

Influência de Aditivos na Injetabilidade de Cimento Ósseo de Fosfato Tricálcico

Hugo Leonardo Rocha Alves^a, Luis Alberto dos Santos^b, Carlos Pérez Bergmann^a

^a Laboratório de Materiais Cerâmicos – LACER

Departamento de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Av. Osvaldo Aranha, 99, 705 c, Centro, 90035-190, Porto Alegre/RS, Brasil

FAX/Fone: +55 51 3316 3405

e-mail: hugo@ufrgs.br, bergmann@ufrgs.br

^b Laboratório de Biomateriais - LABIOMAT

Departamento de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 74, Sala 123, 91501-970, Porto Alegre/RS, Brasil

e-mail: luis.santos@ufrgs.br

RESUMO

Os cimentos de fosfatos de cálcio são biomateriais formados pela mistura de um pó de fosfato de cálcio com água ou com solução aquosa de sais orgânicos ou inorgânicos formando uma pasta que reage à temperatura ambiente ou corpórea, endurecendo como resultado da reação de precipitação. Cimentos de fosfato de cálcio são usados comumente em cirurgias de preenchimento ósseo na odontologia e ortopedia, que requerem procedimentos extremamente invasivos. A inovação consiste em formular uma pasta injetável pela incorporação de aditivos. Neste estudo, três aditivos (carboxi-metil-celulose, polímero de agar e alginato de sódio) foram incorporados a fosfato tricálcico-alfa, nas concentrações de 0,4%; 0,8%; 1,6%; 3,2%; 6,4% em massa. Os resultados demonstraram que foi possível obter composições de cimento de fosfato tricálcico injetáveis. Verificou-se que a injetabilidade, medida por um método inédito proposto, depende do comportamento reológico das pastas. Neste estudo, as formulações com 1,6% de carboxi-metil-celulose, 1,6% de agar e 0,8% de alginato de sódio, permitiram a obtenção de uma viscosidade suficiente para uma boa homogeneização e injeção do cimento.

Palavras chaves: Cimento ósseo, fosfato tricálcico, aditivos, injetabilidade.

Additives Influence on the Injectability of Tricalcium Phosphate Bone Cement

ABSTRACT

Calcium phosphate cements are biomaterials made of a mixture of calcium phosphate powder with water or with aqueous solutions of inorganic or organic salts, forming a paste that reacts at room or body temperature and hardens as a result of precipitation reactions. Calcium phosphate cements are commonly used in both dentistry and orthopedic bone filling surgeries, which require extremely invasive procedures. The innovation consists in formulate an injectable paste by incorporation of additives. In this work, three different additives (carboxymethylcellulose, agar polymer and calcium alginate) were incorporated in alpha-tricalcium phosphate (α -TCP), in concentrations of 0.4%; 0.8%; 1.6%; 3.2% and 6.4% wt%. Results showed that it was possible to obtain injectable compositions of tricalcium phosphate cement. It was verified that the injectability, measured by a novel method, depends on the rheological behavior of the pastes and injection time. In this study, pastes with sufficient viscosity for good homogenization and injection were obtained. In this study, pastes with 1.6% carboxymethylcellulose, 1.6% agar and 0.8% sodium alginate present sufficient viscosity for good homogenization for cement injection.

Keywords: Bone cement; tricalcium phosphate; additives; injectability.

