

Materiais Inteligentes para próteses de anca

Clara Maria Mesquita Frias



FEUP

*Tese submetida à Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto para a obtenção do grau de
Doutor em Ciências da Engenharia*

Departamento de Engenharia Mecânica e Gestão Industrial

Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Dezembro de 2009

Aos meus pais

Ao meu irmão Carlos Eduardo

À Joaquina

Agradecimentos

A realização do trabalho apresentado nesta dissertação não teria sido possível sem a colaboração de algumas pessoas e instituições, a quem eu quero deixar gravado o meu eterno apreço e gratidão.

Agradeço em particular ao meu orientador Professor Doutor António Torres Marques e ao meu co-orientador Professor Doutor José António Simões por me terem proposto este tema e pela disponibilidade e apoio que sempre me demonstraram.

Agradeço à Fundação Portuguesa para a Ciência e Tecnologia pelo apoio financeiro através da bolsa de doutoramento SFRH / BD / 22856 / 2005.

Agradeço ao Professor Doutor Mário Barbosa pela forma como me acolheu no Programa Doutoral em Engenharia Biomédica, onde completei o 1º ano em 2006/2007, que me dotou das ferramentas necessárias para a elaboração deste trabalho.

Agradeço ao Instituto de Engenharia e Gestão Industrial (INEGI), em particular à Unidade de Materiais e Estruturas Compósitas (UMEC). A todos os colegas desta unidade estou grata pelo apoio dado. Agradeço também ao Senhor Sertório Augusto Vidal Lares por ter sempre uma solução para todos os problemas que lhe coloquei durante a tese.

Agradeço a todos os colegas do Departamento de Engenharia Mecânica da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (FEUP) e em especial à Fernanda Fonseca por toda ajuda, simpatia e carinho com que sempre me tratou.

Agradeço a todos os colegas da Unidade de Optoelectrónica e Sistemas Electrónicos (UOSE) do INESC Porto por todo o apoio dado no desenvolvimento do trabalho. Destaco um agradecimento especial ao Orlando Frazão e ao Professor Doutor Sérgio Mendonça por nunca terem deixado de acreditar em mim, mesmo quando eu já não acreditava.

Agradeço a todos os colegas da Unidade de Física e Acelerómetros (UFA) do Instituto Tecnológico e Nuclear por terem recebido e disponibilizado todas as suas competências na realização deste trabalho. Um agradecimento especial à ‘Chefe’ Doutora Luísa Botelho da UFA.

Agradeço a todos os colegas do Projecto *PTDC/EME-PME/70824/2006* - ‘Componente femoral da prótese da anca para a aquisição de descolamento *in vivo*’.

Agradeço aos colegas do Departamento de Bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto e aos colegas do Instituto Nacional de Engenharia Biomédica (INEB).

Agradeço aos quatro mosqueteiros Joana Reis, Pedro Mimoso, Bruno Capinha e André Vieira por toda a ajuda na revisão do texto e por toda a ajuda durante estes anos.

Resumo

A artroplastia total de anca é um procedimento que tem sido cada vez mais frequentemente necessário e presume-se que vários factores contribuam para a manutenção desta tendência de crescimento, inclusive em pacientes cada vez mais jovens. O insucesso de um procedimento primário de artroplastia tem um enorme impacto económico e no bem-estar do paciente. O insucesso da artroplastia total de anca deve-se frequentemente a processos de migração e afundamento da haste femoral, fractura do manto de cimento ou fracturas do osso circundante ao implante devido a diminuição progressiva da massa óssea, causada pela alteração do ambiente “mecânico” local. As cirurgias de revisão têm menores taxas de sucesso associadas e implicações negativas em termos financeiros e clínicos.

Com o objectivo de desenvolver estratégias que permitam monitorizar a evolução da prótese de anca após implantação, programar medidas de correcção, promover adequadas medidas de reabilitação músculo-esquelética e intervir directamente na interface osso/ implante, foi elaborado um estudo exploratório de materiais tendo em vista o desenvolvimento de próteses de anca inteligentes. Um implante inteligente deve congrega capacidade sensorial e actuadora, de forma a detectar e corrigir processos de falência.

Ao longo desta dissertação foi explorada a aplicação de três tipos de sensores ópticos na monitorização da integridade do manto de cimento em torno de um modelo simplificado de haste femoral e em torno de uma haste de prótese.

Para conceder capacidades de estimulação do tecido ósseo à prótese da anca, estudou-se a possibilidade de aplicação de materiais piezoeléctricos, recorrendo ao efeito piezoeléctrico inverso. É descrita a modificação de materiais disponíveis comercialmente, bem como os necessários estudos *in vitro* de citocompatibilidade, genotoxicidade e comprovada a sua capacidade para estimulação directa de células ósseas.

Abstract

Total hip arthroplasty is a procedure increasingly being performed, inclusively in younger patients and several factors contribute for the ongoing of the present trend. Primary failures of arthroplasties have an enormous economic impact and effect on patient's wellbeing.

Implant failure is frequently due to migration and subsidence of femoral stem, cement mantle fracture and femoral bone fracture due to diminishing bone mass caused by stress-shielding and fatigue.

Revision surgeries have lower success rates and therefore clinical and economic negative implications.

Aiming the developing of strategies that allow post-surgical implant monitorization, scheduling of correction measures, adequate muscle-skeletal rehabilitation programs and direct intervention at bone/ implant interface, an exploratory study was conducted. The ultimate goal was to contribute for the development of smart hip implants by exploring several materials with sensing and actuating capabilities. Providing an implant with sensing and actuating properties can permit detection and correction of failure mechanisms.

The results of the use of three different types of optical sensors for cement mantle monitorization along the femoral stem of both simplified prototype and commercial hip implant are presented. In order to provide actuating capabilities to the hip implant, the possibility of applying piezoelectric materials was explored. The process was based on the inverse piezoelectric effect. The adaptation of commercially available materials is described, along with the indispensable *in vitro* studies, concerning cytocompatibility, genotoxicity and the potential for direct bone cell mechanical stimulation is assessed.

Resumé

L'arthroplastie totale de la hanche est une technique de plus en plus utilisée et l'on présume que différents facteurs contribuent pour le maintien de cette tendance d'accroissement, et d'autant plus dans le cas de jeunes patients. L'échec d'une procédure primaire d'arthroplastie a un énorme impacte économique et sur le bien-être du patient. L'insuccès d'arthroplastie total de la hanche se doit fréquemment à des processus de migration et à l'enfoncement de l'hampe fémorale, à la fracture du manteau de ciment ou aux fractures de l'os entourant l'implant dû à une diminution progressive de la masse osseuse, causée par la modification de l'environnement mécanique local. Les chirurgies de révision ont associés des faibles taux de succès et des implications négatives en termes financiers et cliniques.

Avec l'objectif de développer des stratégies qui permettent de superviser l'évolution de la prothèse de la hanche après l'implantation, de programmer des mesures de correction, de promouvoir des mesures adéquates de réhabilitation musculo-squelettique et d'intervenir directement dans l'interface os/implant, il a été élaboré une étude exploratoire de matériaux en vue du développement de prothèses de la hanche intelligentes. Un implant intelligent doit réunir la capacité sensorielle et d'action, de manière à détecter et corriger les erreurs de processus. Tout au long de cette dissertation nous avons explorée l'application de trois types de capteurs optiques pour la surveillance du manteau en ciment autour d'un modèle simplifié d'hampe fémorale et autour d'une hampe de prothèse commercialisée amplement utilisée.

Pour permettre la possibilité d'action à la prothèse de la hanche nous avons étudié la possibilité d'utiliser des matériaux piézoélectriques, en faisant appel à l'effet piézoélectrique inverse. Nous décrivons la modification des matériaux disponibles commercialement, ainsi que les études nécessaires in vitro de citocompatibilité, genotoxicité et vérifié sa capacité pour la stimulation directe de cellules osseuses.

Índice

1	Materiais inteligentes para prótese de anca: enquadramento	1
1.1	Enquadramento e motivação.....	1
1.2	Referências Bibliográficas.....	4
2	Implante de anca inteligente	6
2.1	Introdução.....	6
2.2	Breve introdução ao conceito de materiais inteligentes	11
2.3	Estado actual de desenvolvimento de implantes inteligentes.....	13
2.4	Referências Bibliográficas.....	22
3	Sensores em fibra óptica.....	29
3.1	Objectivo	29
3.2	Introdução.....	30
3.3	Sensores em fibra óptica.....	32
3.4	Classes de sensores em fibra óptica	34
3.4.1	Sensores de Bragg em fibra óptica	34
3.4.2	Sensor em fibra óptica usando uma rede aperiódica	38
3.4.3	Sensores ópticos interferométricos.....	39
3.5	Aplicações biomédicas dos sensores de fibra ópticas	40
3.6	Estudos experimentais.....	44
3.6.1	Monitorização do manto de cimento ósseo numa artroplastia de anca cimentada com sensores FBG uniformes	44

3.6.2	Detecção de fissuração do manto de cimento ósseo com um sensor FBG com um espelho na extremidade.....	53
3.6.3	Sensor em fibra óptica usando uma rede aperiódica	57
3.7	Discussão dos resultados e conclusões.....	58
3.8	Referências Bibliográficas.....	61
4	Aplicação de sensores de Bragg em fibra óptica na monitorização de um componente femoral de uma prótese de anca.....	65
4.1	Objectivo.....	65
4.2	Introdução.....	66
4.3	Estudos experimentais	68
4.3.1	Modelo simplificado da geometria de uma haste femoral	68
4.3.2	Validação in-vitro de um protótipo laboratorial de uma componente femoral	73
4.4	Discussão dos resultados e conclusões.....	76
4.5	Referências Bibliográficas.....	77
5	Materiais piezoeléctricos como estimuladores mecânicos de células ósseas	82
5.1	Objectivo.....	82
5.1.1	Introdução	83
5.2	Estudos experimentais	86
5.2.1	Estudos de biocompatibilidade da membrana piezoeléctrica.....	88
5.2.2	Caracterização dos níveis de deformação mecânica.....	94

5.2.3	Estudo experimental do comportamento piezoelétrico por processo de holografia (Electronic Speckle Pattern Interferometry).....	97
5.3	Discussão dos resultados e conclusões.....	99
5.4	Referencias Bibliográficas.....	100
6	Aplicação <i>in-vitro</i> de materiais piezoelétricos como estimuladores mecânicos de células osteoblásticas	106
6.1	Objectivo	106
6.2	Introdução.....	107
6.3	Estudos experimentais.....	110
6.3.1	pH no meio de cultura.....	113
6.3.2	Determinação da viabilidade e da actividade metabólica pelo método da resazurina	114
6.3.3	Medição dos níveis de concentração do óxido nítrico (NO) no meio de cultura	115
6.3.4	Teor de proteína total.....	117
6.4	Discussão dos resultados e conclusões.....	118
6.5	Referências Bibliográficas.....	120
7	Comentário Final.....	128
8	Trabalhos futuros	133

Índice de Figuras

Figura 2.1 As cinco maiores companhias mundiais de implantes ortopédicos representam 85% deste mercado económico.....	7
Figura 2.2 Evolução das diferentes eras dos materiais [30].....	12
Figura 2.3 Componente femoral de um implante de anca personalizada, instrumentada ao longo da haste com extensómetros [30, 31].....	18
Figura 2.4 Esquema ilustrativo da evolução dos implantes de anca instrumentados...	20
Figura 3.1 Formação de uma estrutura rede de Bragg foto-induzida no núcleo de uma fibra óptica normalizada. Técnica de escrita externa interferométrica.	35
Figura 3.2 Conceito do sensor FBG.	36
Figura 3.3 Conceito básico da variação do centro (Bragg) do comprimento de onda de um sensor FBG com a deformação longitudinal e a temperatura.....	38
Figura 3.4 Conceito básico de um sensor de fibra óptica com rede aperiódica.....	39
Figura 3.5 Conceito básico do interferómetro que combina a luz proveniente de uma fonte que parte da luz reflectida pela rede de Bragg e outra que continua e viaja até ao espelho (ponta da fibra).	40
Figura 3.6 Uma fibra óptica inserida num tendão de Aquiles humano a monitorizar em tempo real as forças aplicadas. Uma extremidade permanece no exterior para ligar ao transmissor e receptor ópticos [20]......	42
Figura 3.7 Mecanismo hipotético pelo qual o encastramento da fibra óptica na pele que envolve os tecidos moles provoca uma flexão da fibra [24].	43
Figura 3.8 (a) Construção osso prótese e diferentes forças a que o manto de cimento está sujeito: (b) carga aplicada responsável pelo afundamento da prótese (c) compressão radial no manto de cimento e (d) compressão em argola [9, 14].	46

Figura 3.9 AEF malha paramétrica a) malha global da amostra da compressão com 57600 elementos e 67195 nós; b) detalhe da malha do sensor FBG sensor com 1200 elementos.....	47
Figura 3.10 Esquema representativo do sistema de aquisição do sinal óptico nas diferentes amostras de cimento ósseo [14].....	48
Figura 3.11 Provete testado à tracção com um vazio resultante da evaporação do monómero (MMA).....	49
Figura 3.12 Medição da variação da temperatura no cimento ósseo através dos sensores FBG e teste dilatométrico [37°C a 43°C].	50
Figura 3.13 Variação da deformação, $\Delta\epsilon$, na direcção de maior sensibilidade do sensor FBG em função do comprimento de onda.....	51
Figura 3.14 Variação da deformação, $\Delta\epsilon$, aplicada transversalmente na direcção de sensibilidade do sensor e variação do comprimento de onda central para cargas superiores a 35 kN. No interior do gráfico é possível observar um comportamento não linear e insensibilidade para carga inferiores a 35 kN.....	52
Figura 3.15 a) O espectro inicial obtido pelo sensor sem reflexão de Fresnel e b) o espectro final obtido pelo sensor com reflexão de Fresnel.	54
Figura 3.16 Componente femoral da prótese de anca com a fissura e a fibra óptica. ..	55
Figura 3-17 Prótese de anca colocada num fémur sintético.....	55
Figura 3.18 O espectro inicial do sensor, (negrito). O espectro final com as franjas (linha) do interferómetro com o espaçamento de 1 nm.....	57
Figura 3.19 O espectro final obtido pelo sensor de fibra óptica com rede aperiódica: traço fino.....	58
Figura 4.1 a) Modelo simplificado da geometria de uma haste femoral em alumínio e um bloco em resina; b) modelo simplificado fixado com cimento ósseo (PMMA) no bloco de resina como suporte (simulando um fémur sintético).....	68

Figura 4.2 Ilustração da distribuição das fibras ópticas e respectivos sensores no modelo simplificado da haste femoral.	69
Figura 4.3 Ilustração do rasgo na superfície da haste femoral para colocar de forma estável da fibra óptica, embora admitindo apenas 10% do diâmetro total da fibra óptica no interior do rasgo na haste.	69
Figura 4.4 Variação do comprimento de onda, $\Delta\lambda$ (nm), em função do tempo, durante o processo de cura do manto de cimento. A aquisição do sinal óptico foi feita a 1Hz na fibra óptica 2 com os quatro sensores de Bragg (S1, S2, S3, S4 - estes sensores estão distribuídos ao longo da fibra, sendo que o S1 é o sensor mais proximal e o S4 o mais distal).	70
Figura 4.5 Variação do comprimento de onda $\Delta\lambda$ (nm), para os primeiros ciclos de carga aplicada (4.9kN).	72
Figura 4.6 Variação do comprimento, $\Delta\lambda$ (nm), durante os ciclos de aplicação de carga (4.9kN).	73
Figura 4.7 Distribuição de uma rede de oito sensores ópticos em redes de Bragg num componente femoral de um implante de anca. Os sensores S1, S2, S3 e S4 encontram-se na zona medial da haste e os sensores S5, S6, S7 e S8 na zona lateral.	74
Figura 4.8 Máquina e <i>set-up</i> utilizados para os ensaios de fadiga do protótipo laboratorial de uma haste femoral com oito redes de Bragg.	75
Figura 4.9 Variação do comprimento de onda central, $\Delta\lambda$, em função do número de ciclos aplicados.	75
Figura 5.1 Ilustração da membrana piezoelétrica, do sentido de polarização (direcção 3) e do sentido de maior deformação pelo efeito piezoelétrico associado (direcção 2).	87
Figura 5.2– Imagem da área activa da membrana piezoelétrica seleccionada para este estudo.	87
Figura 5.3 Viabilidade celular 24h após sementeira em membranas piezoelectricas virgens; os resultados estão expressos em percentagem relativamente ao controlo (células em	

placas de cultura). A disposição gráfica nas barras é a média \pm erro padrão da média, para n=9.	89
Figura 5.4– Esquema ilustrativo do equipamento de revestimento com velocidade controlada (0.238 m/s), desenvolvido para o revestimento de cada membrana piezoelétrica.	92
Figura 5.5– Imagens em microscópio óptico (microscópio óptico de platina invertida, Olympus PMG3) da distribuição do PMMA/BoneLike [®] na membrana piezoelétrica.	93
Figura 5.6- Modelo da distribuição do deslocamento na direcção 2, direcção do efeito piezoelétrico, para uma diferença de potencial de 5 Volt numa malha com 9109 nós. Os valores menores de deslocamento correspondem à extremidade encastrada.	95
Figura 5.7 -Modelo da distribuição do deslocamento na direcção 1, direcção transversal ao efeito piezoelétrico, para uma diferença de potencial de 5 Volt numa malha com 9109 nós.	95
Figura 5.8 -Modelo da distribuição da deformação na direcção 13, no sentido do efeito piezoelétrico, para uma diferença de potencial de 5 Volt numa malha com 9109 nós.	96
Figura 5.9 - Estudo por holografia do comportamento tridimensional da membrana piezoelétrica.	98
Figura 5.10 - Estudo por holografia do comportamento tridimensional da membrana piezoelétrica revestida e após esterilização por radiação ionizante (para uma diferença de potencial de 5 volts).	98
Figura 6.1 Esquema ilustrativo da sementeira da cultura celular na área activa de um substrato piezoelétrico. A voltagem é aplicada ao substrato piezoelétrico com frequências de 1Hz e 3Hz.	111
Figura 6.2 Células MC3T3 na zona activa do substrato piezoelétrico duas horas após a sementeira; marcação do citoesqueleto (actina) por imunofluorescência indirecta utilizando anticorpos primários contra a actina (Actina, pan Ab-5, Thermo Scientific, usada à concentração de 1:50) e anticorpo secundário (Chromeo TM 488 conjugated Goat anti-Mouse	

IgG, Active Motif usado à concentração de 1:500) (microscópio e câmara Olympus BX41, Olympus Cell A Imaging Software). Devido à opacidade da zona activa do substrato piezoeléctrico, a observação das células não era passível de ser feita sem recurso a técnicas como a imunofluorescência..... 112

Figura 6.3 Os gráficos apresentam a medição dos níveis de pH para cada grupo estático e controlo, após a estimulação mecânica do grupo dinâmico: a) medições após a primeira estimulação, 24h após sementeira; b) medições após a segunda estimulação, 48h após sementeira..... 113

Figura 6.4 Viabilidade celular dos três grupos, 24h após sementeira e estimulação do grupo dinâmico, os resultados estão expressos em percentagem relativamente ao controlo (células em placas de cultura). A disposição gráfica mostra a média nas barras e o erro da barra mostra a média \pm erro padrão da média. 115

Figura 6.5 Viabilidade celular dos três grupos, 48h após sementeira e estimulação do grupo dinâmico, os resultados estão expressos em percentagem relativamente ao controlo (células em placas de cultura). A disposição gráfica mostra a média nas barras e o erro da barra mostra a média \pm erro padrão da média. 115

Figura 6.6 valores da medição dos níveis de concentração de NO ($\mu\text{mol/mL}$) nas culturas com substrato piezoeléctrico nas condições Estática vs. Dinâmica, 24 horas após sementeira, e imediatamente após estimulação a 1Hz e 3Hz. Os valores de NO são significativamente elevados no grupo dinâmico. A distribuição foi normal, média \pm erro padrão da média, $2,0 \pm 0,35$ e $3,7 \pm 0,65$, grupo estático e dinâmico respectivamente..... 116

Índice de Tabelas

Tabela 1 - ISO 5833 testes de compressão e DIN 53455 testes de tracção ao cimento ósseo comercial Palacos-R40 após mistura [9].	45
Tabela 2 - Comportamento da rede de Bragg para os diferentes ensaios.	52
Tabela 3 - Variação dos valores máximos de temperatura obtido por cada um dos sensores da fibra óptica 2 durante o período de cura do cimento, na superfície da prótese.....	71
Tabela 4 - Resultados dos ensaios de gentotoxicidade para as três diferentes condições de cultura.	91
Tabela 5 - Especificações do processo de esterilização por radiação ionizante; taxa de dose, dose teórica e dose real (ver Anexo III).	94
Tabela 6 - Teor de proteína total ($\mu\text{g/mL}$) 24 and 48 h após sementeira no grupo dinâmico, estático e controlo (media $n \pm$ erro pradrão da média, para $n=6$). SEM for $n=6$). 118	

Índice de Abreviaturas

1. ATA – Artroplastia total de anca
2. ATJ- Artroplastia total do joelho
3. DMSO – Dimetilsulfóxido
4. ESPI - *Electronic Speckle Pattern Interferometry*
5. F&A – Fusões e aquisições
6. MMA – Metacrilato de metilo
7. MTT - [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina]
8. PBS- Solução tampão fosfato-salina (*phosphate buffered saline*)
9. PMMA - Polimetacrilato de metilo
10. PVDF – Fluoreto de polivinilideno
11. SFO – Sensores em fibra óptica
12. UHF- Ultra high frequency (ultra elevada frequência)
13. UV – Ultra-violeta

Capítulo 1- Materiais inteligentes para prótese de anca: enquadramento

1

1.1 *Enquadramento e motivação*

Os números de artroplastias totais de anca (ATA) e de joelho (ATJ), quer primárias, quer de revisão, aumentaram gradualmente entre 1990 e 2002 e presume-se que a tendência se mantenha pelo menos até 2030 [1].

Em 2008 o número de intervenções associadas à artroplastia total de anca gerou no mercado mundial o total de 3.58 biliões de Euros em vendas de material ortopédico [2]. Quando é estabelecida uma relação custo/benefício, as artroplastias apresentam maiores custos com menos vantagens, face a outro tipo de intervenções cirúrgicas [3]. O sucesso de uma intervenção primária de artroplastia tem efeitos dramáticos no aumento da qualidade de vida dos pacientes, para além de reduzir os custos associados a intervenções de revisão e cuidados pós-operatórios.

