 Caracterização físico-química dos insumos (CMC, BCP e água deionizada).....	60
4.4.1 <i>Difração de raio X (DRX)</i>	60
4.4.2 <i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	60
4.4.3 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	61
4.4.4 <i>Granulometria a laser (Cilas)</i>	61
4.5 Caracterização do compósito.....	61
4.5.1 <i>Medida do pH do compósito</i>	61
4.5.2 <i>Avaliação da injetabilidade</i>	62
4.5.3 <i>Calorimetria exploratória diferencial</i>	63
4.5.4 <i>Difração de raio X</i>	63
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
5.1 <i>Difração da amostra de CMC</i>	64
5.2 <i>Difração da amostra de BCP</i>	65
5.3 <i>Difração (DRX) do hidrogel</i>	66
5.4 <i>Calorimetria exploratória diferencial da amostra de CMC</i>	67
5.5 <i>Calorimetria exploratória diferencial da amostra de BCP</i>	68
5.6 <i>Calorimetria exploratória diferencial do hidrogel</i>	68
5.7 <i>Microscopia eletrônica de varredura da amostra de CMC</i>	69
5.8 <i>Microscopia eletrônica de varredura da amostra de BCP</i>	71
5.9 <i>Distribuição granulométrica do BCP</i>	72
5.10 <i>Reologia e injetabilidade do hidrogel</i>	74
6. CONCLUSÃO	76
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	77
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

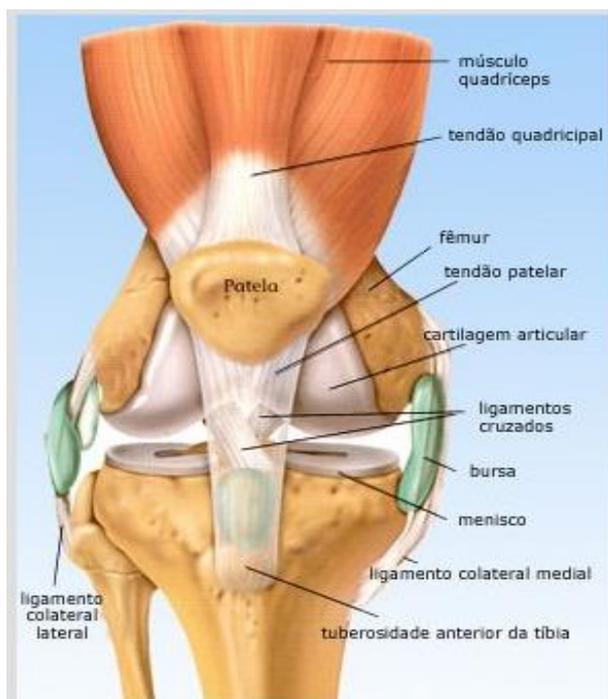
1. INTRODUÇÃO

1.1 Justificativa

A busca por métodos mais eficazes para curar doenças e lesões de uma forma menos invasiva e traumática tem se tornado uma preocupação da medicina em relação aos seus pacientes. Além disso, há também um maior interesse pela procura de resultados mais eficientes e duradouros. Neste sentido, os tratamentos para lesões osteocondrais tem sido alvo de constantes estudos, que objetivam a geração de procedimentos que proporcionem resultados cada vez melhores e menos agressivos.

A degradação da cartilagem articular é definida como uma lesão condral. Quando a degradação atinge o osso subcondral, inicia-se uma lesão osteocondral. Essas lesões representam um desafio para o cirurgião ortopédico devido à natureza da cartilagem hialina, a qual possui um mínimo potencial de regeneração. Esta cartilagem possui uma estrutura resistente e elástica, que tem como função recobrir a superfície dos ossos que compõem as articulações. Além disso, ela possui características particulares, como o fato de ser hipocelular, avascular, aneural e alinfática. Essas particularidades justificam o seu baixo poder restaurador. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012). A figura 1 representa a anatomia do joelho, na qual se pode observar a cartilagem articular envolvendo a extremidade do fêmur:

Figura 1- anatomia do joelho, na qual se pode observar a cartilagem articular envolvendo uma região do fêmur.



FONTE: SILVEIRA, 2012

Os defeitos condrais e osteocondrais afetam a vida de pacientes jovens e ativos, incapacitando-os de realizarem as suas tarefas cotidianas, como trabalhar e praticar atividades físicas. A finalidade do tratamento das lesões é restaurar a estrutura e função das articulações, eliminando a dor e devolvendo qualidade de vida para os pacientes. (TÍRICO *et al.*, 2012).

As causas das lesões são variadas, como exemplo, pode-se citar as doenças degenerativas e/ou traumas que são responsáveis pela falência de órgãos e tecidos humanos, provocando a danificação do tecido cartilaginoso. (FREITAS, 2012). A degradação contínua da cartilagem resulta em danificação dos ossos subcondrais, o que gera atrito entre eles, já que estes perdem o seu revestimento. Diante disto, é de extrema importância o desenvolvimento de técnicas que visam à reparação da cartilagem hialina e do tecido ósseo de forma eficiente.

Dentre os fatores que afetam as articulações, pode-se mencionar a osteoartrose (OA), que é uma doença articular crônico-degenerativa que se evidencia pelo desgaste da cartilagem articular. Esta patologia provoca dores, rigidez matinal, crepitação óssea, atrofia muscular, estreitamento do espaço intra-articular, formações de osteófitos, esclerose do osso subcondral e formações císticas. Estima-se que entre 44% e 70% dos indivíduos acima de 50 anos e 85% dos acima de 75 anos possuem OA. Ela tem como consequência um número elevado de absenteísmo e aposentadorias por invalidez. As articulações mais afetadas são a do joelho, as interfalângicas distais, carpometacárpicas e as facetárias. O osso subcondral sofre alterações proliferativas, gerando microfraturas. Estas pequenas lesões podem se regenerar, mas isso ocorre de forma excessiva, formando calos ósseos, com consequente rigidez que compromete toda a estrutura articular dando origem aos osteófitos, luxações e instabilidade articular. (DUARTE *et al.*, 2013).

As técnicas de tratamento que interferem na placa óssea subcondral, tais como microfraturas, perfurações e mosaicoplastia, podem até regenerar a superfície articular, mas não restabelecem as propriedades mecânicas da cartilagem de modo que esta obtenha as suas características originais, especialmente a função de absorção de impacto. (BARRETO *et al.*, 2011).

O uso de hidrogéis para tratamento de lesões da cartilagem articular tem ganhado posição de destaque já que estes géis possuem resultados mais satisfatórios para a regeneração deste tecido do que os métodos convencionais (FREITAS, 2012). Os hidrogéis são polímeros naturais ou sintéticos que podem possuir diferentes composições químicas, dentre as quais algumas serão comentadas neste trabalho.

Eles estão recebendo uma atenção cada vez maior por apresentarem a capacidade de reter uma elevada quantidade de água em seu interior; permeabilidade seletiva e uma

interessante biocompatibilidade, sendo alguns termosensíveis e fotopolimerizáveis. Estes polímeros podem ser transformados em géis sob condições *in vivo* e também podem ser inseridos no corpo humano por meio de uma cirurgia mínima invasiva. (HORN, 2008).

Hidrogéis a base de carboximetilcelulose (CMC) são uma alternativa viável e eficaz. A CMC é um polímero com elevada capacidade de intumescimento, biocompatibilidade e transparência. (COSTA *et al.*, 2012). Além disso, ela possui habilidade para formar géis com aplicação na área de biomateriais, podendo ser utilizada no tratamento de feridas profundas da pele e também para reparar regiões osteocondrais danificadas. A vantagem da sua utilização para reparação do tecido condral se deve ao fato desse composto apresentar interação celular intrínseca, um comportamento físico-químico semelhante ao do ácido hialurônico e facilidade para ser injetada no organismo humano. (FREITAS, 2012). Por fim, a CMC tem a vantagem de ser acessível, pois a celulose é o polissacarídeo que se apresenta em maior quantidade na natureza. (AOUADA *et al.*, 2009).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Realizar um levantamento bibliográfico sobre a anatomia da região osteocondral, assim como os fatores responsáveis pela degradação da cartilagem articular, além de caracterizar e avaliar a injetabilidade de um hidrogel composto por carboximetilcelulose, fosfato de cálcio bifásico e água deionizada.

2.2 Objetivos específicos:

- Estudar os tipos de substâncias para produção de hidrogéis biocompatíveis à base de celulose;
- Produzir hidrogéis com controle de composição química;
- Caracterizar estes biomateriais para uso em reparos da cartilagem articular;
- Avaliar a injetabilidade destes polímeros.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A década dos ossos e das articulações

Desde a sua criação, em 1945, a Organização das Nações Unidas (ONU) tem se preocupado com temas de responsabilidade social. Neste sentido, essa organização tem nomeado as décadas com temas de relevância. As doenças e lesões osteoarticulares têm ganhado importância devido ao aumento do número de indivíduos afetados. Estima-se que em 2015 elas estarão em primeiro lugar nos gastos com saúde. Como consequência disto, a ONU, juntamente com a Organização Mundial da Saúde (OMS), intitulou os anos compreendidos entre 2001 e 2010 como “A Década dos ossos e das articulações”. (SANCINETTI *et al.*, 2009).

A osteoartrite, osteoporose, artrite reumatoide, gota e respectivos traumas, acarretam um custo elevado para os indivíduos e para os sistemas de saúde. Os gastos vão além da compra de medicamentos adequados para o tratamento das doenças e se estendem para fisioterapias, acompanhamentos e suportes aos pacientes. Os distúrbios osteomusculares relacionados ao trabalho (DORT) podem gerar diferentes graus de incapacidade e ocorre com maior incidência entre trabalhadores jovens. Esses distúrbios são os causadores da maior parte de afastamentos do trabalho. (WALSH *et al.*, 2004).

Os distúrbios citados estão dentro de um grupo intitulado lesões músculo-esqueléticas (LME). Estas são definidas como um conjunto de patologias que afetam os músculos, tendões, ligamentos, articulações, nervos, discos vertebrais, cartilagem, vasos sanguíneos ou tecidos moles (PINHO *et al.*, 2013) e que não acometem apenas idosos. Acredita-se que 25% dos casos afetam pessoas com menos de 16 anos. Isso mostra que as enfermidades citadas podem atingir pessoas de todas as idades, evidenciando o quão delicado é este assunto e a grande importância que deve ser dada a ele. (FONTE: SCHAINBERG, 2010).

Estima-se que a prevalência de artrite autorreferida aumente de 28,8% para 32,2% entre os adultos nos Estados Unidos entre os anos de 2005 e 2050. No ano de 2002, 4,8% dos adultos norte americanos possuíam delimitações nas atividades laborais devido à artrite, tornando-se a terceira causa mais comum de afastamento. De acordo com um inquérito em saúde realizado no estado de Victoria na Austrália, 23% dos adultos reportavam artrite. Um estudo no Reino Unido revelou que, oitenta e dois a cada mil indivíduos possuem artrite após os 16 anos. No Brasil, a Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD), revelou que em 1988, a artrite, correspondeu à terceira condição de saúde que mais ocorreu, sendo mais

comum entre as mulheres (10,4%) do que em homens (5,8%). Entre os anos de 2003 e 2008, a posição de terceiro lugar se manteve. Em 2004, 123.929 atendimentos ambulatoriais foram realizados pelo SUS na especialidade de reumatologia no município de São Paulo. (GOMES *et al.*, 2012). Estas doenças podem ser agudas ou crônicas, atingindo pessoas de todas as idades. Em Portugal, as doenças reumáticas acarretam um elevado peso econômico, representando entre 16% e 23% das consultas para cuidados de saúde primários. (FERREIRA *et al.*, 2012).

Como resultado da repercussão dessas estatísticas alarmantes, em janeiro de 2000, foi oficialmente lançada a "Década do Osso e da Articulação - Movimento Articular 2000/2010". Os objetivos desse movimento foram aumentar a conscientização da importância das doenças músculo-esqueléticas, promover a prevenção dessas doenças por meio do conhecimento das mesmas, incentivar pesquisas para criação de novos tratamentos e estimular a participação responsável dos pacientes em seus respectivos tratamentos, juntamente com os profissionais da saúde. Dessa forma, estimulou-se o desenvolvimento de pesquisas nesta área, como produto do impacto econômico e social das doenças reumatológicas. (SILVA *et al.*, 2009).

3.2 O sistema locomotor

Os ossos que compõem o esqueleto, juntamente com as articulações, a musculatura esquelética e o sistema nervoso possuem um objetivo primordial: o movimento do corpo. O sistema locomotor, também referido por alguns autores como "sistema musculoesquelético" é definido como a junção de outros três sistemas: o esquelético, o muscular e o articular. (KURA *et al.*, 2013).

A sua importância está no fato deste sistema permitir o deslocamento dos seres vivos. Algumas patologias de origem degenerativa e reumática afetam diretamente esse sistema. Como exemplo, pode-se citar osteoartrose, gota, artrite reumatóide, osteoporose, fibromialgia, dupuytren, osteomielite, doença de Paget e artrite idiopática juvenil (acomete crianças). (COELHO, 2014).

3.2.1 Sistema muscular

O sistema muscular é composto por células, denominadas células musculares, que possuem a capacidade de contrair e relaxar. Estas células se reúnem em feixes para formar os músculos, que são grandes massas que se encontram fixados pelas suas extremidades. As contrações consistem em encurtamentos das distâncias entre as

extremidades fixadas e ocorrem quando os músculos acionam os segmentos do corpo. (DANGELO *et al.*, 2005).

Enquanto os ossos representam os elementos passivos do movimento dentro do sistema locomotor, os músculos representam os elementos ativos dentro desse mesmo sistema. Desse modo, eles são responsáveis pela dinâmica do corpo. Por outro lado, eles também são responsáveis pela estática do organismo, visto que eles preservam unidos diferentes ossos, definindo a posição e a postura do esqueleto. (DANGELO *et al.*, 2005).

O sistema muscular é controlado pelo sistema nervoso. Há um nervo motor para cada músculo, que se divide em vários ramos para alcançar o controle de todas as células. As placas motoras, que correspondem ao final das divisões mais delicadas, são as responsáveis por enviar os impulsos nervosos para as células, ocasionando as contrações. Os impulsos nervosos podem ser originados de um ato de vontade (voluntário) ou de um ato no qual o indivíduo não tem controle consciente (involuntário). Os músculos voluntários possuem estriações transversais, sendo, portanto, denominados estriados. Os involuntários não possuem estas estriações, sendo, por isso, denominados lisos. O músculo cardíaco assemelha-se, histologicamente, aos estriados. Porém, é um músculo involuntário. (DANGELO *et al.*, 2005).

No que diz respeito à topografia, de um modo geral, os músculos estriados são esqueléticos, ou seja, são fixados por pelo menos uma das suas extremidades. Por outro lado, os lisos são viscerais, isto é, são encontrados nas paredes das vísceras de variados sistemas do corpo. (DANGELO *et al.*, 2005).

A irrigação dos músculos ocorre por meio de artérias que derivam de um ou vários troncos. As artérias penetram o músculo em uma das suas extremidades ou no meio do seu ventre. Elas se fragmentam em ramos de menor diâmetro e se organizam no sentido das fibras musculares. Cada músculo apresenta uma rica rede capilar, responsável pela circulação colateral ou compensatória (quando, por exemplo, ocorre obstrução de uma artéria, provocando câimbras). A drenagem do sangue ocorre devido às veias que direcionam-se, aproximadamente, de acordo com a distribuição arterial. Há a presença de ductos linfáticos posicionados no tecido conjuntivo interfascicular, que é o local onde eles convergem. Os troncos resultantes vão de encontro aos espaços perimusculares e acabam drenando a linfa para os linfonodos regionais. A drenagem ocorre por meio das contrações musculares. (LIBERATO *et al.*, 2002). A nutrição dos músculos ocorre devido a esta vasta rede de artérias, veias e capilares.

As doenças reumáticas (assim denominadas no senso comum e que correspondem a uma série de doenças que comprometem o sistema músculo-esquelético), (GOMES *et al.*, 2012), tais como artrite reumatóide, espondilite, osteoartrite e gota afetam não somente articulações e ossos, mas atingem também os músculos, que são os responsáveis pelo movimento articular.

3.2.2 *Sistema articular*

De acordo com (GRAAFF, 2003), não são os ossos que permitem o movimento do corpo, mas sim a união deles em regiões denominadas articulações ou juntas. A estrutura de uma articulação é a responsável pela direção e amplitude do movimento ao qual ela possibilita. Quando uma região do corpo se movimenta, articulações de outras partes permanecem rígidas com o propósito de estabilizar o corpo e manter o equilíbrio. É o comportamento coordenado das articulações, o responsável pelas várias ações cotidianas como: andar, falar, comer, se abaixar ou levantar, etc. (GRAAFF, 2003).

A ciência que estuda as articulações é intitulada artologia. O interesse é na classificação, estrutura e funções das articulações. Por outro lado, a cinesiologia é a ciência que estuda a mecânica do movimento humano, o que inclui o sistema muscular, esquelético e articular, assim como forma como eles trabalham para produzir o movimento. (GRAAFF, 2003). A estrutura das articulações permite a sua classificação em três grupos: sinoviais, fibrosas e cartilagíneas.

As articulações sinoviais são aquelas nas quais parte dos ossos estão encobertos por tecido cartilaginoso. Alguns ligamentos dão suporte a essas articulações e elas possuem um líquido (sinovial) que preenche as suas cavidades. Elas são divididas em grupos de acordo com o grau de movimento que elas permitem e de acordo com a forma das superfícies articulares. Esses grupos são: gínglimo, trocoidea, elipsóidea/condilar, selar e esferóidea. (GRAAFF, 2003).

As articulações fibrosas são aquelas nas quais alguns ossos se articulam e estes são unidos por tecido conjuntivo fibroso. Essas articulações não possuem cavidades. Elas variam de rígidas e praticamente imóveis para ligeiramente rígidas. Elas ainda são divididas em três tipos diferentes, que são: suturas, sindemoses e gonfoses. (GRAAFF, 2003).

Por fim, a articulação cartilagíneas são aquelas nos quais os ossos são unidos por cartilagem e não apresentam cavidade articular. Elas permitem movimentos limitados em

resposta a torções ou compressões. São classificadas em dois grupos: sínfises e sincondroses. (GRAAFF, 2003)

Há ainda, uma outra maneira de classificar as articulações e ela se baseia no grau de liberdade que os movimentos têm para ocorrer. Dessa forma, tem-se:

- Sinartroses: articulações imóveis;
- Anfiartroses: ligeiramente móveis;
- Diartroses: livremente móveis (GRAAFF, 2003)

As articulações também são alvo das doenças músculo-esqueléticas citadas anteriormente. Os traumas que podem ocorrer nessa região serão tratados adiante.

3.2.3 Sistema esquelético

O sistema esquelético é constituído em sua maioria de ligamentos, ossos e cartilagens. O principal elemento deste sistema é o osso. A forma e as características dos ossos os classificam em diferentes classes. (KURA *et al.*, 2013). Estas são:

- Ossos longos: apresentam como característica essencial o comprimento maior do que a largura e a espessura. Como exemplo, tem-se o fêmur, úmero, rádio, tíbia, metatarsais, etc.
- Ossos curtos: são aqueles nos quais a largura, a espessura e o comprimento são de tamanhos aproximados. Como exemplo, tem-se os carpais e tarsais.
- Ossos planos: apresentam comprimento e largura maiores que espessura. São encontrados na calota craniana e na caixa torácica, regiões nas quais fornecem proteção ao encéfalo e órgãos torácicos. Alguns exemplos são: parietais, esterno, costelas e escápula.
- Ossos pneumáticos: são ocos e contém em seu interior o que se denomina “seios paranasais”, que são cavidades revestidas por mucosas do sistema respiratório. Estas cavidades estão preenchidas com ar. Como exemplo tem-se o frontal, maxilar, etmoide e esenoide. São ossos encontrados apenas no crânio.
- Ossos sesamoides: se desenvolvem no interior de alguns tendões e são encontrados próximos às articulações dos joelhos, das mãos e dos pés. A patela é um exemplo.
- Ossos suturais: são pequenos, inconstantes e são encontrados dentro de suturas entre os ossos do crânio.

- Ossos irregulares: apresentam forma complexa, não sendo enquadrados nas classificações mencionadas. Como exemplo, pode-se citar as vértebras. (KURA *et al.*, 2013).

Um adulto possui 206 ossos, porém este número varia ao longo da vida. Em crianças, alguns ossos do quadril e coluna vertebral fundem com o passar do tempo, diminuindo o número total de ossos quando esta se torna adulta. (KURA *et al.*, 2013).

Os ligamentos, que também pertencem ao sistema esquelético, são definidos como uma faixa ou corda de tecido fibroso que une dois ossos. Em geral, eles atuam resistindo ao movimento de uma articulação em uma direção específica. São divididos em:

- Ligamentos Capsulares: são espessamentos localizados da cápsula da articulação.
- Ligamentos extracapsulares: são completamente isolados da cápsula da articulação sobre a qual atuam.
- Ligamentos intracapsulares: são os que estão situados dentro da articulação. (RUBINSTEIN, 2008).

Por fim, as cartilagens também se enquadram dentro do sistema esquelético. Elas são definidas como um tecido de suporte resistente e relativamente rígido. Não possuem vasos sanguíneos (são avasculares), não são inervadas (ausência de nervos) e são alinfáticas. (RUBINSTEIN, 2008). São classificadas em três tipos: cartilagem hialina, elástica e fibrosa. Em todas elas encontram-se células esféricas ou ovóides contidas em lacunas, chamados condroblastos, situados dentro da substância intercelular, que recebe o nome de matriz cartilaginosa. (THIEMANN, 2014). Os condroblastos dão origem aos condrócitos, que são células já maduras pertencentes ao tecido cartilaginoso.

- Cartilagem hialina: possui aspecto translúcido, branco-azulado. É o tipo que está presente em maior quantidade no corpo humano. Ela aparece no modelo cartilágneo dos ossos em desenvolvimento. A matriz da cartilagem hialina é constituída por fibrilas de colágeno tipo II associadas a proteoglicanos e a glicoproteínas (condronectina). (FONTE: medicina.ucpel.tche.br/histologiamedica/.../cap07_tecido_cartilaginoso.d...). Nas extremidades dos ossos, ela é chamada de cartilagem articular. Quando se

encontra na traquéia, no nariz ou no septo nasal dos brônquios é conhecida como cartilagem costal. São as maiores cartilagens da laringe.

