

## CERÂMICAS BIOATIVAS – ESTADO DA ARTE

Ângela Leão Andrade e Rosana Zacarias Domingues\*

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, CP 702, 31270-901 Belo Horizonte - MG

Recebido em 13/10/04; aceito em 27/4/05; publicado na web em 24/8/05

BIOACTIVE CERAMICS: STATE OF THE ART. Bioactive glasses undergo corrosion with leaching of alkaline ions when exposed to body fluids. This results in the spontaneous formation of a layer of hydroxyapatite (HA), the mineral component of natural bone, which in turn can induce bone growth *in vivo*. This paper describes the different types of bioactive glasses, the characterization methods currently used, and the main factors that influence their bioactivity. Nucleation and crystallization, the main mechanisms involved in the formation of hydroxyapatite,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , are discussed as a function of the chemical composition and the reactivity of the surface of the material. Finally, promising applications are considered.

Keywords: sol-gel; bioactive glass; *in vitro* tests.

## INTRODUÇÃO

O aprimoramento técnico-científico na área médica faz-se necessário devido à busca incansável do ser humano pela longevidade e por padrões de vida superiores, o que gera a necessidade de alternativas para reparo e substituição de tecidos vivos vitimados por traumas, patologias e fraturas, dentre outros<sup>1</sup>. Devido a problemas como disponibilidade limitada, dificuldade de armazenamento e um tempo cirúrgico maior dos enxertos autógenos e alógenos, os pesquisadores buscam materiais sintéticos que facilitem a reparação óssea visando o restabelecimento rápido das funções fisiológicas<sup>2</sup>.

Dentre os materiais sintéticos usados para biorreparação do tecido ósseo, as cerâmicas, também conhecidas como biocerâmicas, são as mais empregadas. As biocerâmicas apresentam-se na forma de pós, revestimentos ou próteses usados para reparo, aumento ou substituição de tecidos doentes ou danificados, como ossos, juntas e dentes<sup>3,4</sup>. Embora muitas composições de cerâmicas tenham sido testadas para uso médico, poucas são usadas clinicamente. Destas, pode-se citar a  $\text{Al}_2\text{O}_3$  e  $\text{ZrO}_2$  usadas, inicialmente, na substituição total de juntas dos quadris e fêmur; os fosfatos de cálcio usados como revestimento de ligas metálicas e em formato de granulados ou de pequenas peças porosas para reparo ósseo; os vidros e vitro-cerâmicas bioativos usados para substituição e reparo de ossículos do ouvido interno, dentes e vértebras<sup>3,5</sup>.

## CERÂMICAS BIOATIVAS (CBAs)

Atualmente, o uso de cerâmicas bioativas como implantes ósseos tem sido muito estudado. O termo bioatividade foi usado primeiro para descrever a habilidade que certas composições de vidros, desenvolvidos no fim da década de 60 e início da de 70<sup>6</sup>, têm de se ligarem ao tecido ósseo circundante ao implante, induzindo a formação de uma camada de hidroxiapatita (HA) em sua superfície. Hoje, sabe-se que outros materiais cerâmicos como a HA sintética, o fosfato tri-cálcio sinterizado e algumas vitro-cerâmicas<sup>7-11</sup> também podem ser bioativos sob certas condições de síntese.

Sabe-se que a superfície de uma cerâmica bioativa (CBA) induz a biomineralização do fosfato de cálcio (HA) através da interação com o plasma sanguíneo, que é a primeira fase que interage com a superfície do implante após o mesmo ser inserido em defeitos teciduais. As espécies iônicas inorgânicas dissolvidas no plasma, uma solução saturada em relação aos fosfatos de cálcio, apresentam um grande potencial de precipitação neste meio<sup>12,13</sup>. Apesar desta condição metaestável para que ocorra a precipitação do fosfato de cálcio, a superfície do material tem que induzir uma nucleação heterogênea, seguida pelo crescimento de uma camada de HA.

Devido às dificuldades experimentais e éticas inerentes aos procedimentos *in vivo*, vários procedimentos *in vitro* foram propostos para se testar a bioatividade de materiais sintéticos. Estudos pioneiros deste tipo foram realizados por Hench *et al.*<sup>14</sup>, os quais mostraram o crescimento da camada de HA, *in vitro*, em vidros que liberavam íons de cálcio e fósforo para o meio, imergindo-os em uma solução de água destilada tamponada com tris-hidroximetil-amino-metano e HCl (tampão tris) a um pH de 7,25 a 37 °C. Entretanto, quando outros tipos de vidros<sup>15</sup>, que não continham cálcio e fósforo em sua composição original mas que apresentavam bioatividade *in vivo*, eram imersos no tampão tris, não ocorria o crescimento da camada de HA.