Os meios de diagnóstico utilizados para avaliar a evolução pós-operatória da artroplastia incidem essencialmente sobre as impressões do paciente acerca da dor e mobilidade, bem como na experiência da equipa médica. Os meios de diagnóstico por imagem como a radio-

grafia são também rotineiramente utilizados. Todavia, uma imagem radiográfica corresponde a uma projecção bidimensional de uma estrutura tridimensional, e a sua interpretação depende grandemente da experiência do técnico responsável. Com estas ferramentas diagnósticas é muito difícil a atempada detecção das fases iniciais de laxação do implante.

Por outro lado, os implantes ortopédicos são geralmente concebidos para serem o mais inertes possíveis, de modo a minimizar a interferência com a normal função do tecido ósseo circundante. A maior parte dos implantes disponíveis no mercado cumpre apenas funções primárias como suporte mecânico, reposição da mobilidade, contacto articular e controlo da dor. Os implantes convencionais não permitem aceder à informação acerca da evolução pós-cirúrgica, acerca da transferência de carga na interface osso/implante (essencial para modelação dos fenómenos de remodelação, fracturas por fadiga, etc.) e identificação precoce de insucesso do procedimento artroplástico.

Uma solução para este problema, com enorme impacto sócio-económico na vida de milhões de pessoas e nos Estados, residiria na implementação nos implantes da capacidade de contínua e activamente monitorizar a interface com o osso e a sua própria integridade, uma vez implantados no paciente.

No âmbito dos trabalhos conducentes ao grau de doutoramento em Ciências da Engenharia, pretendeu-se iniciar o desenvolvimento de estruturas que permitam dotar o implante ortopédico de capacidades sensoras e actuadoras, tornando-o numa estrutura inteligente. O processo de desenvolvimento e validação deste conceito permitiu identificar diversas dificuldades que incluem a selecção dos materiais com capacidade sensora, escolha dos materiais com aptidão actuadora, controlo dos consumos energéticos, biocompatibilidade, miniaturização dos sistemas, resistência estrutural dos dispositivos, resistência em meio biológico e aos processos de esterilização, definição dos parâmetros de actuação, entre outros. Neste contexto, são discutidas questões teóricas e dados experimentais que permitiram avançar um pouco nes-

ta área e avaliar o desempenho de redes sensoras e comprovar a viabilidade da aplicação de materiais piezoelétricos na estimulação de células ósseas.

No Capítulo 2 são discutidos mais aprofundadamente a problemática da ATA na actualidade e o conceito de material inteligente. É ainda apresentado o estado da arte no que se refere aos implantes de anca instrumentados.

No Capítulo 3 é apresentada uma revisão da literatura disponível sobre a aplicação *in vivo* de sensores em fibra óptica na monitorização de estruturas músculo-esqueléticas, tendo-se testado experimentalmente a aplicação de três tecnologias distintas em sensores de fibra óptica para monitorização de vários parâmetros na interface de um modelo simplificado do componente femoral cimentado.

No Capítulo 4 descreve-se a aplicação de redes de sensores de Bragg na monitorização de vários parâmetros na interface de um modelo simplificado de componente femoral e da haste de uma prótese de anca cimentada sob solicitação dinâmica.

No Capítulo 5 é brevemente discutida a fisiologia do tecido ósseo e os efeitos conhecidos da estimulação mecânica de células ósseas, *in vitro* e *in vivo*, apresentando-se os resultados do processo de selecção e modificação de um material piezoelétrico tendo em vista a sua aplicação na estimulação mecânica de células ósseas.

No Capítulo 6 abordam-se as questões de mecanosensibilidade e mecanotransdução em células de linhagem osteoblástica e são apresentados os estudos experimentais relativos ao cultivo de osteoblastos na superfície do material piezoelétrico descrito no capítulo anterior. É descrito o recurso ao efeito piezoelétrico inverso para a estimulação mecânica de células de linhagem osteoblástica.

No Capítulo 7 são apresentadas as conclusões resultantes do trabalho desenvolvido e indicadas possíveis direcções para a continuação do desenvolvimento de materiais para a concepção de implantes de anca inteligentes.

1.2 Referências Bibliográficas

1. Kurtz, S., et al., Projections of Primary and Revision Hip and Knee Arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Joint Surg Am*, 2007. **89**(4): p. 780-785.
2. Zimmer, H.I., Zimmer 2008 Annual Report. 2008. p. 2-24.
3. Räsänen, P., et al., Effectiveness of hip or knee replacement surgery in terms of quality-adjusted life years and costs. *Acta Orthopaedica*, 2007. **78**(1): p. 108-115.

Capítulo 2 - Implante de anca inteligente

2.1 Introdução

Actualmente são efectuadas cerca de 1 milhão de artroplastias totais de anca (ATA) na Europa e nos EUA. O elevado número de intervenções cirúrgicas gerou, em 2008, um total de 3.58 biliões de Euros em vendas nas indústrias ortopédicas. Na Figura 1.1 estão representadas as cinco maiores empresas que detêm 85% do mercado dos implantes de anca. A elevada concentração do poder comercial é demonstrado nas operações de F&A (fusões e aquisições) que reflectem um elevado estado de maturação industrial. A estagnação no desenvolvimento de novos produtos, e a dimensão deste problema ortopédico desencadeia um crescimento empresarial por consolidação industrial face ao mercado extremamente competitivo.



Implantes de anca (estimativa)		
	Receitas (Bilhões)	Mercado
Biomet	\$0.6	11%
DePuy	\$1.1	19%
Smith & Nephew	\$0.6	12%
Stryker	\$1.0	19%
Zimmer	\$1.4	25%
Valor de Mercado 2008	\$5.4 B	
Crescimento em 2008	8%	

Figura 1.1 As cinco maiores companhias mundiais de implantes ortopédicos representam 85% deste mercado económico.

A necessidade de inovação nos produtos é demonstrada, por exemplo, no relatório anual da Zimmer (2008) que afirma que, para manter a competitividade e expansão é necessário continuamente adquirir e/ou desenvolver produtos e tecnologias. Cada avanço tecnológico representa uma oportunidade de expansão do mercado na área ortopédica, mas também maior qualidade de vida para o paciente.

Uma ATA é um procedimento eficaz, usado como solução final sempre que a disfunção articular e a dor não são satisfatoriamente controladas com anti-inflamatórios e analgésicos, condicionando a actividade física e o bem-estar do paciente. Doenças degenerativas ou traumáticas tais como osteoartrite, artrite reumatóide, necrose avascular, artrite pós-traumática, osteoporose - relacionada com a fractura da cabeça femoral em mulheres com idade, são as causas mais frequentes das ATA. Em pacientes mais jovens as dores articulares e disfunção articular são agravadas por factores da sociedade moderna como obesidade e baixo suporte muscular resultante do sedentarismo. O aumento do número de artroplastias efectuadas a pacientes jovens, associado ao aumento da esperança média de vida, torna vital uma maior durabilidade do implante antes de uma artroplastia de revisão [2, 3].

Uma artroplastia de revisão consiste numa segunda cirurgia onde o implante inicial é total ou parcialmente removido e substituído. A idade, o sexo e a razão de origem do primeiro procedimento cirúrgico são factores intrínsecos ao paciente que condicionam a sobrevivência do primeiro implante, acrescentando factores externos como a geometria, superfície do implante, material, método de fixação, técnica cirúrgica e pós operatórios [4-9].

O trauma cirúrgico e mecânico durante a cirurgia poderão provocar no organismo uma resposta inflamatória aguda. A ocorrência de inflamação crónica está associada a formação de uma cápsula fibrosa em redor do implante. A laxação asséptica é um fenómeno progressivo que resulta da combinação de diversas causas como a reacção do organismo às partículas de desgaste, ao efeito *stress-shielding*, aos deslocamentos relativos entre a prótese e o osso, entre outros. A consequência deste fenómeno é a gradual instabilidade da prótese. A laxação séptica também resulta numa artroplastia de revisão precoce, mas desta vez associada a infecções, que numa fase inicial são sobretudo devido a falhas da assépsia, e numa fase mais tardia e mais difícil de controlar, devido a infecções oportunistas. Problemas como infecções e laxação (séptica ou asséptica) ocorrem levando gradualmente ao insucesso do implante e consequentemente a uma cirurgia de revisão [10].

Cerca de 5 a 10% dos pacientes submetidos a implantes de anca sofrem complicações com diferentes graus de gravidade, incluindo infecções e laxação asséptica. O número de casos detectados com infecções profundas sofreu um aumento entre 1990 e 2003, representando aproximadamente 1,2% das revisões de anca. Um rácio semelhante foi observado na revisão de prótese de joelho [11].

As revisões são um procedimento mais complexo que as artroplastias primárias, frequentemente devido a perda de massa óssea [12]. As cirurgias de revisão apresentam uma taxa de insucesso mais elevada do que as cirurgias primárias, e representam procedimentos que são duas a três vezes mais caros e dolorosos para o paciente. No entanto, este preço pode-

rá ser aceite comparativamente ao desempenho do novo implante, sendo a taxa de revisão cerca de 10% no caso de próteses implantadas a 10 anos, ou de 3% para períodos de três anos após implantação. Estudos recentes apontam para a necessidade de reduzir esses valores [13]

O número de artroplastias de anca e de joelho têm aumentado gradualmente entre 1990 e 2002. Tendencialmente é esperado que este aumento continue nos próximos 20 anos. Para além das vantagens económicas, o sucesso de uma artroplastia primária tem um impacto extremamente benéfico na qualidade de vida do paciente [14-18]. Contudo, as cirurgias articulares de revisão têm um fraco desempenho quando comparadas com outros procedimentos, mesmo quando estabelecida uma relação custo/benefício, sendo uma artroplastia de joelho comparativamente mais cara que uma artroplastia da anca [19-21].

O acompanhamento e diagnóstico após uma cirurgia são baseados em impressões subjectivas do paciente acerca da evolução física e desempenho (tempo necessário para percorrer uma determinada distância, tabelas de mobilidade articular, entre outras) e em avaliações radiográficas [22]. Os dispositivos radiográficos produzem uma imagem 2D a partir de uma estrutura 3D; a qualidade de uma radiografia é dependente da orientação adequada, posição e rotação do membro, o que depende consideravelmente da experiência da equipa médica e obviamente da capacidade do paciente cooperar durante o procedimento, uma vez que o posicionamento pode causar dor e está dependente da mobilidade da articulação.

Há estudos que sugerem que as imagens radiográficas obtidas imediatamente após a cirurgia são menos informativas relativamente ao estado do implante do que as obtidas mais tardiamente, nas primeiras consultas de observação do paciente. A evolução radiográfica ajuda a prognosticar a falha por laxação asséptica, através da identificação dos níveis de afundamento da haste da componente femoral [23]. A elevada variedade de geometrias, conceitos, materiais e métodos de fixação disponíveis no mercado ortopédico, assim como a variabilidade do comportamento do implante juntamente com os factores individuais do paciente, tornam

mais difíceis a avaliação e previsão a longo prazo do desempenho. Desta forma, as técnicas rotineiras de diagnóstico não permitem uma adequada detecção do grau de descolamento de um implante articular. É extremamente difícil distinguir em que região da prótese estão a ocorrer os primeiros fenómenos de fadiga do manto de cimento e como estes se propagam. De momento, é impossível actuar preventivamente ou calendarizar com antecedência uma segunda cirurgia de revisão, reduzindo as longas listas hospitalares.

Actualmente, ainda não é possível medir directamente as cargas e deformações na interface osso/implante, de modo a prever a reabsorção óssea, tão importante para o sucesso funcional de um implante. Estas limitações e as suas consequências afectam determinante-mente a qualidade de vida do paciente [11, 24].

Na resposta à estagnação na indústria de implantes ortopédicos por maturação e col-matação das lacunas existentes nos actuais implantes, nomeadamente ao nível de diagnóstico atempado, gera-se um novo desafio benéfico para pacientes e fabricantes. Presentemente, as próteses estão concebidas para interagirem minimamente com o organismo. Uma solução possível será a inclusão nos implantes de capacidades de monitorizar a sua interface contínua e activamente, uma vez no interior do corpo humano. À capacidade sensora seria importante juntar biomimetismo, capaz de reproduzir a função *in vivo* do tecido ósseo como uma estrutura inteligente. Hoje, os implantes ortopédicos apenas cumprem funções primárias, tais como suporte mecânico, eliminação da dor e reposição da mobilidade e/ou contacto articular.

Considerando o emergente campo dos materiais inteligentes e a sua aplicação em im-plantas de anca, joelho e ombro entre outros, é possível através de um conceito de redes híbri-das de sensores e actuadores criar dispositivos com capacidade de auto-diagnóstico e adapta-ção. A tecnologia de estruturas inteligentes será discutida ao longo deste capítulo, procurando delinear um novo estado de desenvolvimento de implantes ortopédicos articulares.

Novas funções de diagnóstico serão possíveis através de redes de sensores. Estas redes sensoriais permitiriam às equipas de reabilitação monitorizar de modo individual, durante o período pós-operatório, e aceder directamente à estabilidade e performance do implante, assim como identificar possíveis problemas precocemente.

Idealmente estas estruturas inteligentes deveriam ser capazes de assegurar a monitorização do crescimento ósseo à superfície do implante, podendo efectuar um diagnóstico do estado de cada paciente, e também compreender a resposta do tecido ósseo aos diferentes implantes, materiais e geometrias. Paralelamente, poderia comportar um bio-sistema de redes de actuadores, capazes de promover a remodelação e regeneração do tecido ósseo, com base nas hipóteses teóricas que têm sido desenvolvidas [25-28]. Sistemas de bio-sensores capazes de detectar e erradicar *in loco* bio-filmes de bactérias constituiriam um elemento crucial na eliminação de infecções crónicas [29].

A investigação em materiais e estruturas inteligentes envolve diversas áreas, sendo tecnicamente comum haver incompreensões de terminologias e desconhecimentos do estado de arte entre estas.

2.2 Breve introdução ao conceito de materiais inteligentes

O conceito de inteligência em materiais, sistemas e estruturas é um campo de exploração com alguns anos nas áreas de investigação e industrial, sendo considerada já uma nova era no desenvolvimento de materiais (Figura 1.2). Os últimos progressos têm sido no sentido de desenvolver estruturas que continua e activamente se adaptam, monitorizam e optimizam o seu desempenho, emulando as capacidades de adaptação, composição e geometria dos sistemas biológicos [30].

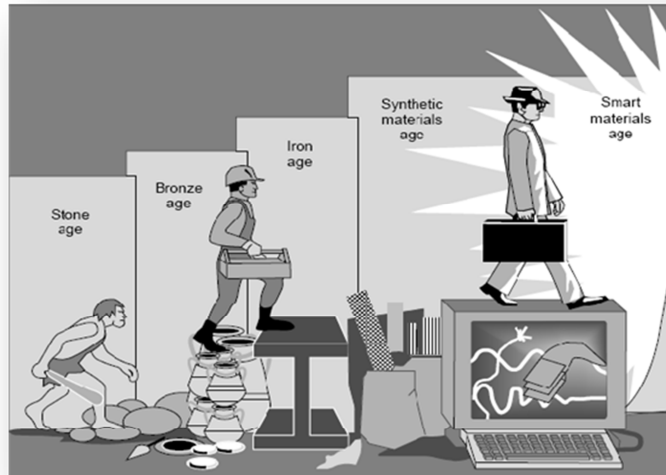


Figura 1.2 Evolução das diferentes eras dos materiais [30].

Para implementar estas capacidades de auto-diagnóstico estrutural e de auto-reparação em estruturas inertes, concebidas para desempenhar a sua função garantindo apenas condições estruturais durante o tempo de vida útil, é necessária a integração de diversos sistemas. A capacidade de auto-monitorização é efectuada através de uma rede de sensores que por medição, directa ou indirecta, é sensível a um conjunto específico de parâmetros físicos em que a sua correlação ao longo do tempo permite evidenciar as alterações que indicam danos internos ou externos à estrutura. A selecção dos sensores está sempre condicionada pelas características e agressividade do meio onde serão inseridos, assim como pelos processos de embebedimento no caso de sensores internos.

Uma rede de sensores pressupõe sempre uma interface para aquisição e condicionamento dos sinais (eléctricos, ópticos, etc.) e compatível com os sistemas de *software* e *hardware* de controlo externos. O sistema de alimentação dos sensores e sistemas de interface é um ponto fundamental e muitas vezes dos mais críticos, pois tem obrigatoriamente que ser definido de acordo com a acessibilidade à estrutura, a duração da monitorização e o dimensio-

onamento da estrutura (baterias portáteis, recarregáveis ou mesmo recorrendo a dispositivos baseados em *harvesting energy* (temperatura) resultante das vibrações estruturais).

A capacidade de auto-reparação tem como base uma rede de actuadores que são activados mediante comandos externos resultantes da análise dos resultados. Todos estes elementos requerem alterações da estrutura original, logo representam potenciais pontos de concentração de tensões e conseqüente risco de dano. Este facto reflecte e reforça todo o estudo prévio necessário no sentido de otimizar a implementação destas capacidades.

2.3 Estado actual de desenvolvimento de implantes inteligentes

A medição das forças de contacto que actuam através de uma articulação são consideradas de elevado interesse para a compreensão das relações entre a transferência de carga no sistema músculo-esquelético, mas também na identificação dos mecanismos de progressão das doenças degenerativas articulares.

Presentemente, os meios disponíveis para estabelecer uma previsão dos níveis de carga são geralmente através de modelos dinâmicos do sistema músculo-esquelético. Estes modelos são usados para estimar as forças internas em articulações com base em medições externas da cinética e da cinemática. Os dados obtidos a partir destas medições externas, combinados com o conhecimento dos parâmetros de massa e momentos de inércia, permite, por dinâmica inversa, determinar as forças resultantes e o histórico dos momentos aplicados à articulação [31]. Pode-se, através de várias técnicas de modelação, prever as cargas aplicadas nos músculos, ligamentos e superfícies de contacto articular e sua inter-relação com outros tecidos [32]. Outros investigadores adoptam modelos de optimização teórica para encontrar soluções únicas para as forças de contacto articular e forças musculares [31].

Porém, a medição directa das cargas numa articulação são, usando uma rede de sensores, seria o modo mais exacto de obtenção de informação. Mas tal torna-se impossível sem recorrer a meios invasivos. Uma opção é a monitorização dessas forças de contacto em pacientes com implantes articulares, pois estes dispõem do volume necessário para a integração das redes de sensores e os necessários sistemas de interrogação, alimentação, etc.

A literatura elege os seguintes implantes ortopédicos como passíveis de instrumentar e aplicar no interior do corpo humano: implantes de anca, de joelho e estudos recentes incluem também a articulação do ombro [33-37].

Diversas tentativas ocorreram no sentido de desenvolver implantes ortopédicos instrumentados mais eficientes/eficazes/biocompatíveis para a medição das forças de contacto *in vivo* de modo contínuo durante a função. A implementação de sistemas de telemetria e encapsulamento de todo o equipamento electrónico no interior do implante ortopédico permitiria aceder aos dados com menores riscos de contaminação e maior exactidão. Nos parágrafos que se seguem será descrita a evolução destes implantes a nível de funcionalidade, fiabilidade dos sensores utilizados, sistemas de interrogação, telemetria, alimentação, período de monitorização efectuado e resultados obtidos.

Em 1966, o estudo por *Rydell et al.* foi pioneiro na medição das forças de contacto de uma prótese de anca, usando uma *Austin-Moore* instrumentada com extensómetros tradicionais em dois pacientes. Seis meses após a implantação foi feita uma única aquisição de dados, durante a marcha, usando cabos eléctricos transcutâneos. Para a amostragem de dois pacientes, o pico máximo das forças de contacto durante a marcha foi de três vezes o peso corporal [38].

English e Kilvington, em 1979, implantaram a primeira prótese de anca usando a telemetria para aceder à prótese instrumentada e recolher os dados, e como sistema sensível uma

célula de carga uni-axial encapsulada na cabeça de uma haste femoral para medir as forças de contacto *in vivo* [37].

Davy et al., em 1988, instrumentaram a cabeça de uma haste femoral (DF80, Zimmer) com uma célula de carga tri-axial associada a um sistema de telemetria para adquirir os dados. A monitorização foi efectuada periodicamente durante os primeiros trinta e um dias após a cirurgia. O circuito electrónico utilizado tinha como fonte de alimentação uma bateria normal de um *pacemaker*, activada/desactivada por comandos externos. Foram apenas realizadas seis sessões de aquisição de dados devido a problemas na antena de transmissão [39].

Os valores de carga no estudo de *Davy et al.*, obtidos para um mês após a cirurgia, são próximos dos obtidos por *English e Kilvington*, com o valor máximo de aproximadamente três vezes o peso corporal, à semelhança de *Rydell*. O êxito nestes primeiros registos leva à continuação e aperfeiçoamento dos implantes instrumentados, pois em nenhum dos estudos efectuados o funcionamento do implante permitiu a medição durante todo o período de reabilitação do paciente. *Kotzar*, em 1991, prosseguiu os estudos com a prótese instrumentada por *Davy*, prolongando o funcionamento do dispositivo apenas por mais vinte e sete dias em dois pacientes. A intensidade máxima da força obtida durante a actividade normal ronda os 2,1 a 2,8 vezes o peso corporal, tendo sido identificados períodos de instabilidade momentânea com um máximo de 5,5 vezes o peso corporal, valor que pode ser muito prejudicial durante o período de recuperação [40]. O estudo de *Kotzar et al.* veio assinalar a importância que a velocidade de aplicação de carga pode ter nas amplitudes máximas medidas, facto realçado mais tarde por *Bergmann* [36].

Hodge et al., em 1989, apresentaram um estudo de monitorização que realça a importância clínica da monitorização durante o processo de reabilitação. Ele optou por uma endoprotese do tipo *Moore*, substituindo as convencionais células de carga por catorze extensómetros semicondutores distribuídos pontualmente ao longo da cabeça femoral [38]. No seu

trabalho, *Hodge* apresenta as primeiras preocupações com a eficiência dos sistemas electrónicos, evitando o *cross-talk* típico de redes de sensores electrónicos que pode interferir nos resultados. A substituição das baterias convencionais por sistemas de alimentação indutivos garantiu uma maior durabilidade do sistema e a biocompatibilidade. No seu estudo, o período de monitorização iniciou-se no bloco operatório e prolongou-se por trinta e seis meses.

Hodge identificou que com o evoluir do tempo e o prosseguir da reabilitação, cada actividade particular produz um pico máximo de força de contacto na anca que sequencialmente decresce e estabiliza ao longo da reabilitação e recuperação muscular. Assim, para o caminhar normal, o pico máximo ocorreu seis meses após a cirurgia e o subir escadas apenas após um ano. Este trabalho veio mostrar a importância que a monitorização das forças de contacto pode ter no apoio a um diagnóstico personalizado de cada paciente. Isto permite redefinir os períodos e os diferentes tipos de apoios à locomoção após a cirurgia, em concordância com a resposta do sistema músculo-esquelético de cada indivíduo.