- Cartilagem elástica: possui este nome porque tem grande capacidade de retornar a sua forma original quando tracionada ou torcida. Isto é possível porque esta cartilagem é atravessada por uma rica rede de fibras elásticas, que também conferem um aspecto amarelado a este tecido. (FONTE: RUBINSTEIN, 2008).
- Cartilagem fibrosa (fibrocartilagem): constituída por condrócitos que ficam posicionados em fileiras entre fibras colágenas espessas. Essa composição garante elevada resistência à pressão, torção e tensão. Ela está presente em regiões que estão submetidas à forças físicas, tais como discos intervertebrais, articulação têmporo-mandibular, articulação coxo-femural, sínfise pubiana e inserção de tendões em ossos. (ABRAHAMSOHN, 2011)

Com excessão das superfícies articulares, o osso é envolvido por uma delicada membrana conjuntiva. Esta é denominada perióstee e possui dois folhetos: um superficial e um profundo (este apresenta contato direto com a superfície óssea). A camada profunda, intitulada osteogênica, possui células que se transformam em células ósseas. Estas se agregam na superfície dos ossos, gerando o espessamento destes. (DANGELO *et al.*, 2005).

Visto que os ossos são vascularizados, a sua nutrição é gerada pelas artérias do perióstee, que os penetram, irrigando-os e distribuindo-se na medula óssea. Dessa forma, os ossos falecem quando estão isentos do seu perióstee. (DANGELO *et al.*, 2005).

3.3 Regiões osteocondrais

As regiões osteocondrais pertencem às articulações e estão presentes em várias partes do corpo, tais como joelhos, ombros, quadris, tálus, etc. Dentro dessas regiões se encontram os ossos subcondrais e as cartilagens do tipo hialina, que neste caso recebem um nome especial: cartilagem articular.

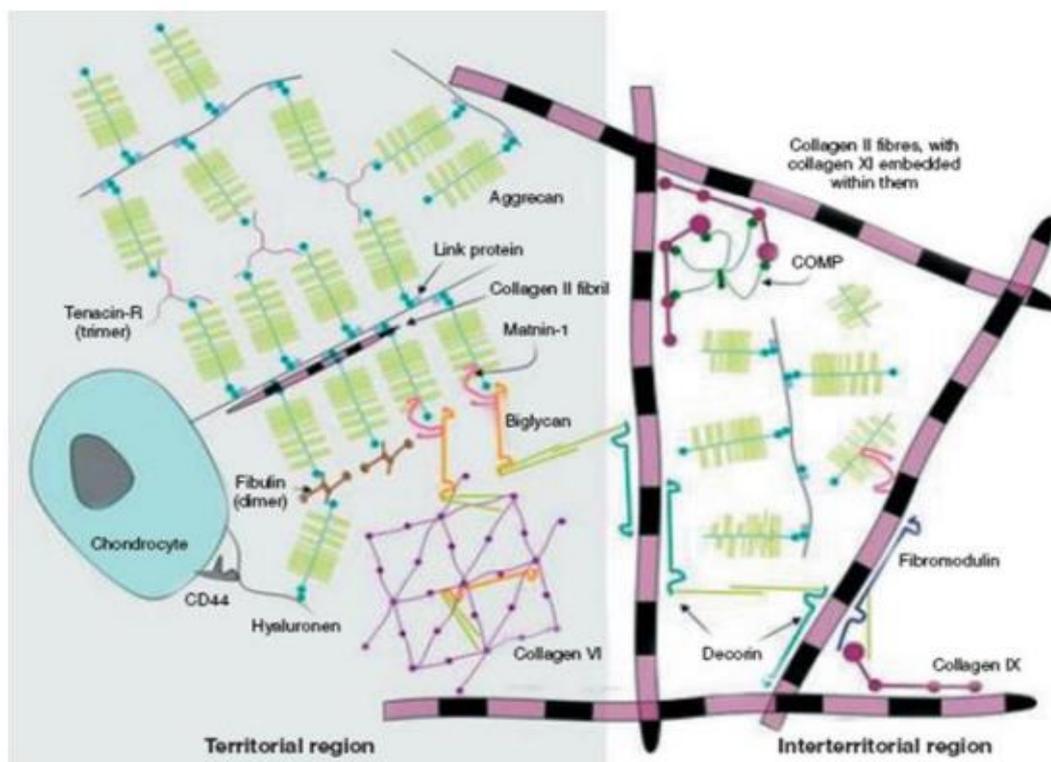
A cartilagem articular saudável é um tecido conjuntivo avascular, aneural e alinfático. Desse modo, quando este tecido é lesionado, não há o transporte de células para a regeneração do local afetado. Há procedimentos cirúrgicos que são direcionados para a reparação de lesões osteocondrais, no entanto, ainda não existe algum que seja capaz de regenerar a cartilagem hialina de modo que esta retorne ao seu aspecto original. (HOLLANDA *et al.*, 2010). Este

tipo de cartilagem apresenta apenas um tipo de célula, os condrócitos, porém, possui uma matriz celular organizada. (FONTINELE, 2007).

As cartilagens articulares recobrem as superfícies dos ossos nas articulações sinoviais. Elas são originadas a partir de moldes da cartilagem hialina. Elas proporcionam um pequeno coeficiente de atrito quando são realizados movimentos entre as superfícies articulares. (FONTINELE, 2007). Enquanto o coeficiente de atrito estático do gelo/gelo é $\mu_k=0,028$, o das articulações sinoviais em humanos é $\mu_k=0,003$. Ou seja, o coeficiente das cartilagens é menor do que o escorregamento de duas pedras de gelo. (FREITAS, 2012).

A matriz celular apresenta elevada quantidade de água, que varia de 66% a 80% e a parte sólida varia de 20% a 34%, dos quais, 5-6% são componentes inorgânicos (principalmente hidroxapatita) e do restante orgânico, 48-62% é formado por fibrilas colágenas do tipo II e 22-38% por proteoglicanas. Esta composição da matriz extracelular é uma grande responsável pelas características bioquímicas da cartilagem articular. As fibrilas proporcionam resistência à tração enquanto que as proteoglicanas conferem resistência à compressão. Essas últimas se ligam covalentemente a uma ou mais cadeias de glicosaminoglicanas. O agrecan (principal tipo de proteoglicana) em conjunto com as glicosaminoglicanas, atraem íons iniciando um desbalanço osmótico que absorve água e conseqüentemente, proporciona resistência à compressão. (REZENDE *et al.*, 2000) e (FONTINELE, 2007). A figura 2 representa os componentes morfoestruturais da cartilagem articular:

Figura 2- componentes morfoestruturais da cartilagem articular.



FONTE: (NOVELLI, 2011).

Os condrócitos controlam a produção e reposição dos elementos da matriz (colágeno, proteínas não colágenas e proteoglicanas), sendo, portanto, responsáveis por sua preservação. Fatores de crescimento, citocinas, sinais elétricos e mecânicos têm a capacidade de influenciar os condrócitos a realizar as suas funções. É a capacidade dessas células em identificar alterações da matriz que determinam a renovação desta. Com as alterações identificadas, os condrócitos sintetizam novas moléculas na quantidade necessária. As interações entre os condrócitos e a matriz é a grande responsável pelas características mecânicas e biológicas da cartilagem articular. A estabilidade mecânica e a capacidade da cartilagem suportar peso estão relacionadas com a orientação das fibras colágenas, com a combinação das proteoglicanas da matriz e com a forma dos condrócitos. A organização das macromoléculas da matriz e dos condrócitos podem proporcionar habilidade da cartilagem em sofrer deformação reversível. (FONTINELE, 2007).

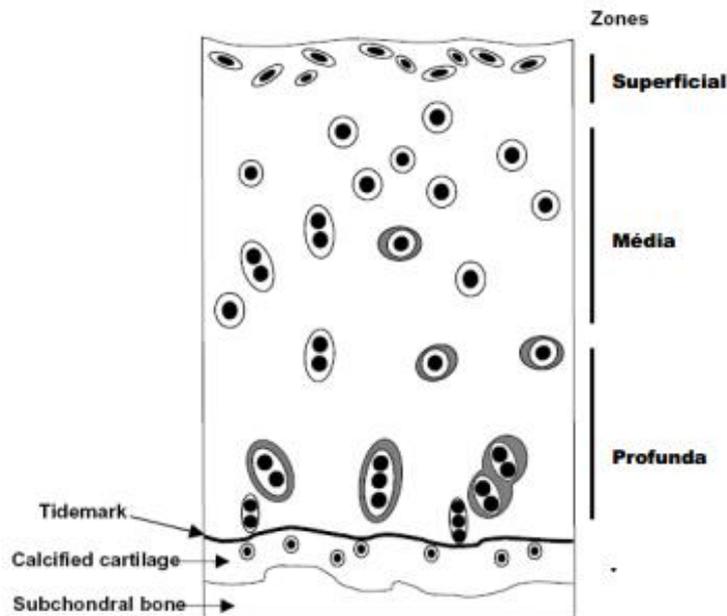
Existem fibras na camada basal da cartilagem que ficam perpendiculares à superfície e funcionam como âncoras, unindo a cartilagem descalcificada à região calcificada e em alguns casos ao osso subcondral. As fibras são distribuídas mais aleatoriamente nas zonas intermediárias. (REZENDE *et al.*, 2000).

A cartilagem possui diferenças na sua morfologia devido às demandas funcionais de absorção e redistribuição de forças compressivas. Dessa maneira, a sua estrutura se modifica conforme se aprofunda a partir da superfície até a região subcondral, dividindo-a em quatro zonas com diferentes características biomecânicas: (DIAS, 2008).

- Superficial: os condrócitos dessa região são achatados, há mais quantidade de colágeno e menos de proteoglicanas, as fibras colágenas são orientadas em paralelo à superfície articular, garantindo maior resistência ao cisalhamento. Essa região é a mais fina;
- Média: região de transição entre a superficial e a profunda, os condrócitos são arredondados e se dispõem em um modelo de transição, da horizontal para a vertical, de forma dispersa. Isso garante maior resistência à compressão. As fibras colágenas se dispõem de forma igual aos condrócitos. As proteoglicanas estão em maior quantidade e com menor teor de água.
- Profunda: as fibras colágenas se dispõem verticalmente e emergem da zona calcificada, de onde são ancoradas. Os condrócitos são arredondados, se dispõem em colunas e apresentam atividade metabólica mais elevada. Há maior quantidade de proteoglicanas e menor de água. A tidemark, que é uma linha com mais de 10µm de espessura, divide a cartilagem não calcificada da calcificada.
- Calcificada: zona de transição entre a cartilagem articular e o osso subcondral. Possui menor quantidade de condrócitos e uma matriz com elevada quantidade de sais de cálcio. (DIAS, 2008).

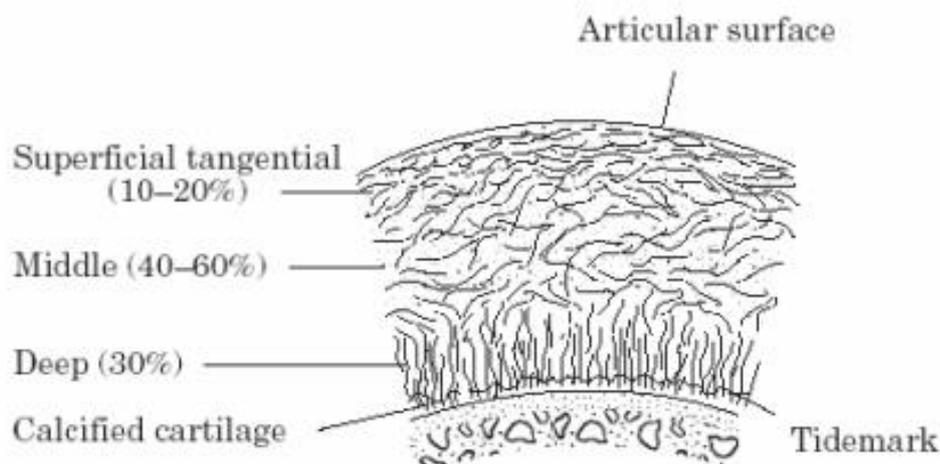
A figura 3 representa a maneira como os condrócitos se dispõem na cartilagem e a figura 4 representa a organização das fibras colágenas nestas mesmas camadas:

Figura 3- organização dos condrócitos nas camadas da cartilagem articular.



FONTE: DIAS, 2008.

Figura 4- organização das fibras colágenas nas camadas da cartilagem articular.



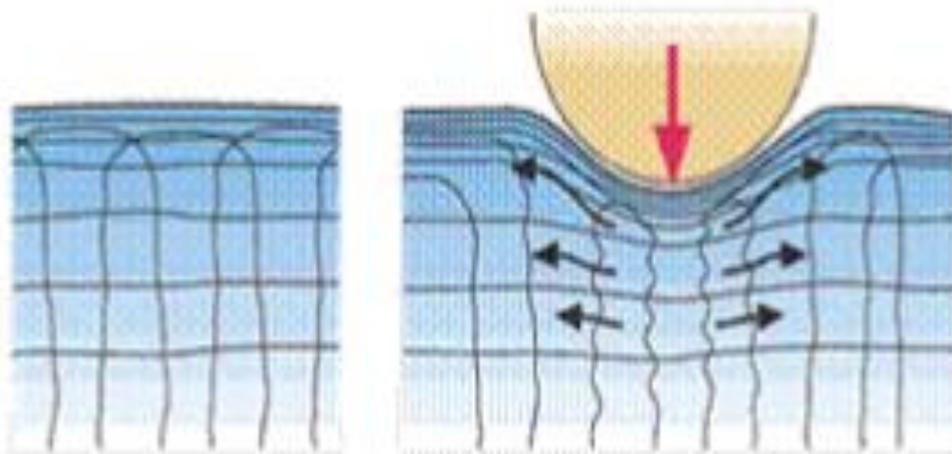
FONTE: DIAS, 2008.

Existem diferenças na estrutura das cartilagens em relação à espessura e ao número de condrócitos, quando nos referimos às diversas articulações do corpo. Cartilagens de um lado do corpo em relação ao outro ou até mesmo os diferentes pontos de uma mesma articulação apresentam essas diferenças. Os esforços sobre as cartilagens dos membros superiores e inferiores se dão de maneiras diferentes. Nos inferiores a gravidade exerce ação direta e atua juntamente com as forças musculares para manter o equilíbrio. Nos membros superiores não

existem forças de compressão diretas ocasionadas pelo peso do corpo, porém existem forças antigravitacionais intensas que atuam nos ombros quando nos movimentamos. Visto que a força da gravidade atua diretamente nas articulações dos membros inferiores, há um maior desgaste das cartilagens nessas regiões. (LEITE *et al.*, 2013). Por isso, a incidência de lesões osteocondrais nos joelhos e tálus são mais frequentes. O joelho representa a maior e mais requisitada articulação do corpo humano. Devido à elevada sollicitação mecânica a que é submetido devido à função de suporte, grande número de lesões estão a ele associadas, incluindo as lesões osteocondrais. (TRILHA JUNIOR *et al.*, 2009).

O Sistema de nutrição das cartilagens articulares é por meio de difusão, visto que estas não possuem vasos sanguíneos. Elas se comportam como esponjas rígidas que ao serem comprimidas, se deformam e liberam líquido. Quando as forças de compressão são interrompidas, elas retornam ao seu estado original e absorvem líquido que leva nutrientes, hormônios e eletrólitos para o meio extracelular, sendo absorvido pelos condrócitos. Esse líquido tem origem basicamente do líquido sinovial. A difusão dos solutos presentes no líquido dependem tanto da concentração, como da maneira em que ocorre a movimentação deste líquido, que ao sair, leva consigo catabólitos. Os movimentos impulsionam o bombeamento, principalmente de proteínas, para dentro da cartilagem. Moléculas de baixo peso molecular, tais como glicose, oxigênio e aminoácidos, são carregadas devido à convecção do fluido. Isso ocorre independentemente do movimento. Porém, quando o peso molecular é grande, como o peso dos hormônios, há um auxílio expressivo do movimento articular. Dessa forma, a saúde das cartilagens depende dos movimentos articulares e do aspecto regular do líquido sinovial. (LEITE *et al.*, 2013). A figura 5 demonstra o “efeito esponja” responsável pela nutrição da cartilagem:

Figura 5- efeito esponja responsável pela troca de líquidos da cartilagem.



FONTE: <http://www.ortopediahorst.com.br/mala/artrose.html>

Nos indivíduos adultos, o mecanismo de nutrição é igual ao mencionado, porém, em fase de crescimento há uma contribuição extra de vasos sanguíneos que penetram na cartilagem por meio do osso subcondral. Indivíduos em crescimento possuem vasos sanguíneos em abundância nesta interface gerando uma rota adicional de nutrientes para a cartilagem. Já na fase madura, os ossos subcondrais se tornam espessos, impedindo que os vasos presentes consigam atravessá-los para interagir com a cartilagem. Os reumatismos ocasionam alterações na qualidade do líquido sinovial, o que causa prejuízos à estrutura cartilágnea articular. Estas possuem um lento metabolismo e presume-se que a troca de toda a sua estrutura ocorre a cada 300 dias. (LEITE *et al.*, 2013).

O osso subcondral é um tecido subarticular mineralizado que se estende desde o tidemark (frente de mineralização ou união da cartilagem calcificada e a não calcificada) até o início da medula óssea. Dentre as funções primordiais deste tecido, se inclui absorver a tensão de impactos, oferecer suporte à cartilagem articular suprajacente, distribuir a carga mecânica na diáfise cortical subjacente e nutrir camadas da cartilagem hialina quando o indivíduo se encontra no período de crescimento. Diferentemente da cartilagem articular, o osso subcondral é muito vascularizado. Este abrange pelo menos três estruturas diferentes que são: o osso subcondral trabecular, o osso lamelar cortical e a cartilagem calcificada. Há autores que acreditam na presença de um osso trabecular subarticular que se estende do osso subcondral trabecular advindo de uma região não claramente delimitada. (SANZ *et al.*, 2006).

Alguns fatores influenciam a espessura dos ossos subcondrais, tais como a idade, localização, massa corporal, espécie animal e tipo de articulação. O aumento da espessura da

cartilagem calcificada por meio de ossificação endocondral colabora para a esclerose de indivíduos que possuem osteoartrose. Assim, o osso subcondral pode ter a sua espessura aumentada devido modelação óssea e/ou ter a sua densidade aumentada via remodelação óssea. Isso gera um aumento da densidade aparente desta região do osso. (SANZ *et al.*, 2006).

3.4 Degradação de regiões osteocondrais

As lesões condrais são derivadas da deterioração da cartilagem articular como consequência de estímulos genéticos, metabólicos, vasculares e traumáticos, podendo ocorrer devido a uma única circunstância de excesso de carga ou devido a várias situações repetidas e de pequena relevância. Essas lesões podem atingir diferentes graus, que envolvem desde microlesões, lesões condrais (apenas da cartilagem) e podem chegar até ao patamar de lesões osteocondrais (quando se afetam todas as camadas de cartilagem, chegando até o osso). Na maioria dos casos em que as lesões ocorrem em pacientes saudáveis, a origem é traumática. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012). Além disso, essas lesões podem ocorrer em indivíduos de todas as idades, desde crianças até idosos.

Atividades desportivas em crianças e adolescentes têm sido incentivadas a nível mundial com o intuito de combater o sedentarismo e excesso de peso. Porém, em muitos casos, há uma sobrecarga repetitiva e prolongada sobre o sistema músculo esquelético, gerando fraturas por stress, bursites, tendinites, apofisites das inserções dos tendões e as lesões osteocondrais. (PINHO *et al.*, 2013).

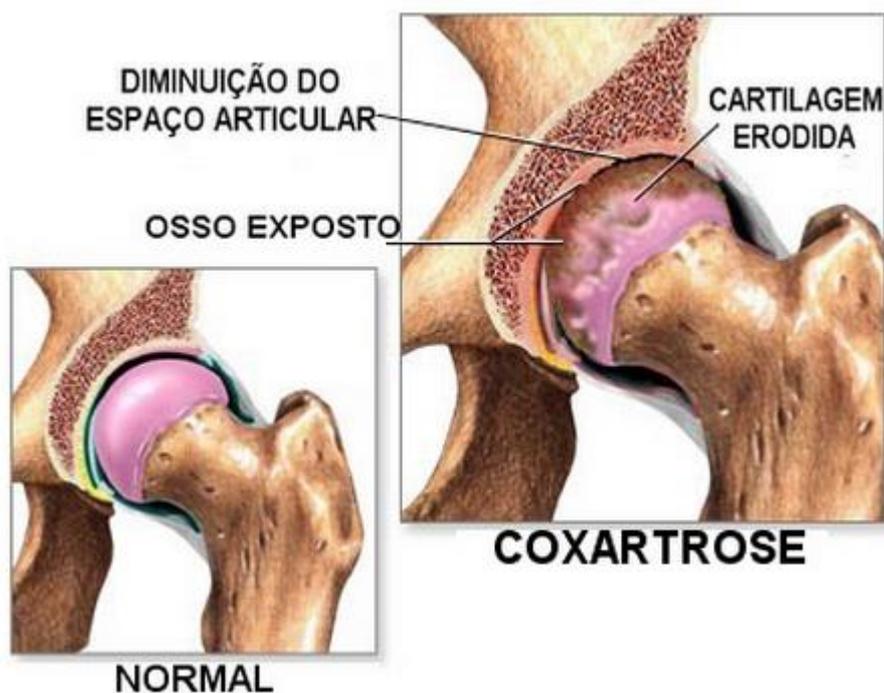
Essas lesões também são causadas devido a outros fatores, como as entorses, que são definidas como lesões ligamentares traumáticas sofridas pelas articulações, devido a movimentos súbitos que não chegam a ocasionar luxação. Presume-se que 10.000 pessoas sofram uma entorse lateral aguda do tornozelo a cada dia, sendo esta uma das lesões mais frequentes do sistema músculoesquelético e também dos esportes. (BELANGERO *et al.*, 2010). Estes movimentos súbitos geram estiramentos ou rupturas de ligamentos de uma articulação. A entorse de tornozelo geralmente afeta os ligamentos laterais e ocorre mais regularmente em jogadores de vôlei, basquete e futebol, representando de 10% a 15% de todas as lesões do esporte. (RODRIGUES *et al.*, 2009).