1 INTRODUÇÃO

Os principais avanços no campo dos biomateriais têm ocorrido devido ao aumento da expectativa de vida da população e de acidentes em meios de transporte. Os cimentos a base de fosfatos de cálcio tem sido utilizados como enxerto ósseo com sucesso muito grande nesta última década. Um cimento desse tipo pode ser preparado misturando-se um sal de fosfato de cálcio com uma solução aquosa para que se forme uma pasta que possa reagir em temperatura ambiente ou corporal dando lugar a um precipitado que contenha um ou mais fosfato de cálcio e ocorrendo a cura pelo intercruzamento dos cristais deste precipitado [1]. Embora o poli(metilmacrilato) (PMMA) seja o cimento para enxerto mais popularizado, este apresenta inconveniências. Sua reação de polimerização pode causar necrose do tecido ósseo ao redor da região do implante, devido à reação fortemente exotérmica. Ainda, depois de implantado não induz qualquer tipo de remodelação óssea, pois não é um material bioativo. Neste contexto, cimentos ósseos de materiais bioativos tem sido alvo de inúmeros trabalhos de pesquisa, devido à sua menor probabilidade de causar reações negativas por parte do tecido vivo [2].

No entanto, deve-se ter em mente que as melhorias impostas às propriedades dos materiais devem favorecer ao cirurgião a utilização de técnicas cirúrgicas minimamente invasivas (MIST – *minimally invasive surgery techniques*). Neste sentido, a injetabilidade do cimento mostra-se um aprimoramento excepcional. Como vantagem da utilização de um cimento de fosfato de cálcio injetável está a preparação *in-situ*, redução do tempo de cirurgia, mínima cavidade para a implantação e perfeito ajuste à geometria óssea do defeito [3], tendo como conseqüência menores traumas e melhoria da qualidade de vida do paciente. Estudos já realizados mostram que é possível transformar o cimento em uma pasta injetável pela adição de aditivos sem modificar as reações químicas que ocorrem durante a cura do cimento [4, 5, 6, 7]. Para que um aditivo seja eficiente na promoção de resistência à dissolução do cimento, deve apresentar certas propriedades fundamentais como promover a injetabilidade sem impedir o processo de precipitação de hidroxiapatita [8].

O objetivo principal deste trabalho é formular composições de cimento de fosfato de cálcio injetáveis e dar base para o conhecimento dos mecanismos envolvidos no processo de injeção do fosfato tricálcico (TCP). Os detalhes dos fenômenos envolvidos na formulação de um cimento ósseo injetável são discutidos no decorrer deste trabalho, sendo proposto um novo método para a avaliação da injetabilidade de cimentos de fosfato de cálcio.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação do TCP

O pó do cimento de α -TCP foi sintetizado em laboratório utilizando-se a metodologia reportada por Driessens (1997), reagindo-se carbonato de cálcio (CaCO_3) (Nuclear[®]) e pirofosfato de cálcio ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) (VETEC[®] Química Fina) durante 15h a 1300°C seguido de resfriamento brusco [9]. O material foi então desagregado em almofariz de porcelana e submetido a 6h de moagem úmida em frasco plástico contendo álcool etílico, com esferas de zircônia. O material foi então seco a 90°C por 72h. O tamanho médio de partículas obtido foi de 3,35 μm (granulômetro a laser CILAS[®], modelo 1180).

2.2 Preparação das Pastas

Os aditivos incorporados na forma de pó ao α -TCP foram carboximetilcelulose (CMC), agar (polissacarídeo de algas vermelhas) e alginato de sódio (SA), nas concentrações de 0,4%, 0,8%, 1,6%, 3,2% e 6,4% em massa.

2.3 Avaliação da Consistência

Como fração líquida, utilizou-se uma solução de 2,5% de hidrogenofosfato de sódio (Na_2HPO_4) em água deionizada [10]. As frações líquidas foram limitadas em função da resposta reológica de cada pasta através da adição gradual de 0,5mL em uma porção de 20g de pó até a obtenção de uma massa fluida homogênea com brilho, conforme ASTM C472.

2.4 Medidas de pH

As medidas de pH foram realizados depois de decorridos 2 minutos da adição da fração líquida em um pHmetro digital (DIGIMED[®], modelo DM-20) à temperatura ambiente ($26^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$).