Em 1990, Kokubo<sup>16</sup> propôs uma nova solução aquosa para testes de bioatividade contendo concentrações de íons semelhantes às presentes no plasma humano e tamponamento com tris-hidroximetil-amino-metano. Tal solução foi capaz de induzir mudanças estruturais na superfície de materiais bioativos semelhantes às apresentadas *in vivo*, ou seja, formava-se uma camada de HA. Esta solução, chamada “Simulated Body Fluid” (SBF), é acelular, livre de proteínas e apresenta um pH de 7,40. Sua composição é comparada à composição iônica do plasma sanguíneo na Tabela 1. O procedimento atualmente mais usado para teste de bioatividade *in vitro* consiste em imergir o material a ser testado em solução SBF por períodos de tempo entre 3 h e 15 dias e verificar se houve formação de HA na superfície do material. Materiais com diferentes graus de bioatividade são classificados de acordo com o tempo necessário para aparecimento da camada de HA<sup>17</sup>. Análises de absorção na região do Infravermelho com transforma-

\*e-mail: rosanazd@ufmg.br

**Tabela 1.** Concentração iônica do plasma sanguíneo humano e da solução que simula o fluido corporal (SBF)

|                      | Concentração iônica (mM) |                |                  |                  |                 |                               |                                |                               |
|----------------------|--------------------------|----------------|------------------|------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|                      | Na <sup>+</sup>          | K <sup>+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> | Cl <sup>-</sup> | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> |
| <b>SBF</b>           | 142,0                    | 5,0            | 2,5              | 1,5              | 147,8           | 4,2                           | 1,0                            | 0,5                           |
| <b>Plasma humano</b> | 142,0                    | 5,0            | 2,5              | 1,5              | 103,0           | 27,0                          | 1,0                            | 0,5                           |

da de Fourier (FTIR) e de microscopia eletrônica de varredura utilizando a técnica de espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS) são usadas para averiguar a formação de HA.

### EMPREGO DO MÉTODO SOL-GEL PARA PRODUÇÃO DE BIOCERÂMICAS

Vidros e vitro-cerâmicas bioativos podem ser obtidos pelo método convencional de fusão e resfriamento rápido ou pelo método sol-gel. O método sol-gel surgiu no fim da década de 90 e pode ser visto como uma seqüência de processos inter-relacionados que envolvem a síntese de uma rede inorgânica obtida pela mistura de alcoóxidos e água na presença de solvente e catalisador, seguida por hidrólise, gelatinização, remoção de resíduos orgânicos e água dos poros do gel sólido por tratamento a baixas temperaturas. Finalmente, a densificação do gel seco por tratamento térmico pode levar a materiais porosos (xerogéis) ou densos, na forma de pós ou monolitos<sup>18,19</sup>.

Devido ao fato de os vidros produzidos por sol-gel poderem ser preparados a temperaturas relativamente baixas, variando desde a temperatura ambiente até 600-700 °C, dependendo do tipo de secagem usada, muitas das desvantagens dos processos convencionais a altas temperaturas podem ser eliminadas e vantagens potenciais, como menor custo operacional e fácil produção de pós<sup>20</sup>, são obtidas. Biovidros obtidos pelo processo convencional são bioativos até a concentração de sílica igual a, aproximadamente, 60% em mol enquanto que os vidros obtidos por via sol-gel são bioativos mesmo a concentrações de sílica iguais a 90% em mol, possibilitando a obtenção de materiais mais resistentes mecanicamente, com potencial uso para arcabouços em implantes ósseos<sup>1,20</sup>. A velocidade de formação da HA e o índice de bioatividade em um vidro obtido pelo método sol-gel são maiores que em vidros fundidos com os mesmos constituintes<sup>1,21</sup>. Estas características são atribuídas à maior liberação de sílica solúvel, o que induz à nucleação dos cristais de HA nos poros do vidro<sup>22,23</sup> e um maior controle das propriedades texturais do material, como a área superficial, o volume dos poros, a distribuição homogênea dos tamanhos dos poros<sup>24,25</sup> e a modificação da superfície de sílica<sup>26</sup>.