A artrite por desgaste e a osteoartrite, causadas por lesões ligamentares, formam pequenas ou grandes fendas nas superfícies da tíbia, patela e fêmur. Casos os danos ocorram nas áreas que não participam da sustentação do peso, eles podem ser chamados de superficiais e não cicatrizam e nem progridem. Caso evoluam para abaixo do osso subcondral, elas são profundas, provocando as lesões osteocondrais. (BARRETO, 2004).

A osteoartrose (primária e secundária) é caracterizada pela perda da natureza homogênea da cartilagem articular, a qual é rompida e fragmentada com fibrilação, fissuras e ulcerações. Há casos em que a cartilagem é totalmente degradada de modo que o osso subcondral se torne exposto. A linha de separação entre a cartilagem calcificada e a zona radial é tomada por capilares. Fibrocartilagem recém formada envolve osteófitos, gerando irregularidade na estrutura. Alterações metabólicas também ocorrem, como a síntese e secreção de enzimas degradadoras da matriz pelos condrócitos. Aumenta-se muito a atividade enzimática lisossômica e extralisossômica. Estas enzimas são as collagenases, estromelisina, gelatinase (enzimas metaloproteases) e a hialuronidase. Elas atuam degradando os agregados e gerando perda das proteoglicanas, geram clivagem de ácido hialurônico e condroitina 6-sulfato, levam à produção de proteoglicanas incapazes de agregar, degradam colágeno do tipo 2, dentre outros fatores que tem como consequência a progressão da doença. (REZENDE *et al.*, 2000).

Quando a OA ocorre no quadril, é denominada coxartrose. A figura 6 ilustra o processo de degradação da cartilagem nesta região.

Figura 6- comparação entre uma cartilagem normal e uma cartilagem lesionada na região do quadril.



FONTE: BUSATO, 2011

A tabela 1 demonstra a classificação da osteoartrose, a qual possui uma ampla patologia articular associada a si. (RIBERTO *et al.*, 1997).

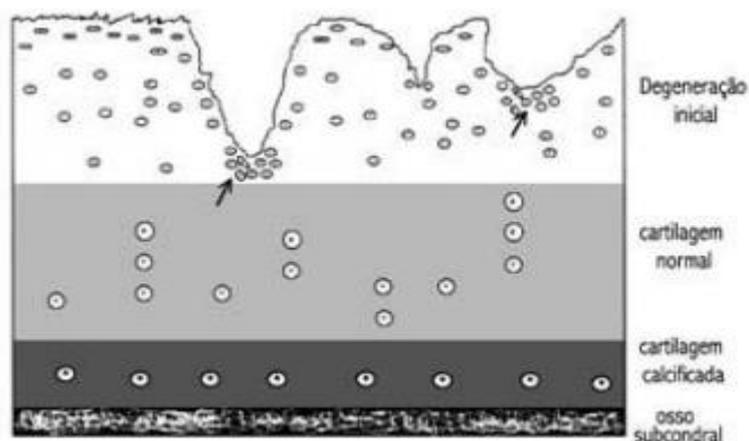
Tabela 1- classificação da osteoartrose

Idiopática	Secundária
A. Localizada	A. Trauma
1. Mãos (nódulos de Heberden e Bouchard)	B. Congênita
2. Pé (hálux valgo, hálux rígido)	1. Localizada (ex.: Perthes, LCQ)
3. Joelho (patelofemoral, medial, lateral)	2. Fatores mecânicos
4. Quadril (excêntrica, concêntrica, difusa)	3. Displasia óssea
5. Coluna	C. Metabólica (Hemocromatose)
6. Outras localizações	D. Endócrina (DM, Acromegalia)
B. Generalizada	E. Outras doenças osteoarticulares (DRe)
	F. Doenças de etiologia obscura (D. Kashin-Beck)

FONTE: RIBERTO *et al.* 1997

A osteoartrite é uma das formas mais comuns de doenças reumáticas que afeta o joelho uni ou bilateralmente, podendo envolver até três compartimentos do joelho: compartimento lateral (platô-tibial lateral e côndilo femoral lateral); compartimento patelo-femoral (patela e incisura troclear femoral) e o medial (constitui o platô tibial medial e côndilo femoral medial). (ALBUQUERQUE, 2004 apud SNIDER, 2000). No estágio inicial, a doença é assintomática, com o avanço da patologia, ocorre frouxidão capsular devido neoformação óssea, resultando em hipermobilidade ou instabilidade articular e desencadeando quadro álgico, contratura da cápsula e da musculatura adjacente. (ALBUQUERQUE, 2004 apud KISNER E COLBY, 1998). A figura 7 representa a degradação causada por esta doença.

Figura 7- degradação da cartilagem: descamação, fibrilação e fendas. Os condrócitos se aglomeram nas regiões mais profundas como tentativa de regeneração.



FONTE: ALBUQUERQUE, 2004.

No caso de lesões condrais do joelho, Outerbridge classificou em 1961 os diferentes tipos de degradação em quatro patamares. O grau 1 foi caracterizado como amolecimento, o grau 2 como fragmentação/fissura de 1,25cm ou menos, o grau 3 correspondia a fragmentação/fissura maior do que 1,25cm e por fim, o grau 4 foi entendido como exposição óssea. Uma nova classificação foi proposta, em 1994, pela sociedade francesa de Artroscopia e foi definida como: grau 1 correspondia ao amolecimento, o grau 2 era entendido como fissura superficial, o grau 3 como fissura profunda e o grau 4 como exposição óssea. (LASMAR *et al.*, 2010).

A tabela 2 abaixo representa a classificação das lesões condrais de acordo com o sistema ICRS (International Cartilage Repair Society): (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012).

Tabela 2- classificação das lesões condrais de acordo com a ICRS.

Normal	Grau 0
Quase normal	Grau 1a – Lesões superficiais/amolecimento Grau 1b – 1a e/ou fissuras ou fendas superficiais
Anormal	Grau 2 – Extensão < 50% espessura
Lesão grave	Grau 3a – Extensão > 50% Grau 3b – Até a camada calcificada Grau 3c – Até a superfície do osso subcondral (sem penetração) Grau 3d – Inclui abaulamento da cartilagem ao redor da lesão
Lesão muito grave	Grau 4a – Penetração do osso subcondral, mas não no diâmetro total do defeito Grau 4b – Penetração em todo o diâmetro do defeito

FONTE: CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012

As lesões nas articulações do joelho estão entre as mais comuns. A figura 8 ilustra essas lesões, com consequentes exposições do osso sucondral:

Figura 8- comparação entre uma articulação do joelho saudável e uma articulação lesionada.



FONTE: <http://www.usp.br/espacoaberto/?materia=transplante-de-cartilagem-de-joelho>

As lesões da cartilagem articular regularmente provocam rigidez, inchaços, dores, bloqueios e travamentos que reduzem a qualidade e expectativa de vida dos indivíduos. Essas lesões progredem para a degradação contínua da cartilagem tornando-a vulnerável a rupturas, podendo chegar a atingir o osso subcondral. (FREITAS, 2012). Além disso, as doenças articulares degenerativas estão entre as principais causas de dor e incapacidade entre indivíduos de meia-idade e idosos. (COSTA *et al.*, 2001).

Percebe-se que as lesões osteocondrais podem afetar indivíduos de todas as faixas etárias e elas podem ocorrer devido a variados fatores: doenças musculoesqueléticas, esforços repetitivos e com sobrecarga (atividades físicas muito intensas), acidentes por movimentos abruptos e até mesmo a obesidade, que provoca um esforço acentuado sobre algumas articulações.

Diante disso, é de extrema importância a realização de tratamentos que visam à regeneração da cartilagem articular da maneira mais eficiente possível. Ainda que não existam tratamentos totalmente eficazes quanto à reparação da cartilagem articular, existem tratamentos que proporcionam resultados satisfatórios quanto à restauração deste tecido.

3.5 Tratamentos para as lesões osteocondrais

Como mencionado anteriormente, a cartilagem hialina possui baixa capacidade de regeneração, o que dificulta os tratamentos das lesões osteocondrais. Porém, existem tratamentos que proporcionam bons resultados.

A microfratura óssea é um método no qual são realizadas perfurações ósseas utilizando uma agulha com a ponta em forma de cone pontiagudo, denominado Steadman Awl. Primeiramente, é realizada uma raspagem para retirar o excedente da cartilagem calcificada na região osteocondral afetada. Posteriormente, as perfurações ósseas são realizadas, iniciando-se da periferia para o centro. É necessário que se estabeleça um espaço de 3 a 5mm entre as perfurações e a profundidade de cada penetração é de 3mm. O objetivo é formar um tecido fibrocartilaginoso constituído de células mesenquimais da medula óssea. Os resultados dependem de vários fatores, tais como idade e magnitude do defeito. O procedimento é recomendado para pacientes jovens e ativos. Nestes, há uma melhora significativa a longo prazo para defeitos inferiores a 2,5cm. Em contrapartida, outros estudos revelaram que a melhora clínica diminui em torno de dois anos após a operação, especialmente em indivíduos mais velhos. A microfratura é uma técnica cirúrgica relativamente fácil, de baixo custo e oferece bons resultados. É indicada para defeitos menores do que 2cm, porém pode-se alcançar melhora dos sintomas para defeitos de até 4cm. Os melhores prognósticos são para indivíduos jovens com lesões nos côndilos femorais e os piores são para pessoas com defeitos mais antigos e de alta massa corporal. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012).

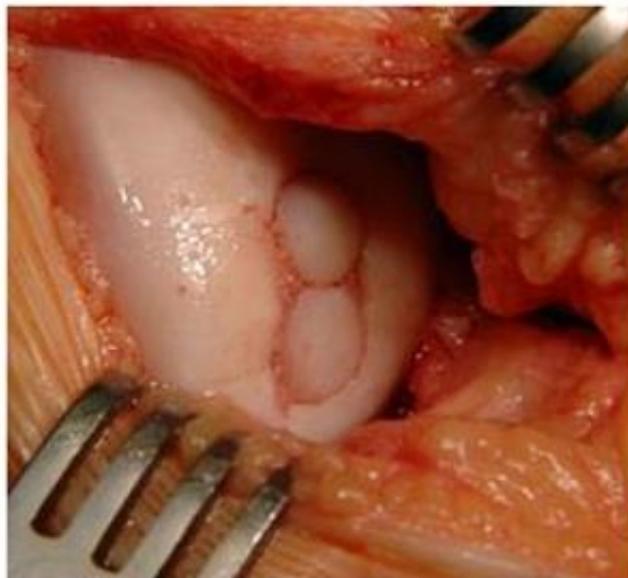
A abrasão, assim como a microfratura, é uma técnica artroscópica na qual se realiza uma limpeza do tecido lesionado, retirando o tecido desvitalizado com um aparelho tipo shaver. A idéia é liberar células mesenquimais do osso subcondral. Esta técnica foi utilizada primeiramente para tentar evitar uma artroplastia do joelho de indivíduos com osteoartrose. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012).

O drilling é um método inventado por Pridie e foi criado a partir da suposição de que a criação de furos na placa subcondral estimularia a produção de fibrocartilagem. Nesta técnica, são realizadas perfurações de 2,0 a 2,5cm de diâmetro nos ossos para estimular a medula óssea. Utiliza-se um fio de Kirschner para realizar o procedimento. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012).

A técnica de mosaicoplastia consiste em transferir para as áreas lesionadas pequenos cilindros ósseos provenientes da periferia do côndilo femoral e da região intercondiliana. O intuito é conservar a estrutura com qualidade. (LIRA NETO *et al.*, 2010). Esta técnica,

também conhecida como transplante autólogo osteocondral, ocorre em três etapas. Primeiro, remove-se resíduos de cartilagem do osso subcondral e perfura-se túneis cilíndricos de 15mm de profundidade e com 1mm de distância entre eles. Para realizar um encaixe press-fit, o diâmetro do leito receptor deve ser 0,1mm menor do que o diâmetro do tecido doador. A segunda etapa consiste em retirar o enxerto na forma cilíndrica e este deve possuir 10-15mm de comprimento. A terceira e última etapa é a colocação do cilindro no seu receptor. O ideal é utilizar apenas um cilindro para preencher inteiramente o defeito. Esta técnica tem como objetivo aproveitar a boa cicatrização osso-osso para auxiliar na cicatrização da cartilagem. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012). A técnica foi criada por Hangody em 1992 e publicada em 1997. Ela evidencia a manutenção da cartilagem hialina transplantada para uma região na qual a composição é equivalente a 80% de cartilagem e 20% de fibrocartilagem na base do defeito ósseo. (LIRA NETO *et al.*, 2010). O inventor a recomenda para lesões de 1cm² a 4cm². A mosaicoplastia apresenta alguns pontos negativos. Quanto maior a lesão, maior é a retirada de tecido da região doadora, o que inviabiliza a utilização da técnica quando os defeitos são grandes. Para indivíduos acima de 50 anos, há uma diminuição da taxa de sucesso e há a possibilidade de falência das regiões doadoras já que estas apresentam vazios ao final do procedimento. Por fim, a transferência de condrócitos de uma área para outra pode alterar a estrutura da cartilagem, com conseqüente degeneração desta. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012). A figura 9 ilustra esse método:

Figura 9- técnica de mosaicoplastia, na qual se pode observar os cilindros de cartilagem que atuam como enxertos.



A tabela 3 representa as indicações e contraindicações do método, segundo Hangody. (LIRA NETO *et al.*, 2010).

Tabela 3- indicações e contraindicações para a mosaicoplastia.

INDICAÇÕES	CONTRAINDICAÇÕES ABSOLUTAS	CONTRAINDICAÇÕES RELATIVAS
Lesões condrais e osteocondrais focais na superfície articular em área de carga	Tumor, infecção, artrite reumatóide, osteoartrose avançada	Idade entre 40 e 50 anos
Idade menor que 50 anos	Falta de área doadora disponível	Defeitos entre 4 e 8cm ²
Área da lesão entre 1 e 4cm ² , podendo esta ser até 8cm ² em casos isolados como procedimento de salvação	Idade maior que 50 anos	Artrose intermediária
Tratamento concomitante ou prévio de instabilidade, mau alinhamento e lesões meniscais	Lesão maior que 8cm ²	
Aceitação do paciente para colaboração na descarga de peso pós-operatório		

FONTE: LIRA NETO *et al.*, 2010

Há também o método de transplante osteocondral autógeno, o qual consiste em transferir um enxerto osteocondral de um sítio saudável de uma articulação para um sítio lesionado. Porém, este método apresenta um ponto negativo que é a quantidade limitada de regiões doadoras, sendo, portanto, apropriado para indivíduos com lesões menores. Por outro lado, o método de transplante osteocondral alógeno se dá pela pelo transplante da cartilagem hialina de cadáveres. Dessa forma, ele pode ser empregado para lesões mais profundas e maiores. Para realizar o procedimento, é preferível aloenxerto fresco ao congelado, devido à baixa viabilidade dos condrócitos em produzir a matriz extracelular. Os pontos negativos desta técnica são: possível falta de compatibilidade, gerando reação imune e possibilidade de transmissão de doenças. (REIFF, 2010).

A técnica de transplante autólogo de condrócitos (TAC) possui primeira, segunda e terceira geração. A TAC de primeira geração consiste em uma biópsia da cartilagem de uma região saudável para a retirada de condrócitos. Posteriormente, estes são cultivados em laboratório *in vitro* para a sua multiplicação. Por fim, eles são implantados nas regiões lesionadas. Este método é indicado para defeitos maiores que 2cm² e menores que 12cm². Os

pontos negativos desta técnica se devem aos dois tempos de cirurgia (um no qual são retirados os condrócitos de uma cartilagem saudável e outro no qual estas células, após multiplicadas, são inseridas nas lesões), além da hipertrofia do periósteo (já que condrócitos são mantidos no local por uma camada de periósteo unida às margens da lesão) e ao alto custo. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012). A TAC de segunda geração não utiliza periósteo. Neste procedimento, as células são depositadas sobre uma matriz carreadora, criando-se uma membrana de condrócitos. (GOBBI *et al.*, 2010). A matriz possui características análogas às da matriz extracelular da cartilagem. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012). Por fim, a TAC de terceira geração consiste na deposição de condrócitos sobre uma matriz de ácido hialurônico disposta em três dimensões, para que os condrócitos possam se distribuir de maneira uniforme dentro do defeito. As matrizes de ácido hialurônico implantadas sobre as lesões são fixadas com cola de fibrina, eliminando a necessidade de enxerto do periósteo já que a sua hipertrofia gera insatisfação devido às dores causadas. (GOBBI *et al.*, 2010).

Existem tratamentos que utilizam células tronco para regenerar a cartilagem articular. Osteocondrites dissecantes, lesões condrais traumáticas, osteoartrose e condromalácia patelar são exemplos de enfermidades nas quais se tem utilizado mais frequentemente essas células. Além disso, recentes estudos demonstraram que a utilização das células tronco tem se mostrado eficiente para a recomposição de lesões maiores, independentemente da idade do indivíduo. Alguns pontos positivos desta técnica são: redução do falecimento de áreas doadoras, o que pode ocorrer no mosaicismo; diminuição da passagem de patógenos, o que é uma situação provável do transplante osteocondral alógeno e ainda há a redução da frequência de fiscalização de próteses, no caso de pacientes que as possuam, já estas podem desgastar. Porém, ainda são necessários estudos mais consistentes em humanos para verificar a real finalidade destas células na reparação de cartilagens. (CRISTANTE *et al.*, 2011).

Um outro método de reparo das lesões é o método da cartilagem picada (minced cartilage). Nesta técnica, utiliza-se “fragmentos picados” de cartilagem hialina não lesionada, na maioria das vezes do próprio indivíduo, complementadas com scaffold. Os condrócitos desta cartilagem são utilizados para reparo dos defeitos. As vantagens deste procedimento consistem em: necessidade de apenas uma pequena quantidade de cartilagem (apenas 10% da quantidade necessária que seria utilizada para cobrir totalmente o defeito); é realizada em um único estágio e emprega tecido cartilaginoso natural. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012).

A escolha do método de tratamento é determinada principalmente pela idade, nível de atividade e tamanho dos defeitos. Jones e Peterson propõem a microfratura e mosaicoplastia para lesões entre 1 e 2,2cm². No caso da mosaicoplastia, o enxerto deve ficar paralelo à

superfície articular e pode ser usada em indivíduos mais ativos. A microfratura pode ser realizada em pacientes menos ativos. O transplante autólogo de condrócitos (TAC), é apropriado para defeitos maiores do que 2cm². Já para lesões maiores do que 4cm², o mais adequado é o transplante alógeno osteocondral. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012 apud JONES *et al.*, 2006).

De acordo com Bekkers et al, lesões superiores a 2,5cm² devem ser tratadas com implantação de condrócitos autólogos ou transplante autólogo osteocondral. Para lesões inferiores a 2,5cm², a microfratura é a técnica mais adequada. Indivíduos ativos manifestam resultados superiores quando tratados com implante de condrócitos autólogos ou transplante autólogo osteocondral em comparação com a microfratura. Por fim, os pacientes com idade inferior a 30 anos apresentam melhores resultados, independente do método utilizado, quando comparados com pacientes acima de 30 anos. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012 apud BEKKERS *et al.*, 2009).

A tabela 4 abaixo revela orientações para reparo do tecido condral de acordo com Farr et al. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012 apud FARR *et al.*, 2011) e recomendações de tratamento de acordo com o tamanho da lesão segundo Jones e Peterson. (CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012 apud JONES *et al.*, 2006).

Tabela 4- estratégias e recomendações para tratamentos das lesões osteocondrais.

Técnica	Resultados bons- Farr et al⁽⁵⁹⁾	Resultados ruins Farr et al⁽⁵⁹⁾	Tamanho da lesão - Jones e Peterson⁽⁵⁹⁾
Microfratura	Idade < 40 anos Lesão focal Condilo femoral Lesão < 4cm ²	Idade > 40 anos Múltiplas lesões Lesão patelar Lesão > 4cm ²	1-2.5cm ²
Mosaicoplastia	Lesão femoral < 2,5cm ²	Lesão patelar Lesão bipolar Lesão com perda óssea	1-2.5cm ²
Transplante osteocondral <i>allograft</i>	Lesão com perda óssea e condral Grandes lesões difusas	Lesão bipolar Osteoartrite difusa	>4cm ²
Cultura de condrócito	Lesão condral > 2cm ²	Lesões extensas Lesão bipolar	>2cm ²

FONTE: CAVALCANTI FILHO *et al.*, 2012 apud FARR et al, 2011 e JONES *et al.*, 2006

Um método mais recente de tratamento consiste na utilização de hidrogéis para a regeneração das lesões osteocondrais. Estes biomateriais serão abordados com maiores

detalhes nos tópicos abaixo, onde serão explicitados o seu conceito, os tipos de hidrogéis, os resultados alcançados, as suas vantagens e a injetabilidade destes compostos.

3.6 Hidrogéis

Os hidrogéis são definidos como compostos poliméricos naturais ou sintéticos que tem a capacidade de intumescer em água. São estruturas poliméricas tridimensionais e geralmente não cristalinas que tem a capacidade de absorver grandes quantidades de água sem se dissolver. (MALMONGE *et al.*, 1997). Eles também são conhecidos como sistemas hidrofílicos compostos por elementos unidos por ligações covalentes e/ou eletrostáticas, organizados em uma ou mais redes. Estas redes são envolvidas por algum solvente, geralmente a água, a qual é absorvida de acordo com a hidroflicidade das cadeias e a densidade de reticulações. (AOUADA *et al.*, 2009).

Estes polímeros não deformam a sua estrutura ao absorver água (intumescimento); são biocompatíveis; possuem baixa toxicidade; apresentam consistência elastomérica, o que reduz a fricção entre o hidrogél e os tecidos; alta permeabilidade; facilidade de produção em variadas formas e tem a capacidade de adsorver e liberar fármacos de diferentes polaridades de maneira controlada. (ALVES, 2011).

Há hidrogéis com a habilidade de absorver de 150 a 400 vezes a sua massa seca. Estes possuem aplicação na agricultura do café, e podem ser usados em épocas de deficiência hídrica, já que armazenam água. (MARQUES *et al.*, 2012). O processo de intumescimento, em meio aquoso ou em solução, ocorre por expansão do volume quando as cadeias detém o líquido entre elas. Em seguida, ocorre osmose, no qual o solvente migra para o interior do hidrogel, até o momento em que o equilíbrio seja alcançado. A figura 10 evidencia o processo de intumescimento dos hidrogéis. (ALVES, 2011).