A evolução cronológica dos dispositivos instrumentados descritos vem no sentido de permitir a medição directa das forças de contacto na cabeça da componente femoral da prótese após cirurgia. Foram, assim, identificados factores que determinam os valores máximos da força de contacto, como a velocidade de aplicação e a instabilidade e recuperação muscular. Verificou-se que a substituição das convencionais células de carga por redes de sensores que medem individualmente a pressão em cada ponto garante melhor informação. Contudo, os sistemas desenvolvidos são insuficientes para determinar como se distribui a carga ao longo da prótese e qual a estabilidade da haste, determinada também pela remodelação e reabsorção óssea.

A informação obtida através dos dispositivos instrumentados permitiu identificar variáveis importantes, mas há a necessidade de desenvolver a monitorização do comportamento

da haste à torção, de modo a introduzir nestes implantes a capacidade de estimar o seu sucesso ou insucesso [36, 41].

Kotzar et al., em 1995, monitorizaram durante dois meses os momentos gerados na cabeça da prótese femoral em condições de marcha, subida e descida de escadas. Estes verificaram que, para uma fase pós-operatória muito precoce, os valores de momento para um paciente com o peso de 614 N era de 35Nm para marcha normal e 23 e 15 Nm para subir e descer escadas, respectivamente [40]. Foi ainda notado que a relação entre os momentos observados e a força resultante de contacto nem sempre seguia o mesmo padrão de variabilidade. Este estudo enfatiza a necessidade de avaliar a estabilidade do elemento femoral da ATA, direccionando as medições dos sensores ao longo do eixo longo da haste, assim como numa direcção normal ao plano da prótese [41]. Apenas deste modo se obteria uma monitorização precisa da estabilidade do implante de anca, factor muito importante para a sua longevidade e compreensão da evolução dos mecanismos de remodelação óssea, face à geometria específica e materiais da prótese.

Bassey et al., em 1996, estudaram uma prótese de liga de titânio-6Al-4V instrumentada de forma a medir deformações axiais, que havia sido desenvolvida por *Taylor* [1, 42]. Tratava-se de uma prótese personalizada para um paciente que sofria de um tumor ósseo e que houve a necessidade de remoção de uma grande quantidade de osso antes da artroplastia. Neste estudo, distribuíram-se estrategicamente ao longo do interior da haste femoral extensómetros selados hermeticamente. Os locais de monitorização distribuíam-se por dois grupos, um posicionado na superfície interna anterior e outro na posterior. Cada grupo continha dois extensómetros posicionados longitudinalmente e transversalmente. A informação dos sensores era recolhida através de um sinal UHF de rádio-transmissão para um computador externo. O sistema de alimentação era feito indutivamente através de uma bobine colocada no interior do implante. Esta geometria foi previamente calibrada recorrendo a ensaios de fadiga para picos

máximos de 2,3kN em 5 milhões de ciclos de carga, à temperatura de 37°C. A informação resultante da monitorização demonstrou uma evidente relação linear entre as forças de reação ao apoio do pé e as forças aplicadas no implante para uma variedade de exercícios (marcha normal, salto, etc.). O valor absoluto das forças aplicadas no implante é uma resultante da combinação da força gravitacional e da tensão provocada pelos músculos. Desta forma, para as condições especiais do paciente e para a geometria do implante foi observado que, traduzindo a deformação interna para força aplicada no implante, corresponderia a amplitudes de 2,5 até 4,0 vezes o peso corporal, dependendo da actividade física (saltar, corrida [1]). Neste caso, apesar de existirem dois pontos de monitorização distintos ao longo do interior da prótese, a informação foi apresentada como um valor máximo e não como uma conclusão acerca da distribuição da forças ao longo do implante.

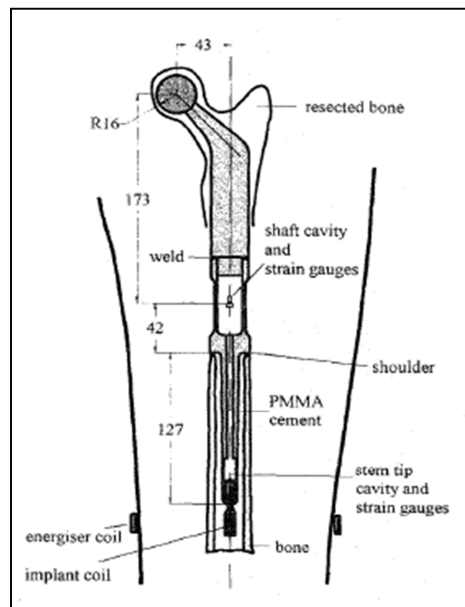


Figura 1.3 Componente femoral de um implante de anca personalizada, instrumentada ao longo da haste com extensómetros [30, 31].

Graichen et al., em 1999, aplicaram uma prótese de anca instrumentada para monitorizar em tempo real a temperatura e a distribuição de forças ao longo da componente femoral [43]. A temperatura torna-se um factor importante nesta aplicação, pois a fricção entre as componentes femoral e acetabular durante a actividade normal do paciente pode originar alteração das temperaturas internas que podem levar à necrose do tecido ósseo. Outro factor importante relaciona-se com os processos indutivos, usados como sistema alternativo de alimentação, que podem originar temperaturas que interfiram com o ambiente biológico dos tecidos vivos. Posteriormente, outros dispositivos foram utilizados para avaliar a estabilidade do implante, recorrendo à análise de vibrações [44].

Todos os avanços tecnológicos utilizados na monitorização dos implantes de anca (Figura 1.) são no sentido de reduzir o consumo, miniaturizar e aumentar as capacidades dos sistemas de interrogação e aquisição [45].

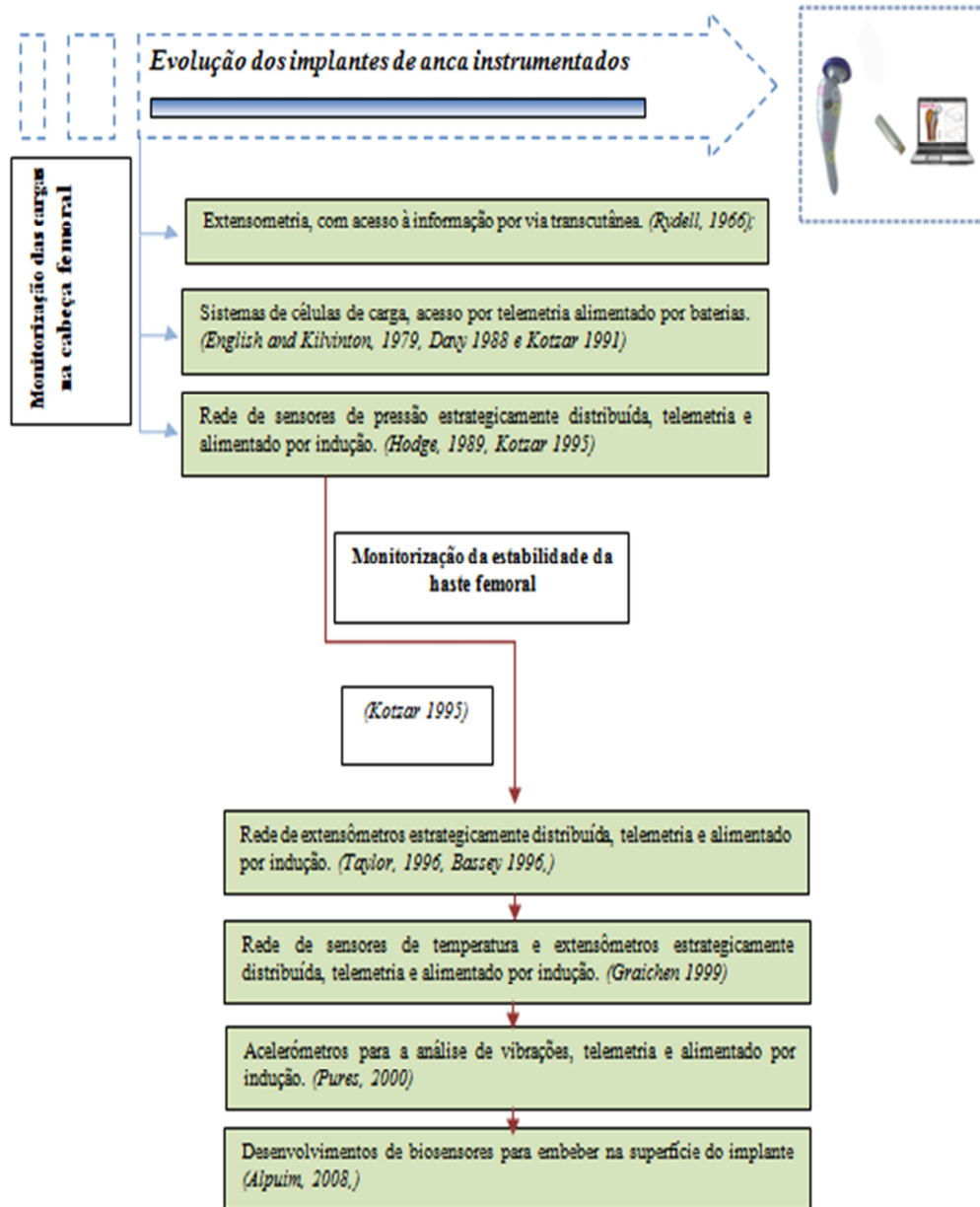


Figura 1.4 Esquema ilustrativo da evolução dos implantes de anca instrumentados

As redes sensoras apresentadas têm por base sistemas de extensometria, sensores de temperatura e acelerômetros. O tempo de monitorização eleva-se, permitindo obter informação durante e após o período de reabilitação fisiológica [42]. Actualmente, procura-se desenvolver redes de sensores biocompatíveis que possam ficar semi-embebidas na superfície do

implante, medindo as forças em contacto directo com o osso, contrariamente aos extensómetros [46].

À semelhança dos implantes de anca, os implantes de joelho têm sido alvo de instrumentação, com o objectivo fundamental de medir as cargas [33, 34, 47, 48]. Estudos mais recentes direccionam-se para a compreensão das forças e funções da articulação do ombro através da instrumentação deste tipo de implante [35, 49]. A necessidade surge face à geometria atípica da articulação do ombro e ao aumento de doenças degenerativas que causam danos irreversíveis nesta articulação [35].

A medição das forças de contacto na superfície de um implante de anca e a compreensão de como variam ao longo dos diferentes períodos após uma ATA, nomeadamente durante o período pós-operatório imediato e nos primeiros anos de vida do implante, permitiria, do ponto de vista clínico, avaliar a estabilidade do implante, definir uma reabilitação personalizada a cada paciente e estimar um tempo médio de vida para o implante. Do ponto de vista científico, permitiria uma avaliação *in loco* do comportamento do implante e a compreensão de como o organismo interage com o implante. Esta informação poderá ser orientada para o desenvolvimento de novos materiais com capacidade adaptativa.

A questão de quais os processos de esterilização a utilizar nestes implantes instrumentados, de modo a não interferir com a funcionalidade dos sensores eléctricos, assim como a biocompatibilidade, não são mencionados na descrição dos procedimentos experimentais. Contudo, tem uma grande importância no seu desenvolvimento, como veremos nos capítulos que se seguem. Outro ponto importante é a alteração estrutural da prótese para permitir a colocação de todos os sistemas associados à instrumentação, sendo sempre necessário verificar, em calibrações prévias do implante, a não alteração do seu desempenho [1].

A evolução dos implantes instrumentados com aplicação *in vivo* apenas foca a questão de monitorização da estrutura e funcionalidade da prótese. Mas uma das vertentes nas estruturas inteligentes é a actuação, isto é, a existência de mecanismos de correcção para colmatar possíveis danos na estrutura ou para influenciar de forma direccionada os tecidos circundantes.

2.4 Referências Bibliográficas

1. Bassey, E.J., J.J. Littlewood, and S.J.G. Taylor, Relations between compressive axial forces in an instrumented massive femoral implant, ground reaction forces, and integrated electromyographs from vastus lateralis during various osteogenic exercises. *Journal of Biomechanics*, 1997. **30**(3): p. 213-223.
2. Bozic, K.J., et al., Economic evaluation in total hip arthroplasty: analysis and review of the literature. *The Journal of Arthroplasty*, 2004. **19**(2): p. 180-189.
3. Sibanda, N., et al., Revision Rates after Primary Hip and Knee Replacement in England between 2003 and 2006. *PLoS Medicine*, 2008. **5**(9): p. e179.
4. Lau, E., S. Kurtz, and K. Ong, Survival of Hip and Knee Arthroplasty in the United States Using Medicare Data. *The Journal of Arthroplasty*, 2007. **22**(2): p. 314-314.
5. Malchau, H., et al., The Swedish Total Hip Replacement Register. *J Bone Joint Surg Am*, 2002. **84**(suppl_2): p. S2-20.
6. McCalden, R.W., et al., Radiographic Methods for the Assessment of Polyethylene Wear After Total Hip Arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*, 2005. **87**(10): p. 2323-2334.
7. Metz, C.M. and A.A. Freiberg, An international comparative study of total hip arthroplasty cost and practice patterns. *The Journal of Arthroplasty*, 1998. **13**(3): p. 296-298.

8. Ong, K., et al., Patient, Hospital, and Procedure Characteristics Influencing Total Hip and Knee Arthroplasty Procedure Duration. *The Journal of Arthroplasty*, 2008. **In Press, Corrected Proof.**
9. Ong, K., et al., Total hip arthroplasty and Total Knee Arthroplasty Survivorship in the United States Medicare Population: Effect of Hospital and Surgeon Procedure Volume. *The Journal of Arthroplasty*, 2008. **23**(2): p. 328-328.
10. Kurtz, S.M., et al., Primary and Revision Arthroplasty Surgery Caseloads in the United States from 1990 to 2004. *The Journal of Arthroplasty*, 2008. **In Press, Corrected Proof.**
11. Kurtz, S.M., et al., Future Clinical and Economic Impact of Revision Total Hip and Knee Arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*, 2007. **89**(suppl_3): p. 144-151.
12. Ritter, M.A., et al., Simultaneous Bilateral, Staged Bilateral, and Unilateral Total Knee Arthroplasty: A Survival Analysis. *J Bone Joint Surg Am*, 2003. **85**(8): p. 1532-1537.
13. Sibanda, N., et al., Revision Rates after Primary Hip and Knee Replacement in England between 2003 and 2006. *PLoS Med*, 2008. **5**(9): p. e179.
14. Wiklund, I. and B. Romanus, A comparison of quality of life before and after arthroplasty in patients who had arthrosis of the hip joint. *J Bone Joint Surg Am*, 1991. **73**(5): p. 765-769.
15. Towheed, T.E. and M.C. Hochberg, A systematic review of randomized controlled trials of pharmacological therapy in osteoarthritis of the knee, with an emphasis on trial methodology. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 1997. **26**(5): p. 755-770.

16. Roorda, L.D., et al., Satisfactory cross cultural equivalence of the Dutch WOMAC in patients with hip osteoarthritis waiting for arthroplasty. *Ann Rheum Dis*, 2004. **63**(1): p. 36-42.
17. Altman, R.D., et al., Total joint replacement of hip or knee as an outcome measure for structure modifying trials in osteoarthritis. 2005, W B Saunders Co Ltd.
18. Hirvonen, J., et al., Health-related quality of life in patients waiting for major joint replacement. A comparison between patients and population controls. *Health and Quality of Life Outcomes*, 2006. **4**(1): p. 3.
19. Brander, V.A., et al., Outcome of Hip and Knee Arthroplasty in Persons Aged 80 Years and Older. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1997. **345**: p. 67-78.
20. Bachmeier, C.J.M., et al., A comparison of outcomes in osteoarthritis patients undergoing total hip and knee replacement surgery. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2001. **9**(2): p. 137-146.
21. Räsänen, P., et al., Effectiveness of hip or knee replacement surgery in terms of quality-adjusted life years and costs. *Acta Orthopaedica*, 2007. **78**(1): p. 108-115.
22. D'Aubigne, R.M. and M. Postel, Functional results of hip arthroplasty with acrylic prosthesis. *J Bone Joint Surg Am*, 1954. **36**(3): p. 451-475.
23. Engh, C.A., et al., Quantification of Implant Micromotion, Strain Shielding, and Bone Resorption With Porous-Coated Anatomic Medullary Locking Femoral Prostheses. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1992. **285**: p. 13-29.
24. Petrie, K.C.R.A., The psychological impact of hip arthroplasty. *Anz Journal of Surgery*, 1994. **64**(2): p. 115-117.

25. Hastings, G.W. and F.A. Mahmud, Electrical effects in bone. *Journal of Biomedical Engineering*, 1988. **10**(6): p. 515-521.
26. Miara, B., et al., Piezomaterials for bone regeneration design--homogenization approach. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 2005. **53**(11): p. 2529-2556.
27. Ahn, A.C. and A.J. Grodzinsky, Relevance of collagen piezoelectricity to "Wolff's Law": A critical review. *Medical Engineering & Physics*, 2009. **31**(7): p. 733-741.
28. Turner, C.H., Three rules for bone adaptation to mechanical stimuli. *Bone*, 1998. **23**(5): p. 399-407.
29. Ehrlich, G.D., et al., Engineering Approaches for the Detection and Control of Orthopaedic Biofilm Infections. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 2005. **437**: p. 59-66.
30. Schwartz, M., *Encyclopedia of smart materials* ed. I. John Wiley & Sons. Vol. I. 2002, New York: A Wiley-Interscience. 1073.
31. Banks, S.A. and W.A. Hodge, Accurate measurement of three-dimensional knee replacement kinematics using single-plane fluoroscopy. *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, 1996. **43**(6): p. 638-649.
32. Bloebaum, R.D., et al., Investigation of Early Surface Delamination Observed in Retrieved Heat-Pressed Tibial Inserts. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1991. **269**: p. 120-127.
33. D'Lima, D.D., et al., An implantable telemetry device to measure intra-articular tibial forces. *Journal of Biomechanics*, 2005. **38**(2): p. 299-304.
34. D'Lima, D.D., et al., Tibial Forces Measured In Vivo After Total Knee Arthroplasty. *The Journal of Arthroplasty*, 2006. **21**(2): p. 255-262.

35. Bergmann, G., et al., In vivo glenohumeral contact forces--Measurements in the first patient 7 months postoperatively. *Journal of Biomechanics*, 2007. **40**(10): p. 2139-2149.
36. Bergmann, G., F. Graichen, and A. Rohlmann, Hip joint loading during walking and running, measured in two patients. *Journal of Biomechanics*, 1993. **26**(8): p. 969-990.
37. English, T.A. and M. Kilvington, In vivo records of hip loads using a femoral implant with telemetric output (a preliminary report). *Journal of Biomedical Engineering*, 1979. **1**(2): p. 111-115.
38. Hodge, W.A., et al., Contact pressures from an instrumented hip endoprosthesis. *J Bone Joint Surg Am*, 1989. **71**(9): p. 1378-1386.
39. Davy, D.T., et al., Telemetric force measurements across the hip after total arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*, 1988. **70**(1): p. 45-50.
40. Kotzar, G.M., et al., Telemeterized in vivo hip joint force data: A report on two patients after total hip surgery. *Journal of Orthopaedic Research*, 1991. **9**(5): p. 621-633.
41. Kotzar, G.M., et al., Torsional loads in the early postoperative period following total hip replacement. *Journal of Orthopaedic Research*, 1995. **13**(6): p. 945-955.
42. Taylor, S. A telemetry system for measurement of forces in massive orthopaedic implants in vivo. in *Engineering in Medicine and Biology Society*, 1996. *Bridging Disciplines for Biomedicine. Proceedings of the 18th Annual International Conference of the IEEE*. 1996.
43. Graichen, F., G. Bergmann, and A. Rohlmann, Hip endoprosthesis for in vivo measurement of joint force and temperature. *Journal of Biomechanics*, 1999. **32**(10): p. 1113-1117.

44. Puers, R., et al., A telemetry system for the detection of hip prosthesis loosening by vibration analysis. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2000. **85**(1-3): p. 42-47.
45. Morais, R., et al., An activation circuit for battery-powered biomedical implantable systems. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2009. **156**(1): p. 229-236.
46. Alpuim, P., et al., Fabrication of a strain sensor for bone implant failure detection based on piezoresistive doped nanocrystalline silicon. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2008. **354**(19-25): p. 2585-2589.
47. Varadarajan, K.M., et al., In vivo contact kinematics and contact forces of the knee after total knee arthroplasty during dynamic weight-bearing activities. *Journal of Biomechanics*, 2008. **41**(10): p. 2159-2168.
48. Ming Chun, H., et al., A contact-type piezoresistive micro-shear stress sensor for above-knee prosthesis application. *Microelectromechanical Systems, Journal of*, 2001. **10**(1): p. 121-127.
49. Westerhoff, P., et al., An instrumented implant for in vivo measurement of contact forces and contact moments in the shoulder joint. *Medical Engineering & Physics*, 2009. **31**(2): p. 207-213.

Capítulo 3 - Sensores em fibra óptica

3.1 Objectivo

Contemporaneamente, a técnica de diagnóstico utilizada para monitorização do estado estrutural do implante ortopédico *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo* é essencialmente a extensometria. O objectivo deste trabalho é apresentar uma alternativa a esta tecnologia através da utilização de sensores em fibra óptica. Uma tecnologia óptica muito explorada na monitorização de estruturas em Engenharia nos últimos anos foi a das redes de Bragg em fibra óptica, sendo estas utilizadas como sensores de temperatura, deformação e/ou de posição. As principais vantagens comparativamente a outras tecnologias serão descritas ao longo deste capítulo.

Três estudos independentes são apresentados. O estudo inicial teve como objectivo a avaliação do comportamento e linearidade da resposta de sensores de Bragg em fibra óptica embebidos em cimento ósseo e sujeitos a diferentes solicitações mecânicas. Foi testada a sua capacidade para monitorizar deformações no interior do manto de cimento ósseo, em tempo real. Para compreender o comportamento deste material, embeberam-se no seu interior sensores em fibra óptica, para estudar diferentes parâmetros físicos: temperatura, deformação longi-

tudinal e deformação transversal à fibra. As medições obtidas mostram linearidade, uma boa adaptação e optimização da transferência de carga entre o biomaterial e o sensor.

O segundo e terceiro trabalho consistem no estudo de um sistema laboratorial que poderá ser aplicado para a identificação pontual de início de fractura no manto de cimento ósseo. Para o efeito, o sistema experimental foi testado num protótipo de prótese de anca, visando a detecção do local exacto onde ocorreu a fractura do cimento, através da utilização de sensores de fibra óptica enquanto sensores de posição, por processos de sensores aperiódicos em fibra óptica e interferometria óptica. Em simultâneo, estudou-se a viabilidade da integração de sensores de fibra óptica no manto de cimento ósseo. Este estudo pretendeu testar a viabilidade da aplicação deste método no contexto biomecânico envolvente, estudo este, preliminar ao trabalho apresentado no capítulo seguinte. Estes ensaios destinavam-se a seleccionar as tecnologias adequadas à futura monitorização de um implante de anca comercial.