2.5 Reologia das Pastas

As viscosidades foram avaliadas em um viscosímetro (*BROOKFIELD*[®], modelo RVDVII+), utilizando haste modelo RV7 com velocidade de rotação de 100rpm a temperatura ambiente (26°C ± 1°C). A viscosidade foi monitorada num período de tempo de 1h. A viscosidade inicial compreende a média dos 2 primeiros minutos de ensaio.

2.6 Avaliação da Injetabilidade

A avaliação da injetabilidade foi realizada com um aparato (Figura 1) que quantificou as massas residuais de cimento retidas em seringas após a aplicação instantânea de uma força de 50N durante 5s. Foram utilizadas seringas poliméricas (*INJEX*[®]) de 5mL, conectadas a uma agulha hipodérmica (*BECTON*[®]) de aço inoxidável de 80mm de comprimento e 3mm de diâmetro. Os ensaios de injetabilidade foram realizados depois de decorridos 2 minutos da adição da fração líquida. Para cada ensaio de injetabilidade foi utilizada uma nova seringa.

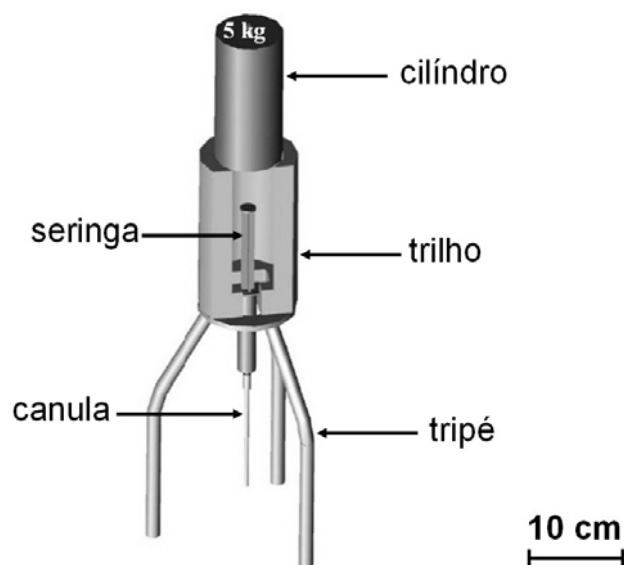


Figura 1: Aparato para avaliação da injetabilidade, composto por um suporte, um trilho, um peso cilíndrico e uma seringa descartável suprida de uma agulha.

Para cada injeção foi realizada a pesagem (M_0) da seringa vazia, da seringa preenchida (M_1) e da seringa após a injeção (M_2) e calculada a injetabilidade através da Equação 1.

$$\text{Injetabilidade}(\%) = \left[\frac{(M_1 - M_0) - (M_2 - M_0)}{(M_1 - M_0)} \right] \times 100 \quad (1)$$

O preenchimento da seringa com a pasta foi realizado com auxílio de uma espátula metálica e de uma mesa vibratória. Colocou-se o êmbolo em contato com a pasta, tendo cuidado para reter o mínimo de ar possível dentro da seringa.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação da Consistência

As razões líquido/pó para a obtenção de uma massa fluida homogênea com brilho nas formulações aditivadas (Tabela 1) ficaram enquadrados na faixa entre 0.35 a 0.87mL/g, enquanto o cimento puro requereu 0.6mL/g. A diferença nos valores da razão líquido/pó revelam a influência do teor e tipo de aditivos

no cimento, absorvendo líquido e aumentando a viscosidade da pasta ou defloculando a composição e reduzindo a viscosidade.

Tabela 1: Razões líquido/pó necessárias para a obtenção de uma massa fluida entre as diferentes formulações propostas.