Figura 10- processo de intumescimento de hidrogéis.



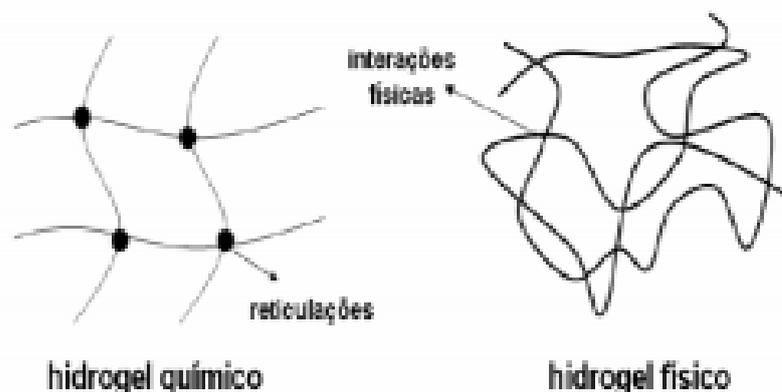
Dependendo das substâncias acrescentadas à matriz, assim como da natureza (que pode ser neutra ou iônica) das substâncias que geram os hidrogéis, estes podem agir de formas diferentes quando se alteram as variáveis do meio externo, tais como pH e força iônica. Também respondem diferentemente quando se altera a quantidade de algum composto químico específico, como nutrientes, corantes ou pesticidas. É possível produzir matrizes que intumescem da forma mais apropriada para uma determinada aplicação. Isto é feito monitorando a quantidade de agente de nucleação, o balanço hidrofílico-hidrofóbico e a densidade das cadeias poliméricas, o que gera matrizes com características mecânicas e estruturais diferentes. (AOUADA *et al.*, 2009). Quando os hidrogéis entram em contato com solventes compatíveis termodinamicamente, passam por uma transição vítrea (ALVES, 2011) que é o momento no qual os polímeros saem de uma condição amorfa vítrea a alcançam uma condição amorfa borrachosa. (CANEVAROLO, 2006). Os responsáveis pela sensibilidade aos fatores externos como o pH, a composição do solvente e a temperatura, são determinados grupos funcionais ao longo da cadeia polimérica. (HORN, 2008).

É possível sintetizar hidrogéis compósitos, quando, por exemplo, adiciona-se uma carga inorgânica como a argila, resultando em um material mais resistente e sem perda de elasticidade. A argila possui capacidade de absorção e de agir como reforço mecânico.

Os hidrogéis são agrupados de acordo com diferentes parâmetros, tais como: a natureza das reticulações (que os separa em físicos ou químicos); a natureza da rede (que determina se é um homopolímero, copolímero ou blenda); a fonte (que os distingue entre sintéticos e naturais); a estrutura física (que pode ser amorfa ou semicristalina) e, por fim, se apresentam ou não alguns poros. (ALVES, 2011).

Quando obtidos por reticulação química, estes géis são nomeados de químicos. Os intitulados hidrogéis físicos, são aqueles provenientes de ligações físicas de Van der Waals e pontes de hidrogênio. Estes últimos podem se dissolver quando ocorrem estímulos externos, como variação de pH e de temperatura. A figura 11 representa os dois tipos de géis: físicos e químicos. (ALVES, 2011).

Figura 11- representação dos hidrogéis químicos e físicos.



FONTE: ALVES, 2011

Quando os hidrogéis têm como finalidade a aplicação em biomateriais, estes devem ser sensíveis à temperatura e são entendidos como “biomateriais inteligentes” quando são capazes de contrair e expandir como resposta à variação de temperatura (termo-sensíveis). (CAMPESE *et al.*, 2007). Os polímeros utilizados para reparo de lesões condrais terão um elevado potencial se forem de fácil produção, manuseio, semelhantes à cartilagem articular no que diz respeito ao comportamento mecânico e compatíveis biologicamente com o organismo do paciente. Os polímeros que vem sendo desenvolvidos para tal finalidade se dividem em duas categorias: substâncias biodegradáveis que atuam como matrizes temporárias, possibilitando o crescimento do tecido condral para preencher a lesão e como substâncias de preenchimento, não biodegradáveis que estabelecem a regeneração da cartilagem. (MALMONGE *et al.*, 1997).

Os hidrogéis foram os primeiros biomateriais criados para utilização no organismo humano. Wichterl e Lim, em 1960, iniciaram pesquisas com hidrogéis a partir da síntese de géis de poli (hidroxiethyl metacrilato – PHEMA). (MORAES, 2013). Foi o primeiro material empregado para a produção de lentes de contato na década de 60. (ALVES, 2011). Eles também são usados na indústria farmacêutica para a liberação de fármacos. A indústria alimentícia faz uso destes polímeros para conservar sabores, fazendo com que estes sejam liberados aos poucos, aumentando sua duração. Neste ramo, os hidrogéis são denominados “sabores encapsulados”. Como exemplo, pode-se citar gomas de mascar, massas de bolo, café instantâneo, etc. Há variadas aplicações para estes polímeros, visto que estes são flexíveis, permeáveis à água e duráveis. (HORN, 2008).

Há também outras finalidades para eles, como: pesticidas; artigos veterinários; biosensores; agroquímicos; implantes artificiais; imobilização de enzimas; dispositivos ópticos/janelas inteligentes; (ALVES, 2011); úlceras diabéticas e de pressão; úlceras em mmi; queimaduras de primeiro e segundo grau; feridas, etc. (MANDELBAUM *et al.*, 2003).

Os hidrogéis possuem semelhança física com a cartilagem e não dificultam o fluxo de fluidos, que contém nutrientes e/ou metabólitos para as células, como o fluido sinovial. Isto porque eles têm uma elevada capacidade de absorver água e possuem baixo coeficiente de atrito, o que representa um importante aspecto neste tipo de aplicação. Dessa forma, os hidrogéis podem preencher os defeitos condrais e restabelecer a função da superfície cartilaginosa, desde que apresentem as propriedades mecânicas adequadas para tal. Também existe a possibilidade de revesti-los com uma membrana biológica para a produção de matriz extracelular cartilaginosa, como é o caso do periósteo. Isso fornece a sustentação mecânica adequada para a restauração da lesão por meio do desenvolvimento de tecido cartilaginoso sobre o hidrogel. Este tecido é gerado com ausência de discontinuidades. Estes polímeros ainda são capazes de liberar de forma controlada fatores de crescimento, que podem influenciar nas atividades dos condrócitos. (MALMONGE *et al.*, 1997).

As pesquisas para a utilização de hidrogéis sintéticos como biomaterial regenerador de defeitos condrais vem sendo feitas desde a década de 70. Bray e Meryll, em meados de 1973, propuseram a utilização de hidrogéis sintéticos de poli(álcool vinílico) - (PVA) como método de restauração de articulações. Estes polímeros foram obtidos por reticulação com radiação e apresentavam propriedades satisfatórias para esta finalidade. Posteriormente, técnicas de tratamento térmico foram realizadas por Peppas e Meryll para aprimorar as propriedades mecânicas deste material. (MALMONGE *et al.*, 1997). Alguns exemplos de hidrogéis e suas aplicações são:

- Hidrogéis de poliacrilamida (PAAm) foram estudados no intuito de medir a sua eficiência na liberação controlada de NH_4^+ e K^+ contidos em fertilizantes. Esta aplicação está relacionada como o agronegócio (AOUADA *et al.*, 2009);
- Hidrogéis de poli(2 hidróxi etil metacrilato)- poliHEMA para regeneração da cartilagem articular (MALMONGE *et al.*, 1997);
- Hidrogéis do tipo semi-IPN baseados em rede de alginato- Ca^{2+} com poli(*N*-isopropil acrilamida) (PNIPAAm) entrelaçado, com diferentes teores de alginato e de PNIPAAm, são potencialmente viáveis para aplicação em

sistemas carreadores para liberação controlada e/ou prolongada de fármacos e substratos para crescimento e cultura de célula (MOURA *et al.*, 2008);

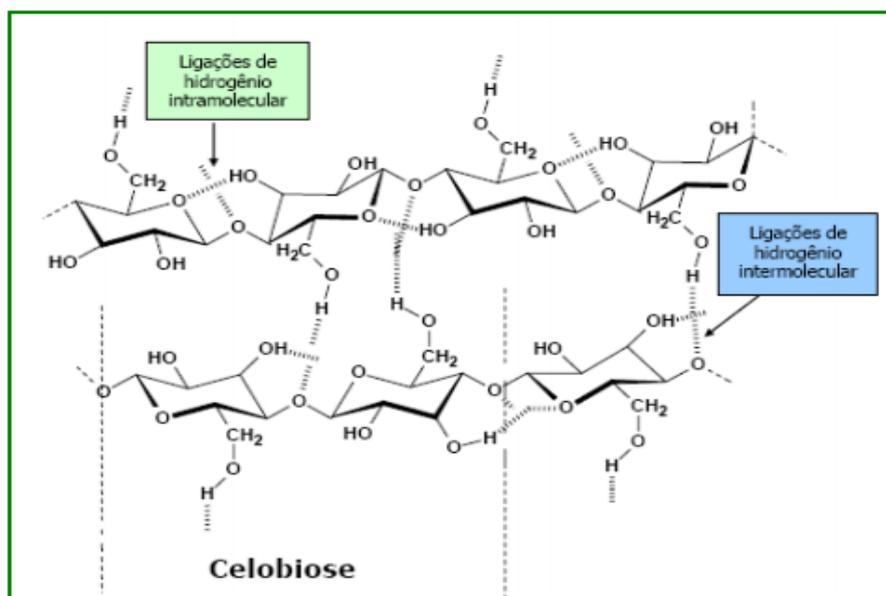
- Hidrogel de alginato (HA), utilizado como meio de cultivo de condrócitos retirados da articulação de joelho de coelhos, para a produção de matriz extracelular (ECM) (BITTENCOURT *et al.*, 2009).

Os hidrogéis poliméricos apresentam potencial para a regeneração da cartilagem articular. Porém, para que se alcance um procedimento clínico de reparo dessas regiões, estes géis devem possuir características que permitam criar uma superfície articular biomecanicamente funcional, sendo importante que estes polímeros possuam comportamento mecânico similar ao do tecido condral. (MALMONGE *et al.*, 1997).

3.7 Características da Carboximetilcelulose (CMC), suas aplicações e sua utilização como hidrogéis.

A celulose é o polissacarídeo mais renovável, biodegradável e que se apresenta em maior quantidade na natureza. Apesar de ser um polímero hidrofílico, a celulose não é solúvel em água por causa do seu denso arranjo molecular. As fortes ligações de hidrogênio entre as cadeias são as responsáveis pelo alto empacotamento destas, acarretando na insolubilidade desse composto em água. (AOUADA *et al.*, 2009). A figura 12 evidencia as ligações de hidrogênio inter e intramoleculares da celulose.

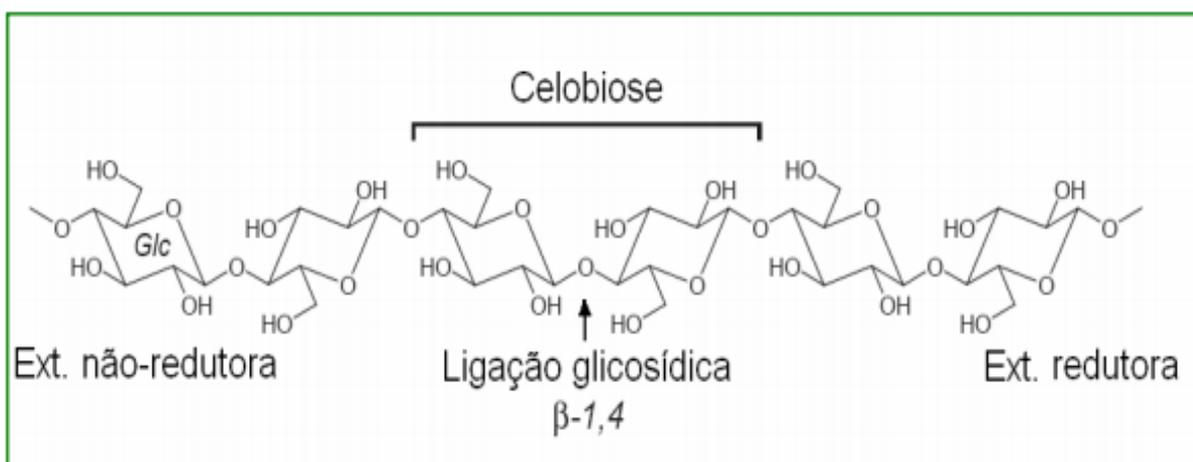
Figura 12-estrutura cristalina da celulose, evidenciando a sua unidade de repetição (celobiose) e as ligações de hidrogênio inter e intramoleculares.



FONTE: FERREIRA, 2010

A unidade repetitiva da celulose é a celobiose, a qual é formada por anéis de β -Dglicopiranosose unidos por ligações glicosídicas do tipo $\beta(1\rightarrow4)$, (BRAGANÇA, 2008). Cada microfibrila é sintetizada de forma independente e contém entre dois mil e vinte mil resíduos de D-glicose. A extremidade redutora é aquela na qual se encontra o resíduo de glicose cujo carbono anomérico não está livre. A outra extremidade é chamada de não redutora. (FERREIRA, 2010). A figura 13 abaixo evidencia esta estrutura:

Figura 13- Estrutura da celobiose e da ligação β -glicosídica na celulose, evidenciando a extremidade redutora e a não redutora.



FONTE: FERREIRA, 2010

O produto metilcelulose (MC) é conseguido por meio de um tratamento alcalino, no qual se utiliza hidróxido de sódio e, posteriormente, realiza-se uma reação com cloreto de metila. Neste processo, há a substituição de alguns grupos hidroxilas por grupos metilas, o que diminui as interações intermoleculares (já que os grupos hidroxilas são os que realizam as intensas ligações de hidrogênio) e diminui também o empacotamento (pois os grupos metilas são mais volumosos do que os grupamentos hidroxilas). A metilcelulose possui propriedades físico-químicas diferenciadas da celulose devido às metilas. A solubilidade em água é uma das diferenças geradas por esses grupos, visto que a metilcelulose se dissolve em água devido ao seu menor empacotamento. (AOUADA *et al.*, 2009).

A metilcelulose é um polímero polihidroxilado que pode ser transformado em gel por meio de reticulações químicas na quais se utilizam di-aldeídos na presença de um ácido forte. Polissacarídeos provenientes da celulose estão sendo visados para a produção de hidrogéis, mas para isso são feitas modificações químicas adequadas. (ALVES, 2011).

A carboximetilcelulose (CMC) é um polímero com elevada capacidade de intumescimento, biocompatibilidade e transparência. (COSTA *et al.*, 2012). É sintetizada via reação de Williamson e possui um baixo custo. Ela apresenta habilidade para formar hidrogéis que preenchem feridas profundas. É sendo muito usada, juntamente com o elemento sódio, para formar compostos de NaCMC destinados à área da saúde, como, por exemplo, curativos. O sal de sódio, composto no qual a CMC é isolada e comercializada, apresenta alguns pontos positivos, tais como: pode ser sintetizado à pressão atmosférica, o que não é o caso da maioria dos éteres de celulose; os grupos carboxilatos proporcionam solubilidade em água quando o grau médio de substituição (\overline{GS}) é superior a 0,5 e a CMC pode ser obtida a partir da cana-de-açúcar, que é uma biomassa barata e farta. (FUJIMOTO *et al.*, 2002).

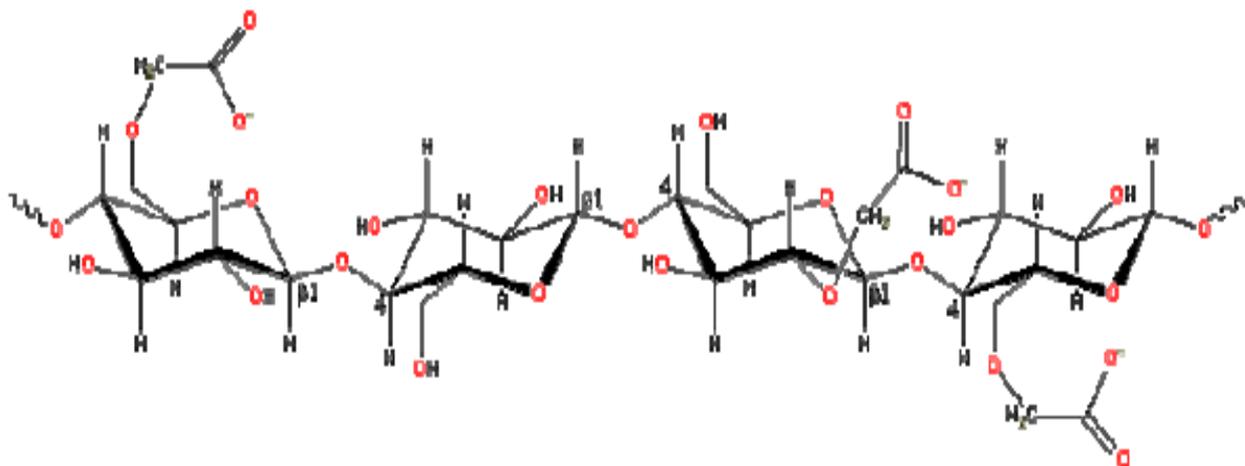
A CMC é um agente espessante de importância econômica que possui variadas aplicações. Ela é obtida industrialmente por meio da reação em suspensão da celulose, hidróxido de sódio e ácido monocloroacético (a reação em suspensão é conhecida como slurry process). É mais utilizada na forma sódica (NaCMC), a qual, quando dissolvida em água, possui características de polieletrólitos. Tanto as propriedades, quanto a aplicação para qual os compostos se destinam dependem da viscosidade da solução, do grau médio de substituição (\overline{GS}) e da distribuição dos grupos carboximetila, sendo esta distribuição a responsável por influenciar grandiosamente o comportamento reológico de suas soluções e a abrangência de suas aplicações. O grau de substituição (\overline{GS}) representa o número médio de grupos hidroxila substituídos por unidade D-glicopiranosil da cadeia polimérica. Os produtos de maior relevância industrial possuem \overline{GS} entre 0,5 e 1,5, o que representa uma faixa estreita. É a acessibilidade dos reagentes às regiões reativas da celulose que determina a distribuição de substituintes nesta macromolécula. Há uma dificuldade de controlar a maneira como essa distribuição ocorre, visto que ela é realizada por reação heterogênea. (CARASHI *et al.*, 1999).

A solubilidade da CMC em água quente e até mesmo em água fria é devido aos substituintes com grupamentos ($-\text{CH}_2\text{-COOH}$), que geram um afastamento das cadeias poliméricas, possibilitando uma maior penetração da água. (ROHR, 2007).

Reações de derivatização (introdução de grupos funcionais nas cadeias) podem modificar a estrutura rígida da celulose. A CMC é o derivado por tipo éter solúvel em água. Ela é preparada em duas etapas: na primeira a celulose reage com soda cáustica, formando o álcali de celulose e na segunda etapa, este produto reage com ácido

monocloroacético. (BRAGANÇA, 2008). As condições das reações são controladas. A figura 14 ilustra a estrutura da CMC:

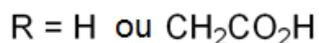
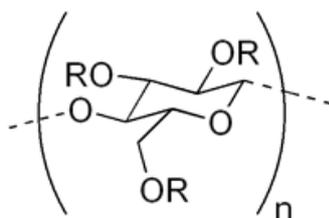
Figura 14- molécula de carboximetilcelulose.



FONTE: ROHR, 2007

O monômero da CMC está evidenciado na figura 15:

Figura 15- representação do monômero de CMC.



FONTE: GOLTZ, 2014

A síntese de CMC por carboximetilação de celulose via reação heterogênea, gera compostos nos quais a distribuição de substituintes ocorre em blocos. Neste caso, os grupamentos carboximetila são geralmente encontrados nas posições 2 e 6 dos resíduos de glicopiranosose. A carboximetilação em meio homogêneo gera distribuições mais uniformes dos substituintes, processo realizado via reação heterogênea à medida que \overline{GS} aumenta. Quando a distribuição é perfeitamente regular, a cadeia celulósica foi totalmente substituída e, neste

caso, \overline{GS} é igual a 3. A forma como os substituintes são posicionados ao longo das cadeias poliméricas podem influenciar as caracterizações de carboximetilcelulose assim como suas propriedades de equilíbrio (CARASHI *et al.*, 1999).

Existem variadas aplicações para a CMC. Em alguns alimentos é utilizada como ligante inerte e espessante como no caso de queijos, geleias e produtos extrusados. Em gelados comestíveis, é usada para retardar a formação de cristais, deixando a estrutura macia. Em açucarados, ela reduz a cristalização indesejada da sacarose e impede a retrogradação do amido. Ela também melhora características de reidratação e a estabilidade de muitos produtos desidratados. (GOLTZ, 2014). A tabela 5 contém informações relativas às aplicações e características da CMC.

Tabela 5- informações sobre a carboximetilcelulose.

Preparação	<ul style="list-style-type: none"> • Modificação Química. Celulose, ácido monocloro-acético, hidróxido de sódio, água, 20-100°C
Propriedades	<ul style="list-style-type: none"> • Peso Molecular: -; d: 1,59 • Cristalinidade: amorfo; Tg: -; Tm: 250°C dec • Material termorrígido físico. Solubilidade em água. Atacável por microorganismos.
Aplicações	<ul style="list-style-type: none"> • Em cosméticos: espessante em loções, xampus, etc. • Em alimentos: espessante em preparações dietéticas. • Em tintas: espessante em emulsões aquosas.
Nomes comerciais	<ul style="list-style-type: none"> • Tylose.
Observações	<ul style="list-style-type: none"> • A solubilidade de CMC depende do grau de substituição. A substituição das hidroxilas pelas carbometoxilas reduz as ligações hidrogênicas, libera as macromoléculas e aumenta a solubilização em água. • CMC industrial tem DS entre 0,4-0,8.

FONTE: (ROHR, 2007).