O método sol-gel de produção de vidros bioativos também pode ser usado para revestir substratos mecanicamente resistentes, ampliando a utilização dos mesmos. Devido ao seu caráter quebradiço, os vidros têm uso limitado a regiões do organismo que não estão sujeitas a grandes demandas de carga mecânica, como na substituição de pequenos ossos do ouvido interno<sup>27-30</sup>. Domingues *et al.*<sup>31,32</sup> revestiram materiais bioinertes como as fibras de vidro de aluminossilicato e o colágeno com tetraóxido de silício (TEOS) puro e observaram que estes materiais se tornaram bioativos após o tratamento químico. Um aspecto importante deste método de revestimento é o fato dele não ser contínuo, ou seja, apenas as superfícies dos materiais são recobertas, enquanto os espaços vazios entre os mesmos, como no caso de materiais fibrosos, podem ser conservados. A presença desta porosidade é indispensável para o crescimento de novos vasos sanguíneos, o que ocorre apenas em regiões onde há fluxo do plas-

ma sanguíneo. Além disto, o recobrimento reduz a citotoxicidade dos materiais<sup>33</sup>. Estudos de angiogênese *in vivo* por meio do implante de amostras de colágeno e colágeno revestido quimicamente em camundongos mostraram que houve um maior aporte sanguíneo no material revestido<sup>34</sup>, tornando-o mais compatível com o processo de formação de novos vasos.

Já que a produção das matrizes porosas pelo processo sol-gel ocorre em temperaturas e pressões próximas à do ambiente, elas podem incorporar uma fase líquida contendo grande diversidade de moléculas orgânicas e biológicas, como medicamentos (antibióticos e antiinflamatórios), enzimas e fatores de crescimento<sup>35</sup> (peptídeos solúveis que se acoplam aos receptores presentes na superfície da célula alvo)<sup>36</sup>.

O estudo da incorporação de moléculas biológicas em vidros obtidos pelo método sol-gel teve início na metade dos anos 50, quando Dickey<sup>37</sup> mostrou que enzimas aprisionadas em tais materiais mantinham parcialmente sua atividade biológica. Entretanto, foi somente a partir de 1990 que tais pesquisas foram reiniciadas, quando Avnir e colaboradores<sup>38</sup> obtiveram resultados semelhantes aos de Dickey ao estudarem uma série de enzimas, incluindo a aspartase e a fosfatase alcalina aprisionadas em vidros derivados do TEOS. Atualmente, um grande número de trabalhos descreve o aprisionamento de diferentes espécies biológicas tais como enzimas, anticorpos, proteínas reguladoras, proteínas de ligação a membranas, ácidos nucleicos e, até mesmo, células inteiras em materiais compostos produzidos pelo método sol-gel<sup>39-45</sup>.

A imobilização de proteínas em vidros derivados desse método apresenta grandes vantagens, tais como a de produzir materiais opticamente transparentes, ideais para desenvolvimento de sensores químicos e bioquímicos baseados em alterações de absorvância ou fluorescência. Como em biossensores os reconhecedores são componentes biológicos (enzima, anticorpo, antígeno), o processo bioquímico é a fonte do sinal analítico<sup>46-49</sup>. As vantagens potenciais da incorporação de biossensores à rede sol-gel são a alta sensibilidade, o curto tempo de resposta, o pequeno tamanho e a facilidade de manipulação.

Uma outra aplicação da incorporação de células vivas à rede sol-gel é a produção de materiais eletricamente condutores para sensores eletroquímicos com tamanho e distribuição dos poros controlados. Isso permite a difusão de pequenas moléculas e íons para dentro da matriz, enquanto que as moléculas maiores permanecem aprisionadas nos poros<sup>50</sup>.

A liberação controlada de reagentes ou de medicamentos por vidros produzidos pelo método sol-gel é outro aspecto com importância tecnológica potencial, devido ao fato destes vidros serem biocompatíveis para implantes em mamíferos. As substâncias biologicamente ativas podem ser incorporadas durante a transição sol-gel, ou após a formação do vidro. Esta última técnica tem a vantagem de evitar uma possível ligação estável da substância à rede da sílica, o que reduziria a liberação do medicamento. A liberação de uma grande variedade de substâncias, incluindo esteróides<sup>51</sup>, fármacos anti-cancerígenos<sup>52</sup>, antibióticos<sup>53-55</sup>, anticoagulantes<sup>56</sup>, fármacos coronarianas<sup>57</sup>, fatores de crescimento<sup>58</sup> e proteínas<sup>59</sup>, tem sido testada. Em geral, a velocidade de liberação das espécies aprisionadas

está relacionada à dissolução da matriz de sílica, embora possa ocorrer, também, simples difusão da substância a partir do vidro<sup>60</sup>. A velocidade de liberação das espécies pode ser regulada variando-se parâmetros tais como a concentração da espécie, a incorporação de aditivos<sup>60</sup>, as condições de secagem e o pH<sup>52</sup> do meio.