Formulações (%p)	Razão líquido/pó (mL/g)		
	CMC	AGAR	AS
0,4	0.60	0.60	0.67
0,8	0.60	0.67	0.73
1,6	0.60	0.67	0.87
3,2	0.67	0.67	0.87
6,4	0.87	0.87	0.87

O aumento do teor de aditivo implicou num aumento da razão líquido/pó para o completo molhamento da mistura de pós. O CMC não promoveu aumento significativo de fluidez com o aumento da quantidade de aditivo, necessitando de uma elevada razão líquido/pó (0.87) para a maior fração de aditivo. O agar e o alginato de sódio (AS), classificados como hidrocolóides, têm a tendência de reter líquido do meio, formando um gel insolúvel [11].

Pode-se imaginar que uma razão líquido/pó muito elevada inviabilizaria a aplicação do cimento como enxerto ósseo devido à formação de porosidade excessiva e redução de resistência mecânica. Porém, o aumento da porosidade pode ser extremamente benéfico no que diz respeito à osteocondução no cimento implantado.

3.2 pH

O pH é um dos principais fatores de influência nas propriedades reológicas de um cimento ósseo, podendo desencadear uma série de problemas ao local de enxerto, e ao corpo humano com um todo [1]. Enxertos cerâmicos podem estar associados a próteses metálicas e um pH ácido pode remover o óxido de proteção de alguns metais e permitir que a corrosão se inicie e progrida numa peça metálica passivada. Assim, materiais na faixa de pH 6,5 a 8,0 são considerados adequados para implantação [6]. O cimento puro apresentou pH 9,0, enquanto as pastas aditivadas (Tabela 2) apresentaram inicial de pH 7,9 – 9,5. À medida que a reação de cura ($3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$) evoluiu, o processo de hidratação diminuiu o pH a neutro devido à formação de hidroxiapatita [5]. Ao final da cura todos as formulações apresentaram pH 6,4 – 7,1, o que demonstra que os aditivos podem ser utilizados sem comprometerem a resposta biológica.

Tabela 2: Valores de pH das pastas aditivadas após 2 minutos de mistura.

Formulações (%p)	pH		
	CMC	AGAR	AS
0,4	8,8	8,5	8,0
0,8	9,2	9,4	8,9
1,6	9,5	8,9	9,3
3,2	7,9	8,5	8,6
6,4	8,9	8,4	8,5

3.3 Reologia

O processo de injeção é fundamentalmente controlado pela reologia da suspensão durante a etapa de carregamento da seringa e preenchimento das cavidades do molde, ou seja, dependente da viscosidade do injetado imediatamente antes da injeção [12].

Quanto à viscosidade inicial das pastas (Figura 2), medida após 2 minutos da mistura, verificou-se que as formulações com 3,2% de CMC e 1,6% de alginato de sódio apresentaram menor viscosidade dentre as demais formulações destes aditivos. As formulações com agar promoveram formação de gel e aumento de

viscosidade até a fração de 1,6%. No entanto, para maiores teores de agar a reação de cura foi prejudicada evidenciada pela queda de viscosidade.

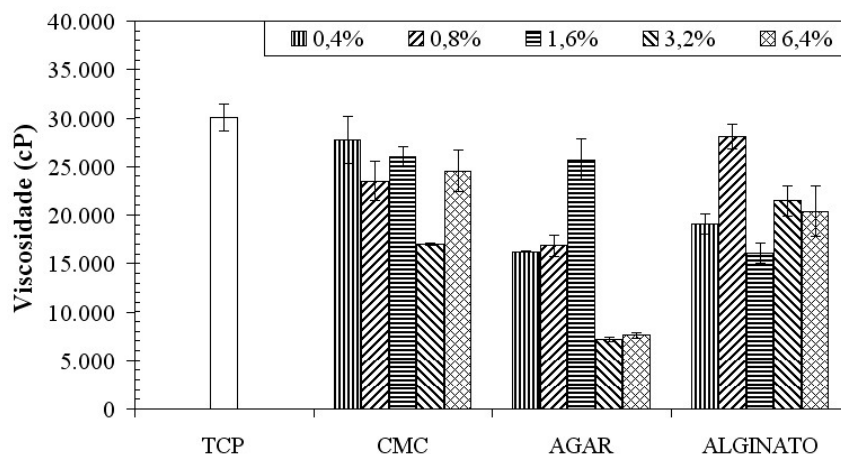


Figura 2: Comparação da viscosidade aparente inicial das pastas aditivadas e do cimento puro.