3.2 Introdução

Nos capítulos anteriores foi demonstrado como o conhecimento do funcionamento mecânico/estrutural do sistema músculo-esquelético, ainda incompleto, é determinante para o desenvolvimento pré-clínico de implantes de anca inteligentes.

No que se refere à monitorização da interface osso/implante num componente femoral de uma prótese cimentada, a extensometria ocupa lugar de destaque como método padrão na medição de deformações [1-6], mesmo com limitações na aplicação *in vivo* [7]. A dificuldade da adesão ao material a monitorizar, questões de biocompatibilidade, a necessidade de alimentação eléctrica e a exigência de fios condutores representam um elevado risco de contaminação e infecção, sendo pontos desfavoráveis desta metodologia [8]. São factores que limitam a sua permanência no interior do corpo e a monitorização da evolução estrutural ao longo do tempo no interior de um organismo vivo.

O trabalho desenvolvido neste capítulo, teve por objectivo compreender e validar a utilização destes sensores na monitorização de diferentes parâmetros físicos à superfície da componente femoral, como a capacidade de detectar as zonas iniciais de cedência do manto de cimento e o método de propagação da fractura. Estes primeiros indícios de cedência do cimento ósseo podem ter origem em diversas causas que, geralmente, ocorrem em simultâneo, levando gradualmente ao insucesso do implante.

A ATA cimentada constitui um procedimento cirúrgico ortopédico com elevada taxa de sucesso. O método de ligação estabelecido entre a prótese e o osso consiste no preenchimento dos espaços vazios no canal femoral com um material biocompatível designado por cimento ósseo, polímero à base de polimetacrilato de metilo (PMMA). Para além da função de fixação do implante, compete ao cimento ósseo assegurar a transferência de cargas entre a prótese e o osso e homogeneizar a distribuição de tensões e deformações aos tecidos envolventes. A multifuncionalidade do cimento ósseo atribui-lhe o estatuto de elemento estrutural mais importante no sucesso da artroplastia cimentada, independentemente da geometria e do material do implante.

Uma vez posicionado o implante articular, a agressividade do ambiente circundante acrescida das porosidades resultantes do processo de mistura e deposição do cimento ósseo no fémur, induzem pontos críticos de concentração de tensões, micro-fissuras que comprometem o sucesso e integridade do implante.

Estas resinas acrílicas são utilizadas há mais de 50 anos como método de fixação em implantes ortopédicos. O PMMA utilizado é constituído por um conjunto pó/líquido de cura à temperatura ambiente. O componente líquido consiste em PMMA e/ou copolímeros de metacrilato podendo ainda conter componentes radiopacos e opcionalmente antibiótico. Na fase líquida, o metacrilato de metil (MMA) é o principal ingrediente. Com esta formulação em

dois componentes pretende-se que o pico exotérmico da reacção de polimerização não exceda a temperatura de desnaturação protéica.

Num implante cimentado, o manto de cimento suporta cargas que estarão próximas de três vezes o peso corporal durante a caminhada normal em apoio monopodálico e podem atingir oito vezes o peso corporal ao subir para uma cadeira [9-11]. A contínua solicitação dinâmica promove o aparecimento de fissuras no manto de cimento que levam progressivamente ao insucesso do implante [4]. Medições locais dos níveis de deformação poderiam melhorar a compreensão da resposta do material e talvez ajudar no desenvolvimento de melhores materiais e métodos de diagnóstico.

Com este objectivo recorreu-se à tecnologia óptica para monitorizar a deformação no interior do manto de cimento ósseo, assim como para localizar fissurações que possam ocorrer. Foi feita a calibração, estabelecendo-se relações entre diferentes cargas aplicadas e o sinal óptico de saída dos sensores. O cimento ósseo foi testado a diferentes temperaturas em condições de aplicação de carga próximas das que seriam esperadas no interior do corpo humano.

3.3 Sensores em fibra óptica

Nos parágrafos que se seguem serão descritos alguns dos factores que levaram à selecção desta tecnologia, assim como uma breve introdução teórica às diferentes tecnologias utilizadas durante o desenvolvimento deste trabalho.

Actualmente, os sensores em fibra óptica (SFO) são eleitos como tecnologia de monitorização para integrar estruturas inteligentes [12, 13], atraindo, na última década um elevado interesse como tecnologia de monitorização, especialmente no meio industrial, comparativamente aos convencionais sensores eléctricos e a configurações alternativas de sensores ópticos. A facilidade de produção, o baixo custo de utilização, baixo consumo energético, diâme-

tro muito pequeno, baixo peso e cablagem ligeira, associados ao facto destes sensores serem sensíveis a variações de deformação e temperatura, resistentes à corrosão e fadiga, capazes de operar em banda larga, imunes a campos electromagnéticos, juntamente com o avanço tecnológico dos sistemas de interrogação e interpretação do sinal são factores determinantes para esta crescente implantação [13]. A capacidade de multiplexagem, que permite gravar numa única fibra óptica dezenas de sensores, torna esta tecnologia de fácil utilização no meio industrial permitindo o desenvolvimento de uma rede de sensores numa única fibra óptica [12-14].

A combinação das características físicas e ópticas destes sensores permite medir, de modo directo e indirecto, diferentes parâmetros físicos como deformação local, deformações da estrutura, diferentes frequências de vibração, pressão, posição, temperatura, entre outros. A monitorização de uma estrutura pode ser feita ao longo do seu tempo útil de funcionamento, permitindo estudar o seu envelhecimento estrutural, modos de propagação de dano e identificar as regiões mais críticas.

A possibilidade de desenvolver estruturas integradas com sensores em fibra óptica, acrescenta um importante contributo para o desenvolvimento de estruturas inteligentes, repercutindo-se num maior grau de segurança e menor custo económico em diversos campos da engenharia, incluindo estruturas compósitas, estradas, pontes, túneis, barragens, estruturas aeroespaciais, e em inúmeras aplicações biomédicas [8, 12, 14-18].

O âmbito deste trabalho consiste em transpor todas as valências dos SFO nas diferentes áreas industriais para a aplicação biomédica. Seguidamente, serão apresentadas as aplicações *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo* desta tecnologia na monitorização de tecido vivo e biomateriais.

3.4 Classes de sensores em fibra óptica

Existem actualmente, tantos tipos de SFO quanto o número das suas aplicações existentes. Serão enumeradas todas as classes de SFO, mas será dado especial ênfase aos três tipos utilizados no desenvolvimento do protótipo laboratorial. Os SFO dividem-se em sensores *intrínsecos* e *extrínsecos*. Os sensores *intrínsecos* apresentam como zona sensível apenas uma parte da fibra. A zona sensível corresponde apenas a uma pequena zona do sensor que não é distinguível visualmente da restante fibra. Os sensores *extrínsecos* apresentam como zona sensível todo o comprimento da fibra. Pode-se também classificar o sensor de acordo com as propriedades de transmissão da luz: *por intensidade*, *interferométrico*, *polarimétrico* e *por variação de comprimento de onda*.

3.4.1 Sensores de Bragg em fibra óptica

Os sensores de Bragg em fibra óptica, normalmente designados por FBG (*Fiber Bragg grating*) formam-se quando é gravada uma variação periódica do índice de refração do núcleo numa fibra óptica fotossensível, por exposição desta a um padrão de interferência de luz ultravioleta (UV) intensa [19]. Estes sensores integram-se na classe dos sensores *intrínsecos* e de *variação de comprimento de onda*. Os sensores de Bragg quando escritos em fibras de elevada bi-refringência podem ser usados como sensores polarimétricos, pois têm a capacidade de medir factores exteriores à fibra, como a deformação e variação de temperatura numa estrutura hospedeira, através da influência da polarização dos dois modos (eixo rápido, eixo lento) numa fibra óptica de elevada bi-refringência.

A fotossensibilidade das fibras ópticas de sílica dopadas com germânio (GeO_2) permite construir estruturas periódicas no núcleo da fibra óptica. Estas estruturas são obtidas pela alteração permanente do índice refractivo, devido a alterações a nível molecular, num padrão periódico ao longo da fibra.

As estruturas periódicas são gravadas no núcleo de uma fibra óptica, ao expor a fibra a dois feixes de luz UV idênticos, que ao serem interceptados formam um padrão de interferência que é gravado no núcleo da fibra (Figura 1.3).

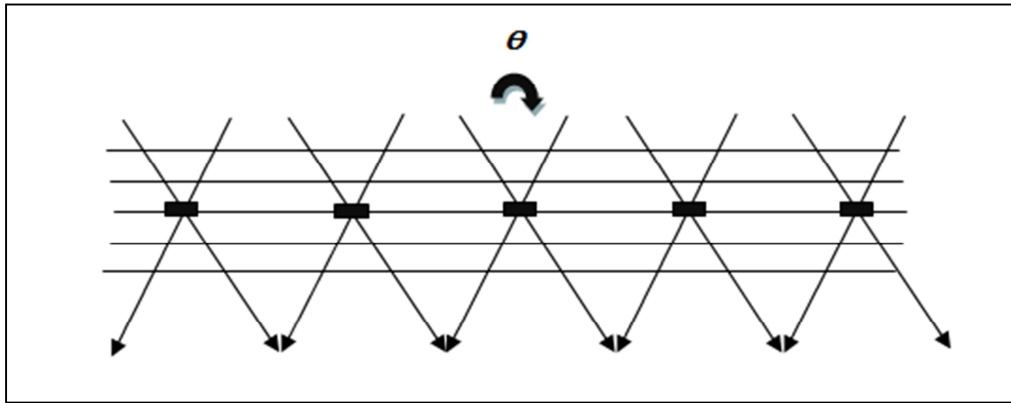


Figura 1.3 Formação de uma estrutura rede de Bragg foto-induzida no núcleo de uma fibra óptica normalizada.

As zonas de elevada intensidade de luz provocam um aumento local do índice de refração no núcleo fotossensível, enquanto as regiões sem luz não são afectadas. O período do padrão de interferência Λ varia segundo a variação do ângulo θ entre os feixes de luz que interferem:

$$\Lambda = n_{UV} \lambda_{UV} \sin (\theta/2) \quad (1)$$

onde n_{UV} é o índice refractivo do núcleo para o comprimento de onda λ_{UV} do feixe de luz UV incidente.

O comprimento de onda central da banda reflectida, λ_B , pode ser descrito analiticamente pela condição de *Bragg*:

$$\lambda_B = 2n_{eff} \Lambda_B \quad (2)$$

onde n_{eff} representa a média do índice de refração efectivo do núcleo e Λ_B é o período da rede. As redes de Bragg são simples elementos intrínsecos sensíveis, e permitem uma medição absoluta das perturbações físicas a que são sensíveis.

O princípio básico do funcionamento do sensor consiste em registar as alterações do comprimento de onda. Estas variações são independentes da intensidade de luz da fonte. Quando a fibra é esticada ou comprimida axialmente o período da rede e o n_{eff} alteram-se.

A exposição da fibra óptica à variação da deformação longitudinal e/ou expansão térmica resulta numa variação linear do comprimento de onda de Bragg (Figura 1.4 e Figura 1.5).

O processo de produção e funcionamento destes sensores torna-os insensíveis a flutuações na fonte de alimentação, variações na resposta dos foto-detectores, ou mesmo variações por perda de intensidade nos conectores das extremidades das fibras ópticas.

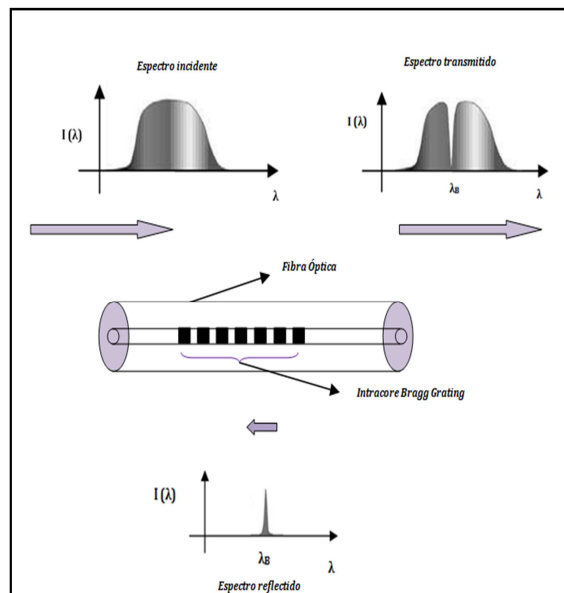


Figura 1.4 Conceito do sensor FBG.

Basicamente, os sensores FBG são sensíveis à deformação longitudinal e à variação de temperatura, em simultâneo. Então um FBG como *sensor de deformação longitudinal* apresenta como factor de deformação:

$$G_{\epsilon} \equiv \frac{1}{\lambda_B} \left[\frac{\partial \lambda_B}{\partial \epsilon} \right]_T = 0.78 \times 10^{-6} \mu\epsilon^{-1} \quad (3)$$

o que permite obter um FBG com sensibilidade do comprimento de onda e deformação de aproximadamente 10^{-3} nm/ $\mu\epsilon$ para um comprimento de onda central do espectro de 1.4 μm .

Numa fibra óptica de sílica a resposta térmica é designada de *efeito termo-óptico*, isto é, a variação do índice refractivo com a temperatura, correspondendo num FBG a um factor sensibilidade à temperatura de:

$$G_T \equiv \frac{1}{\lambda_B} \left[\frac{\partial \lambda_B}{\partial T} \right]_{\epsilon} = 6.67 \times 10^{-6} K^{-1} \quad (4)$$

A resolução de ~ 1 pm (0.001 nm) é necessária num comprimento de onda centrado em 1.3 μm para definir uma variação de temperatura de 0.1K, ou uma deformação de 1 $\mu\epsilon$.

Para um comprimento de onda centrado em 1.55 μm , como os utilizados, a resolução do sinal óptico é de aproximadamente 1.21 pm.

Deste modo, a calibração do sensor FBG antes da sua aplicação, assim como de todas as tecnologias de sensorização, é de extrema importância para uma monitorização com elevado grau de precisão. Para os FBG comerciais, esta informação é fornecida pelos fornecedores ou pelos sistemas de aquisição.

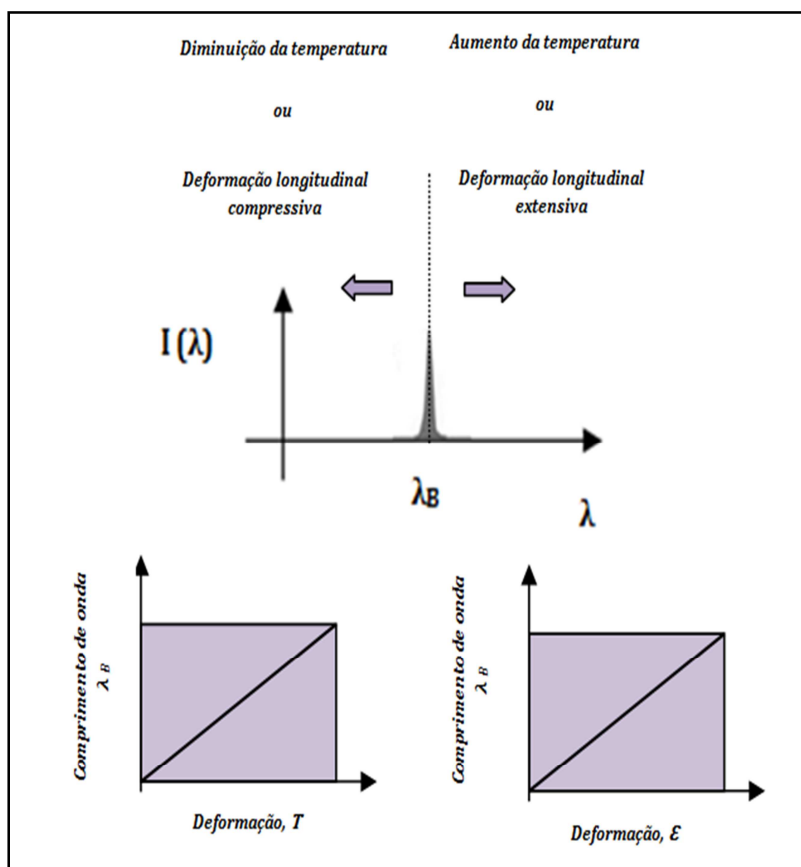


Figura 1.5 Conceito básico da variação do centro (Bragg) do comprimento de onda de um sensor FBG com a deformação longitudinal e a temperatura.

3.4.2 Sensor em fibra óptica usando uma rede aperiódica

No procedimento de monitorização com sensores uniformes, o parâmetro mais importante durante o procedimento é a variação do centro do comprimento de onda ($\Delta\lambda$). Uma propriedade única destes sensores permite obter medições no interior do sensor FBG que está presente na periodicidade assimétrica da rede de Bragg. Neste tipo de sensores o período da rede depende do posicionamento ao longo da fibra óptica. Desta forma, estes sensores podem ser vistos como um conjunto de sub-redes.

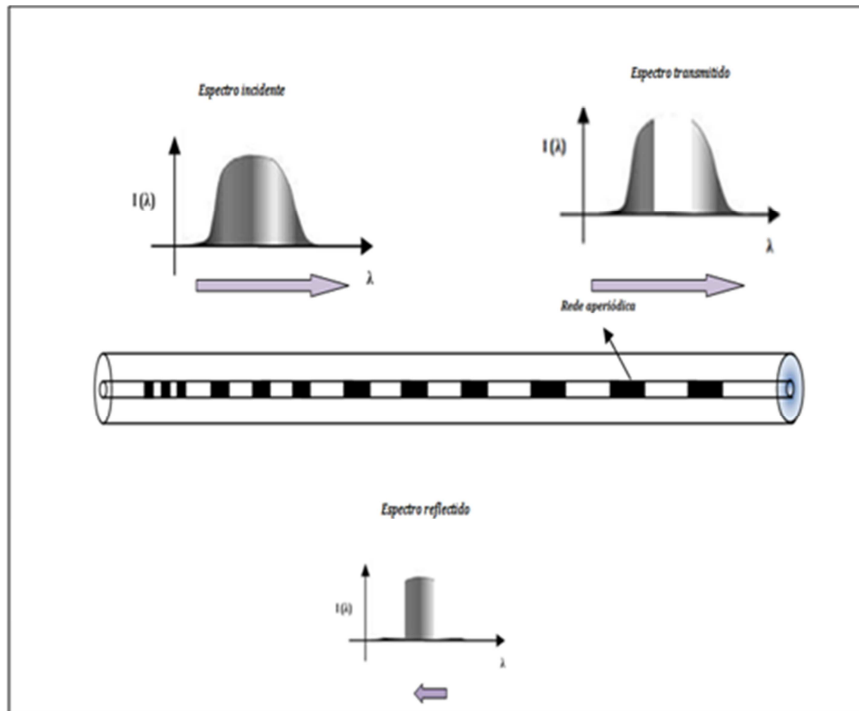


Figura 1.6 Conceito básico de um sensor de fibra óptica com rede aperiódica

3.4.3 Sensores ópticos interferométricos

Os sensores interferométricos respondem a alterações na propagação da onda de luz ao longo de uma fibra óptica monomodo, representando uma classe de sensores extremamente sensíveis. Dentro dos sensores interferométricos, foi utilizada uma rede de Bragg em fibra óptica e um espelho na ponta (reflexão de Fresnel), formando uma cavidade interferométrica. O modo de funcionamento do interferômetro combina a luz proveniente de uma fonte que parte da luz reflectida pela rede de Bragg e outra que continua e viaja até ao espelho (ponta da fibra) retornando de seguida à rede de Bragg, formando uma interferência (ver Figura 1.7). A alteração da distância entre a rede de Bragg e o espelho, L_c , indica a localização espacial. Teoricamente L_c é obtido pela equação (5):

$$L_c = \frac{\lambda_B^2}{2 \cdot n_{eff} \Delta\lambda} \quad (5)$$

Nesta equação L_c é a distância entre a rede de Bragg e o espelho, λ_B o valor médio do comprimento de onda do espectro inicial, n_{eff} o índice refractivo e $\Delta\lambda$ a variação do comprimento de onda nas franjas do espectro final.

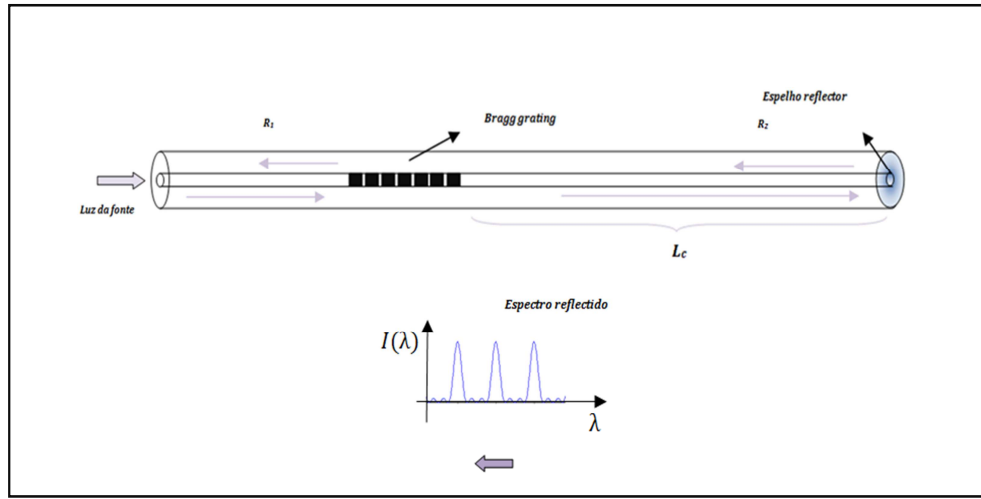


Figura 1.7 Conceito básico do interferómetro que combina a luz proveniente de uma fonte que parte da luz reflectida pela rede de Bragg e outra que continua e viaja até ao espelho (ponta da fibra).

3.5 Aplicações biomédicas dos sensores de fibra óptica

Numa aplicação *in vivo* o parâmetro mais importante a garantir num sensor é a biocompatibilidade. Os revestimentos utilizados nos SFO podem ser tolerados pelo organismo vivo. Estudos efectuados por *Yang et al.* reforçam a possibilidade da sua aplicação como implante definitivo em seres vivos [8, 10-12]. Também a dimensão e a ausência de soldaduras e cabos eléctricos de conexão tornam menores os riscos de infecção quando esta tecnologia óptica é aplicada *in vivo* [10-12].