A carboximetilcelulose possui, além das aplicações citadas, utilidade na área de biomateriais. Ela é usada, por exemplo, para o tratamento de feridas na pele a partir de hidrogéis compostos de água (77,7%), propilenoglicol (20%) e carboximetilcelulose (2,3%). Este gel mantém o ambiente úmido, promove desbridamento autolítico e estimula a cicatrização. A carboximetilcelulose também é utilizada para a produção da camada interna de hidrocolóides extrafinos que tratam de feridas da pele que estejam abertas, não infectadas e pouco exsudativas. Esses hidrocolóides protegem terminações nervosas,

matém o ph ácido, absorvem exsudatos, conservam o meio úmido, estimulam o desbridamento autolítico e a angiogênese. (SANTOS, 2012).

No caso da aplicação de hidrogéis para liberação de fármacos, estes podem ser incorporados aos polímeros de duas maneiras. Na primeira maneira coloca-se o fármaco simultaneamente com os monômeros, o reticulador e o iniciador durante a síntese do polímero, ocasionando a reticulação de todos durante este procedimento. Na segunda maneira, o hidrogel e o fármaco (em solução) são dispostos em um recipiente até o momento em que o equilíbrio seja alcançado. Posteriormente, o composto é retirado do recipiente para secar. (ALVES, 2011).

Os hidrogéis funcionam de acordo com o sistema de liberação controlada de drogas (SLC ou Drug Delivery System), no qual eles liberam os fármacos de forma comedida no organismo humano.

Um dos tipos de SLC que está sendo bastante utilizado atualmente se constitui de uma matriz que sofre biodegradação completa no período de liberação do ingrediente ativo, para que não seja necessário realizar um procedimento de retirada do dispositivo inserido. (ORÉFICE *et al.*, 2012).

Este método de liberar drogas pode ser comparado com os métodos tradicionais, que são o método oral e a intravenosa. Liberação de princípios ativos por tabletes e injeções fazem os níveis da dose aplicada aumentar além do necessário no plasma e depois diminuir rapidamente à medida que a droga é metabolizada. Dessa forma, os níveis caem para abaixo do terapêutico. Há ainda o fato de a droga, frequentemente, apenas permeiar através do organismo, não atingindo o alvo exato no qual ela é necessária. (ORÉFICE *et al.*, 2012).

No caso de polímeros com potencial aplicação no sistema de liberação controlada de drogas, os mais promissores são aqueles em que o princípio ativo está contido em uma membrana polimérica ou encapsulado em uma matriz polimérica, na qual a droga difunde para os tecidos após ser inserida no corpo humano. Há casos em que a molécula ativa possui elevada massa molar (considerável tamanho da cadeia). Nestes casos, a erosão (ou dissolução da matriz polimérica) auxilia no mecanismo de liberação. Alguns polímeros degradáveis, são utilizados para o preparo desses sistemas, como o poli(ácido láctico) e o poli(orto éster). Alguns polímeros solúveis são usados como portadores de drogas-alvo. Nestes, as drogas são ligadas na forma de grupos laterais. (ORÉFICE *et al.*, 2012).

Uma relevante serventia da CMC é destinada à produção de hidrogéis para tratamento de regiões osteocondrais. Isso ocorre devido às excelentes características desse

composto, que tem a capacidade de imitar a matriz extracelular da cartilagem articular, além de apresentar biocompatibilidade, controle de biodegradação e interação celular intrínseca. Os derivados da celulose que passaram por modificações químicas até alcançarem a forma de hidrogéis, possuem um comportamento físico-químico semelhante ao do ácido hialurônico, porém, sem sofrer rápida degradação. Estes polímeros têm sido utilizados para preencher defeitos condrais, além de reparar as danificações da cartilagem. (FREITAS, 2012).

A reparação tecidual por meio de hidrogel de CMC possibilita um tratamento minimamente invasivo e que permite diminuir o tempo de operação, riscos cirúrgicos, além de propiciar um retorno mais rápido às atividades cotidianas. Os hidrogéis altamente moldáveis que tem a capacidade de absorver grande quantidade de água livre e combinada representam um tipo de biomaterial de grande eficácia para o encapsulamento de células, desenvolvimento celular e de fácil incorporação de fatores bioativos. É possível produzir hidrogéis de carboximetilcelulose com um reforço cerâmico de BCP (fosfato de cálcio bifásico). Este último possui duas fases cristalinas, uma é constituída por hidroxiapatita e a outra pelo beta fosfato tricálcio. O BCP representa, dessa forma, um composto biocerâmico HA/ β -TCP. Foi realizado um experimento por (FREITAS, 2012), no qual ele utilizou um instrumento constituído por um êmbolo oco (que se apoia em uma seringa com agulhas de diâmetros variados) e um mancal, ambos devidamente nivelados na vertical através de um suporte. O objetivo era analisar a injetabilidade de diferentes amostras de CMC com BCP. Ele utilizou diferentes amostras, cada qual com uma porcentagem de CMC e BCP. Foram feitos três ensaios e os valores de médias foram calculados. Todos os dados foram analisados estatisticamente por um software SPSS, sendo os resultados expressos como média e desvio padrão. Ao final de seu trabalho, ele concluiu que o compósito de CMC com BCP apresenta boa injetabilidade, com possibilidade de uso para aplicações injetáveis que visam o tratamento de lesões condrais e ostecondrais. (FREITAS, 2012).

3.8 Fosfato de cálcio bifásico

As biocerâmicas de fosfato de cálcio são aquelas que mais se assemelham à composição do osso humano. Elas podem ser classificadas em densas ou porosas referindo-se a micro ou macro-porosidade. Em consequência dos processos de sinterização, os materiais densos são micro-porosos, enquanto que os materiais porosos possuem macro-poros também resultantes

de processos químicos sofridos. Estudo com cerâmicas densas demonstraram que ocorreu uma taxa de cicatrização comparada com o grupo de controle, enquanto que materiais porosos apontaram uma taxa de formação óssea mais baixa. A porosidade deve ser controlada, pois uma elevada porosidade diminui a resistência mecânica do material, mas uma porosidade adequada permite o crescimento tecidual, permitindo um entrelaçamento do implante com o tecido, aumentando a resistência do material *in vivo*. (MARTINS, 2010).

As biocerâmicas são consideradas apropriadas para reconstrução de tecidos ósseos, pois apresentam biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade, ou seja, ao serem implantadas, não induzem resposta imunológica, além de serem capazes de ligar-se diretamente ao tecido ósseo e permitirem crescimento ósseo ao longo de sua superfície. Dentre as biocerâmicas sintéticas encontram-se hidroxiapatita (HA), fosfato tricálcico (TCP), e as cerâmicas bifásicas (HA + TCP) as quais diferem entre si e do osso em composição química e propriedades físicas. (MARTINS, 2010).

A hidroxiapatita fornece estabilidade estrutural ao corpo, protegendo órgãos vitais e funcionando como um depósito regulador de íons. Ela é utilizada na correção de defeitos ósseos tanto no homem como em outras espécies animais, o que a torna indicada para a enxertia óssea na rotina clínica. A HA não é tóxica, alergênica ou carcinogênica, possui composição uniforme, alta compatibilidade e microestrutura (tamanho de poros) controlável. De acordo com (MARTINS,2010), “ a superfície porosa fornece um substrato adicional à proliferação do tecido ósseo, permitindo a junção, proliferação, migração e expressão fenotípica de células ósseas, o que resulta em formação de neotecido ósseo em aposição direta ao biomaterial. No entanto, alguns autores apontam para o fato da HA apresentar lenta reabsorção, sendo a reabsorção um fato desejável para uma boa resposta do biomaterial, já que o processo de degradação é concomitante com a reposição do tecido ósseo em formação. (MARTINS, 2010).

O fosfato tricálcico (TCP) pode ocorrer em duas formas: a monocíclica (α - TCP) ou romboédrica (β - TCP). O TCP pode ser encontrado nas formas granular, macroporosa e em gel, sendo a primeira a mais eficiente, pois os espaços entre os grânulos aumentam a porosidade da matriz, e, conseqüentemente, aumentam a sua superfície de contato. O TCP é reabsorvível, possuindo uma elevada velocidade de degradação. Esta alta taxa de reabsorção pode ocasionar em geração de osso imaturo. Dessa maneira, percebe-se que HA e TCP

apresentam comportamento diferenciado em meio fisiológico, pois, enquanto que a HA possui lenta reabsorção, o TCP apresenta reabsorção muito rápida. (MARTINS, 2010).

As cerâmicas HA/ β - TCP contendo entre 60% e 70% em massa de HA, disponíveis comercialmente, têm sido utilizadas com sucesso em aplicações *in vivo*, formando apatita biológica nos poros formados durante a dissolução preferencial do β - TCP. Quimicamente, HA/ TCP é um sal de fosfato de cálcio bifásico com organização cristalina complexa, utilizado normalmente na proporção 2/3 de HA para 1/3 de β - TCP, com porosidade de 40% a 60%, o que favorece a qualidade e velocidade da osteointegração e da reabsorção ao mesmo tempo em que mantém uma resistência à compressão. (MARTINS, 2010).

3.9 Técnicas de Caracterização de Materiais

3.9.1 Difração de raio X

A técnica de difração de raios X é a mais indicada na determinação das fases cristalinas presentes em materiais cerâmicos. Isto é possível porque na maior parte dos sólidos (cristais), os átomos se ordenam em planos cristalinos separados entre si por distâncias da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X. Ao incidir um feixe de raios X em um cristal, o mesmo interage com os átomos presentes, originando o fenômeno de difração. A difração de raios X ocorre segundo a Lei de Bragg, a qual estabelece a relação entre o ângulo de difração e a distância entre os planos que a originaram (característicos para cada fase cristalina). (ALBERS *et al.*, 2002). A lei de Bragg é definida por:

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

onde:

n: número inteiro

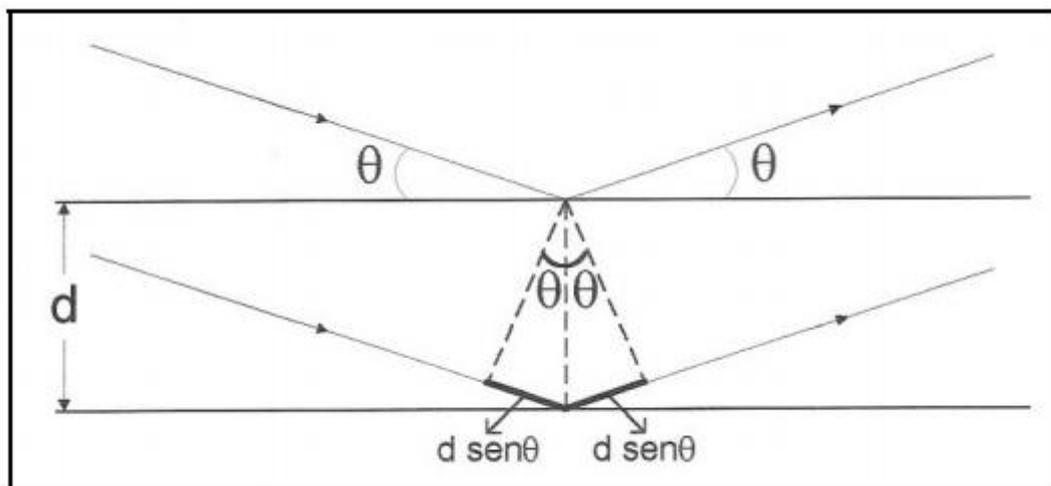
λ : comprimento de onda dos raios X incidentes

d: distância interplanar

θ : ângulo de difração

A figura 16 representa a lei de Bragg:

Figura 16- representação da lei de Bragg.



FONTE: AMORIM, 2007

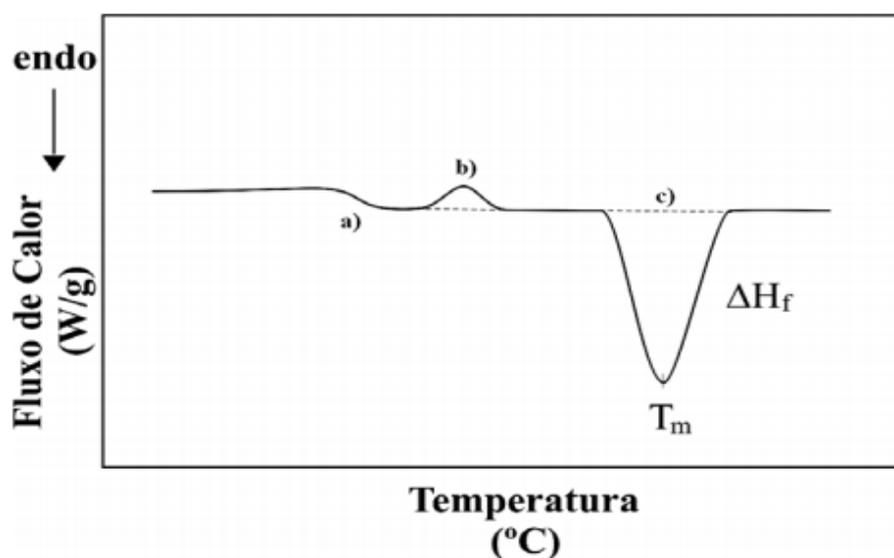
A difração de raios-X possibilita a identificação dos minerais presentes e também permite estudar as características cristalográficas destes minerais. O espalhamento de raios X pelos elétrons tem como consequência a difração desses raios. Quando um feixe de raios X monocromático incide em um cristal sob diferentes ângulos, provocando espalhamento, um detector de raios X pode medir o feixe difratado, gerando um gráfico denominado difratograma. Este gráfico relaciona a intensidade de radiação medida pelo detector com o ângulo de espalhamento 2θ , que é o ângulo entre o feixe incidente e o feixe espalhado. O perfil de difração de uma mistura é a soma dos perfis de difração de seus constituintes. O difratograma é considerado como a assinatura de cada cristal, pois é único para um deles. A difratometria é uma técnica rápida e não destrutiva. Cada padrão de difração de pó é caracterizado por um conjunto de distâncias interplanares (d) e suas correspondentes intensidades relativas. As substâncias são caracterizadas pelas suas três linhas mais intensas, pois mais de uma substância pode ter o mesmo valor de (d) para a primeira e a segunda linha mais intensa. As ondas espalhadas devem interagir entre si construtivamente, gerando uma interferência construtiva, que ocorre quando as ondas estão em fase. A diferença no caminho percorrido pelas ondas dentro de um cristal ($2d\sin\theta$) deve ser um múltiplo inteiro de comprimentos de onda, a qual corresponde à uma condição que é atendida quando um conjunto de planos desse cristal satisfaz a lei de Bragg. (AMORIM, 2007).

Foi realizado no laboratório de caracterização de materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais o ensaio de difração de raio X das amostras de BCP, CMC e da mistura de BCP com CMC e água. O ângulo de varredura foi entre 10° e 80°.

3.9.2 Calorimetria exploratória diferencial

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) corresponde a uma técnica de caracterização de materiais na qual são medidas diferenças de fluxo de calor em uma amostra e em um material de referência, enquanto ambos são submetidos a um aquecimento ou resfriamento controlado. No equipamento que opera por fluxo de calor, registra-se a diferença em fluxo de calor entre a amostra e a referência, enquanto a temperatura da amostra é aumentada ou diminuída linearmente. A energia dirigida aos aquecedores é ajustada continuamente em resposta aos efeitos térmicos da amostra, mantendo assim amostra e referência à mesma temperatura. Assim, a área do pico fornece a medida exata da energia elétrica necessária para manter ambas à mesma temperatura, independentemente das constantes térmicas do instrumento ou mudanças no comportamento térmico da amostra. Esta técnica tem como principais aplicações: indicar a temperatura de transição vítrea (T_g), de fusão cristalina (T_m) e cristalização (T_c) dos polímeros; medir entalpia de fusão (ΔH_f), assim como grau de cristalinidade (%C), calor específico, cinética de cristalização, cura, transições de fase, etc. (CANEVAROLO, 2006). Um gráfico típico gerado por esta técnica está representado na figura 17:

Figura 17- representação de um gráfico gerado pela técnica DSC. A letra A corresponde à T_g , a letra B representa a T_c e a letra C corresponde à T_m do material.



A letra a da figura 17 representa a transição vítrea (T_g), a letra b representa um pico exotérmico de cristalização (T_c), a letra c corresponde ao pico endotérmico de fusão (T_m), no qual pode-se obter a entalpia de fusão.

3.9.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os microscópios são utilizados quando se deseja visualizar o que é considerado muito pequeno para o olho humano. Os microscópios ópticos possuem um aumento máximo de 2000 vezes, pois acima deste valor, detalhes menores são imperceptíveis. Um microscópio eletrônico de varredura (MEV) utiliza um feixe de elétrons no lugar de fótons utilizados em um microscópio óptico, o que permite solucionar o problema de resolução relacionado com a fonte de luz branca. O MEV é um aparelho que pode fornecer rapidamente informações sobre a morfologia de uma amostra sólida. Ele fornece uma alta resolução para a observação de amostras; valores da ordem de 2 a 5 nanômetros são geralmente utilizados. Além disso, as amostras apresentam aparência tridimensional, devido à alta profundidade de campo. Por fim, permite, também, o exame em pequenos aumentos e com grande profundidade de foco, o que é extremamente útil, pois a imagem eletrônica complementa a informação dada pela imagem óptica. (PEREIRA, 2012).

Utiliza-se um feixe de elétrons de pequeno diâmetro que explora a superfície da amostra, ponto a ponto e transmite o sinal do detector a uma tela catódica cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente. O feixe pode ser guiado, varrendo a superfície segundo uma malha retangular. É a interação do feixe incidente com a superfície da amostra que resulta no sinal de imagem. O sinal recolhido pelo detector é utilizado para modular o brilho do monitor, permitindo a observação. A maioria dos equipamentos utiliza um filamento de tungstênio aquecido como fonte de elétrons. A alta tensão gerada entre o filamento e o ânodo acelera o feixe, que interage com a amostra, produzindo elétrons e fótons que podem ser coletadas por detectores e convertidas em um sinal de vídeo. Quando o feixe primário incide na amostra, parte dos elétrons difunde-se e constitui um volume de interação cuja forma depende principalmente da tensão de aceleração e do número atômico da amostra. Os elétrons e as ondas eletromagnéticas produzidos neste volume são utilizados para formar as imagens ou para efetuar análises físico-químicas. As partículas e os raios eletromagnéticos derivados da interação do feixe com a amostra voltam à superfície e atingem o detector. A energia com que estas partículas ou raios atingem o detector está relacionada com a profundidade máxima de detecção. Como exemplo pode-se citar os elétrons retroespalhados,

que possuem maior energia do que os elétrons secundários, fazendo com que o detector de elétrons retroespalhados opere na faixa de energia maior e o de elétrons secundários na faixa menor. Visto que a imagem é consequência da amplificação de um sinal obtido da interação entre um feixe de elétrons e o material, ela pode apresentar diferentes características. Diferentes sinais podem ser emitidos pela amostra. Os elétrons secundários e/ou os elétrons retroespalhados são os mais utilizados para gerar sinais para obtenção de imagens. (DEDAVID, 2007). É utilizada uma camada de ouro para metalizar a amostra.

3.9.4 Distribuição granulométrica

Para medir a granulometria dos materiais, o método da difração utiliza um feixe de laser que interage com partículas dispersas da amostra. Há uma variação angular na intensidade da luz quando ocorre esta interação. Partículas grandes dispersam a luz em ângulos pequenos e partículas pequenas dispersam a luz em ângulos grandes. A mistura é enviada até um recipiente por onde os feixes de laser atravessam e colidem com as partículas. A luz interage com os elétrons presos no material que re-irradia espalhando a luz (ocorre os fenômenos de dispersão em termos de difração, reflexão, refração e absorção). No plano posterior há lentes com as placas de detecção acopladas a um processador de sinal que emite as informações para um computador.

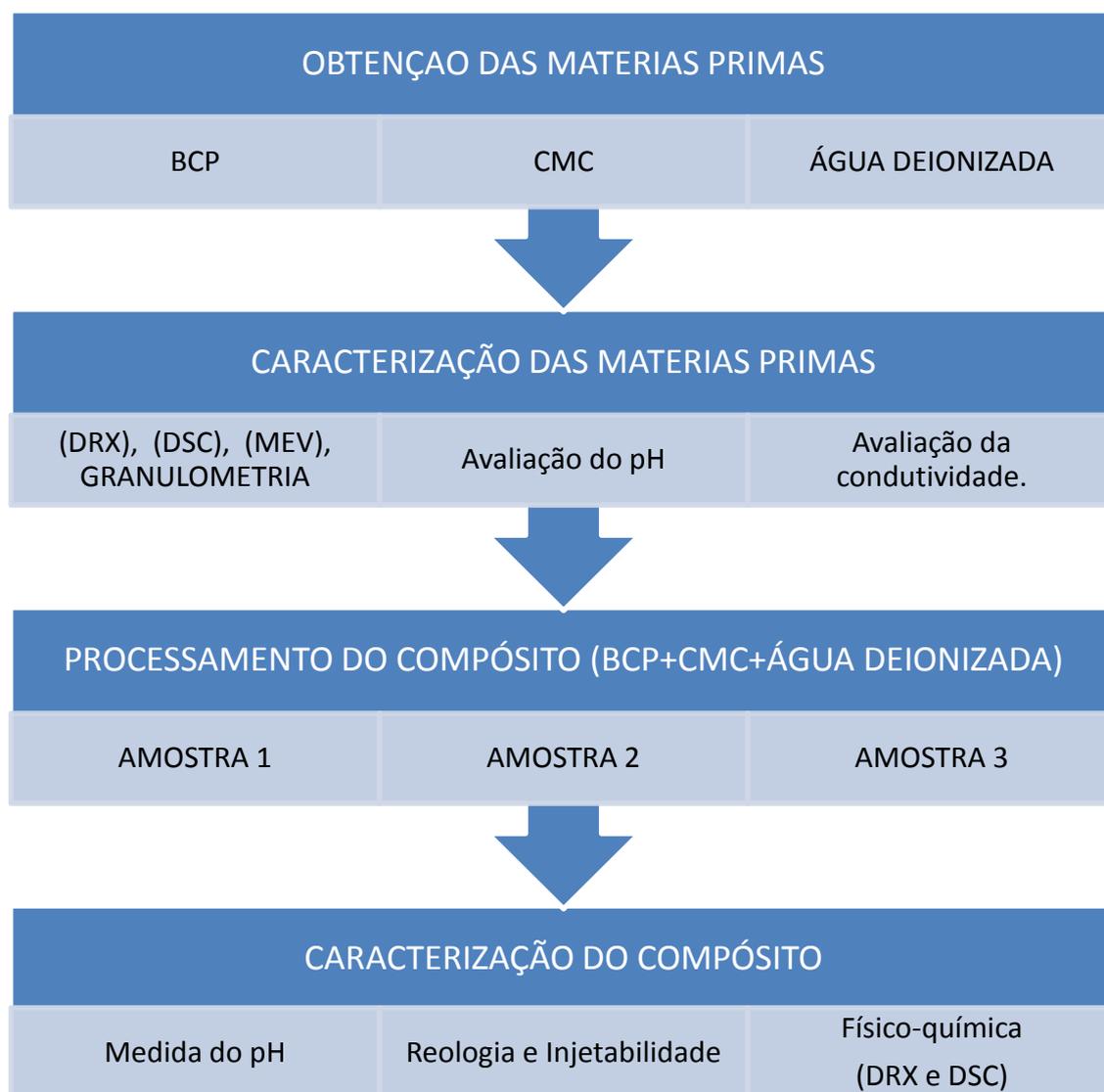
De acordo com (PARINI, 2003), “o conceito fundamental desta técnica é a teoria de espalhamento Mi , que apresenta uma solução matemática para o espalhamento de luz incidente sobre partículas esféricas e pode ser aplicada para partículas com diferentes formatos e razões de aspecto. Nos casos em que as partículas são opacas e maiores que o comprimento de onda da luz, pode ser usada a aproximação de Fraunhofer (também chamada de teoria de difração de Fraunhofer). O tamanho de partícula altera a intensidade e o ângulo do feixe de luz espalhado. Com a utilização de luz monocromática (coerente), ou seja, laser, o ângulo de espalhamento é inversamente proporcional ao diâmetro da partícula (assume-se a forma esférica). O menor tamanho de partícula passível de detecção deve ser pelo menos duas vezes o comprimento de onda do laser. A limitação do tamanho máximo surge do fato de que o ângulo do feixe difratado se torna muito próximo daquele de um feixe não espalhado.”