O comportamento reológico das formulações aditivadas na primeira hora de cura (Tabela 3) mostra que maiores teores de aditivos provocam uma queda de viscosidade, diferente do cimento puro que apresentou um aumento abrupto da viscosidade, chegando ao fundo de escala do equipamento em cerca de 30 min.

Tabela 3: Comportamento reológico das curvas de viscosidade das diferentes formulações propostas durante a primeira hora de cura.

Formulações (%p)	Variação da viscosidade		
	CMC	AGAR	AS
0,4	++	+	+
0,8	+	+	+
1,6	+	++	+
3,2	-	+	-
6,4	-	=	-

++, aumento abrupto da viscosidade;
 +, aumento da viscosidade;
 -, diminuição da viscosidade;
 = constante.

De acordo com a literatura [6], o tempo médio necessário para colocação do cimento ósseo no sítio de implantação está na faixa de 7 minutos. Sendo que neste tempo deve-se levar em consideração o tempo de mistura, homogeneização e injeção no local destinado, sendo tanto melhor quanto menor o tempo de cura após a realização destes processos, o que impede que o cimento migre para locais não desejados, para fora do local de injeção. Apesar de a viscosidade ser um parâmetro essencial na avaliação da injetabilidade, não é encontrado em estudos recentes, confirmando a necessidade de novos estudos de viscosidade destes cimentos.

3.4 INJETABILIDADE

3.4.1 Influência da Razão líquido/pó na Injetabilidade

Os resultados (Figura 3) apresentam o aumento da injetabilidade e queda da resistência mecânica do cimento com o aumento da razão líquido/pó. Neste contexto, constatou-se uma relação de proporcionalidade direta entre a razão líquido/pó e a injetabilidade e uma relação inversamente proporcional para a resistência mecânica [13].

Para o sucesso na aplicação clínica um cimento ósseo, não é suficiente que o mesmo possua boa injetabilidade, mas também uma resistência mínima após a cura. Assim, para que se atinja uma resistência mecânica pós-cura aceitável é necessária uma baixa razão líquido/pó.

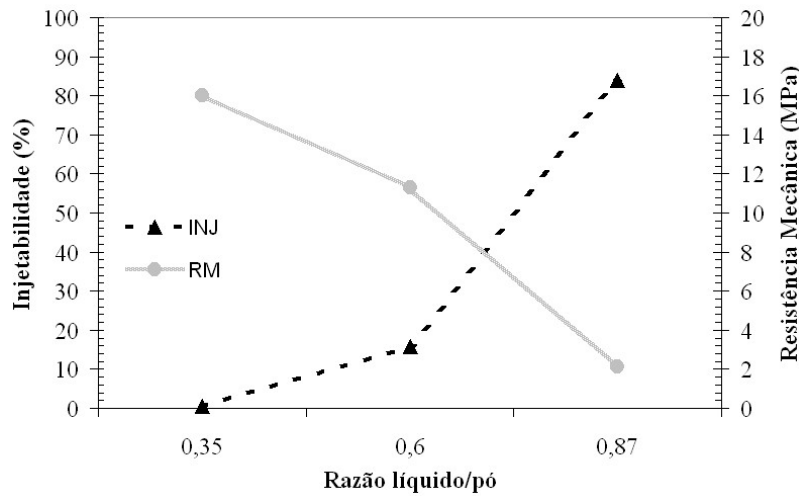


Figura 3: Avaliação da injetabilidade e da resistência mecânica do cimento puro sem incorporação de aditivos para três diferentes razões líquido/pó.