A aplicabilidade de sensores de fibra óptica na biomedicina não é novidade, e tem sido demonstrada na monitorização *in vitro* das forças no tecido ósseo cadavérico e em deforma-

ções tendo/musculares [5, 7, 16, 20-24]. Um outro aspecto que torna estes sensores atractivos para aplicações no interior do corpo humano é o facto de o sinal ser luminoso, ao contrário da corrente eléctrica presente nos restantes sensores.

A aplicação de SFO na medição de forças em tendões revelou-se uma tecnologia prática, barata e minimamente invasiva [16, 20-22]. Em 1996, *Komi et al.* demonstraram a sua viabilidade para a medição das forças tendo-musculares durante a simulação de locomoção num membro inferior de um cadáver de coelho [16].

A técnica utilizada consiste em passar um cabo de fibra óptica através do tendão médio-lateral e transversal até ao eixo de carga. A deformação exercida sobre os tendões transfere-se para a fibra óptica, modelando a intensidade de luz que, posteriormente, é transformada em tensão eléctrica pelos fotodetectores, traduzindo a deformação. O trabalho de *Komi et al.* precede outros estudos e permitiu observar a eficácia da capacidade de resposta dos sensores ópticos, tanto em regime estático como em dinâmico, a fácil implantação no organismo sem recorrer a cirurgia e a mínima invasão quanto ao funcionamento normal dos tecidos vivos. Neste exemplo, foi validada a possibilidade de aplicação, descurando-se o rigor quantitativo das medições obtidas. As cargas aplicadas variavam entre 0,0 kgf e 1,25 kgf, a aquisição do sinal óptico foi obtido para estes valores com boa resolução e linearidade. Após este estudo ocorreu a aplicação directa em seres humanos, através de aplicações de monitorização *in vivo* e *ex vivo* [17, 20-22, 24-26].

Finni et al. e *Arnd et al.* aplicaram esta tecnologia na monitorização directa de respostas não-lineares do tendão de Aquiles humano (ver Figura 1.8) resultante do esforço aplicado pelo tríceps sural, um conjunto de músculos que agem como flexor do joelho e flexor plantar do pé durante locomoção natural [20-22]. Esta informação foi crucial para o desenvolvimento de modelos numéricos mais próximos da realidade.

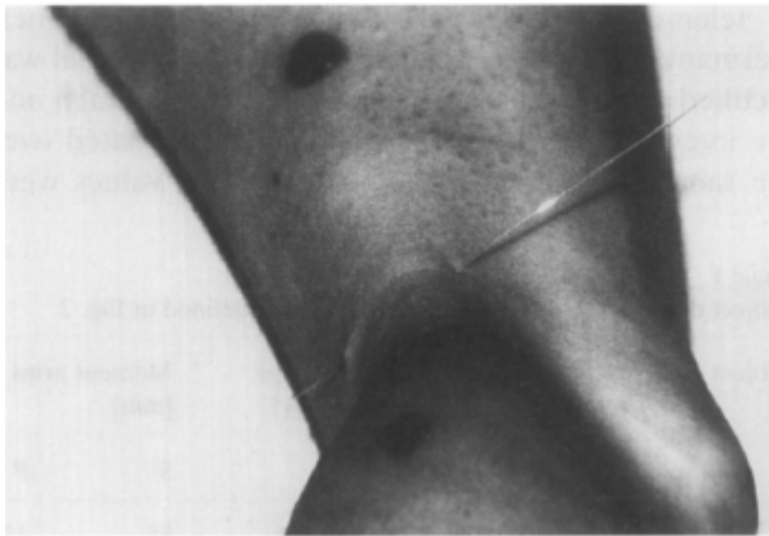


Figura 1.8 Uma fibra óptica inserida num tendão de Aquiles humano a monitorizar em tempo real as forças aplicadas. Uma extremidade permanece no exterior para ligar ao transmissor e receptor ópticos [20].

Estudos continuados da monitorização do tendão de Aquiles em seres humanos com sensores ópticos permitiram medir, durante locomoção normal, a amplitude dos movimentos e a intensidade da contracção dos músculos. A taxa de aquisição de dados obtida pelos equipamentos optoelectrónicos e a rapidez de resposta dos sensores permitiram uma elevada precisão na análise do comportamento de deformação do tecido mole em função [22].

É necessário realçar que cada um destes estudos de monitorização com sensores de fibra óptica prevê uma calibração inicial e um conhecimento prévio do material hospedeiro. A selecção do sensor óptico, a definição exacta da zona sensível e a adesão do tecido a todo o comprimento do sensor durante os mecanismos de transmissão são factores de elevada relevância em estudos de monitorização. *Erdemir et al.* analisaram esses parametros e revelaram como estes podem interferir na precisão dos dados obtidos traduzindo-se num erro significati-

vo. Face à sensibilidade à falta de adesão entre o SFO e o tecido adjacente, nomeadamente o tecido adiposo subcutâneo, e associado ao facto de SFO seleccionado ser um sensor óptico extrínseco (ver Figura 1.9), ocorreram erros de medição [7, 23, 24].



Figura 1.9 Mecanismo hipotético pelo qual o encastramento da fibra óptica na pele que envolve os tecidos moles provoca uma flexão da fibra [24].

Porém, quando se trata de aplicação em seres vivos, existem varáveis não mensuráveis que se reflectem em diferenças nos resultados finais, como sejam as diferenças anatómo-fisiológicas entre os pacientes que determinam variações no posicionamento de cada sensor nos respectivos músculos [22].

Erdemir et al. apresentaram dois trabalhos experimentais, onde reforçam o potencial das fibras ópticas para aplicação em monitorização de tendões, tais como o baixo custo, a facilidade de implantação e a reproductibilidade comparativamente com outros transdutores de força [23]. No entanto, factores adicionais relacionados com o posicionamento da fibra óptica, migração da fibra, influência da pele no comportamento do sensor durante a aplicação da carga, etc., penalizam a aplicação desta tecnologia [24]. Desta forma, para uma medição *in loco* com precisão torna-se imperativo durante a calibração contabilizar e caracterizar o comportamento e a forma como estes factores afectam o sinal de saída dos sensores.

3.6 Estudos experimentais

3.6.1 Monitorização do manto de cimento ósseo numa artroplastia de anca cimentada com sensores FBG uniformes

Para a demonstração e validação desta tecnologia sensora no desenvolvimento de um implante inteligente, foram testados vários modelos, de complexidade crescente, que permitiram a identificação de como cada parâmetro físico induz a resposta do sensor durante a monitorização.

Neste estudo, os sensores FBG embebidos no interior do provete de cimento ósseo foram sujeitos a variações de temperatura, diferentes estados de compressão através da espessura e cargas de tracção em testes independentes. Estes fenómenos físicos ocorrem em simultâneo no manto de cimento ósseo de um componente femoral de um implante de anca.

A modelação através de elementos finitos permitiu estabelecer relações entre a luz reflectida pelo sensor e a deformação local, permitindo assim calibrar o sistema. Nesta etapa inicial foi pretendido comprovar a viabilidade de utilizar sensores de Bragg em fibra óptica para a monitorização da integridade estrutural do manto de cimento e assim utilizar esta metodologia para a monitorização de um componente femoral de uma prótese de anca.

Nesta aplicação, os sensores foram simultaneamente solicitados à compressão e expansão radial. Nesta fase inicial pretende-se, apenas, estabelecer a fiabilidade do embebimento de sensores de Bragg em fibra óptica em biomateriais garantindo a funcionalidade do sensor.

PALACOS R-40® foi o cimento ósseo seleccionado para o desenvolvimento dos provetes utilizados neste estudo. Registos clínicos e a literatura referem a sua elevada longevidade.

de em artroplastias articulares totais [27]. As suas propriedades mecânicas estão bem estabelecidas na literatura (Tabela 1).

Este trabalho correspondeu a uma fase preliminar para validar a possibilidade de utilizar os sensores FBG numa aplicação *in vitro* de um componente femoral de um implante de anca, descrita no capítulo seguinte.

Tabela 1 - ISO 5833 testes de compressão e DIN 53455 testes de tracção ao cimento ósseo comercial Palacos-R40 após mistura [9].

Palacos – R40		2h	2 Dias	28 Dias
Testes de compressão	Tensão de rotura (MPa)	73	86	108
	Deformação de rotura (%)	6,8	7,1	7,8
	Módulo de elasticidade (MPa)	1920	2170	2500
Testes de tracção	Tensão de rotura (MPa)	52	53	52
	Deformação de rotura (%)	2,9	2,7	2,6
	Módulo de elasticidade (MPa)	2720	3050	3020

O modelo final é mais realista, pois contempla a monitorização de uma haste femoral comercial, inserida num fémur sintético, e solicitada dinamicamente de acordo com os parâmetros fisiológicos humanos.

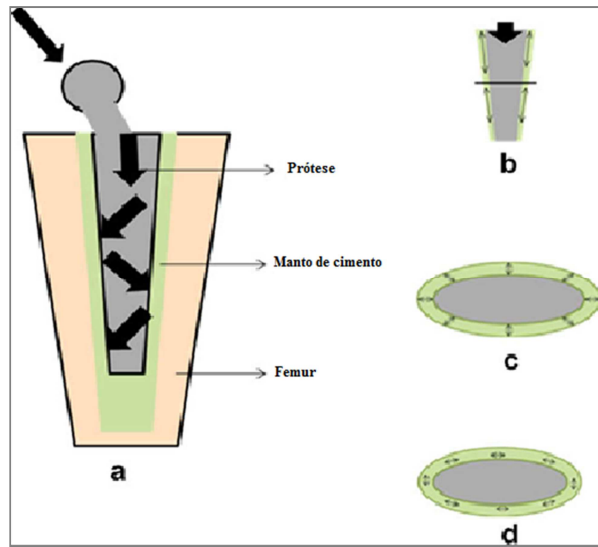


Figura 1.10 (a) Construção osso prótese e diferentes forças a que o manto de cimento está sujeito: (b) carga aplicada responsável pelo afundamento da prótese (c) compressão radial no manto de cimento e (d) compressão em argola [9, 14].

Os provetes foram preparados misturando manualmente o componente em pó (PMMA) e o líquido (MMA) à temperatura ambiente (23°C) [14].

As dimensões de cada provete foram definidas de acordo com os respectivos testes e as especificações requeridas para os *set-ups* existentes, garantindo uma espessura do cimento superior a 3 mm [27].

Os sensores de fibra óptica são em sílica e têm um diâmetro de 125 μm e a zona de sensibilidade da rede é de 10 mm e o comprimento de onda central é de 1,55 μm .

3.6.1.1 Modelação numérica através do método de elementos finitos

Um modelo de elementos finitos foi utilizado para estimar a deformação transversal/longitudinal induzida na interface da fibra óptica/material hospedeiro. Foi observado que apesar das pequenas dimensões da fibra existe uma concentração local de deformações, cuja área de influência pode ser facilmente determinada (Figura 1.11)

Ambas as amostras de compressão e tracção foram modeladas através da análise numérica por elementos finitos usando o software comercial Abaqus 6.6-1 em condições estáticas. A malha foi desenhada usando o pré-processador FEMAP V9.2. O modelo é composto por elementos quadráticos sólidos (elementos em cunha e cúbicos) com três graus de liberdade em cada nó. Desta forma, dos modelos de compressão e tracção resultaram 107512 e 67195 nós, respectivamente. Os resultados numéricos para os testes de tracção mostraram que a variação da deformação teórica durante os ensaios, ϵ_3 é $3,04 \times 10^{-4}$ kN/ $\mu\epsilon$ (ver Figura 3.14, eixo 33 e Figura 3.9).

Nos resultados dos modelos numéricos à compressão foi estudada a variação de deformação na direcção ϵ_2 da fibra óptica (ver Figura 1.16)

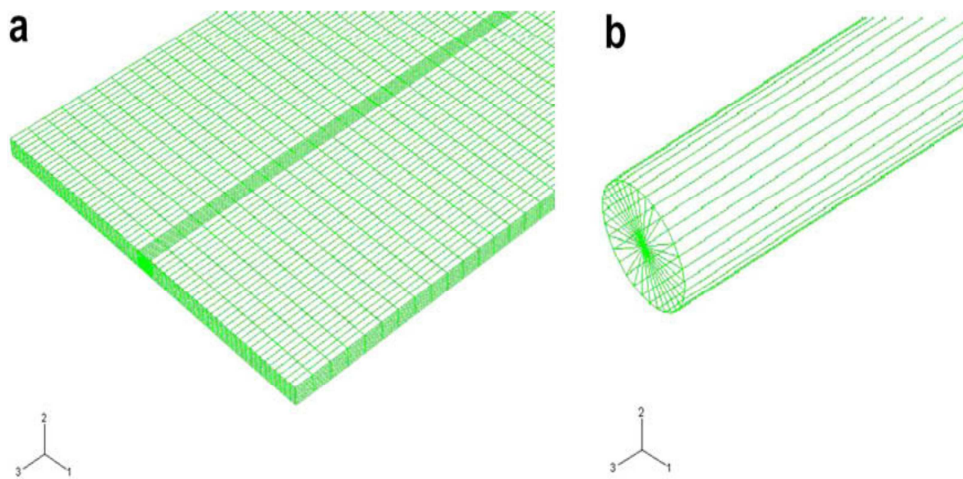


Figura 1.11 AEF malha paramétrica a) malha global da amostra da compressão com 57600 elementos e 67195 nós; b) detalhe da malha do sensor FBG sensor com 1200 elementos.

3.6.1.2 Preparação dos provetes com sensores FBG uniformes

O sensor encontra-se localizado em cada amostra a meio da espessura do manto de cimento (Figura 1.12).

As amostras contendo os sensores FBG foram testadas apenas dois dias após a cura do cimento, de forma a garantir a estabilização das propriedades mecânicas (Tabela 1). Um dos aspectos mais importantes durante a monitorização *in loco* é respeitar o processo natural de estabilização do material, de modo a reduzir o número de interferências externas no sinal óptico obtido.

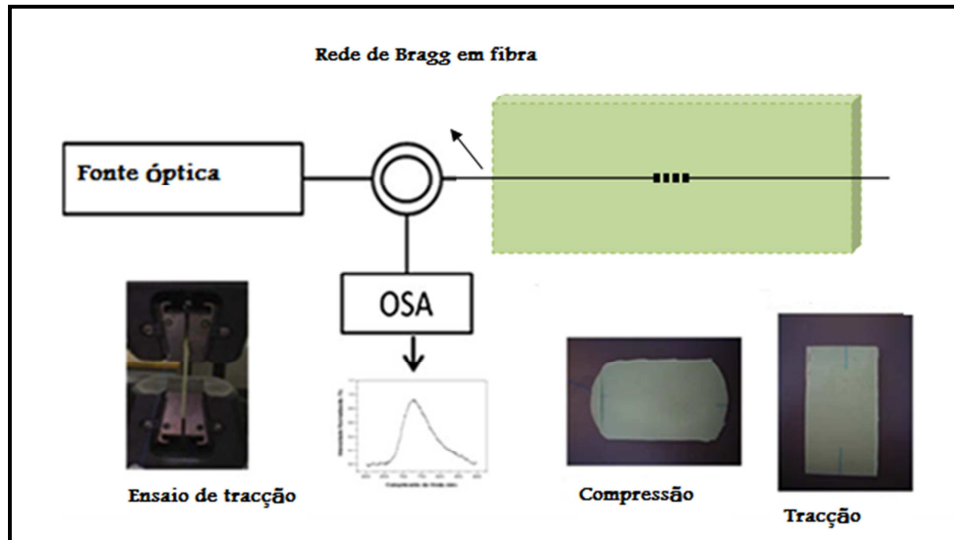


Figura 1.12 Esquema representativo do sistema de aquisição do sinal óptico nas diferentes amostras de cimento ósseo [14].

Os testes de compressão e tração foram realizados usando uma máquina de ensaios universal, INSTRON[®], modelo 428, com controlo de deslocamento. Nos ensaios de tração foram aplicados intervalos de 0,1 kN a 0,5 mm/min até à rotura do provete (Figura 1.13). Os ensaios de compressão através da espessura foram aplicados a 0,5 mm/min em intervalos de 1 kN. O espectro óptico reflectido pelo sensor foi adquirido no final de cada aplicação de carga através de um Optical Spectrum Analyzer (ANDO). Os ensaios decorreram à temperatura ambiente de 23°C.



Figura 1.13 Provete testado à tracção com um vazio resultante da evaporação do monómero (MMA).

3.6.1.3 Testes de temperatura

Como foi mencionado anteriormente, deformação e variações térmicas originam uma variação linear do centro de comprimento de onda de um sensor FBG, sendo difícil de dissociar no sinal óptico quando estes dois fenómenos ocorrem em simultâneo. Na literatura e de acordo com o fornecedor dos sensores, os coeficientes de expansão térmica da fibra óptica estão bem definidos. Mas quando o sensor está embebido no interior de um material, é necessário um estudo do seu comportamento quando sujeito a variação de temperatura, de forma a garantir uma maior precisão na monitorização.

O comprimento de onda central de um sensor FBG, de $1,55 \mu m$, admite uma variação de aproximadamente $10 pm/^{\circ}C$, sendo a expansão térmica da fibra de vidro de sílica de $5 (\mu m/m) /^{\circ}C$.

A caracterização do cimento ósseo, através de testes dilatométricos, permitiu obter um coeficiente de expansão térmica de $38,5 (\mu m/m) /^{\circ}C$ no intervalo de temperatura de $25^{\circ}C$ a $40^{\circ}C$, com um erro quadrático de 0,994. Os resultados experimentais obtidos através do sen-

os sensores FBG, embebidos no provete de cimento ósseo, permitiram obter uma variação térmica de 138,75 pm/°C (ver Figura 1.14).

As amostras foram aquecidas até um máximo de 43°C e arrefecidas gradualmente, sendo a monitorização realizada em patamares de 1 °C até 37°C, numa câmara climatizada. O intervalo de temperatura foi seleccionado de modo a abranger as temperaturas que ocorrem no interior do corpo humano.

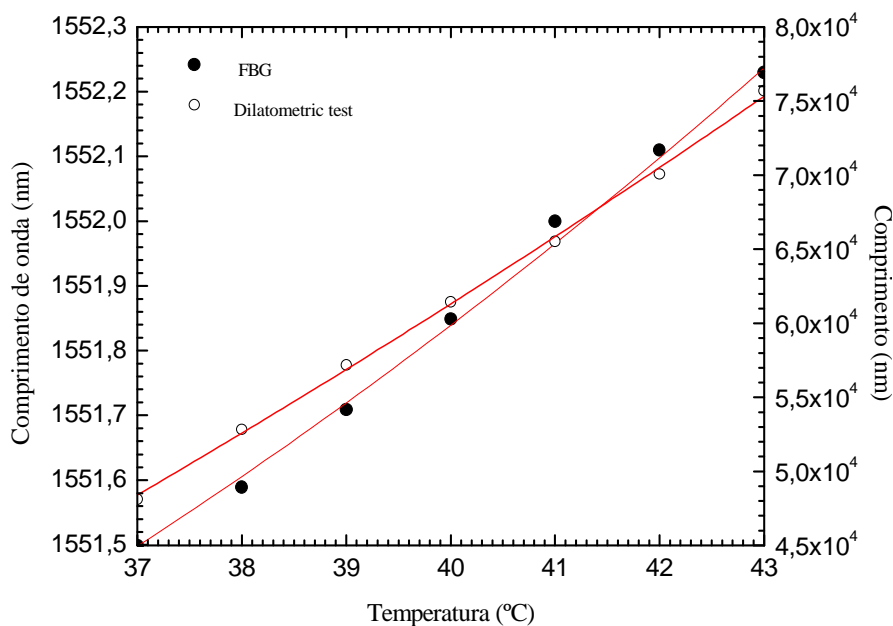


Figura 1.14 Medição da variação da temperatura no cimento ósseo através dos sensores FBG e teste dilatométrico [37°C a 43°C].

3.6.1.4 Testes de Tracção

Os resultados experimentais obtidos nos FBG embebidos demonstraram uma resposta linear e um coeficiente de sensibilidade à deformação de 1,7 pm/ $\mu\epsilon$ (Tabela 1). Contudo, na Figura 1.13 é possível observar a existência de um vazio provocado pela evaporação de mo-

número residual após cura. Este fenómeno, descrito na introdução, actua mecanicamente como um concentrador de tensões que levam gradualmente à diminuição das propriedades mecânicas do manto de cimento e conseqüentemente à fissuração do cimento ósseo [4].

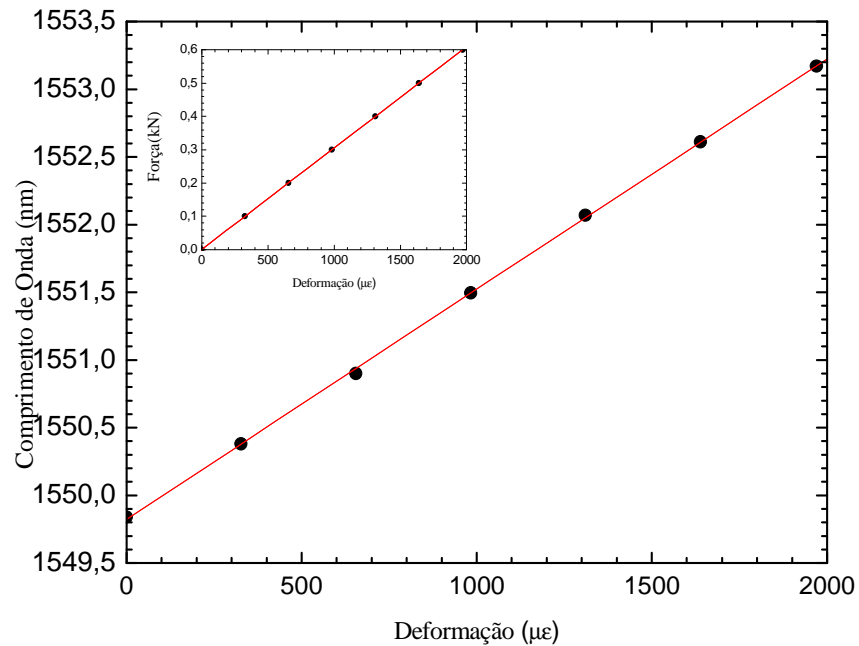


Figura 1.15 Variação da deformação, $\Delta\epsilon$, na direcção de maior sensibilidade do sensor FBG em função do comprimento de onda.

3.6.1.5 Testes de compressão

Nos resultados experimentais dos testes de compressão, dois comportamentos foram verificados para a variação do comprimento de onda central, antes e depois de aplicação de uma carga de 35 kN (ver Figura 1.16).