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Procedimentos Experimentais

Uma matriz de experimentos foi elaborada e apresentada no fluxograma da figura 18. A pesquisa foi dividida nas etapas de obtenção e caracterização das matérias primas, processamento e caracterização dos compósitos.

Figura 18- fluxograma relativo às etapas realizadas no trabalho



FONTE: AUTORA, 2015

4.2 Materiais

Os insumos utilizados neste estudo para processamento dos compósitos foram os seguintes:

4.2.1 Fosfato de Cálcio de Bifásico (BCP)

O BCP (Fosfato de Cálcio Bifásico) na forma de partículas (coloides, pós e grânulos) foi sintetizado pelo Grupo de Pesquisa do DEMAT é constituído de duas fases cristalinas: a hidroxiapatita (HA) e o beta fosfato tricálcico (β -TCP), ou seja, um composto biocerâmico de HA/ β -TCP.

4.2.2 Carboximetilcelulose (CMC)

Além das partículas de BCP utilizadas como reforço cerâmico do compósito injetável, o carboximetilcelulose (CMC) empregado para formulação dos compósitos foi adquirido da empresa Denver-Cotia Ind. e Com. Ltda. Este CMC é fornecido na forma de pó, com certificado de pureza de 99,84%, grau de substituição 0,8; teor de umidade de 6,1 (*in natura*), pH 7,0 e viscosidade de 430 cP. Estas características são também garantidas pelo certificado emitido segundo procedimentos da norma ASTM D 1439 e método de Brookfield.

4.2.3 Água Deionizada

A água deionizada foi fornecida pela Empresa INSIDE com pH a 25°C de $(6,0 \pm 0,5)$ e condutividade de $(1,3 \pm 0,1)$ μ S.

Relação de dispositivo e equipamentos:

- Dispositivo para analisar a injetabilidade do hidrogel;
- Balança digital da marca Bel com precisão de 0,01g;
- Béquer;
- Espátula de plástico
- Seringa G22 da marca BD SoloMed

4.3 Métodos

Caracterizou-se as amostras de CMC, BCP e da Mistura (BCP, CMC e água) com os ensaios de difração de raios X (DRX) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Para as amostras de CMC e BCP realizou-se microscopia eletrônica de varredura (MEV) também.

Somente para a amostra de BCP, plotou-se o gráfico de distribuição granulométrica. Posteriormente, analisou-se a injetabilidade do hidrogel com um dispositivo de injetabilidade.

A proporção das substâncias se baseou em experimentos anteriores de acordo com as exigências dos dispositivos de injetabilidade (FREITAS, 2012 apud SUNDARAM, 2010) e no mimetismo com a constituição estrutural da cartilagem articular que possui entre 65% e 80 % de água. (FREITAS, 2012 apud BHOSALE, 2008 JACKSON, 2009).

4.3.1 Processamento do Compósito

As partículas de fosfato de cálcio bifásico (BCP) e o carboximetilcelulose (CMC) foram pesados em balança eletrônica com precisão de 0,01g. As partículas e o CMC após a pesagem foram misturados até completa homogeneização dos pós. Os insumos foram então adicionados em um béquer (50 mL) e lentamente adicionou-se 17 mL de água deionizada. Em seguida, sob agitação manual com espátula de plástico, a mistura foi completamente homogeneizada.

4.4 Caracterização Físico-química dos Insumos (BCP, CMC e H₂O deionizada)

Os insumos citados no Item 4.2 passaram por controle de qualidade e/ou cuidados no processamento buscando atender as condições mínimas de Boas Práticas de Fabricação estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

A caracterização dos materiais utilizados no processamento dos compósitos foi conduzida com o objetivo levantar propriedades físico-químicas destes insumos e do composto injetável. Foram utilizadas as seguintes técnicas de caracterização:

4.4.1 Difração de Raio-X (DRX)

As análises dos difratogramas de raios-x foram realizadas no Laboratório de Caracterização do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG) com o objetivo de investigar as fases cristalinas do BCP (HA e β -TCP) e o pico característico da CMC. O equipamento utilizado foi o difratômetro marca Shimadzu modelo XRD 7000, com tubo de cobre, corrente de excitação de 30 mA e tensão 20 KV, com velocidade de varredura do goniômetro de 0,5° por minuto, e com ângulo (2 teta) entre 10 a 80 graus.

4.4.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial foi realizada no Laboratório de Caracterização do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), em uma

máquina do tipo DSC-60 da marca Shimadzu. Aqueceu-se os materiais a uma taxa de 5°/min até que a temperatura de 300°C fosse atingida.

4.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Com o intuito de se observar a morfologia (forma e tamanho) dos grânulos utilizou-se um microscópio eletrônico de varredura (MEV) da marca Shimadzu modelo Superscan SSX - 550 no Laboratório de Caracterização CEFET-MG.

4.4.4 Granulometria a laser (CILAS)

Com o objetivo de verificar o tamanho médio das partículas e confirmar a eficiência em alcançar maior área possível, foi realizado na amostra de BCP o ensaio de granulometria a laser (CILAS) no equipamento da marca ACIL, modelo 1090, do Laboratório de Caracterização do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG). A figura 19 apresenta o equipamento utilizado no ensaio de granulometria a laser (CILAS).

Figura 19- Equipamento para granulometria a laser (CILAS)



FONTE: LABORATÓRIO CARACTERIZAÇÃO – DEMAT, 2015

4.5 Caracterização do Compósito

4.5.1 Medida do pH do Compósito

O potencial de hidrogênio (pH) do compósito foi realizado da temperatura ambiente (25°C) com um phmetro da marca Hanna, no Laboratório de Biomateriais do DEMAT. O valor encontrado foi de 7,4±0,1.

4.5.2 Avaliação da Injetabilidade

Para avaliação da injetabilidade foi aprimorado um aparato proposto por (ALVES, 2008) constituído de um êmbolo oco (peso morto) para contenção de água (controle da pressão da aplicação) e um mancal, ambos devidamente nivelados na vertical através de um suporte. O êmbolo apoia-se em uma seringa com agulha hipodérmica 22G (30mm de comprimento e 0,7mm de diâmetro). Para se alcançar uma mistura de BCP, CMC e água que formasse um hidrogel com uma adequada viscosidade para ser injetado, algumas misturas com diferentes quantidades de CMC, BCP e água foram utilizadas. As proporções dessas substâncias estão evidenciadas na tabela 6.

Tabela 6- proporção de CMC, BCP e água para a formação do hidrogel.

Amostra	BCP (g)	CMC (g)	Água deionizada(mL)
1 (16,6% BCP e 83,4% CMC)	0,20	1,00	17
2 (25% BCP e 75% CMC)	0,30	0,90	17
3 (33,3% BCP e 66,7% CMC)	0,40	0,80	17

FONTE: AUTORA, 2015

As proporções foram baseadas no estudo de (FREITAS, 2012) no qual ele avaliou a injetabilidade de um hidrogel formado por CMC e BCP, porém este último se apresentava na forma de microesferas. Já o BCP do presente trabalho se encontra na forma de partículas irregulares, o que demanda uma quantidade de água um pouco maior, visto que não há um deslizamento entre as partículas de forma tão eficiente quanto nas microesferas.

Utilizou-se uma seringa G22 de 5mL da marca BD SoloMed. Para cada amostra, mediu-se o peso de uma seringa G22 vazia, cheia e após a injeção. Foram realizadas três medições de cada e calculada a média. Trocava-se a seringa a cada nova medida. Posteriormente, a fórmula abaixo foi usada para o cálculo da porcentagem de injetabilidade:

$$\text{Injetabilidade (\%)} = \frac{(M1-M0)-(M2-M0)}{(M1-M0)} \times 100 \quad \text{equação 1}$$

onde M0 é a massa da seringa vazia, M1 é a massa da seringa cheia e M2 é a massa da seringa após a injeção. A massa residual foi calculada após a aplicação de uma força de 20N

(devido ao peso de uma coluna de água) por um tempo de 5 segundos. A figura 20 apresenta uma visão anterior do dispositivo de injetabilidade produzido desmontado mostrando o suporte, o êmbolo, e a seringa. A figura 21 apresenta o dispositivo de injetabilidade montado com todos os seus componentes.

Figura 20- Dispositivo de injetabilidade desmontado.



FONTE: FREITAS, 2012

Figura 21- Dispositivo de injetabilidade montado.



FONTE: FREITAS, 2012

4.5.3 Calorimetria exploratória diferencial

O ensaio de calorimetria exploratória diferencial foi realizado de maneira semelhante ao feito nos insumos. A técnica ocorreu no Laboratório de Caracterização do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), em uma máquina do tipo DSC-60 da marca Shimadzu. A taxa de aquecimento foi de 5°/min até a temperatura de 300°C.

4.5.4 Difração de raio X

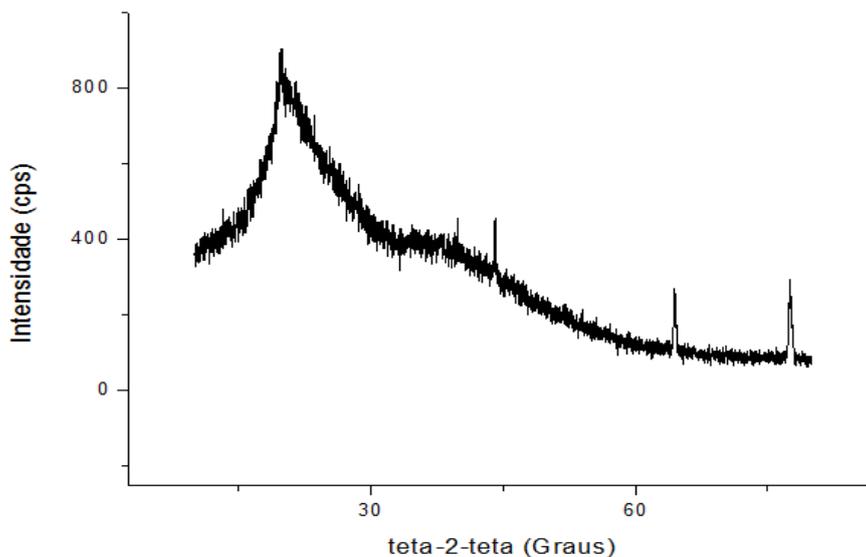
A técnica de difração de raios X foi realizada no compósito com as mesmas condições de ensaio dos insumos. O equipamento utilizado foi o difratômetro marca Shimadzu modelo XRD 7000, com tubo de cobre, corrente de excitação de 30 Ma e tensão 20 KV, com velocidade de varredura do goniômetro de 0,5° por minuto, e com ângulo (2 teta) entre 10 a 80 graus.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Difração da amostra de CMC

A figura 22 corresponde ao difratograma da amostra de CMC, o qual foi plotado de acordo com os dados obtidos pelo software acoplado à máquina de difração de raios-X.

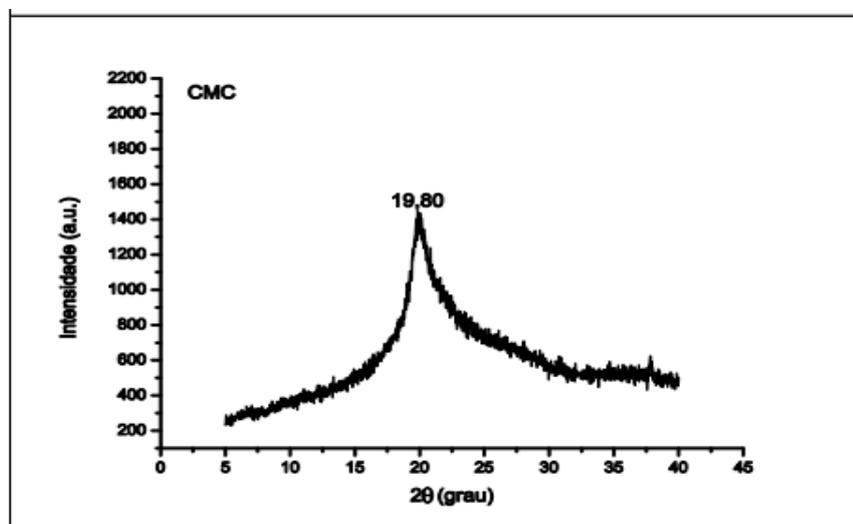
Figura 22- difratograma obtido para o pó de carboximetilcelulose



FONTE: AUTORA, 2015

A figura 23 corresponde ao difratograma de referência ou característico para uma amostra de CMC, obtida da literatura.

Figura 23- difratograma de referência para uma amostra de CMC



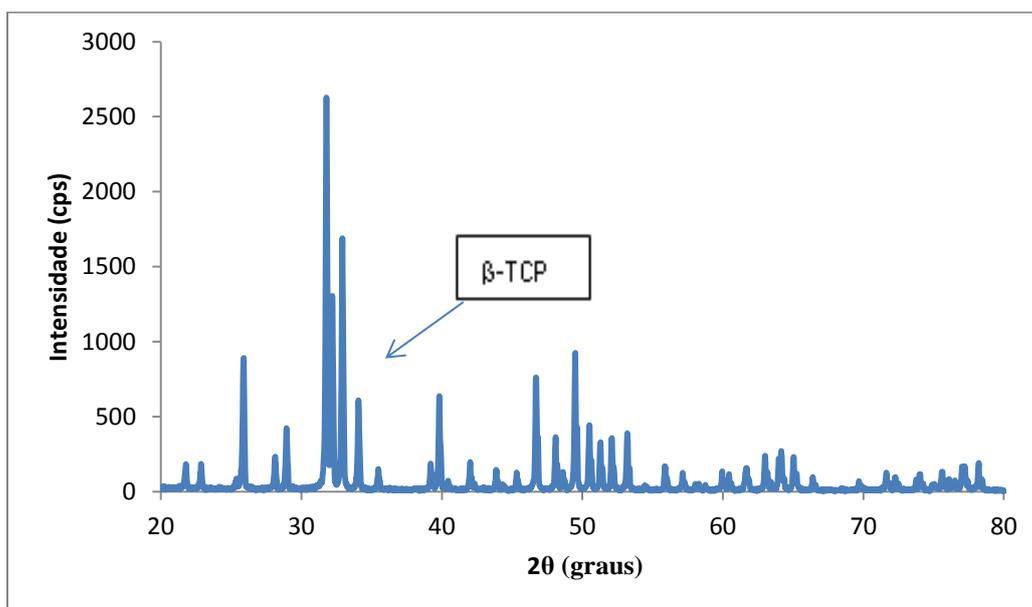
FONTE: SARTOR, 2011

Quanto mais cristais em um plano de uma estrutura, mais intensos, pontiagudos e estreitos serão os picos no difratograma. A parcela amorfa gera picos mais largos e menores. Comparando-se o gráfico obtido no laboratório do CEFET-MG com o gráfico de referência da figura 23, percebe-se que eles apresentam um aspecto semelhante, com um banda expressiva em torno de 2θ igual a $19,6^\circ$. Esta banda é característica de uma amostra amorfa com baixa cristalinidade.

5.2 Difração (DRX) da amostra de BCP

A figura 24 representa o difratograma encontrado para a amostra de BCP, plotado de acordo com os dados obtidos pelo software acoplado à máquina de difração de raios-X.

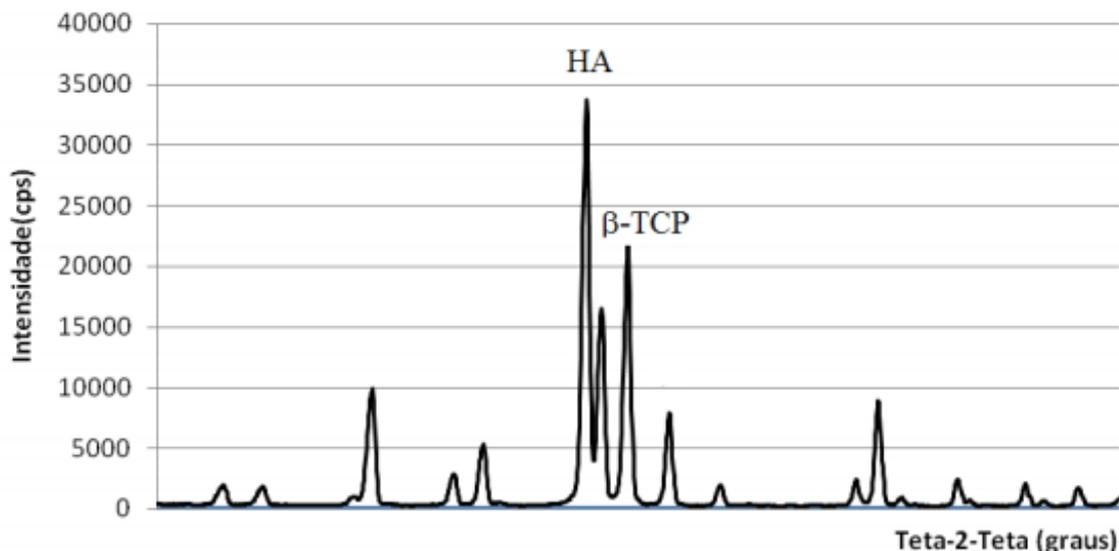
Figura 24- difratograma obtido para o pó de BCP



FONTE: AUTORA, 2015

Para analisar o gráfico encontrado, pode-se fazer uma comparação com um difratograma relativo à microesferas de BCP encontrado na literatura. A figura 25 representa o gráfico de referência:

Figura 25: difratograma de referência relativo à difração de raio X de microesferas de BCP

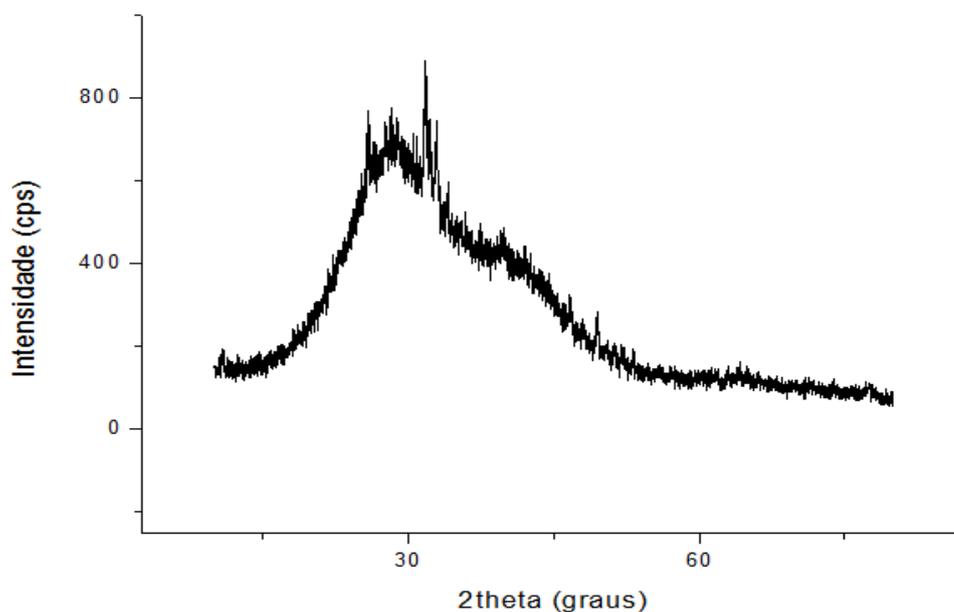


FONTE: SILVA, 2012

Analisando o gráfico gerado, é possível perceber que em torno de 2θ igual a 32° há o indicativo de um pico principal da hidroxiapatita(HA) e em torno de 2θ igual a 34° há o indicativo de um pico de beta fosfato tricálcico (β -TCP). A hidroxiapatita é uma fase majoritária e estável, enquanto que fase cristalina secundária (β -TCP) está presente em menor quantidade e é mais biodegradável. Não foram identificados elementos químicos contaminantes das amostras de BCP, pois o gráfico apresenta aspecto semelhante ao difratograma de microesferas de BCP encontrado na literatura.

5.3 Difração de raios X (DRX) do hidrogel

A figura 26 representa o difratograma encontrado para a amostra do hidrogel, plotado de acordo com os dados obtidos pelo software acoplado à máquina de difração de raios-X.