3.4.2 Influência do Tempo de Injeção

A Figura 4 mostra que os aditivos promoveram melhoria da injetabilidade do cimento para um tempo de injeção de 5 segundos. No entanto, o valor de injetabilidade medido não necessariamente diz respeito à injeção homogênea da pasta, mas apenas que houve perda de massa na injeção.

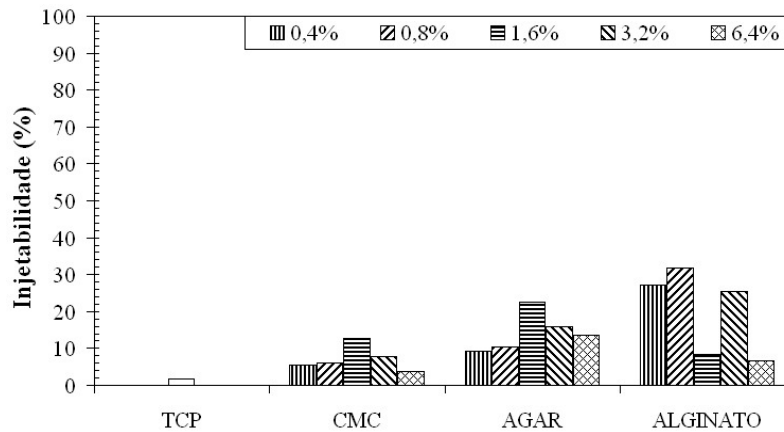


Figura 4: Comportamento da injetabilidade das diferentes formulações propostas comparadas com a injetabilidade do cimento puro sem incorporação de aditivos para tempo de injeção de 5 segundos.

Ao se confrontar a viscosidade (Figura 2) com a injetabilidade (Figura 4), verifica-se que pastas com viscosidades maiores apresentaram maiores injetabilidades. A injetabilidade obteve aumento significativo já para as formulações com menores teores de aditivos devido à ação lubrificante/dispersante dos aditivos.

No caso do CMC, ao mesmo tempo em que deixa o cimento coeso, o deixa também trabalhável. O CMC atua de forma complexa nas partículas de cimento. Somado à ação eletrostática conseguida pelo carregamento nas partículas de cimento por cargas de mesmo sinal, o CMC possui longas cadeias laterais. Essas longas cadeias laterais aumentam o espaço em um sistema de partículas, preservando a dispersão por um período de tempo maior. Assim, com o início do processo de hidratação do cimento, perde-se o efeito da repulsão eletrostática, mas através da presença das cadeias do polímero, mantém a dispersão aumentando o tempo de trabalhabilidade do cimento.

Com relação à influência da incorporação de agar na matriz de cimento, todas as formulações promoveram um aumento significativo da injetabilidade do cimento. Na presença de agar, o polímero adsorve às partículas de cimento devido à ação eletrostática. Esse processo não permite formação de acúmulos de líquido entre as partículas, fazendo com que ocorra a distribuição e formação de um filme líquido ao redor das partículas, permitindo o deslizamento de umas sobre as outras caracterizando a injeção [11].

Constatou-se que todas as formulações com incorporação de alginato de sódio na matriz de cimento apresentaram mudança de consistência e necessidade de aumento na razão líquido/pó com leve aumento do tempo de cura. O alginato de sódio provocou uma consistência de massa, absorvendo boa parte do líquido, impedindo que o mesmo molhe e disperse as partículas, tornando-se escorregadia. Este fenômeno vai de encontro com outros estudos [14], que observam que o alginato de sódio tem a propriedade de formar um gel insolúvel na presença de íons de cálcio. Este hidrogel insolúvel formado pelo alginato de sódio pode inibir ou mesmo impedir totalmente a dissolução do cimento em meio líquido [14]. Segundo Ishikawa (1995), já com baixos teores, o alginato de sódio promove uma boa dispersão das partículas. Assim, a boa dispersão atribuída ao alginato de sódio estaria associada à presença dos grupos carboxílicos de suas macromoléculas devido ao efeito estérico.