A variação do comportamento do sensor FBG apenas estabilizou a partir dos 35 kN, sendo o coeficiente de sensibilidade descrito através de um polinómio de segundo grau (ver

Tabela 2 e Figura 1.16). Estes resultados são semelhantes aos descritos na literatura [28].

A ocorrência deste fenómeno deve-se a uma adaptação interna do sensor FBG ao material envolvente, com o possível esmagamento de vazios que existiam no cimento ósseo. Saliencia-se, ainda, o facto de que na direcção transversal a rede não é ser uma direcção de elevada sensibilidade da fibra.

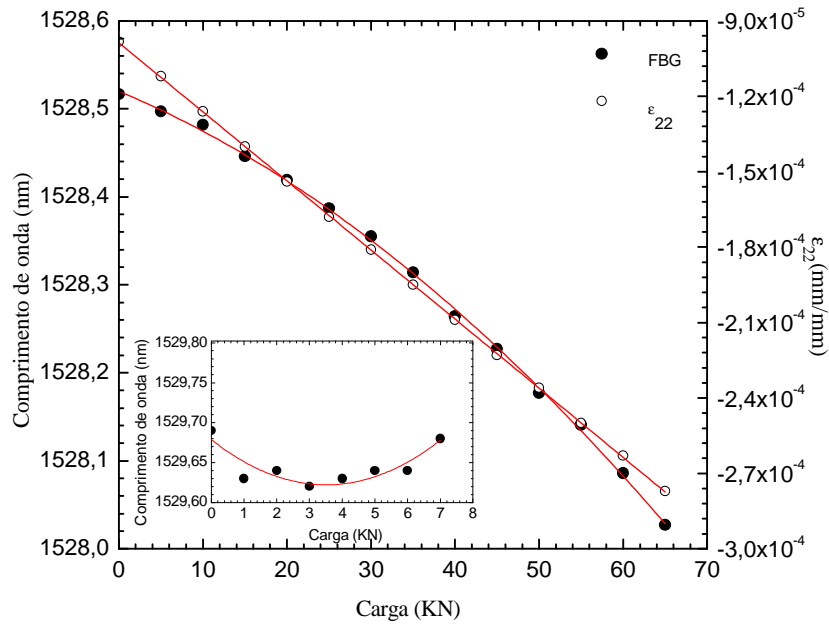


Figura 1.16 Variação da deformação, $\Delta\epsilon$, aplicada transversalmente na direcção de sensibilidade do sensor e variação do comprimento de onda central para cargas superiores a 35 kN. No interior do gráfico é possível observar um comportamento não linear e insensibilidade para carga inferiores a 35 kN.

Tabela 2 Comportamento da rede de Bragg para os diferentes ensaios.

<i>Ensaio experimental</i>	<i>Sensibilidade da rede</i>	<i>Erro (R^2)</i>
<i>Tracção</i>	1,7 pm/ $\mu\epsilon$	0,999
<i>Compressão</i>	$-(5,4739E^{-2}x-4,01)x$ pm/kN	0,992
<i>Temperatura</i>	138,75 pm/ $^{\circ}C$	0,996

3.6.2 Detecção de fissuração do manto de cimento ósseo com um sensor FBG com um espelho na extremidade

Para detecção de fissuras no manto de cimento, foi utilizado um interferómetro baseado na aplicação de um sensor FBG com reflexão de Fresnel.

A reflexão de Fresnel é criada pela rotura da fibra óptica, e permite localizar ao longo da fibra óptica a posição dessa rotura associada à fissura do cimento. A partir da interferência obtida na rede de Bragg podemos determinar a sua localização usando a equação (3).

Numa fase inicial, caracterizou-se uma rede de Bragg em fibra óptica sem reflexão de Fresnel e registou-se através de um analisador de espectros ópticos o espectro inicial (Figura 1.17 – a)). O sensor tem 1mm de comprimento, com uma grande largura espectral, demonstrando assim a sua aplicabilidade neste contexto. De seguida, identificou-se a posição do sensor na fibra óptica e cortou-se extremidade inferior, garantindo uma distância entre o sensor e o espelho de aproximadamente 6mm . Registou-se o espectro do sensor com interferência (Figura 1.18) confirmando teoricamente a rotura da fibra. Deste modo, viabiliza-se esta técnica com potencial para a detecção de fissuras no cimento.

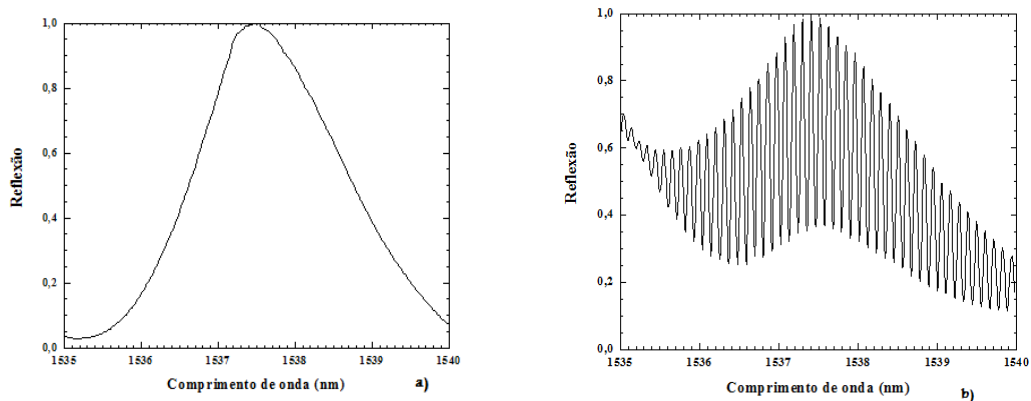


Figura 1.17 a) O espectro inicial obtido pelo sensor sem reflexão de Fresnel e b) o espectro final obtido pelo sensor com reflexão de Fresnel.

Para aplicação *in vitro* desta tecnologia, na detecção de fissuras no manto de cimento ósseo, foi utilizado um componente femoral fixo com cimento e um fémur sintético (modelo 3303 esquerdo, Pacific Research Labs, Vashon Island, WA, EUA).

O componente femoral utilizado apresentava uma fissura parcial propositadamente produzida, de forma a obter uma fissuração localizada no manto de cimento. A Figura 1.16 ilustra a haste femoral usada neste estudo, onde é bem visível o local onde foi induzida a sua fissura parcial. Pode-se observar o sensor FBG com um espelho na extremidade na zona proximal e o sensor óptico com rede aperiódica na zona distal da haste.

O sensor de fibra óptica foi colocado ao longo do comprimento da prótese, garantindo que a rede ficaria colocada a uma distância de 10 *mm* abaixo do local de fissura. Aparentemente, durante a colocação, terá ficado a 3 *mm* da fractura da prótese.



Figura 1.18 Componente femoral da prótese de anca com a fissura e a fibra óptica.

A haste femoral foi colocada no fémur sintético simulando-se o procedimento cirúrgico, como se ilustra na Figura 1-19. O ensaio foi realizado após 24 horas de colocação da prótese no canal femoral, tempo suficiente para completar a cura do cimento ósseo e estabilizar as suas propriedades.

Os ensaios à haste da prótese foram efectuados para uma carga quasi-estática e na direcção vertical, de 3 kN, suficiente para completar a fractura da prótese.

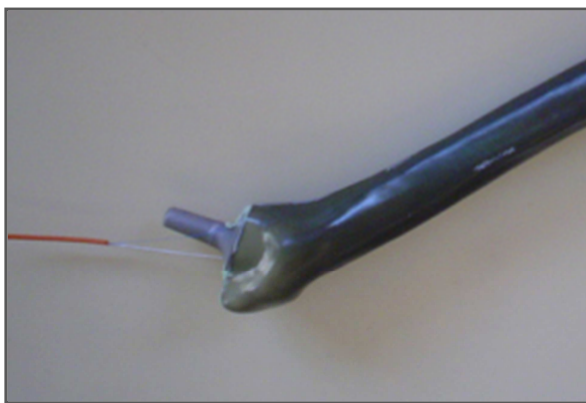


Figura 1-19 Prótese de anca colocada num fémur sintético.

A primeira fase deste trabalho foi de compreensão e estudo da viabilidade da aplicação do processo interferométrico neste contexto. Em condições laboratoriais, foi registado o espectro inicial do sensor óptico utilizado (Figura 1.20). O valor central do comprimento de onda do espectro foi de 1537,48nm. Cuidadosamente cortou-se a extremidade da fibra garantindo que o sensor óptico ficaria a uma distância de 6 mm do espelho, formando o interferómetro. Observou-se um padrão de franjas, sendo o espaçamento entre as duas franjas máximas de $\Delta\lambda=0,11\text{nm}$ (Figura 1.20). Os valores registados através do analisador de espectros ópticos foram suficientes para efectuar o estudo analítico do problema proposto. Usando a equação (5), que relaciona a localização da cavidade existente entre o sensor e o espelho, obteve-se um valor estimado para o comprimento da cavidade de $L_c \approx 7\text{mm}$. O resultado obtido analiticamente foi consistente com as condições impostas experimentalmente, admitindo um erro mínimo. Estes resultados são possíveis somente para distâncias pequenas ($\approx 50\text{ mm}$).

Na segunda fase do trabalho, foi colocado um sensor com a mesma dimensão localizado na prótese junto à fissura da haste femoral. Depois de aplicar uma carga na cabeça da prótese femoral, observou-se um padrão de interferência originado pela rotura da fibra associado à fissuração do cimento, como se ilustra na Figura 1.20. Esta alteração permitiu concluir que a fibra partiu depois do sensor, permanecendo ainda uma pequena cavidade entre o espelho e a continuação da fibra óptica. Analiticamente, pode-se determinar através da equação (5) o comprimento da cavidade entre o sensor e o espelho, $L_c \approx 0,8\text{mm}$. Este valor permite concluir que a fibra fracturou a 2,2 mm da fissura provocada na prótese, tendo sido validado experimentalmente.

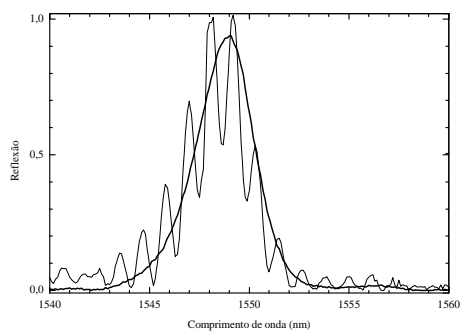


Figura 1.20 O espectro inicial do sensor, (negrito). O espectro final com as franjas (linha) do interferômetro com o espaçamento de 1 nm.

3.6.3 Sensor em fibra óptica usando uma rede aperiódica

Foi colada à prótese cimentada uma rede aperiódica com uma periodicidade assimétrica de 0,4 nm, correspondente a 10 mm, sendo o comprimento da rede de 40 mm. A fractura provocada na prótese foi centrada com o centro da rede aperiódica. A largura espectral da rede aperiódica de Bragg é aproximadamente de 1,6 nm. O valor obtido para a largura espectral foi de 0,9 nm para um comprimento total de rede de 40 mm. A diferença entre o valor teórico e experimental deve-se à reflectividade do sensor não atingir o valor máximo.

Durante o teste, a fibra óptica contendo o elemento sensor fracturou, originando uma mudança da resposta espectral (Figura 1.21). A Figura 1.21 apresenta claramente duas zonas de reflexão com intensidades diferentes. A zona com maior intensidade tem uma largura espectral de 0,27nm o que corresponde a uma posição de 10,2 mm do início da rede aperiódica. A segunda zona com menor reflectividade corresponde à outra parte da rede. A baixa reflectividade é devido à fibra estar quebrada. No entanto, ainda permite a aquisição de uma percentagem da intensidade de luz.

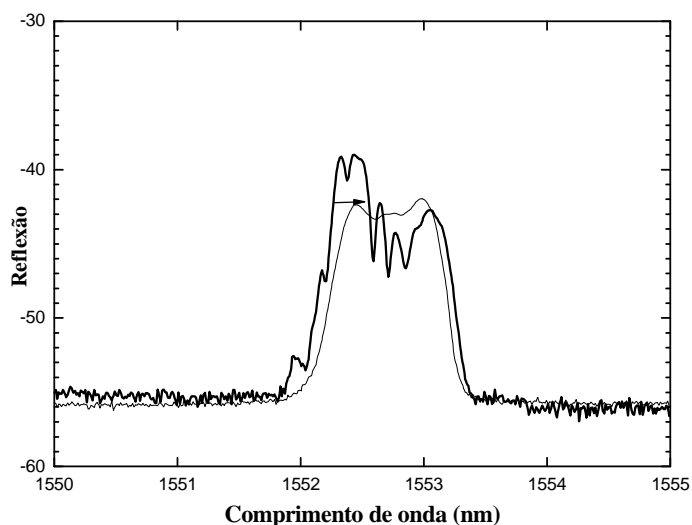


Figura 1.21 O espectro final obtido pelo sensor de fibra óptica com rede aperiódica: traço fino.

3.7 *Discussão dos resultados e conclusões*

A capacidade sensitiva implementada num material através do embebedimento de sensores requer um conhecimento prévio do comportamento do material e das propriedades do sensor. A resistência da interface depende das condições de embebedimento e do modo como o material é solicitado externamente. Ou seja, a calibração dos sensores depende sempre de como e onde são embebedidos os sensores. O estudo numérico em conjunto com informação experimental dos diferentes parâmetros físicos pode ser utilizado para efectuar uma calibração prévia da estrutura.

Este trabalho, numa fase inicial, permitiu estabelecer calibrações para três solicitações a que o manto de cimento está exposto (variação de temperatura, compressão e tracção). A compreensão da correlação entre as diferentes solicitações e variações da reflexão do espectro do sensor FBG permitirá, nas aplicações descritas mais à frente, analisar o complexo ambiente

de um implante de anca, conferindo a esta estrutura a capacidade sensora necessária para materializar o conceito de implante inteligente.

A sensibilidade destes sensores na medição da deformação, $\Delta\varepsilon$, na direcção longitudinal do sensor FBG é de 1,7 pm/ $\mu\varepsilon$. De facto, estes resultados demonstram uma elevada linearidade, tal como era esperado. Contudo, durante os ensaios experimentais, o comportamento do cimento ósseo reflectiu a sua fragilidade à tracção, em parte provocada pela existência de vazios, uma das muitas causas de fractura do manto de cimento em artroplastias da anca cimentadas.

Por outro lado, a sensibilidade do sensor FBG na aplicação de uma carga transversal, obteve um coeficiente de sensibilidade de $-(5.474 \times 10^{-2}x - 4.01)x$ pm/kN. Neste caso, verificou-se uma evolução quadrática relativamente à carga aplicada apenas a partir de 35 kN. Algumas razões podem justificar este resultado, como o ajustamento entre os dois materiais, a presença de vazios no material, associados à fraca sensibilidade do sensor FBG quando solicitado radialmente.

Relativamente à temperatura, os sensores FBG apresentaram uma expansão térmica de 138,75 pm/ $^{\circ}\text{C}$. Este valor depende da expansão térmica do cimento ósseo e da fibra de sílica, sendo a do vidro cerca de 13% da do cimento. A

Tabela 2 apresenta os coeficientes de sensibilidade para este material.

Este estudo procura estabelecer um esquema de calibração que será utilizado no modelo mais complexo *in vitro*, com uma geometria e solitação mecânica mais próxima do real. Comprovou-se que os sensores FBG são uma alternativa interessante para caracterizar *in situ* os biomateriais. Os resultados obtidos para as condições de carga durante as aplicações *in vitro* são essencialmente referentes à deformação longitudinal nos FBG, pois os estudos foram realizados a temperaturas ambiente. Não foram atingidas cargas compressivas de 35kN. Esta

metodologia de determinação das deformações foi a tecnologia seleccionada para a avaliação *in vitro* de uma componente femoral real.

Nesta fase preliminar, foi demonstrada a viabilidade de usar um interferómetro como sensor de localização de fissuras no manto de cimento ósseo. Os resultados obtidos na primeira parte do trabalho, em condições ideais, permitiram validar a aplicação do método pela coerência obtida entre as condições experimentais e os resultados obtidos. Na segunda parte, durante a aplicação no protótipo laboratorial, apesar de os resultados estarem dentro de um intervalo de resultados pretendidos, seria incorrecto deixar de considerar todo o ambiente externo ao sensor, já que condiciona a sua precisão. A localização inicial do sensor da fibra óptica e a fissura da prótese poderia sofrer alterações depois do procedimento cirúrgico para a colocação da componente femoral no fémur. As forças exercidas durante a colocação, o atrito entre o sensor e o cimento ósseo e a contração deste no processo de cura são variáveis de interferência.

Há que considerar ainda as condições mecânicas a que esteve sujeita a fibra durante a aplicação da carga responsável pela sua fissuração do cimento. Outras interferências não mensuráveis levam a que o valor de L_c obtido ($0,8\text{ mm}$) esteja distante do valor esperado, 2 mm . Desta forma, os resultados obtidos levam à conclusão que este processo óptico tem potencialidades na detecção e posicionamento espacial de fracturas. Mas, numa perspectiva de aplicabilidade clínica fica muito aquém do desejado, na medida em que seria necessária uma rede de sensores embebida ao longo do manto de cimento capaz de detectar quais as zonas em fissuração, pois integrada na superfície da prótese não seriam uma mais-valia.

À semelhança do interferómetro utilizado, o estudo com sensores de fibra óptica com redes assimétrica permitiu validar a possibilidade de utilização destes sensores como sensores de posição de fissuração. No entanto, mais uma vez, a sua aplicação clínica estaria dependente do embebimento destes sensores no manto de cimento, pois permitiria avaliar quantitativa e

qualitativamente a ocorrência de fissuração. No capítulo seguinte é apresentado o estudo de monitorização de modelos simplificados de componentes femorais de anca e uma aplicação com uma prótese comercial, utilizando redes de sensores de Bragg.

3.8 Referências Bibliográficas

1. D'Lima, D.D., et al., Tibial Forces Measured In Vivo After Total Knee Arthroplasty. *The Journal of Arthroplasty*, 2006. **21**(2): p. 255-262.
2. English, T.A. and M. Kilvington, In vivo records of hip loads using a femoral implant with telemetric output (a preliminary report). *Journal of Biomedical Engineering*, 1979. **1**(2): p. 111-115.
3. W A Hodge, R.S.F., K L Carlson, R G Burgess, W H Harris, and R W Mann, Contact pressures in the human hip joint measured in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986 **83**(9): p. 2879–2883.
4. Davy, D.T., et al., Telemetric force measurements across the hip after total arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*, 1988. **70**(1): p. 45-50.
5. Hodge, W.A., et al., Contact pressures from an instrumented hip endoprosthesis. *J Bone Joint Surg Am*, 1989. **71**(9): p. 1378-1386.
6. Kotzar, G.M., et al., Telemeterized in vivo hip joint force data: A report on two patients after total hip surgery. *Journal of Orthopaedic Research*, 1991. **9**(5): p. 621-633.
7. Ravary, B., et al., Strain and force transducers used in human and veterinary tendon and ligament biomechanical studies. *Clinical Biomechanics*, 2004. **19**(5): p. 433-447.

8. Fresvig, T., et al., Fibre optic Bragg grating sensors: An alternative method to strain gauges for measuring deformation in bone. *Medical Engineering & Physics*, 2008. **30**(1): p. 104-108.
9. Malchau, B., *The well-cemented Total Hip Arthroplasty, Theory and Practice*. 2005, Germany: Springer.
10. Bergmann, G., F. Graichen, and A. Rohlmann, Hip joint loading during walking and running, measured in two patients. *Journal of Biomechanics*, 1993. **26**(8): p. 969-990.
11. Berme, N. and J.P. Paul, Load actions transmitted by implants. *Journal of Biomedical Engineering*, 1979. **1**(4): p. 268-272.
12. Schwartz, M., *Encyclopedia of smart materials ed. I*. John Wiley & Sons. Vol. I. 2002, New York: A Wiley-Interscience. 1073.
13. Measures, R.M., *Structural monitoring with Fiber Optic technology*. 2008, London: Academic Press
14. Frias, C., et al., Mechanical characterization of bone cement using fiber Bragg grating sensors. *Materials & Design*, 2009. **30**(5): p. 1841-1844.
15. Majumder, M., et al., Fibre Bragg gratings in structural health monitoring-- Present status and applications. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2008. **147**(1): p. 150-164.
16. Komi, P., et al., Optic fibre as a transducer of tendomuscular forces. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 1996. **72**(3): p. 278-280.
17. Dennison, C.R., et al., Ex vivo measurement of lumbar intervertebral disc pressure using fibre-Bragg gratings. *Journal of Biomechanics*, 2008. **41**(1): p. 221-225.

18. Li, H.-N., D.-S. Li, and G.-B. Song, Recent applications of fiber optic sensors to health monitoring in civil engineering. *Engineering Structures*, 2004. **26**(11): p. 1647-1657.
19. Morey, A.W., Meltz, G., Glenn, W.,, Fibre optic bragg grating sensors. *Fiber Optic and Lasers Sensors VII*, 1989(1169): p. 98-107.
20. Arndt, A.N., et al., Individual muscle contributions to the in vivo achilles tendon force. *Clinical Biomechanics*, 1998. **13**(7): p. 532-541.
21. Finni, T., P.V. Komi, and J. Lukkariniemi, Achilles tendon loading during walking: application of a novel optic fiber technique. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 1998. **77**(3): p. 289-291.
22. Finni, T., P. Komi, and V. Lepola, In vivo muscle mechanics during locomotion depend on movement amplitude and contraction intensity. *European Journal of Applied Physiology*, 2001. **85**(1): p. 170-176.
23. Erdemir, A., S.J. Piazza, and N.A. Sharkey, Influence of loading rate and cable migration on fiberoptic measurement of tendon force. *Journal of Biomechanics*, 2002. **35**(6): p. 857-862.
24. Erdemir, A., et al., Fiberoptic measurement of tendon forces is influenced by skin movement artifact. *Journal of Biomechanics*, 2003. **36**(3): p. 449-455.
25. Fleming, B.C., G.D. Peura, and B. D. Beynon, Factors influencing the output of an implantable force transducer. *Journal of Biomechanics*, 2000. **33**(7): p. 889-893.
26. Mohanty, L., et al., Fiber grating sensor for pressure mapping during total knee arthroplasty. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2007. **135**(2): p. 323-328.
27. Malchau, B., *The well-cemented Total Hip Arthroplasty, Theory and Practice*, ed. Springer. 2005, Germany. p53- 139.

28. Vieira, A., et al., Effect of the recoating and the length on fiber Bragg grating sensors embedded in polymer composites. *Materials & Design*, 2009. **30**(5): p. 1818-1821.