O uso de materiais vítreos derivados do método sol-gel ainda não está autorizado para aplicações clínicas em humanos, mas, levando-se em conta que a formação da camada de HA é mais rápida nestes materiais que em vidros derivados de fusão, sua aplicação clínica em humanos provavelmente tomará o lugar dos vidros fundidos.

## FATORES QUE AFETAM A BIOATIVIDADE DO MATERIAL

Os mecanismos de nucleação e crescimento da HA nos substratos de sílica gel são controversos. A importância relativa da composição, dos grupos silanóis na estrutura, de defeitos na superfície<sup>27,28</sup>, do tamanho e volume dos poros<sup>27</sup> e da adsorção de íons silicatos dissolvidos dos géis de sílica<sup>29</sup> são alguns dos parâmetros mais estudados.

A ligação efetiva de um material sintético com o tecido ósseo foi primeiramente demonstrada para vidros fundidos que apresentavam proporções específicas de SiO<sub>2</sub> (45%), Na<sub>2</sub>O (24,5%), CaO (24,5%) e P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (6%)<sup>6</sup>. Outros sistemas quaternários semelhantes a esse também foram testados com sucesso<sup>61</sup> e por muito tempo supôs-se que o material deveria conter fósforo e cálcio para ser bioativo. Estes resultados foram interpretados quantitativamente em termos do aumento da super saturação do fluido circunvizinho com relação à apatita, devido à dissolução do íon cálcio dos vidros<sup>62</sup>. Entretanto, Ohtsuki *et al.*<sup>62</sup> mostraram que a composição não bioativa, CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, apresenta maior grau de super saturação que o vidro bioativo CaO-SiO<sub>2</sub> e concluíram que o aumento de saturação de cálcio e fósforo pode não ser tão relevante para a deposição da apatita. Kokubo *et al.*<sup>63</sup> mostraram que vidros que não continham cálcio e fósforo também podem ser bioativos<sup>11</sup>. Para estes autores, a formação de uma camada de sílica hidratada na superfície do vidro é a característica que mais influencia a bioatividade do material.

A bioatividade de vidros contendo óxidos metálicos é outro tema controverso<sup>64</sup>. Ebisawa *et al.*<sup>65</sup> mostraram que a adição de MgO diminuí a bioatividade de vidros contendo CaO-SiO<sub>2</sub>. Este fato foi interpretado em termos do efeito do MgO na supressão da dissolução do cálcio, o que inibia a formação da camada de sílica gel. Posteriormente, outros trabalhos discordaram deste estudo inicial, mostrando que é possível adicionar até 28% de MgO a vidros sem perda da bioatividade<sup>66</sup>.

Vários autores<sup>67-69</sup> consideram que a presença de Al, mesmo que em pequena quantidade, inibe a bioatividade do material, mas nem sempre isto é observado. O comportamento bioativo de um vidro ou de uma vitro-cerâmica é determinado, também, pela reatividade química da superfície e pelos arranjos estruturais. Exemplos da influência dos arranjos estruturais na bioatividade de um material são dados a seguir: a adição de 1,7% mol de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> à vitro-cerâmica denominada A-W (apatita e wolastonita) para obter a A-W (Al) resulta em um material não bioativo<sup>70</sup>. Neste caso, o Al<sup>3+</sup> permanece na fase vítrea<sup>71</sup> aumentando a resistência à corrosão do vidro e inibindo o desencadeamento da formação da camada de sílica hidratada responsável pela bioatividade do material<sup>22,23</sup>. Em outro fosfosilicato multifásico bioativo, a vitro-cerâmica denominada Bioverit I (SiO-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-MgO-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), o Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> pode aparecer em porcentagem molar superior a 18%, sem afetar a bioatividade do material. Esta cerâmica possui a apatita e a flogopita como fases cristalinas e uma vez que o Al<sup>3+</sup> está incorporado na flogopita,

ele não interfere na solubilidade da fase vítrea e tem um efeito negligenciável na reatividade da superfície<sup>69</sup>.

Já o papel da sílica é inquestionável. A sílica desempenha um papel importante na biomineralização de muitos organismos, inclusive dos corais<sup>72</sup>. Hench *et al.*<sup>73</sup> avaliaram a influência da sílica na bioatividade do Bioglass<sup>®</sup>. A sílica é um polímero inorgânico formado por grupos siloxanos (Si-O-Si) em seu interior e de grupos silanóis em sua superfície<sup>25</sup>. A alta densidade dos grupos silanóis (Si-OH) existentes na superfície da sílica amorfa, por ex., é considerada responsável pelo crescimento da HA e pela formação de osso no Bioglass<sup>®</sup> e em vitro-cerâmicas. Os grupos silanóis presentes em vidros induzem a formação da HA em maior extensão que as superfícies de sílica cristalinas ou tratadas termicamente<sup>74</sup>.