Na avaliação visual das pastas injetadas em 5 segundos, constatou-se que as formulações com incorporação de CMC, agar e alginato de sódio promoveram a formação de um injetado mais homogêneo, desejável ao processo. Assim, na tentativa de verificação de diferenças mais marcantes destes aditivos no cimento, realizou-se novamente o ensaio de injetabilidade das formulações com incorporação de CMC, agar e alginato de sódio para um tempo de injeção de 30 segundos.

Segundo a comparação da injetabilidade para tempo de injeção de 30 segundos (Figura 5) pode-se observar que a maioria das pastas apresentou valores acima de 30%, ainda que não totalmente injetadas. Na injeção do cimento puro, a grande parte dos 15,7% de injetabilidade está vinculada à perda de massa associada à segregação e saída da parte líquida da suspensão.

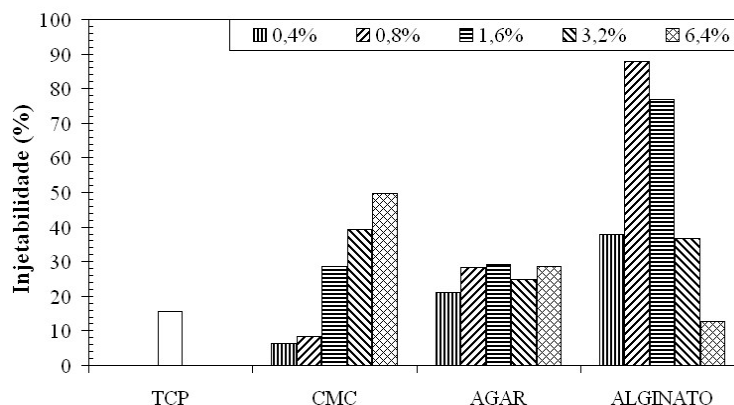


Figura 5: Comportamento da injetabilidade das formulações com incorporação de CMC, AGAR e alginato de sódio comparadas com a injetabilidade do cimento puro sem incorporação de aditivos para tempo de injeção de 30s.

Constatou-se visualmente, durante os ensaios de injetabilidade, que todas as formulações com incorporação de aditivos, assim como com a pasta de cimento puro, sofreram fenômeno de segregação (separação das duas fases sólido-líquido) em diferentes graus de severidade. O fenômeno de segregação é indesejado e depende das propriedades de cada aditivo. Este fenômeno permite migração do líquido pressurizado durante a injeção e conseqüente purga de parte da fase líquida, causando compactação indesejada da fase sólida, que leva ao entupimento da seringa.

As formulações 0,4% CMC, 0,8% CMC e 6,4% alginato, apesar de sua baixa injetabilidade, promoveram a formação de um injetado mais homogêneo. Estas formulações apresentaram uma injetabilidade inferior ao do cimento puro devido ao alto grau de segregação do mesmo.

4 CONCLUSÃO

A metodologia desenvolvida para avaliação da injetabilidade mostrou-se eficaz na comparação das diferentes formulações propostas. A injetabilidade mostrou-se fortemente dependente do comportamento reológico das pastas. Todas as formulações propostas apresentaram melhoria de injetabilidade do cimento de fosfato tricálcico-alfa. No entanto para uso clínico o tempo de cura deve ser ajustado com a quantidade de

Na₂HPO₄ na fase líquida. Constatou-se uma relação de proporcionalidade direta entre a injetabilidade do cimento, razão líquido/pó e tempo de injeção. As formulações contendo 1,6% CMC, 1,6% agar e 0,8% alginato de sódio, apresentaram viscosidade adequada e homogeneidade para injeção.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado e aos fornecedores pela doação dos aditivos.