Capítulo 4 - Aplicação de sensores de Bragg em fibra óptica na monitorização de um componente femoral de uma prótese de anca

4.1 Objectivo

O objectivo deste estudo foi a medição da estabilidade *in-vitro* de uma componente femoral cimentada, mediante a aplicação de uma rede de sensores de Bragg. Duas fases prévias antecederam este estudo; a primeira encontra-se descrita no capítulo anterior que mostra a possibilidade de aplicação destes sensores, a segunda fase consiste na medição das deformações na superfície de um modelo simplificado da geometria de uma haste femoral para compreender e definir uma metodologia na fase final da aplicação, usando uma componente femoral comercial cimentada (*Charnley Roundback*, BIOMET). Face à sensibilidade à temperatura das redes de Bragg, foi possível monitorizar o pico exotérmico da cura do manto de cimento ósseo.

4.2 Introdução

O sucesso de qualquer componente femoral é directamente influenciado pela sua geometria e método de fixação ao fémur [1-5]. Existem essencialmente dois métodos de fixação: próteses cimentadas em que a fixação é assegurada por PMMA e as não-cimentadas em que a superfície da prótese está em contacto directo com o osso e a fixação é obtida através de interferência mecânica.

Numa artroplastia de anca cimentada o manto de cimento é elemento comum nas duas interfaces que se criam: osso/manto de cimento e haste manto/prótese de cimento. O manto de cimento constitui o elemento mais fraco nestas interfaces. Compreender e avaliar o comportamento da haste femoral é um ponto fundamental para verificar se existe cedência do manto de cimento. A cedência do manto de cimento está relacionada directamente com vários parâmetros da haste femoral como a geometria e a superfície de contacto [6].

O método mais preciso para avaliar o comportamento da haste após uma artroplastia de anca é através do método de análise *radiosterométrica*. Este método consiste na marcação de pontos específicos usando marcadores de tântalo durante a cirurgia; após a cirurgia, o paciente é sujeito periodicamente a exames radiográficos e são obtidas imagens. Essas imagens são processadas através de um software específico e por comparação é possível verificar com precisão o posicionamento do implante e como evolui ao longo do tempo. Este método radiográfico é considerado de elevada sensibilidade quanto à detecção de afundamento da haste, partículas de polietileno e insucesso do componente acetabular [7].

Para uma componente femoral, cimentada ou não cimentada, os micromovimentos na interface (com o manto de cimento ou osso, respectivamente), associados a migração da haste, são factores que podem levar gradualmente ao insucesso da fixação do implante [8-11].

O movimento em qualquer uma das duas interfaces da manta de cimento representa um potencial ponto de início de mecanismos de falha. Porém, a interface mais crítica é a inter-

face osso/manto de cimento. Independentemente da geometria da haste, estudos demonstram que após um determinado período ocorre o afundamento da haste no cimento, o que desencadeia um descolamento da prótese relativamente ao manto de cimento. Este descolamento é prejudicial pois é sinónimo de instabilidade entre a prótese e o manto de cimento, frequentemente levando à fissuração do manto, que se inicia pelos pontos mais frágeis [12-14].

Várias metodologias têm sido aplicadas no desenho de componentes femorais para prolongar o período de estabilidade entre a haste e o manto de cimento como a adição de colar e aplicação de texturas e pré-revestimento na superfície da haste [15]. Outro parâmetro que pode ser importante considerar numa haste cimentada é a estabilidade rotacional primária [13]. A literatura direcciona este estudo essencialmente para as próteses não cimentadas, na medida em que esta informação permite indicar a ocorrência de osteointegração e sucesso funcional da haste [16-18]. Durante a actividade diária de um paciente a componente femoral está regularmente sujeita a elevados níveis de torção axial (durante o caminhar, o subir escadas e o simples acto de levantar de uma cadeira). A padronização deste comportamento para cada geometria de haste cimentada pode ser uma informação importante para estimar o seu comportamento [13].

A migração, os micro-movimentos e a rotação são fenómenos que devem ser monitorizados para que se possa prever a longevidade de um implante. Desta forma, e no seguimento dos estudos que têm sido apresentados na literatura com sensores de Bragg [19], utilizou-se uma rede de sensores ópticos para determinar a possibilidade de monitorizar durante um estudo *in-vitro* as deformações que ocorrem na superfície de uma haste cimentada *Charnley* como protótipo laboratorial.

4.3 Estudos experimentais

Os estudos serão apresentados em duas fases, uma que compreende a utilização de um modelo simples da geometria de uma haste de uma componente femoral e a finalização do estudo com uma componente femoral cimentada comercial.

4.3.1 Modelo simplificado da geometria de uma haste femoral

O modelo simplificado da geometria de uma haste femoral consiste num cone elíptico seccionado nas extremidades (ver Figura 1.22).



Figura 1.22 a) Modelo simplificado da geometria de uma haste femoral em alumínio e um bloco em resina; b) modelo simplificado fixado com cimento ósseo (PMMA) no bloco de resina como suporte (simulando um fémur sintético).

Neste modelo foram colocadas quatro fibras ópticas contendo quatro sensores de Bragg cada (ver Figura 1.23).

Para a colocação de cada fibra óptica foi efectuado um rasgo na superfície da haste de forma que apenas 10% do diâmetro total da fibra estivesse no interior do rasgo, tendo sido fixada com uma cola de cianoacrilato (recomendada pelos fabricantes das fibras ópticas) (Figura 1.24). As fibras utilizadas estavam nas mesmas condições dimensionais, fabrico e propriedades ópticas que as descritas no capítulo anterior, assim como o cimento ósseo utilizado.

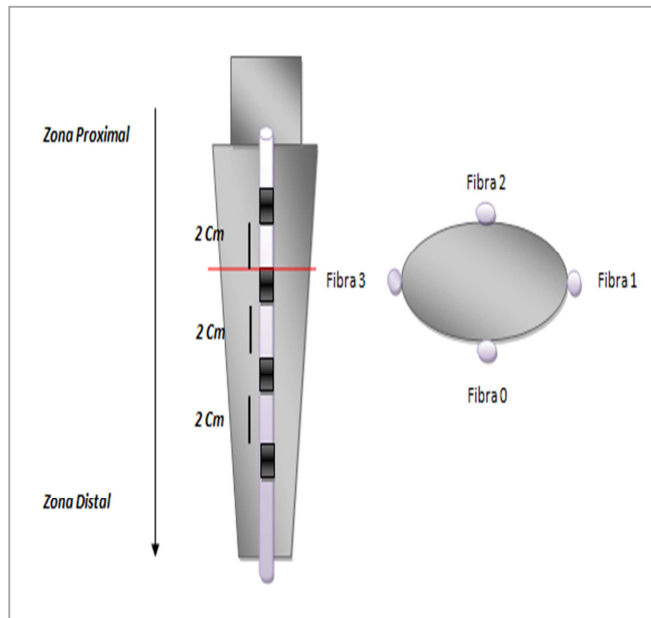


Figura 1.23 Ilustração da distribuição das fibras ópticas e respectivos sensores no modelo simplificado da haste femoral.

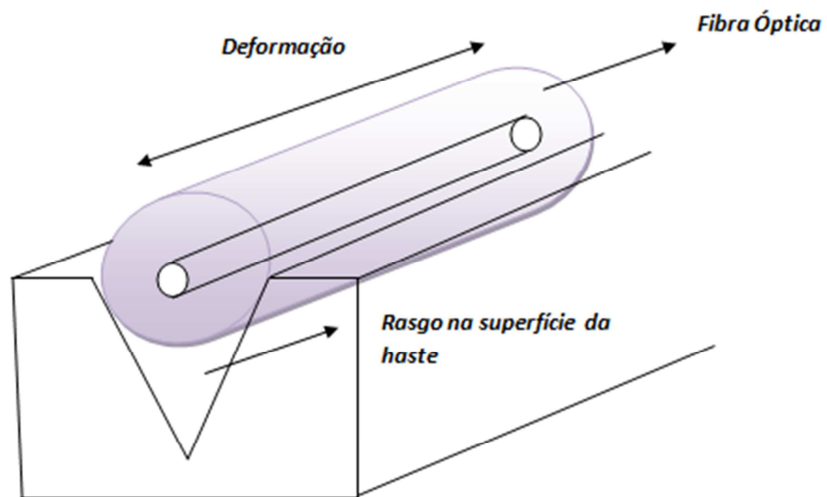


Figura 1.24 Ilustração do rasgo na superfície da haste femoral para colocar de forma estável da fibra óptica, embora admitindo apenas 10% do diâmetro total da fibra óptica no interior do rasgo na haste.

A haste foi inserida no bloco de resina de epóxico (simulando um fémur sintético) reforçada com pó de alumínio, com uma folga entre a haste e o bloco de resina de três milímetros de espessura, espaço a ocupar pelo manto de cimento ósseo. O procedimento de colocação da haste seguiu os pontos básicos de um procedimento cirúrgico de uma artroplastia de anca cimentada. Para o protótipo simplificado foi efectuado um número de amostras igual a dois. A fragilidade das fibras é elevada e o processo de colocação de uma haste femoral num fémur sintético implica um ambiente muito agressivo mecanicamente. Para um dos dois protótipos três das fibras sensores ficaram danificadas, mas foi possível monitorizar o pico máximo da reacção exotérmica durante a cura do cimento ósseo com os sensores da fibra óptica restante (ver Figura 1.25).

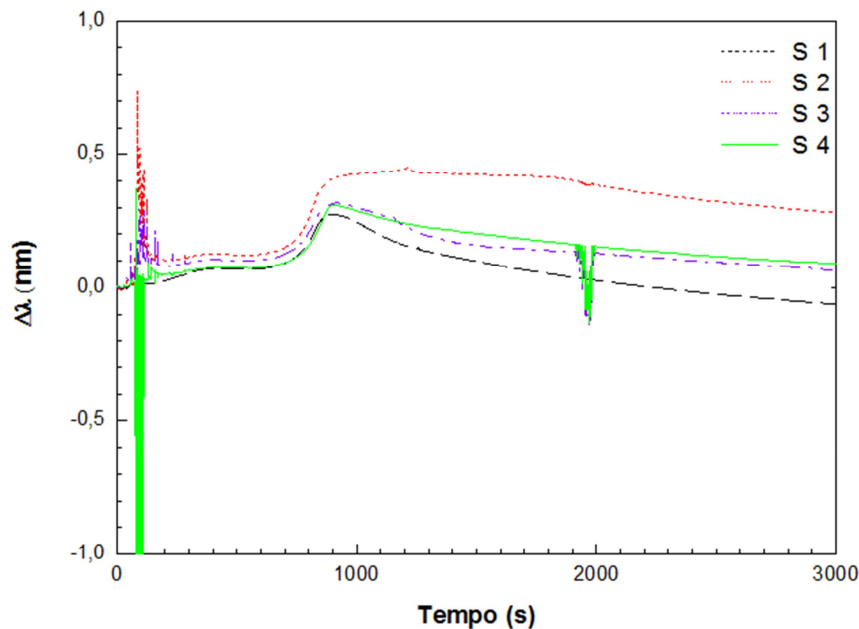


Figura 1.25 Variação do comprimento de onda, $\Delta\lambda$ (nm), em função do tempo, durante o processo de cura do manto de cimento. A aquisição do sinal óptico foi feita a 1Hz na fibra óptica 2 com os quatro sensores de Bragg (S1, S2, S3, S4 - estes sensores estão distribuídos ao longo da fibra, sendo que o S1 é o sensor mais proximal e o S4 o mais distal).

O pico máximo na medição da variação da temperatura foi verificado no sensor 2, ocorrendo 15 minutos após a mistura dos dois componentes do cimento. A perturbação verificada nos segundos iniciais corresponde à deformação provocada na fibra óptica durante a inserção da prótese simplificada no osso de resina. Ao longo do tempo verifica-se que a temperatura resultante da reacção exotérmica vai diminuindo.

No capítulo anterior verificou-se durante a calibração que a sensibilidade à temperatura de um sensor de Bragg embebido em cimento ósseo é de 138.75 pm/°C. Na Tabela 4 está representada a variação dos valores máximos de temperatura medidos na superfície da prótese por cada um dos sensores da fibra óptica 2, para uma temperatura exterior de 25°C. Uma zona pontual de estabilidade foi medida nos sensor S3 e S4 podendo sugerir contracção do manto de cimento envolvente.

Tabela 4 - Variação dos valores máximos de temperatura obtido por cada um dos sensores da fibra óptica 2 durante o período de cura do cimento, na superfície da prótese.

Sensores	ΔT (°C)
S1	1.96
S2	3.24
S3	2.28
S4	2.23

O segundo protótipo simplificado de uma haste femoral cimentada foi testado em ensaios de fadiga com uma carga uni-axial aplicada no topo de prótese simplificada. Aplicou-se uma carga dinâmica de 4,8 kN a 2 Hz (correspondente a oito vezes o peso corpóreo de um paciente com 600 N) [13]. Os ensaios foram feitos usando uma *MTS test*, o sinal óptico reflec-

tido foi adquirido com um BraggMETER (FiberSensing) a uma frequência de 5 Hz (ver Figura 1.26 e Figura 1.27).

Das quatro fibras ópticas com quatro sensores de Bragg cada uma, apenas a fibra 0 e a fibra 3 permitiram a monitorização até ao final dos ensaios. Os sensores na fibra 0 têm a designação de S1, S2, S3 e S4 e estão dispostos na haste da zona proximal para a distal no sentido crescente da numeração. De modo semelhante estão distribuídos os sensores na fibra 3 (do S5 na zona proximal para o S8 na zona mais distal da haste).

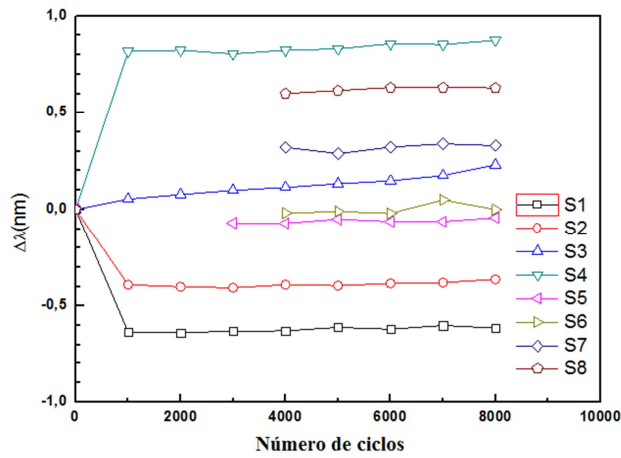


Figura 1.26 Variação do comprimento de onda $\Delta\lambda$ (nm), para os primeiros ciclos de carga aplicada (4.9kN).

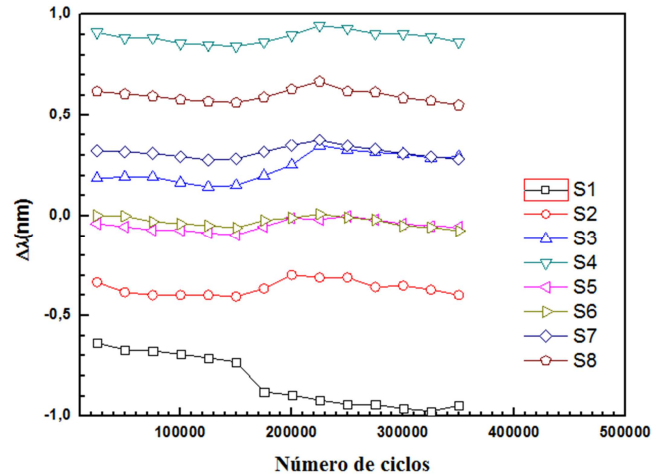


Figura 1.27 Variação do comprimento, $\Delta\lambda$ (nm), durante os ciclos de aplicação de carga (4.9kN).

Verificou-se que os sensores que estavam na zona proximal da haste revelaram deformação à compressão. Os sensores distribuídos na zona mais distal detectaram uma deformação à tracção. Durante o ensaio de fadiga, verificou-se um aumento da amplitude da deformação, associado ao afundamento da haste no manto de cimento. O afundamento foi também detectado pela máquina de ensaios que, após 350000 ciclos, assinalou um deslocamento de 0,34 mm. Verificou-se para todos os sensores que entre os 100000 e 200000 ciclos ocorreu um fenómeno que levou a um aumento mais acentuado do sinal óptico obtido, podendo indicar micro-fissuração do cimento. Com os resultados obtidos nesta fase foi aplicado o mesmo conceito ao desenvolvimento de um protótipo com uma componente femoral comercial.

4.3.2 Validação in-vitro de um protótipo laboratorial de uma componente femoral

Uma rede de 8 sensores de Bragg foi colocada na zona medial e lateral do protótipo laboratorial de uma componente femoral, usando duas fibras ópticas (Figura 4.7). Este protótipo consistia num componente femoral de uma prótese de anca Charnley modificado pelos rasgos para introdução parcial das fibras ópticas, e que posteriormente foi inserido num fémur sintético idêntico ao utilizado no trabalho descrito no capítulo anterior. O cimento ósseo foi

usado como método de fixação. O procedimento utilizado para colocação das fibras ópticas segue a metodologia usada na fase anterior com o modelo simplificado da haste femoral.

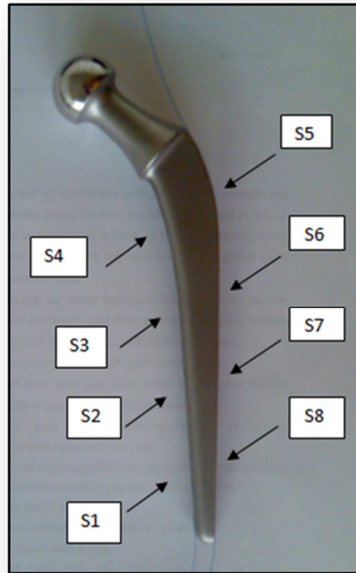


Figura 1.28 Distribuição de uma rede de oito sensores ópticos em redes de Bragg num componente femoral de um implante de anca. Os sensores S1, S2, S3 e S4 encontram-se na zona medial da haste e os sensores S5, S6, S7 e S8 na zona lateral.

Os ensaios de fadiga foram realizados utilizando uma máquina de ensaios com sistema pneumático desenvolvida no Laboratório de Biomecânica do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade de Aveiro (Figura 1.29). O *set-up* utilizado foi desenvolvido especificamente para testes de fadiga de componentes femorais de prótese de anca [20].

A componente femoral foi submetida a uma carga dinâmica de 1800 N a 2 Hz, correspondente a três vezes o peso corporal de uma pessoa com 600 N, valor padrão observado nas monitorizações realizadas *in vivo* [21, 22]. A aquisição foi feita durante 175 mil ciclos de carga a uma frequência de 2 Hz.



Figura 1.29 Máquina e *set-up* utilizados para os ensaios de fadiga do protótipo laboratorial de uma haste femoral com oito redes de Bragg.

Os sensores distribuídos na zona medial da prótese sofreram compressão e os da zona lateral tracção (Figura 1.30). Os resultados obtidos pela monitorização da rede de oito sensores FBG permitiu observar que durante os primeiros 4028 ciclos o implante manteve-se estável. Neste período foi verificado que os valores máximos de deformação à compressão e tracção foram medidos na zona mais distal da haste pelos sensores 1 e 8, respectivamente.

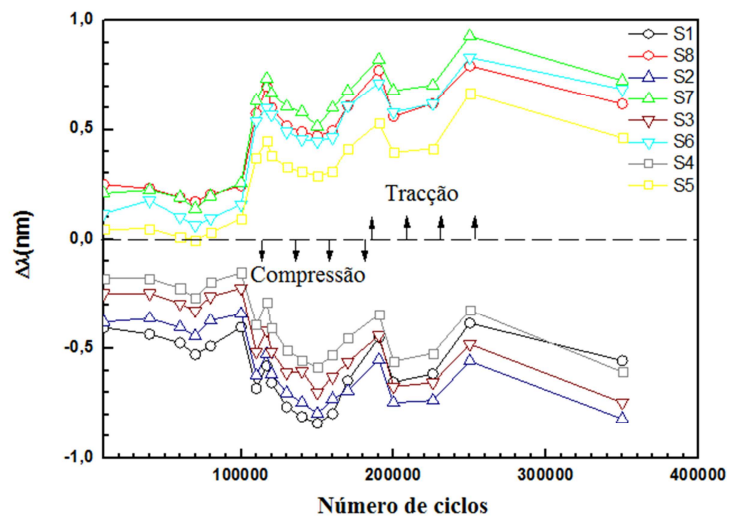


Figura 1.30 Variação do comprimento de onda central, $\Delta\lambda$, em função do número de ciclos aplicados.

O sensor 4 e o sensor 5, colocados na zona proximal da haste apresentam os menores valores de deformação medidos à compressão e a tração respectivamente. Os restantes sensores vão aumentando o nível de amplitude do sinal sempre no sentido proximal para distal.

4.4 *Discussão dos resultados e conclusões*

O estudo e monitorização dos movimentos de torção, migração e micro vibrações do componente femoral da ATA são essenciais para avaliar a estabilidade funcional da prótese, e assim, a sua vida útil [23]. O presente estudo avaliou a possibilidade de recorrer a redes de Bragg para medir deformações no manto de cimento ósseo, recorrendo primeiro a um modelo simplificado de haste femoral e depois a uma componente femoral comercial (Charnley, BIOMET).

Foi verificada a capacidade destes sensores ópticos para a medição e identificação dos níveis de deformação ao longo da haste, e conseqüente possível identificação de fenómenos de afundamento e migração da haste.

Várias perturbações foram identificadas ao longo do ensaio podendo indicar fissurações no manto de cimento. Nos últimos ciclos do ensaio é verificada uma diminuição dos níveis de deformação medidos pelos sensores S1 e S8, sugerindo que a extremidade inferior da haste (zona distal) no final dos ensaios poderia estar a ficar solta. Durante o decorrer dos ensaios foi possível verificar a existência de vários pontos de instabilidade (correspondente a migração ou micro-movimentos da haste sob carga) e um aumento de deformação em todos os sensores, o que sugere afundamento da haste no manto de cimento.

As cargas aplicadas no modelo simplificado permitiram observar que os sensores ópticos se mantêm operacionais para uma carga de oito vezes o peso corpóreo de um paciente de

600N. Foi possível ainda medir o pico máximo de temperatura verificado na cura do cimento ósseo.

Com este tipo de sistemas de monitorização é possível estudar como se distribuem dinamicamente as cargas ao longo de um implante na interface prótese /cimento ósseo e não apenas obter cargas máximas das forças de contacto como tem sido descrito na literatura recorrendo a sistemas de extensometria no interior da haste [24, 25].