## MECANISMO DE NUCLEAÇÃO DA APATITA POR GRUPOS FUNCIONAIS

Com base na composição de vidros e vitro-cerâmicas, vários mecanismos foram propostos para explicar as reações que ocorrem em materiais bioativos. Segundo Hench<sup>75,76</sup>, as reações que ocorrem na superfície do vidro podem ser resumidas em cinco estágios:

- 1 - troca iônica entre a solução e a superfície do vidro, levando à liberação de íons como Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> e à formação de grupos silanóis (Si-OH);
- 2 - liberação de sílica solúvel do vidro, devido à quebra das ligações Si-O-Si;
- 3 - policondensação de grupos silanóis e formação de uma camada porosa rica em sílica;
- 4 - aumento da concentração de Ca<sup>2+</sup> e PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> na solução com o tempo, devido à liberação de íons do vidro e posterior formação de um filme rico em CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na superfície do vidro quando o ponto de saturação é alcançado. A alta área superficial da camada rica em sílica age como uma fonte de sítios para a nucleação heterogênea do filme de CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> amorfo e
- 5 - cristalização de uma camada de HA pela incorporação de ânions OH<sup>-</sup> e CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> da solução.

Kokubo *et al.*<sup>11</sup> propuseram outro mecanismo para explicar a formação da apatita. Inicialmente, há liberação dos íons Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> ou K<sup>+</sup> da superfície dos vidros via troca com o íon H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> da solução SBF formando grupos Si-OH ou Ti-OH na superfície. Em seguida, moléculas de água da solução SBF atacam as ligações Si-O-Si ou Ti-O-Ti para formar grupos adicionais Si-OH ou Ti-OH. Os grupos Si-OH e Ti-OH formados induzem a nucleação da apatita e os íons Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> ou K<sup>+</sup> liberados a aceleram, aumentando o produto de atividade iônica da apatita no fluido<sup>16,77</sup>. Assim que o núcleo da apatita é formado, pode crescer espontaneamente, consumindo os íons cálcio e fosfato do fluido circunvizinho, o qual é super saturado em relação à apatita<sup>12,13</sup>. Este mecanismo foi comprovado usando espectroscopia fotoeletrônica de raios X (XPS) e um microscópio eletrônico de transmissão acoplado a um analisador de energia dispersiva de raios X (TEM-EDS)<sup>78,79</sup>.

Outros estudos relatam a importância da existência de carga negativa na superfície do material para que eles possam induzir a formação da camada de HA. Um estudo do potencial zeta da superfície do titanato de sódio foi feito por eletroforese a laser, em vários tempos de imersão em solução SBF<sup>80</sup>. Imediatamente após imersão, a superfície do titanato de sódio encontrava-se carregada negativamente. O potencial de superfície aumentou com o tempo de imersão, atingiu um valor positivo máximo, oscilando, em seguida, até convergir para um valor negativo constante.

Estes resultados podem ser explicados da seguinte forma. Os grupos Ti-OH, formados na superfície do titanato de sódio de-

pois de imersos em solução SBF estão carregados negativamente e, conseqüentemente, combinam-se seletivamente com os íons  $\text{Ca}^{2+}$ , carregados positivamente no fluido, para formar o titanato de cálcio. Quando os íons cálcio se acumulam na superfície, ela gradualmente adquire uma carga total positiva. Como resultado, a superfície carregada positivamente combina-se com os íons fosfato carregados negativamente para formar o fosfato de cálcio amorfo. Este fosfato de cálcio se transforma espontaneamente em apatita, que é a fase estável no ambiente corporal<sup>81</sup>.

Domingues *et al.*<sup>31,32</sup> explicaram a bioatividade de fibras de vidro de aluminossilicato e de fibras de colágeno tratadas quimicamente em TEOS com base nos resultados de potencial zeta. Através desta análise, foi verificado que os materiais não bioativos (não tratados quimicamente) apresentaram um pH no ponto isoelétrico maior que o pH da solução SBF (aproximadamente 8 para a fibra de vidro e 9,6 para o colágeno) e, portanto, desenvolvem uma carga superficial positiva quando imersos nesta solução. Estes resultados podem ser visualizados nas Figuras 1a superior e inferior. Em contraste, os materiais bioativos (tratados quimicamente) apresentaram pH no ponto isoelétrico menor (aproximadamente 1,6 para a fibra de vidro e 6,8 para o colágeno) que o pH da solução SBF (Figuras 1b superior e inferior) e, portanto, apresentam carga negativa quando imersos em solução SBF.