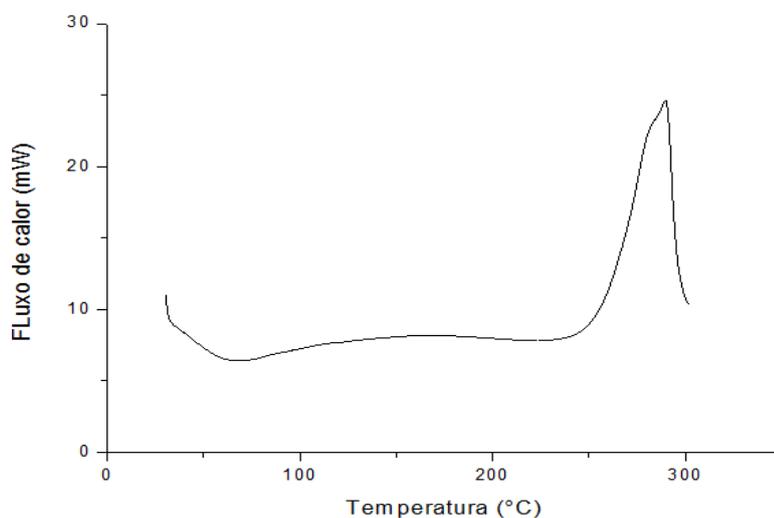
Figura 26- gráfico gerado para a difração do hidrogel

FONTE: AUTORA, 2015

A partir do gráfico do hidrogel, pode-se perceber que há a presença dos picos de hidroxiapatita em 2θ igual a 32° e de β -TCP em 2θ igual a 34° , confirmando a presença do BCP na mistura. Próximo de 25°C há uma banda característica de um material amorfo, assim como na amostra de carboximetilcelulose.

5.4 Calorimetria exploratória diferencial da amostra de CMC

A figura 27 representa o gráfico obtido para a amostra de CMC após o ensaio.

Figura 27- gráfico característico da amostra de CMC para o ensaio DSC.

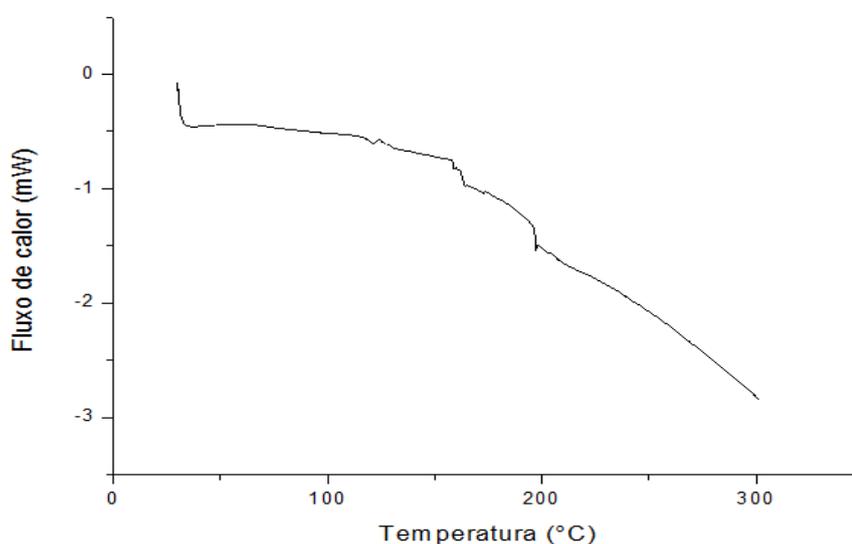
FONTE: AUTORA, 2015

Analisando a curva obtida, percebe-se um leve decaimento da curva em torno de 30°C. Posteriormente, a curva se mantém praticamente constante até em torno de 280°C, onde a CMC apresenta um expressivo pico exotérmico, característico da temperatura de cristalização (T_c). No gráfico acima não foi possível perceber o pico endotérmico correspondente à temperatura de fusão (T_m) da carboximetilcelulose.

5.5 Calorimetria exploratória diferencial da amostra de BCP

A figura 28 representa o gráfico obtido para a amostra de BCP após o ensaio

Figura 28- gráfico característico da amostra de BCP para o ensaio DSC.



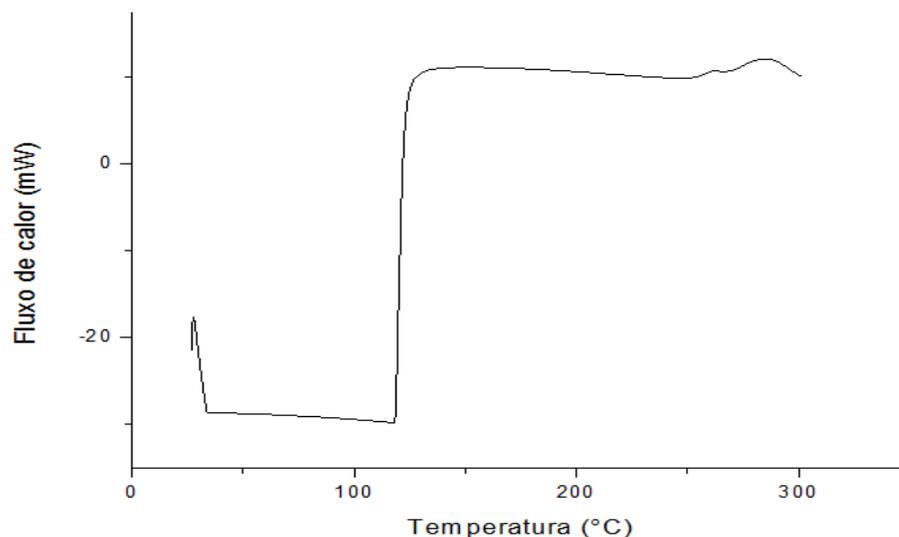
FONTE: AUTORA, 2015

Por se tratar de um mineral, percebe-se que o gráfico gerado para a técnica de DSC não é característico de um polímero, não apresentando o aspecto do gráfico de referência da figura 17. Para materiais poliméricos, há a possibilidade de transição vítrea e fusão a baixas temperaturas. Já para minerais, as temperaturas de fusão geralmente são elevadas. Observando o gráfico, percebe-se que ocorrem apenas reações endotérmicas, desde a temperatura ambiente até 300°C, pois há somente quedas do fluxo de calor nesse intervalo de temperatura.

5.6 Calorimetria exploratória diferencial do hidrogel

A figura 29 representa o gráfico obtido para o hidrogel após o ensaio.

Figura 29- gráfico de DSC para a amostra de hidrogel



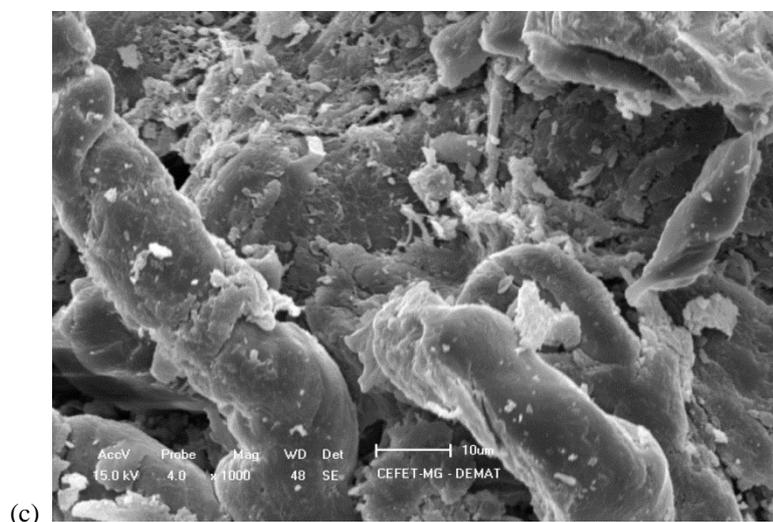
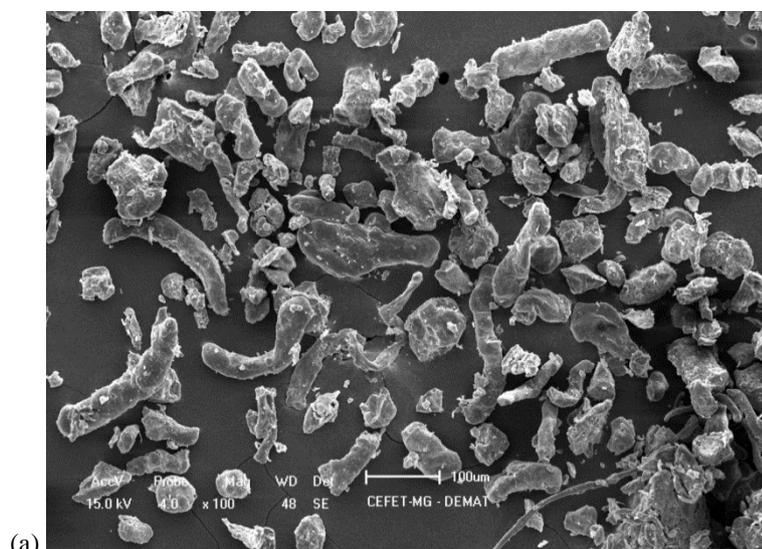
FONTE: AUTORA, 2015

O gráfico apresenta um decaimento da curva próximo a 30°, semelhantemente ao gráfico da carboximetilcelulose. Próximo a 120°C há um brusco aumento do fluxo de calor de reação que se mantém até em torno de 280°C, onde há um pico exotérmico. No gráfico da CMC também há um pico exotérmico perto de 280°C, porém muito mais acentuado do que o pico endotérmico da amostra de hidrogel.

5.7 Microscopia eletrônica de varredura da amostra de CMC

Para analisar a amostra de carboximetilcelulose, realizou-se três ampliações diferentes (100, 500 e 1000 vezes) de uma região selecionada. A figura 30 corresponde a este aumento, onde “a” representa o aumento de 100 vezes, “b” representa o aumento de 500 vezes e “c” corresponde ao aumento de 1000 vezes.

Figura 30- MEV da amostra de carboximetilcelulose: (a) aumento de 100 vezes (b) aumento de 500 vezes e (c) aumento de 1000 vezes.

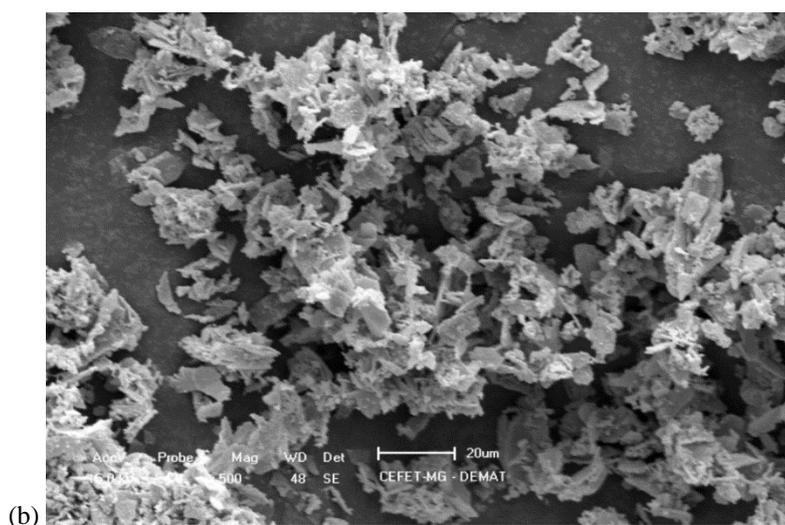
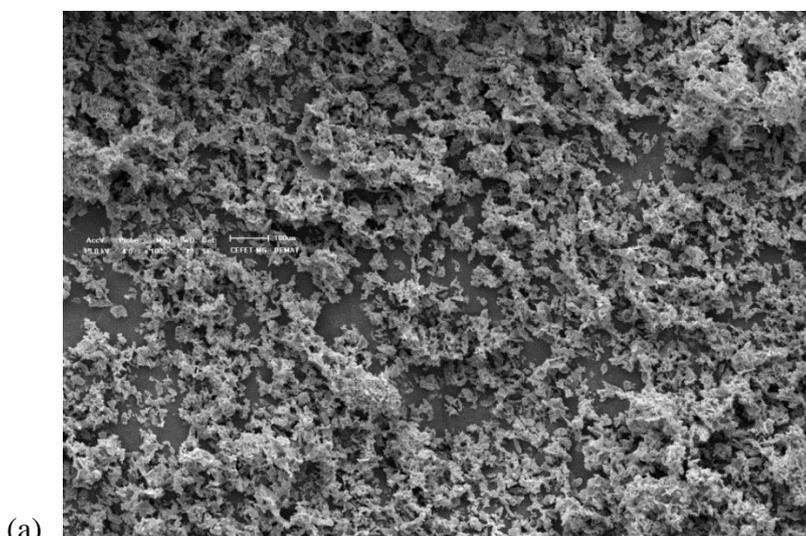


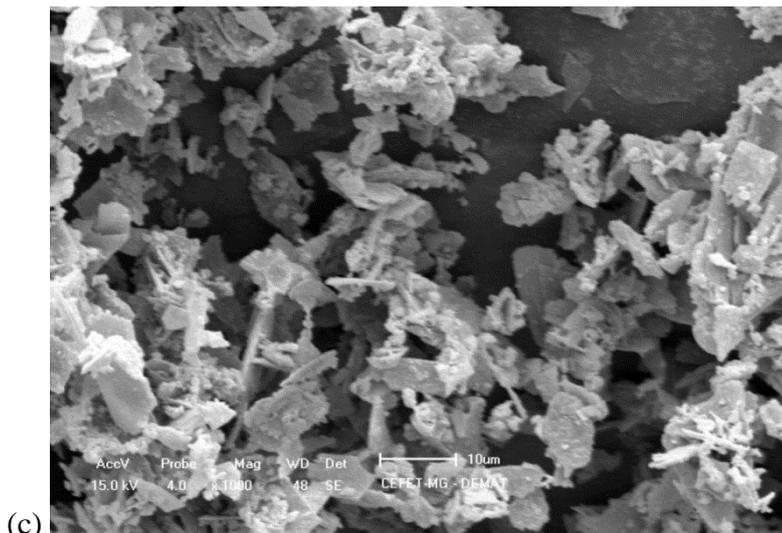
A partir das imagens de microscopia eletrônica de varredura, pode-se observar que a carboximetilcelulose apresenta elevada rugosidade e um aspecto irregular.

5.8 Microscopia eletrônica de varredura da amostra de BCP

Para analisar a amostra de BCP também realizou-se três ampliações diferentes (100, 500 e 1000 vezes). A figura 31 corresponde a este aumento, onde “a” representa o aumento de 100 vezes, “b” representa o aumento de 500 vezes e “c” corresponde ao aumento de 1000 vezes.

Figura 31- MEV da amostra de BCP: (a) aumento de 100 vezes (b) aumento de 500 vezes e (c) aumento de 1000 vezes.





(c)

FONTE: LABORATÓRIO CARACTERIZAÇÃO – DEMAT, 2015

Pode-se observar que o BCP apresenta uma superfície rugosa com micro e macro poros que permitem a penetração de fluidos, células, tecidos e vascularização. Há a presença de partículas menores aderidas em partículas maiores, pois este material possui uma distribuição granulométrica variada.

5.9 Distribuição granulométrica do BCP

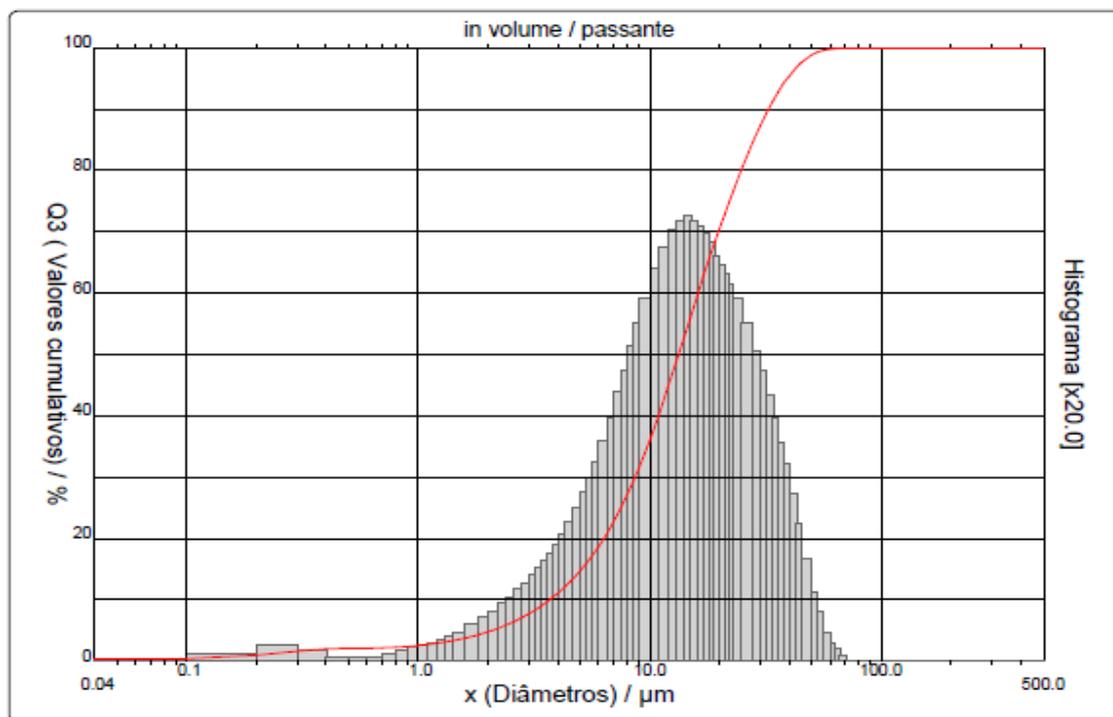
Os dados e o gráfico referente à distribuição granulométrica do fosfato de cálcio bifásico estão evidenciados nas figuras 32 e 33.

Figura 32-valores obtidos no ensaio de distribuição granulométrica do BCP

Ultrassom	: 60	s
Obscuration	: 13 %	
Diâmetro a 10%	: 3.69	µm
Diâmetro a 50%	: 13.34	µm
Diâmetro a 90%	: 32.67	µm
Diâmetro médio	: 16.08	µm
Fraunhofer		
Densidade/Fator	-----	
Superfície específica	-----	
Diluição automática	: Não / Não	
Medida./Limp.	: 60s/60s/4	
SOP name	: Fraunhofer	

FONTE: LABORATÓRIO CARACTERIZAÇÃO – DEMAT, 2015

Figura 33- gráfico gerado para a distribuição granulométrica do BCP.



FONTE: LABORATÓRIO CARACTERIZAÇÃO – DEMAT, 2015

Pode-se observar que o BCP apresenta uma faixa de distribuição granulométrica variada. De acordo com os dados obtidos, percebe-se que 10% das partículas tem tamanho de diâmetro inferior a 3,69 μm , 50% tem tamanho inferior a 13,34 μm e 90% possui valor de diâmetro menor do que 32,67 μm , sendo a média de diâmetro do material igual a 16,08 μm .

Atualmente se considera as características físicas tão ou mais relevantes do que as características químicas do biomaterial para a biocompatibilidade e integração com o tecido. Essas características físicas envolvem o tamanho e forma das partículas, presença de poros, suas dimensões e textura. Diante disso, é de extrema importância que se controle o tamanho das partículas de BCP. Os biomateriais de fosfato de cálcio que apresentam uma geometria tridimensional adequada, são capazes de unir e concentrar proteínas ósseas morfogenéticas na circulação e podem se tornar osteocondutivos. No entanto, não há um consenso sobre o tamanho mais adequado para cada tecido ou condição clínica uma vez que cada biomaterial possui as suas características físicas e químicas e os defeitos ósseos também possuem as suas particularidades dependendo do indivíduo. De acordo com um estudo realizado por (MANKANI *et al.*, 2001), (SANCHES apud MANKANI *et al.*, 2001) pode-se observar que partículas de hidroxiapatita / tricálcio fosfato com 0,1 - 0,25 mm de tamanho resultavam em maior formação óssea. Em outro estudo, (MOREIRA *et al.*, 2003), (SANCHES apud

MOREIRA *et al.*, 2003), observou a influência sobre a integração óssea da hidroxiapatita (HA) em relação ao tamanho dos grânulos do biomaterial, onde as partículas de dimensões em torno de 212 μ m promoveram uma maior velocidade e melhor qualidade do processo de reparo ósseo. (SANCHES, 2010).

Em uma outra análise realizada com implantes instalados em cães após exodontias, avaliou-se a eficácia de um substituto ósseo injetável (IBS), com composição de 60% de HA e 40% de β -TCP, com grânulos de 40 μ m a 80 μ m, em um período de três meses. O IBS promoveu a regeneração óssea ao redor dos implantes, promovendo um aumento significativo em termos de número de roscas em contato com o osso, contato osso/implante e densidade óssea ao redor do implante. (SILVEIRA, 2008).

De acordo com (FREITAS apud DACULSI, 2010), nano e microporosidades representam um fator osteocondutor essencial para ancoragem celular, na qual microporosidades abaixo de 10 μ m facilitam a colonização elevando a biodegradabilidade. (FREITAS, 2012).

Sabendo-se que as células humanas possuem um tamanho médio de 10 μ m, pode-se dizer que o valor médio de diâmetro encontrado para o BCP (16,08 μ m) é adequado para aplicação em regeneração tecidual, pois há uma dificuldade de ocorrer fagocitose das partículas, visto que essas são maiores (em média) do que as células.

5.10 Reologia e injetabilidade do hidrogel

Após a utilização do dispositivo demonstrado nas figuras 20 e 21, foi possível encontrar o valor de massa residual presente nas seringas G22. Como mencionado, esta massa residual foi calculada após a aplicação de uma força de 20N (devido ao peso de uma coluna de água) por um tempo de 5 segundos. A tabela 7 contém os resultados das medições das massas.

Tabela 7- média dos valores de massa encontrados para cada amostra, utilizando-se uma agulha G22 cheia e após a injeção. Foram realizadas três medições para cada situação, para posteriormente calcular a média.