6 BIBLIOGRAFIA

- [1] HENCH, L.L., WILSON, J., “An Introduction to Bioceramics”, *Advanced Series in Ceramics*, v. 1, World Scientific, London, UK, 1999.
- [2] GROOT, K.D., “Ceramics Based on Calcium Phosphates”, *Ceramics in Surgery*, v. 17, International Symposium on Bioceramics, Lignano Sabbiadoro, Itália, 1983.
- [3] RATNER, B.D., *Biomaterials Science: an Introduction to Materials in Medicine*, Academic Press, USA, 1996.
- [4] LEROUX, L., HATIM, Z., FRECHE, M., LACOUT, J.L., “Effects of Various Adjuvants (Lactic Acid, Glycerol, and Chitosan) on the Injectability of a Calcium Phosphate Cement” Elsevier Science-Direct, Bone, France, pp. 4, 1999.
- [5] BERMUDEZ, O., BOLTONG, M.G., DRIESSENS, F.C.M., PLANELL, J.A., “Development of Some Calcium Phosphate Cements from Combinations of Alfa-TCP, MCPM and CaO”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 5, pp.160-163, 1994.
- [6] DRIESSENS, F.C.M., FERNÁNDEZ, E., GINEBRA, M.P., BOLTONG, M.G., PLANELL, J.A., “Calcium Phosphates and Ceramic Bone Cements vs. Acrylic Cements”, *Anales de Química*, Int. Ed., v. 93, pp. S38 - S43, 1997.
- [7] SANTOS, L.A. dos, OLIVEIRA, L.C. de, RIGO, E.C.S., CARRODEGUAS, R.G., BOSCHI, A.O., ARRUDA, A.C.F. de., “Influence of Polymeric Additives on the Mechanical Properties of Tricalcium Phosphate Cement”, *Elsevier Science-Direct*, Bone. Brazil, pp. 4, 1999.
- [8] FERNÁNDEZ, E., SARDA, S., HAMCERENCU, M., VLAD, M.D., GEL, M., VALLS, S., TORRES, R., LÓPEZ, J., “High-strength Apatitic Cement by Modification with Superplasticizers”, *Biomaterials – Elsevier Science-Direct*, v. 26, pp. 8, 2005.
- [9] SANTOS, L.A., CARRODEGLAS, R.G., ROGERO, S.O., HIGA, O.Z., BOSCHI, A.O., ARRUDA, A.C.F., “Alfa-Tricalcium Phosphate Cement: “in vitro” “Cytotoxicity””, *Elsevier – Biomaterials*, pp. 8, 2002.
- [10] GINEBRA, M.P., FERNÁNDEZ, E., DRIESSENS, F.C.M., PLANELL, J.A., “Na₂HPO₄ Addition on the Setting Reaction Kinetics of an Alpha-TCP Cement”, *Bioceramics*, pp. 243-246, 1998.
- [11] SKINNER, P.R.W., *Materiais Dentários*, ed. 9, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp. 40-53, Brasil, 1993.
- [12] LEROUX, L., HATIM, Z., FRECHE, M., LACOUT, J.L., “Effects of Various Adjuvants (Lactic Acid, Glycerol, and Chitosan) on the Injectability of a Calcium Phosphate Cement”, *Elsevier Science-Direct*, Bone, France, pp. 4, 1999.
- [13] CHOW, L.C., MARKOVIC, M., TAKAGI, S., CHERNG, M., “Injectable Calcium Phosphate Cements: Effects of Cement Liquid on the Physical Properties of the Cement”, *Innov. Tech. Med.*, v. 18, 1997.
- [14] ISHIKAWA, K., MIYAMOTO, Y., KON, M., NAGAYAMA, M., ASAOKA, K., “Non-Decay Type Fast-Setting Calcium Phosphate Cement: Composite with Sodium Alginate” *Biomaterials – Elsevier Science-Direct*, v. 16, pp. 6, 1995.