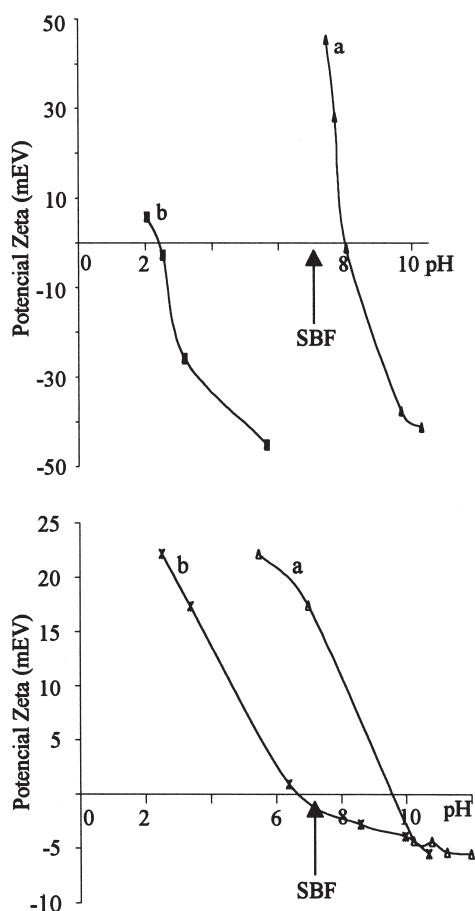


Figura 1. Potencial zeta das amostras de fibra de vidro (superior) e de colágeno (inferior): a) sem tratamento e b) após tratamento químico

## CONCLUSÕES

Dentre os biomateriais mais promissores como substitutos ósseos, destacam-se as cerâmicas bioativas que, por serem sintéti-

cas, podem ser produzidas em grandes quantidades com controle dos parâmetros físico-químicos como pureza, porosidade, área superficial, tamanho de grãos, etc. Os mecanismos envolvidos no processo de formação da camada de hidroxiapatita em materiais expostos a diferentes fluidos fisiológicos ainda são controversos, mas muitos são os parâmetros que sabidamente possibilitam este processo. Dependendo do tipo de rota sintética usada, como por ex. o processo sol-gel, estes materiais podem ter propriedades adicionais compatíveis com sua aplicação como materiais bioativos em dispositivos de liberação controlada de moléculas orgânicas e biológicas.