	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3
MÉDIA DAS MASSAS DA SERINGA G22 CHEIA	14, 16g	13,94g	14,37g
MÉDIA DAS MASSAS DA SERINGA G22 APÓS A INJEÇÃO	9, 97g	8,19g	6, 14g

FONTE: AUTORA, 2015

Os valores de desvio padrão estão representados na tabela 8:

Tabela 8- valores de desvio padrão relativos a cada amostra (1, 2 e 3)

	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3
DESVIO PADRÃO RELATIVO À MÉDIA DAS MASSAS DA SERINGA G22 CHEIA	0,24g	0,27g	0,19g
DESVIO PADRÃO RELATIVO Á MÉDIA DAS MASSAS DA SERINGA G22 APÓS A INJEÇÃO	0,17g	0,30g	0,21g

FONTE: AUTORA, 2015

Sabendo-se que o peso da seringa G22 vazia é igual a 5,52g e utilizando-se a equação 1 e os dados da tabela 7, foi possível calcular a injetabilidade do hidrogel para cada amostra. A tabela 9 resume os valores de injetabilidade encontrados:

Tabela 9- injetabilidade (%) da seringa G22 para as amostras 1, 2 e 3

	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3
INJETABILIDADE (%) DA SERINGA G22	48	68	93

FONTE: AUTORA, 2015

A amostra 3 apresentou um maior valor de porcentagem de injetabilidade, evidenciando que a proporção de 0,80 g de CMC (66, 7%), 0,40g (33,3%) de BCP e 17mL de água é a mais indicada para ser utilizada como um biomaterial injetável com o objetivo de reparação da cartilagem articular.

6. CONCLUSÃO

Os ensaios de caracterização das matérias-primas (carboximetilcelulose, fosfato de cálcio bifásico e compósito de hidrogel) demonstraram que as características físico-químicas e reológicas dessas substâncias são adequadas para a reparação da cartilagem articular. O biomaterial injetável deve mimetizar o sistema biológico, o qual apresenta um percentual da ordem de 65% a 80% de água na cartilagem. Constatou-se que a forma de produzir os hidrogéis (com controle de composição química) tem influência sobre as características reológicas destas substâncias, sendo a proporção de 0,80g de CMC, 0,40g de BCP e 17mL de água a melhor para ser injetada. Por fim, concluiu-se que as substâncias utilizadas na produção de hidrogéis à base celulose possuem características particulares que beneficiam a sua utilização como biomateriais.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Recomenda-se, para futuras pesquisas, estudar a possibilidade de blendas poliméricas que possuam características potencializadas para reparo da cartilagem articular.

Outra possibilidade é aumentar a faixa de distribuição dos hidrogéis de CMC, sempre considerando a viabilidade econômica para a produção destes polímeros.

Pode-se também realizar um ensaio de calorimetria exploratória diferencial (DSC) da amostra de hidrogel após um processo de secagem, para avaliar o gráfico relativo à interação dos pós de CMC e BCP com a ausência de água.

Por fim, há a possibilidade de se realizar um segundo ciclo de aquecimento em todas as amostras que foram submetidas à técnica DSC, para apagar a memória de processamento.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAMSOHN, Paulo A. **cartilagem fibrosa**. Disponível em: <<http://www.icb.usp.br/mol/6-9-cart-fibrosa1.html>>

ALBERS, A. P. F. et al. Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. **Cerâmica**, São Paulo, v. 48, n. 305, p.34-37, mar. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-69132002000100008>.

ALBUQUERQUE, Giselle de. **Análise da eficácia de um protocolo de intervenção fisioterapêutica em pacientes acometidos por osteoartrite de joelho**. 2004. 136 f. Monografia (Especialização) - Curso de Fisioterapia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2004. Disponível em: <<http://www.unioeste.br/projetos/elrf/monografias/2004-2/pdf/giseli.PDF>>

ALVES, H. L. R.; SANTOS, L. A.; BERGMANN, C. P. Injectability evaluation of tricalcium phosphate bone cement. **J. Mater. Sci.: Mater. Med.**, n.19, p.2241-246, 2008.

ALVES, Taís Vanessa Gabbay. **Obtenção e caracterização de hidrogéis de poliacrilamida-co-metilcelulose como sistemas carreadores de cloridrato de propranolol**. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2011. Disponível em: <<http://www3.ufpa.br/ppgcf/arquivos/dissertacoes/dissertacaoAno2011-TaisVanessaGabbayAlves.pdf>>

AMORIM, Cintia Lugnani Gomes de. **Estudo do efeito das interações água-argila no inchamento de argilominerais através da difração de raios X**. 2007. 128 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Nuclear, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007. Disponível em: <http://www.con.ufrj.br/DScTeses/Cintia/Tese_CintiaAmorim.pdf>.

AOUADA, Fauze A. et al. Correlação entre parâmetros da cinética de intumescimento com características estruturais e hidrofílicas de hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422009000600023&script=sci_arttext>

BARRETO, Ronald Bispo et al. Transplante autólogo de condrócitos. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 19, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-78522011000400010>

BARRETO, Sirley Lima. **Reabilitação neuromuscular de lesões no joelho: uma prática domiciliar desenvolvida pelo profissional de educação física integrado ao programa de saúde da família (psf)**. 2004. 72 f. Monografia (Especialização) - Curso de Educação Física, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2004. Disponível em: <http://www.uefs.br/lamasp/download/barreto2004_1.pdf>

BELANGERO, Paulo Santoro et al. Como o ortopedista brasileiro trata entorse Lateral Aguda do Tornozelo? **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, p.468-473, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbort/v45n5/15.pdf>>

BITTENCOURT, Renata Aparecida de Camargo et al. Cultura de condrócitos em arcabouço tridimensional: hidrogel de alginato. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 17, n. 4, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-78522009000400011>

BRAGANÇA, Autor: Ana Cristina Calil Ramos. **Avaliação de reagentes alternativos para substituição da cal em sistema de bombeamento de longa distância de polpa de minério de ferro**. 2008. 116 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Metalúrgia e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008. Disponível em: <<http://www.ppgem.eng.ufmg.br/defesas/872M.PDF>>

BUSATO, Thiago Sampaio. **Medicina do quadril**. Disponível em: <<http://www.medicinadoquadril.com.br/artrose.php>>

CAMPESE, Gilsinei Marques et al. Resistência mecânica de hidrogéis termo-sensíveis constituídos de Alginato-Ca²⁺ / PNIPAAm, tipo Semi-IPN. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 7, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000700028>

CANEVAROLO JUNIOR, Sebastião V.. **Ciência dos polímeros: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Artliber, 2006. 280 p. **Citação com autor incluído no texto: Canevarolo Junior (2006)**

CARASCHI, José Cláudio; CAMPANA FILHO, Sérgio P.. Influência do grau de substituição e da distribuição de substituintes sobre as propriedades de equilíbrio de carboximetilcelulose em solução aquosa. **Polímeros**, São Carlos, v. 9, n. 2, set. 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-14281999000200015&script=sci_arttext>

CAVALCANTI FILHO, Marcantonio Machado da Cunha et al. Atualização no diagnóstico e tratamento das lesões condrais do joelho. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v. 47, n. 1, fev. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-36162012000100001>

CERQUEIRA, Daniel Alves. **Determinação de um novo valor para a entalpia de fusão do cristal perfeito de acetato de celulose**. 2006. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2006. Disponível em: <<http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/769/1/DeterminacaoNovoValor.pdf>>.

COELHO, Renato Ramos et al. Doenças Degenerativas e Reumáticas do Sistema Locomotor em Idosos. In: COELHO, Renato Ramos et al. **Fisioterapia Geriátrica**. Rio de Janeiro: Shape, 2014. Cap. 22. p. 389-402. Disponível em: <http://www.researchgate.net/publication/228328432_CAPTULO_22_Doenas_Degenerativas_e_Reumticas_do_Sistema_Locomotor_em_Idosos>

COSTA, Aldo José Fernando da et al. O uso da matriz óssea desmineralizada na reparação de lesões osteocondrais. Estudo experimental em coelhos. **Acta Ortopédica Brasileira**, S, v. 9, n. 4, dez. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-78522001000400004&script=sci_arttext>

COSTA, Danyelle R. da et al. PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE BLENDS PVA-CMC COMO BIOMATERIAIS. **Metallum**, Rio de Janeiro, ago. 2012. Disponível em: <www.metallum.com.br/7colaob/resumos/trabalhos.../01-266.doc>

CRISTANTE, Alexandre Fogaça; NARAZAKI, Douglas Kenji. Avanços no uso de células-tronco em ortopedia. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v. 46, n. 4, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-36162011000400003&script=sci_arttext>

DANGELO, J.C.; FATTINI, C.A. **Anatomia humana sistêmica e segmentar**. Ed. Atheneu, 2ª Edição, São Paulo, Rio de Janeiro, Ribeirão Preto e Belo Horizonte. 2005.

DEDAVID, Berenice Anina et al. **Microscopia eletrônica de varredura-Aplicações e preparações de amostras**: Materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. Porto Alegre: Edipucrs, 2007.

Diartro- Instituto de Ortopedia e Prótese articular. **MOSAICOPLASTIA DO JOELHO**. Disponível em: <http://diartro.org/index.php?module=pathology&id_tt=47>

DIAS, Carolina Náglio Kalil. **Avaliação da recuperação da cartilagem articular do tornozelo de ratos após a aplicação de um protocolo de um alongamento cíclico da musculatura posterior da perna após a imobilização**. 2008. 50 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008. Disponível em: <http://www.bdtf.ufscar.br/htdocs/tedeSimplificado/tde_arquivos/15/TDE-2008-04-16T13:36:14Z-1791/Retido/1727.pdf>

DUARTE, Vanderlane de Souza et al. Exercícios físicos e osteoartrose: uma revisão sistemática. **Fisioterapia em Movimento**, Curitiba, v. 26, n. 1, mar. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-51502013000100022&script=sci_arttext>.

FERREIRA, Ana Rita et al. Projecto «Terapêutica por infiltração local com corticosteróides nas doenças reumáticas periarticulares na USF Marginal» – da ideia à acção. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, Lisboa, v. 28, n. 3, maio 2012. Disponível em: <http://www.scielo.gpeari.mctes.pt/scielo.php?pid=S2182-51732012000300009&script=sci_arttext>

FERREIRA, Verônica. **Produção de β -glucosidase em *saccharomyces cerevisiae* recombinante e avaliação de seu emprego no processo de hidrólise enzimática simultânea à fermentação para a produção de etanol de segunda geração.** 2010. 155 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://tpqb.eq.ufrj.br/download/producao-de-beta-glucosidase-em-saccharomyces.pdf>>

FONTINELE, Renata Gabriel. **Efeitos da atividade física na estrutura da cartilagem articular de joelho de ratas ooforectomizadas.** 2007. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10132/tde-01042008-094818/en.php>>

FREITAS, Deny Gomes de. Injetabilidade de um compósito de carboximetilcelulose (cmc) e fosfato de cálcio bifásico (bcp) para reparações condrais e osteocondrais. **Metallum**, Belo Horizonte, 2012. Disponível em: <www.metallum.com.br/7colaob/resumos/trabalhos.../01-171.docx>

FUJIMOTO, Juliana et al. Formação de multicamadas de polissacarídeos e proteína. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 5, out. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422002000500010&script=sci_arttext>

GOBBI, Riccardo Gomes et al. Transplante autólogo de condrócitos – relato de três casos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v. 45, n. 4, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-36162010000400019>

GOLTZ, Caroline. **Avaliação da interação da β -lactoglobulina-pectina e carboximetilcelulose separadamente por calorimetria de titulação isotérmica.** 2014. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014. Disponível em: <http://www.posalim.ufpr.br/Pesquisa/pdf/Disserta_CAROLINE_GOLTZ.pdf>

GOMES, Rafael Santos; PERES, Karen Glazer. Desigualdades socioeconômicas e demográficas como fatores de risco para a artrite autorreferida: estudo de base populacional em adultos no Sul do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 8, ago. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2012000800009>

HOLLANDA, João Paris Buarque de et al. Transplante osteocondral autólogo no tratamento de lesões osteocondrais em atletas. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 18, n. 6, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-78522010000600009&lang=pt>

HORN, Marília Marta. **Obtenção e caracterização de hidrogéis de quitosana, xantana e colágeno aniônico.** 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. Disponível em: <www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75132/tde.../MariliaMHornR.pdf>

KURA, Gustavo Graeff; SPASSIM, Marcos Roberto. **Anatomia do sistema locomotor e atlas fotográfico do sistema esquelético**. Passo Fundo: Upf- Universidade de Passo Fundo, 2013. 113 p. Disponível em: <http://www.upf.br/editora/images/ebook/anatomia_sistema_locomotor.pdf>

LASMAR, Neylor Pace et al. Avaliação da reprodutibilidade das classificações de Outerbridge e da SFA para lesões condrais no joelho. **Revista Brasileira de Ortopedia**, Belo Horizonte, p.266-269, 2011. Disponível em: <<http://www.grupodojoelho.com.br/upload/reuniaoeventos/avaliacao-da-reprodutibilidade-das-classificacoes-de-outerbridge-e-da-sfa-para-lesoes-condrais-do-joelho.pdf>>

LEITE, Nelson Mattioli; FALOPPA, Flávio (Org.). **Propedêutica da cartilagem**. Porto Alegre: Artmed, 2013. **Citação com autor incluído no texto:** Leite e Faloppa (2013).

LIBERATO, J. A. Di Dio. **Tratado de anatomia sistêmica aplicada**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

LIRA NETO, Ozório de Almeida et al. Tratamento cirúrgico das lesões osteocondrais do joelho com mosaicoplastia. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v. 45, n. 2, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-36162010000200011&lng=pt&nrm=iso>

MALMONGE, Sonia M.; ZAVAGLIA, Cecília A. C.. Hidrogéis de poliHEMA para reparo de defeitos da cartilagem articular. 1 - síntese e caracterização mecânica. **Polímeros**, São Carlo, v. 7, n. 2, jun. 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14281997000200004&lng=pt&nrm=iso>

MANDELBAUM, Samuel Henrique et al. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte II. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 5, out. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962003000500002>

MARQUES, Patricia Angélica Alves et al. Hidrogel como substituto da irrigação complementar em viveiro telado de mudas de cafeeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 1, 9 nov. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782013000100001&script=sci_arttext>

MARTINS, Angélica Cristina de Oliveira. **Avaliação histomorfométrica comparativa do reparo de defeitos ósseos perenes em calvária de ratos tratados com β fosfato tricálcico, hidroxiapatita sintética, hidroxiapatita sintética + β fosfato tricálcico e osso autógeno**. 2010. 180 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, Bauru, 2010. Disponível em: <www.teses.usp.br/teses/disponiveis/25/.../AngelicaOliveiraMartins.pdf>

MORAES, Paula Rodrigues Fontes de Sousa. **Estudo comparativo da membrana e do hidrogel de celulose bacteriana com colágeno em dorso de ratos**. 2013. 114 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Bioengenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013. Disponível em: <www.teses.usp.br/teses/disponiveis/82/82131/tde-15102013.../pt-br.php>

MOURA, Márcia R. de et al. Hidrogéis semi-IPN baseados em rede de alginato-Ca²⁺ com PNIPAAm entrelaçado: propriedades hidrofílicas, morfológicas e mecânicas. **Polímeros**, São Carlos, v. 18, n. 2, jun. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-14282008000200010&script=sci_arttext>

NOVELLI, Claudio. **Efeitos do envelhecimento na cartilagem articular proximal da tíbia de ratos wistar submetidos a exercícios contínuo e acumulado. um estudo morfoquantitativo**. 2011. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Educação Física, Universidade São Judas Tadeu, São Paulo, 2011. Disponível em: <http://www.usjt.br/biblioteca/mono_disser/mono_diss/2011/172.pdf>

ORÉFICE, Rodrigo Lambert et al. **Biomateriais - Fundamentos e Aplicações**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2012. 538 p.

Osteoartrose. Disponível em: <<http://www.ortopediahorst.com.br/mala/artrose.html>>

PARINI, Claudemir José. **Estudo comparativo de métodos de determinação do tamanho de partícula**. 2003. 129 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais., Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares Autarquia Associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003. Disponível em: <http://pelicano.ipen.br/PosG30/TextoCompleto/Claudemir Jose Papini_M.pdf>

PEREIRA, Eduardo. **Estudo da influência das propriedades de argamassas colantes na resistência de aderência de revestimentos cerâmicos aplicados no assentamento de piso sobre piso**. 2012. 173 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Construção Civil, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012. Disponível em: <<http://www.prppg.ufpr.br/ppgcc/sites/www.prppg.ufpr.br/ppgcc/files/dissertacoes/d0163.pdf>>.

PINHO, M.c. et al. Lesões músculo-esqueléticas relacionadas com as atividades desportivas em crianças e adolescentes: Uma revisão das questões emergentes. **Motricidade**, Porto, v. 9, n. 1, jan. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.gpeari.mctes.pt/scielo.php?pid=S164610-7X2013000100005&script=sci_arttext>

REIFF, Rodrigo Bezerra de Menezes. **Reparo de defeito osteocondral no joelho de coelhos utilizado centrifugado de medula óssea autóloga**. 2010. 129 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/.../RodrigoBezerraMenezesReiff.pdf>

REZENDE, Márcia Uchôa Of et al. Cartilagem articular e osteoartrose. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 8, n. 2, jun. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-78522000000200005&script=sci_arttext>

RIBERTO, Marcelo et al. Dor miofascial em pacientes com osteoartrose do quadril. **Revista Acta Fisiátrica**, v. 4, n. 2, p.90-96, 1997. Disponível em: <http://www.actafisiatrica.org.br/detalhe_artigo.asp?id=383>

RODRIGUES, Fábio Lucas; WAISBERG, Gilberto. Entorse de tornozelo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 55, n. 5, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302009000500008>

ROHR, Tiago Gusmão. **Estudo reológico da mistura carboximetilcelulose/amido e sua utilização como veículo de inoculação bacteriano**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Ufrj, Seropédica, 2007. Disponível em: <http://www.ufrj.br/posgrad/cpeq/paginas/docs_teses_dissert/dissertacoes_docs_2007/Tese20Tiago.pdf>

RUBINSTEIN, Ezequiel; CARDOSO, Márcio A. **sistema esquelético**. Disponível em: <http://www.icb.ufmg.br/mor/anatoenf/sistema_esqueletico.htm>

SANCHES, Jonas Fröhlich. **Biomateriais substitutos ósseos na implantodontia**. 2010. 49 f. Monografia (Especialização) - Curso de Odontologia, Instituto de Ciências da Saúde – Funorte/soebras Núcleo Manaus, Manaus, 2010. Disponível em: <http://www.cursospos.com.br/arquivos_biblioteca/7cb9fb36dea58464558608a128db10618289fe28.pdf>

SANCINETTI, Tania Regina et al. Absenteísmo - doença na equipe de enfermagem: relação com a taxa de ocupação. **Revista da Escola de Enfermagem da Usp**, São Paulo, v. 43, n. 2, p.1277-1283, 2009. Disponível em: <<http://www.producao.usp.br/handle/BDPI/4148?show=full>>

SANTOS, Joseane Brandão dos et al. **Avaliação e tratameto de feridas: orientações aos profissionais da saúde**. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/34755/000790228.pdf?sequence=1>>

SANZ, S. Castañeda et al. Importância do osso subcondral e da membrana sinovial na patogenia e no tratamento da osteoartrose. **Acta Reumatologica Portuguesa**, Açores e Madrid, p.206-213, 2006. Disponível em: <http://www.actareumatologica.pt/oldsite/conteudo/pdfs/ARP_2006_4_206_AR_-_Importancia_do_osso.pdf>

SARTOR, Giovana de Bona. Uso da técnica de difração de raios-x para avaliação da interação de biopolímeros. in: seminário de iniciação científica e tecnológica da utfpr, 17, Francisco Beltrão. **Conferência**. Francisco Beltrão. Disponível em: <<http://conferencias.utfpr.edu.br/ocs/index.php/sicite/2012/paper/viewFile/655/318>>

SCHAINBERG, Cláudia Goldenstein. **Reumatismo em Crianças**. Disponível em: <<http://www.hospitalsiriolibanes.org.br/hospital/especialidades/reumatologia/Paginas/reumatismo-criancas.aspx>>

SILVA, Edirlaine Soares da. **Desenvolvimento de um compósito de ácido hialurônico com microesferas de fosfato de cálcio bifásico para reparação de estruturas anatómicas subdérmicas**. 2012. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Materiais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012. Disponível em: <http://www.posmat.cefetmg.br/galerias/arquivos_download/Dissertaxao_Edirlaine_19_d ez_17012013.pdf>

SILVA, Vera Regina Lopes da et al. Sintomas articulares crônicos em adultos de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil: prevalência e determinantes. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 12, dez. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.org/scielo.php?pid=S0102-311X2009001200005&script=sci_arttext>

SILVEIRA, Juliana Maia da. **Reações teciduais à cerâmica fosfato de cálcio bifásica BoneCeramic® utilizada como material de preenchimento de defeitos alveolares em ratos**. 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008. Disponível em: <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp083392.pdf>>.

SILVEIRA, Márcio Rogério Borges. **Fraturas do fêmur distal (osso da coxa)-joelho**. Disponível em: <<http://traumatologiaeortopedia.com/drmarciosilveira/viewtopic.php?f=4&t=37>>

Tecido conjuntivo especializado. Disponível em: <http://medicina.ucpel.tche.br/histologiamedica/.../cap07_tecido_cartilaginoso.d...>

THIEMANN, Otavio Henrique. **Tecido Cartilaginoso**. Disponível em: <<http://biologia.ifsc.usp.br/bio1/>>

TÍRICO, Luís Eduardo Passarelli; DEMANGE, Marco Kawamura. O uso do transplante osteocondral a fresco no tratamento das lesões osteocondrais do joelho. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v. 47, n. 6, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-36162012000600003>

Transplante de Cartilagem de joelho. Disponível em: <<http://www.usp.br/espacoaberto/?materia=transplante-de-cartilagem-de-joelho>>.

TRILHA JUNIOR, Marcial et al. Simulação numérica tridimensional da mecânica do joelho humano. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 17, n. 2, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-78522009000200003&script=sci_arttext>

VAN DE GRAAF, M. K. **Anatomia Humana**. Ed. Manole, 6ª Edição, São Paulo. 2003.

VILELA, Danillo Daniel. **Hidrogel de carboximetilcelulose de sódio e própolis: desenvolvimento e caracterização**. 2010. 55 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Bioengenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010. Disponível em: <www.teses.usp.br/teses/disponiveis/82/.../TDE_DanilloDanielVilela.pdf de DD Vilela>