## REFERÊNCIAS

- Pereira, M. M.; Clark, A. E.; Hench, L. L.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1994**, 28, 693.
- Borges, A. P. D.; Rezende, C. M. F.; Ribeiro, M. F. B.; Melo, E. G.; Nobrega Neto, P. I.; *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* **2000**, 52, 616.
- Hench, L. L.; Wilson, J.; *Introduction to Bioceramics*, World Scientific: Singapore, 1993.
- Ratner, B. D.; Hoffman, A. S.; Schoen, F. J.; Lemons, J. E.; *An Introduction to Materials in Medicine*, Academic Press: New York, 1996.
- Cao, W.; Hench, L. L.; *Ceram. Int.* **1996**, 22, 493.
- Hench, L. L.; Splinter, R. J.; Greenlee, T. K.; Allen, W. C.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1971**, 5, 117.
- Hench, L. L.; *J. Am. Ceram. Soc.* **1991**, 74, 1487.
- Kokubo, T.; *J. Ceram. Soc. Jpn.* **1991**, 99, 965.
- Hench, L. L.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, 41, 511.
- Kim, H. M.; *J. Ceram. Soc. Jpn.* **2001**, 109, S49.
- Kokubo, T.; Kim, H. M.; Kawashita, M.; *Biomaterials* **2003**, 24, 2161.
- Neuman, W.; Neuman, M.; *The Chemical Dynamics of Bone Mineral*, University of Chicago Press: Chicago, 1958.
- Gamble, J.; *Chemical Anatomy, Physiological and Pathology of Extracellular Fluid*, Harvard University Press: Harvard, 1967.
- Pantano, C. G.; Clark, A. E.; Hench, L. L.; *J. Am. Ceram. Soc.* **1974**, 57, 412.
- Salinas, A. J.; Roman, J.; Vallet-Regí, M.; Oliveira, J. M.; Correia, R. N.; Fernandes, M. H.; *Biomaterials* **2000**, 21, 251.
- Kokubo, T.; Kushitani, H.; Sakka, S.; Kitsugi, T.; Yamamuro, T.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1990**, 24, 721.
- Hench, L. L.; West, J. K.; *Life Chem. Reports* **1996**, 13, 187.
- Brinker, C. J.; Scherer, G. W.; *J. Non-Cryst. Solids* **1985**, 70, 301.
- Rubio, F.; Oteo, J. L.; *Termochim. Acta* **1997**, 307, 51.
- Li, R.; Clark, A. E.; Hench, L. L.; *J. Appl. Biomater.* **1991**, 2, 231.
- Pereira, M. M.; Clark, A. E.; Hench, L. L.; *J. Mater. Synth. Process.* **1994**, 2, 189.
- Greenspan, D. C.; Zhong, J. P.; La Torre, G. P.; Booher, M.; *23<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Society for Biomaterials*, New Orleans, EUA, 1997.
- Radin, S.; Ducheyne, P.; Reicin, K. E.; Lee, M. H.; *23<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Society for Biomaterials*, New Orleans, EUA, 1997.
- Vallet-Regí, M.; Arcos, D.; Pérez-Pariente, J.; *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, 51, 23.
- de Farias, R. F.; Airoidi, C.; *Quim. Nova* **2000**, 23, 88.
- Airoidi, C.; de Farias, R. F.; *Quim. Nova* **2000**, 23, 496.
- Pereira, M.; Hench, L. L.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **1996**, 7, 45.
- Cho, S. B.; Nakanishi, K.; Kokubo, T.; Soga, N.; Ohtsuki, C.; Nakamura, T.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1996**, 33, 145.
- Cho, S. B.; Miyaji, F.; Kokubo, T.; Nakanishi, K.; Soga, N.; Nakamura, T.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1996**, 32, 375.
- Li, P.; Kokubo, T.; Nakanishi, K.; de Groot, K.; *Biomaterials* **1993**, 14, 963.
- Andrade, A. L.; Ferreira, J. M. F.; Domingues, R. Z.; *J. Biomed. Mater. Res.* **2004**, 70B, 378.
- Andrade, A. L.; Ferreira, J. M. F.; Domingues, R. Z.; *Mater. Res.* **2004**, 7, 631.
- Andrade, A. L.; Turchetti-Maia, R. M. M.; Lopes, M. T. P.; Salas, C. E.; Domingues, R. Z.; *Mater. Res.* **2004**, 7, 635.
- Andrade, A. L.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, 2004.
- <http://www.rsbccancer.com.br/rsbc/7artigo1.asp?nrev=N%C2%BA%C2%A07>, acessada em Outubro 2004.
- Braun, S.; Avnir, D.; *Biochemical Aspects of Sol-Gel Science and Technology: A Special Issue of the Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 1996.
- Dickey, F. H.; *J. Phys. Chem.* **1955**, 58, 695.

38. Braun, S.; Rappoport, S.; Zusman, R.; Avnir, D.; Ottolenghi, M.; *Mater. Lett.* **1990**, *10*, 1.
39. Avnir, D.; Braun, S.; Lev, O.; Ottolenghi, M.; *Chem. Mater.* **1994**, *6*, 1605.
40. Gill, I.; Ballesteros, A.; *Tibtech.* **2000**, *18*, 282.
41. Livage, J.; Coradin, T.; Roux, C.; *J. Phys.: Condens. Matter* **2001**, *13*, R673.
42. Hench, L. L.; *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **1997**, *2*, 604.
43. Camprostrini, R.; Carturan, G.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **1996**, *7*, 87.
44. Rietti-Shati, M.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **1996**, *7*, 77.
45. Pope Edward, J. A.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **1997**, *8*, 635.
46. Mac Craith, B. D.; Mc Donagh, C.; Mc Evoy, A. K.; Butler, T.; Keeffe, G. O.; Murphy, V.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **1997**, *8*, 1053.
47. Bergveld, P.; *Sens. Actuators, A* **1996**, *56*, 65.
48. Sampeth, S.; Lev, O.; *J. Electroanal. Chem.* **1997**, *426*, 131.
49. Fatibello-Filho, O.; Capelato, M. D.; *Quim. Nova* **1992**, *15*, 28.
50. Jin, W.; Brennan, J. D.; *Anal. Chim. Acta* **2002**, *461*, 1.
51. Sieminska, L.; Ferguson, M.; Zerda, T.W.; Couch, E.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **1997**, *8*, 1105.
52. Korteso, P.; Ahola, M.; Kangas, M.; Yli-Urpo, A.; Kiesvaara, J.; Marvola, M.; *Int. J. Pharm.* **2001**, *221*, 107.
53. Radin, S.; Ducheyne, P.; Kamplain, T.; Tan, B. H.; *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *57*, 313.
54. Aughenbaugh, W.; Radin, S.; Ducheyne, P.; *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *57*, 321.
55. Domingues, Z. R.; Cortés, M. E.; Gomes, T. A.; Diniz, H. F.; Freitas, C. S.; Gomes, J. B.; Faria, A. M. C.; Sinisterra, R. D.; *Biomaterials* **2004**, *25*, 327.
56. Ahola, M. S.; Sailynoja, E. S.; Raitavuo, M. H.; Vaahtio, M. M.; Salonen, J. I.; Yli-Urpo, A. U. O.; *Biomaterials* **2001**, *22*, 2163.
57. Bottcher, H.; Slowik, P.; Suss, W.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **1998**, *13*, 277.
58. Nicoll, S. B.; Radin, S.; Santos, E. M.; Tuan, R. S.; Ducheyne, P.; *Biomaterials* **1997**, *18*, 853.
59. Santos, E. M.; Radin, S.; Ducheyne, P.; *Biomaterials* **1999**, *20*, 1695.
60. Ahola, M.; Korteso, P.; Kangasniemi, I.; Kiesvaara, J.; Yli-Urpo, A.; *Int. J. Pharm.* **2000**, *195*, 219.
61. <http://www.bg.ic.ac.uk/Lectures/Hench/BioGlass/cal3.htm>, acessada em Outubro 2004.
62. Ohtsuki, C.; Kokubo, T.; Yamamuro, T.; *J. Non-Cryst. Solids* **1992**, *143*, 84.
63. Ohura, K.; Yamamuro, T.; Nakamura, T.; Kokubo, T.; Ebisawa, Y.; Kotoura, T.; Oka, M.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1991**, *25*, 357.
64. Oliveira, J. M.; Correia, R. N.; Fernandes, M. H.; *Biomaterials* **2002**, *23*, 371.
65. Ebisawa, Y.; Kokubo, T.; Ohura, K.; Yamamuro, T.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1990**, *1*, 239.
66. Vogel, W.; Holand, W.; *J. Non-Cryst. Solids* **1990**, *123*, 349.
67. Bromer, H.; Deutscher, K.; Blencke, B.; Pfeil, E.; Strunz, V.; *Sci. Ceram.* **1977**, *9*, 219.
68. Hench, L. L.; Andresson, O.; *An Introduction to Bioceramics*, World Scientific: Singapore, 1993.
69. Oliveira, J. M.; Correia, R. N.; Fernandes, M. H.; *Biomaterials* **1995**, *16*, 849.
70. Ohtsuki, C.; Kokubo, T.; Yamamuro, T.; *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1992**, *3*, 119.
71. Kokubo, T.; *Biomaterials* **1991**, *12*, 155.
72. Borum, L.; Wilson Jr., O. C.; *Biomaterials* **2003**, *24*, 3681.
73. Hench, L. L.; Paschall, H. A.; *J. Biomed. Mater. Res.* **1973**, *7*, 25.
74. Li, P.; Ohtsuki, C.; Kokubo, T.; Nakanishi, K.; Soga, N.; Nakamura, T.; Yamamuro, T.; *J. Am. Ceram. Soc.* **1992**, *75*, 2094.
75. Saravanapavan, P.; Jones, J. R.; Pryce, R.S.; Hench, L. L.; *J. Biomed. Mater. Res. Part. A* **2003**, *66*, 110.
76. Peitl, O.; Zanutto, E. D.; Hench, L. L.; *J. Non-Cryst. Solids* **2001**, *292*, 115.
77. Kim, H. M.; Miyaji, F.; Kokubo, T.; Ohtsuki, C.; Nakamura, T.; *J. Am. Ceram. Soc.* **1995**, *78*, 2405.
78. Takadama, H.; Kim, H. M.; Kokubo, T.; Nakamura, T.; *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 1108.
79. Takadama, H.; Kim, H. M.; Kokubo, T.; Nakamura, T.; *J. Am. Ceram. Soc.* **2002**, *85*, 1933.
80. Himeno, T.; Kawashita, M.; Kim, H. M.; Kokubo, T.; Nakamura, T.; *Bioceramics*, Switzerland, 2001.
81. Tung, M. S.; *Calcium Phosphate in Biological and Industrial System*, Kluwer Academic Publishers, 1998.