4.5 Referências Bibliográficas

1. Aldinger, P.R., et al., A ten- to 15-year follow-up of the Cementless Spotorno stem. *J Bone Joint Surg Br*, 2003. **85-B**(2): p. 209-214.
2. Ducheyne, P., et al., Influence of a functional dynamic loading on bone ingrowth into surface pores of orthopedic implants. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1977. **11**(6): p. 811-838.
3. Engh, C.A., et al., Quantification of Implant Micromotion, Strain Shielding, and Bone Resorption With Porous-Coated Anatomic Medullary Locking Femoral Prostheses. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1992. **285**: p. 13-29.
4. Fischer, K.J., D.R. Carter, and W.J. Maloney, In vitro study of initial stability of a conical collared femoral component. *The Journal of Arthroplasty*, 1992. **7**(Supplement 1): p. 389-395.
5. Whiteside, L.A. and J.C. Easley, The Effect of Collar and Distal Stem Fixation on Micromotion of the Femoral Stem in Uncemented Total Hip Arthroplasty. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1989. **239**: p. 145-153.
6. Ebramzadeh, E., et al., Initial Stability of Cemented Femoral Stems as a Function of Surface Finish, Collar, and Stem Size. *J Bone Joint Surg Am*, 2004. **86**(1): p. 106-115.

7. Kärrholm J, N.B., Thanner J, Anderberg C, Börlin N, Herberts P, Malchau H., Radiostereometric evaluation of hip implant design and surface finish. Scientific Exhibition, AAOS, Orlando, USA, 2000.
8. Freeman, M.A. and P. Plante-Bordeneuve, Early migration and late aseptic failure of proximal femoral prostheses. *J Bone Joint Surg Br*, 1994. **76-B**(3): p. 432-438.
9. Kärrholm, J., et al., Does early micromotion of femoral stem prostheses matter? 4-7-year stereoradiographic follow-up of 84 cemented prostheses. *J Bone Joint Surg Br*, 1994. **76-B**(6): p. 912-917.
10. Krismer, M., et al., The prediction of failure of the stem in THR by measurement of early migration using EBRA-FCA. *J Bone Joint Surg Br*, 1999. **81-B**(2): p. 273-280.
11. Walker, P.S., et al., Prediction of clinical outcome of THR from migration measurements on standard radiographs. A study of cemented Charnley and Stanmore femoral stems. *J Bone Joint Surg Br*, 1995. **77-B**(5): p. 705-714.
12. Thanner, J., et al., Evaluation of Boneloc®: Chemical and mechanical properties, and a randomized clinical study of 30 total hip arthroplasties. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 1995. **66**(3): p. 207 - 214.
13. Malchau, B., *The well-cemented Total Hip Arthroplasty, Theory and Practice*. 2005, Germany: Springer.
14. Verdonschot, N. and R. Huiskes, The effects of cement-stem debonding in THA on the long-term failure probability of cement. *Journal of Biomechanics*, 1997. **30**(8): p. 795-802.

15. Verdonschot, N., E. Tanck, and R. Huiskes, Effects of prosthesis surface roughness on the failure process of cemented hip implants after stem-cement debonding. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1998. **42**(4): p. 554-559.
16. Gebauer, D., H.J. Refior, and M. Haake, Micromotions in the primary fixation of cementless femoral stem prostheses. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*, 1989. **108**(5): p. 300-307.
17. Hua, J. and P.S. Walker, Relative motion of hip stems under load. An in vitro study of symmetrical, asymmetrical, and custom asymmetrical designs. *J Bone Joint Surg Am*, 1994. **76**(1): p. 95-103.
18. Sugiyama, H., L.A. Whiteside, and C.A. Engh, Torsional Fixation of the Femoral Component in Total Hip Arthroplasty: The Effect of Surgical Press-Fit Technique. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1992. **275**: p. 187-193.
19. Dennison, C.R., et al., Ex vivo measurement of lumbar intervertebral disc pressure using fibre-Bragg gratings. *Journal of Biomechanics*, 2008. **41**(1): p. 221-225.
20. Ramos, A., Estudo numérico e experimental de uma nova componente femoral da prótese de anca cimentada, in Departamento de Engenharia Mecânica. 2006, Universidade de Aveiro: Aveiro. p. 329.
21. English, T.A. and M. Kilvington, In vivo records of hip loads using a femoral implant with telemetric output (a preliminary report). *Journal of Biomedical Engineering*, 1979. **1**(2): p. 111-115.
22. Kotzar, G.M., et al., Telemeterized in vivo hip joint force data: A report on two patients after total hip surgery. *Journal of Orthopaedic Research*, 1991. **9**(5): p. 621-633.

23. Kotzar, G.M., et al., Torsional loads in the early postoperative period following total hip replacement. *Journal of Orthopaedic Research*, 1995. **13**(6): p. 945-955.

24. Taylor, S. A telemetry system for measurement of forces in massive orthopaedic implants in vivo. in *Engineering in Medicine and Biology Society*, 1996. *Bridging Disciplines for Biomedicine. Proceedings of the 18th Annual International Conference of the IEEE*. 1996.

25. Bassey, E.J., J.J. Littlewood, and S.J.G. Taylor, Relations between compressive axial forces in an instrumented massive femoral implant, ground reaction forces, and integrated electromyographs from vastus lateralis during various ['osteogenic' exercises. *Journal of Biomechanics*, 1997. **30**(3): p. 213-223.

Capítulo 5 - Materiais piezoelétricos como estimuladores mecânicos de células ósseas

5.1 Objectivo

O objectivo deste estudo experimental é avaliar a possibilidade de aplicação directa de um material piezoelétrico como substrato bioactivo na estimulação de células osteoblásticas. Os sensores piezoelétricos são comumente utilizados no controlo de sistemas de vibrações de estruturas, e no presente estudo pretendeu-se avaliar a possibilidade de os utilizar na estimulação de células vivas. Através do controlo da tensão aplicada é possível controlar quatro parâmetros na aplicação de uma deformação (magnitude, duração, frequência e direcção). Para conhecer as possibilidades e limitações da sua aplicação biológica foram feitos vários estudos de viabilidade e compatibilidade celular.

Estes materiais apresentam uma dimensão reduzida, ao contrário dos sistemas de actuação actualmente utilizados em cultura celular, o que poderá permitir a sua aplicação em estudos *in vivo*, como está sugerido nos estudos futuros.

5.1.1 Introdução

Os estudos apresentados nos capítulos anteriores apresentam uma possível metodologia para estudar o comportamento de um implante de anca e prever *in vitro* a sua estabilidade funcional e conseqüentemente o seu sucesso. No processo *in vivo* o fenómeno de osteointegração dos implantes não cimentados e a preservação da massa óssea femoral, independentemente do tipo de fixação, são cruciais para garantir a longevidade da ATA. O processo de mineralização óssea, última etapa da formação de osso, constitui um dos pontos mais determinante para qualquer implante de anca, independente do método de fixação utilizado, pois o sucesso do implante está relacionado com a rigidez da fixação ao tecido hospedeiro (o osso) e a manutenção de tecido ósseo em redor do implante.

A osteogénese na superfície de um implante femoral é um processo complexo resultante de fenómenos celulares. As cargas externas aplicadas são reconhecidas como as principais reguladoras das células ósseas (osteoblastos, osteócitos e osteoclastos) e das suas funções no processo de remodelação óssea [1-5].

O processo de remodelação óssea é um processo contínuo pelo qual o osso maduro é reabsorvido e renovado. Este processo envolve directamente dois tipos de células que são as osteoblásticas e as osteoclásticas geralmente agrupadas nas unidades base multicelulares e os osteócitos [6, 7].

As osteoblastos são células arredondadas, de origem mesenquimatosa, que segregam matriz óssea não mineralizada (o osteóide), que eventualmente se mineraliza para formar osso

maduro. Os osteoclastos derivam da linhagem monocítica-macrofágica e têm como função a reabsorção da matriz óssea por secreção de ácidos e proteases [7].

Os osteócitos resultam da diferenciação de alguns osteoblastos que, no seguimento da síntese de osteóide, ficam por este envolvidos; os osteócitos permanecem em pequenas cavidades denominadas lacunas. Os prolongamentos citoplasmáticos de cada osteócito percorrem um sistema de finos canais denominados canalículos, que ligam as lacunas entre si e toda a matriz e que permitem a comunicação dos osteócitos entre si e com os osteoblastos. Quando a formação de osso está completa, os osteoblastos remanescentes, que não ficaram envolvidos por matriz, tornam-se células achatadas e revestem a superfície óssea, passando a chamar-se células de revestimento ósseo. Os osteócitos e as células do revestimento ósseo formam uma vasta rede através de adesões célula-célula [8]. Este sistema sincicial celular desempenha duas importantes funções: (i) Manter a integridade estrutural da matriz mineralizada e intermediar a libertação ou o depósito de cálcio, com o propósito da sua homeostasia no organismo como um todo; (ii) Transmitir sinais eléctricos no osso. As tensões e as cargas mecânicas resultantes das actividades diárias causam deformações na matriz mineralizada produzindo pequenas correntes, aumentando ou diminuindo a formação óssea local, e induzindo a actividade complementar dos osteoclastos locais por intermédio da secreção de factores humorais [8, 9]. Dessa maneira, o tecido ósseo é remodelado para se adaptar à tensão mecânica que lhe é imposta, sendo esta actividade eléctrica importante para a manutenção do equilíbrio na remodelação óssea e para o incremento da remodelação nas áreas sujeitas às tensões e cargas [8, 9]. As funções de reabsorção e construção de matriz óssea estão directamente relacionadas com os estímulos mecânicos externos que são aplicados ao osso [3].

Vários estudos foram apresentados com o objectivo de compreender estes mecanismos de activação da remodelação óssea. Existem duas vertentes destes estudos, estudos efec-

tuados directamente no osso (estudos *in vivo*) e estudos do comportamento individual das células que intervêm directamente no processo de remodelação [1, 3-6, 10-15].

Diversas hipóteses são apresentadas na literatura sobre os mecanismos de estimulação das células ósseas. Basicamente dividem-se em dois processos estimulação: mecânica e eléctrica [16-22]. Para o desenvolvimento deste trabalho (mecanismo de estimulação do tecido ósseo) optou-se por realizar um estudo celular através de um actuador mecânico piezoeléctrico.

Distintos dispositivos de estimulação mecânica têm sido desenvolvidos para estudar o comportamento de células osteoblásticas face às deformações mecânicas. As variáveis presentes nestes estudos são essencialmente as amplitudes de deformação, a frequência, duração da aplicação da deformação e o número de ciclos. Variáveis mecânicas que, associadas a diferentes tipos de cultura celular e diferentes parâmetros de viabilidade estudados, dificultam a comparação e posterior padronização das respostas celulares [23, 24]. *Labat et al.* fizeram um estudo onde aplicaram deformação circular em culturas de osteoblastos para diferentes substratos. A frequência de aplicação de deformação foi de 0.5Hz para uma deformação de 400 $\mu\epsilon$ durante um período de seis horas. Os resultados de viabilidade celular estudados não demonstraram diferenças significativas entre as culturas actuadas e não actuadas mecanicamente, tendo-se verificado num dos substratos actuados a diminuição da viabilidade celular [25].

A estimulação de culturas osteoblásticas com níveis de deformação de aproximadamente 1000 $\mu\epsilon$ durante 1800 ciclos a 1Hz foi estudada por *Peake et al.* com o objectivo de compreender um pouco da função do catião cálcio no processo de remodelação óssea [26]. *Brighton et al.* expôs uma cultura osteoblástica a diferentes níveis de deformação cíclica biaxial 200 $\mu\epsilon$, 400 $\mu\epsilon$ e 1000 $\mu\epsilon$. Todos os estudos foram feitos a uma frequência de aplicação de carga de 1 Hz. Dos resultados obtidos verifica-se que as células expostas a 400 $\mu\epsilon$ apresentaram aumento da proliferação [27]. Estudos realizados por *Tanaka* mostram o comportamen-

to celular para estimulações aplicadas num intervalo de deformações entre 200 e 40000 $\mu\epsilon$ e para frequências de 0-100 Hz. Este estudo foi feito usando um bloco tridimensional de gel de colágeno e um sistema de actuação baseado em materiais piezoeléctricos [28]. Outros estudos apresentados demonstram a importância de fazer um varrimento de diferentes níveis de deformação e frequências de aplicação [23, 24, 29]

Os materiais piezoeléctricos assumem um papel importante nos sistemas de controlo de vibrações de estruturas pela sua dupla aplicação funcional, como sensores e como actuadores mecânicos [30]. Neste estudo é pretendido potenciar as capacidades de actuação dos materiais piezoeléctricos, de conversão de energia eléctrica em energia mecânica na estimulação directa de células ósseas. A piezoelectricidade é um fenómeno que está presente em diversos materiais biológicos como o tecido ósseo [16, 31, 32].

5.2 Estudos experimentais

Após selecção da metodologia para estimular mecanicamente o tecido ósseo, é necessário um estudo prévio de validação de alguns parâmetros garantindo a sua aplicabilidade para a estimulação directa de células osteoblásticas.

O material piezoeléctrico seleccionado foi um filme piezoeléctrico de fluoreto de polivinilideno (PVDF), fornecido pela *Measurement Specialties Inc Company* (EUA) [1]. O filme consiste numa folha de PVDF com a área de $15 \times 40 \text{ mm}^2$, e uma área activa corresponde a $12 \times 13 \text{ mm}^2$ (área impressa com eléctrodos de tinta de prata em ambas a superfícies do filme) (Figura 1.31 e Figura 1.32).

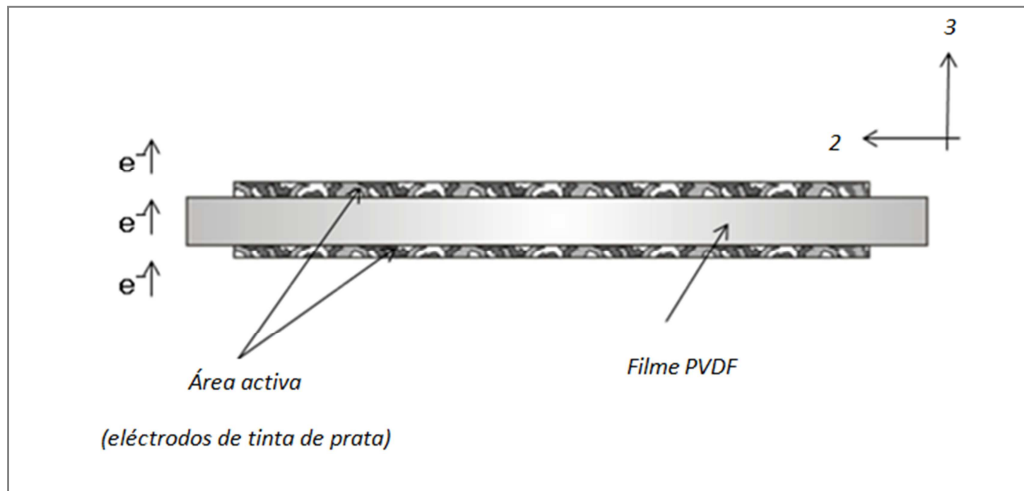


Figura 1.31 Ilustração da membrana piezoelétrica, do sentido de polarização (direcção 3) e do sentido de maior deformação pelo efeito piezoelétrico associado (direcção 2).

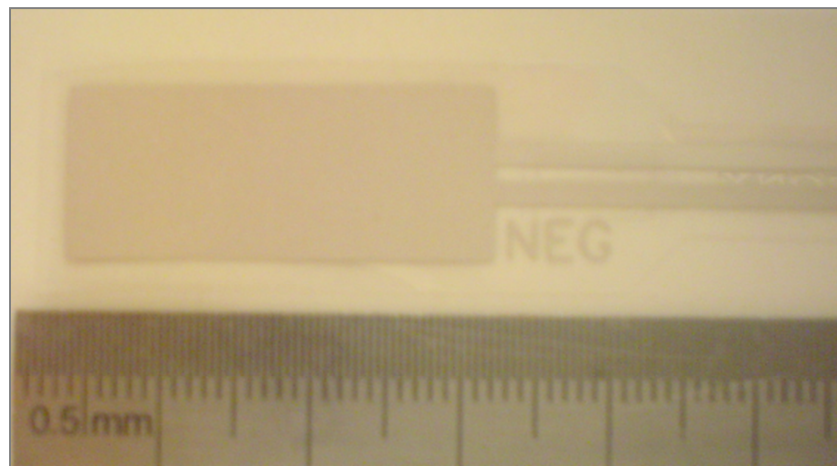


Figura 1.32– Imagem da área activa da membrana piezoelétrica seleccionada para este estudo.

A polarização do filme piezoelétrico é ao longo da espessura e admite como constantes piezoelétricas $d_{32} = 23 \times 10^{-12}$ e $d_{33} = -33 \times 10^{-12} \left(\frac{m}{m/V} \right)$. Teoricamente o fenómeno de piezoelectricidade inversa consiste na aplicação de uma tensão na direcção da espessura (direcção 3) e a deformação do polímero essencialmente na direcção 2 (dada as propriedades específicas deste material). A deformação teórica livre é obtida pela equação (1).

$$\varepsilon_{22} = \frac{d_{32}}{t} V_a \quad (6)$$

sendo t a espessura do polímero e V_a a diferença de potencial aplicada.

Para verificação da aplicabilidade deste filme piezoelétrico diversos parâmetros foram testados. Parâmetros que justificam a biocompatibilidade e possibilidade de usar este filme como substrato para o crescimento directo de culturas celulares e estimar quais os níveis de deformação a que estarão expostas. Para a validação do conceito, foi estabelecido que a diferença de potencial aplicada seria constante em todo o estudo, 5 Volt. Apenas variava a frequência de aplicação, 1Hz e 3Hz.

5.2.1 Estudos de biocompatibilidade da membrana piezoelétrica

No âmbito da biocompatibilidade, dois estudos foram realizados na membrana piezoelétrica virgem (sem os eléctrodos em tinta de prata). O primeiro teste consistiu em estudar a viabilidade e proliferação celular e o segundo estudo na avaliação do efeito genotóxico deste material. Ambos os testes utilizaram células da linha MC3T3-E1, que exhibe uma sequência de desenvolvimento típica dos osteoblastos [2-5].

5.2.1.1 Teste de viabilidade e proliferação celular na superfície da membrana piezoelétrica

O método utilizado foi o teste de MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina], segundo a descrição feita por *Soares et al.* [6]. As sementeiras das culturas celulares foram feitas na superfície da membrana piezoelétrica, em condições *standard* de cultivo, durante 24h.

Posteriormente, as células foram lavadas duas vezes em PBS e sujeitas ao teste de MTT. Resumidamente, as células foram incubadas com uma solução MTT de concentração final de 0.5 mg/mL durante três horas e depois lisadas em dimetilsulfóxido (DMSO). A ab-

sorvância da solução foi medida a um comprimento de onda de 540 nm com um espectrofótometro (CODA). A absorvância do meio de cultura na ausência de células foi subtraída aos resultados obtidos. Todas as amostras foram analisadas em triplicado e determinado o valor médio em cada ensaio e os ensaios repetidos três vezes. Os resultados são apresentados através da média e erro padrão da média como percentagem sobre o controlo (considerado 100%).

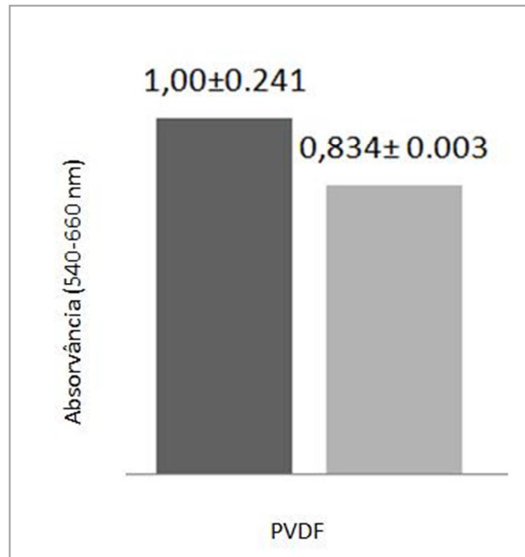


Figura 1.33 Viabilidade celular 24h após sementeira em membranas piezoelectricas virgens; os resultados estão expressos em percentagem relativamente ao controlo (células em placas de cultura). A disposição gráfica nas barras é a média \pm erro padrão da média, para n=9.

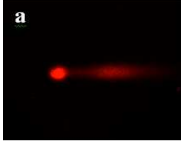
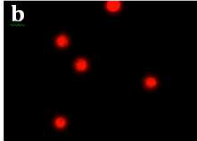


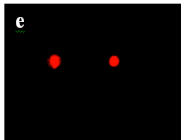
Os resultados evidenciam que existe viabilidade e proliferação celular superior a 80% nas culturas feitas sobre as membranas de PVDF virgem. Contudo, é inferior ao controlo. Estes dados não invalidam a aplicação, como veremos, nos estudos posteriores, mas estão em concordância com a literatura que sugere que a viabilidade e proliferação de células são afectadas, e não apenas de linhagem osteoblástica, em membranas PVDF virgens (sem eléctrodos de tinta de prata) [7-9].

5.2.1.2 Genotoxicidade das membranas piezoelétricas virgens

Para avaliar os efeitos genotóxicos das membranas piezoelétricas, utilizou-se o teste *alkaline comet*. O método de ensaio seguiu a descrição feita por *Singh et al* [45], com pequenas modificações. Inicialmente, foram feitas sementeiras de células MC3T3 em placas de 24 poços em três condições distintas: na superfície do polímero, na superfície das placas de cultura e células incubadas durante a noite com DMSO (controlo positivo para o teste de genotoxicidade).

Os resultados de genotoxicidade mostram que a presença de membranas piezoelétricas virgens não interfere com o genoma das células MC3T3-E1, uma vez que nenhum rasto de ADN desintegrado é observado formando uma cauda. A indispensabilidade da adição de eléctrodos na área activa, como modo de transmissão da diferença de potencial à membrana, levanta dois problemas no estudo *in-vitro*. O eléctrodo de tinta de prata (nitrato de prata) não é biocompatível, podendo desencadear a apoptose celular. A substituição por um eléctrodo biocompatível é possível, mas continua a ser necessário o revestimento dos eléctrodos para garantir o isolamento eléctrico durante os ensaios, impedindo a estimulação eléctrica da cultura celular. Houve por isso necessidade de desenvolver um revestimento para estas membranas piezoelétricas, uniforme e tolerado pelas células.

Tabela 5 - Resultados dos ensaios de gentotoxicidade para as três diferentes condições de cultura.

<i>Controlo positivo</i>		<i>a)</i> Célula em crescimento numa placa sem a membrana piezoelectrica virgem e com adição de DMSO agente indutor de dano no ADN;
<i>Controlo negativo</i>		<i>b)</i> Célula em crescimento numa placa sem a membrana piezoelectrica virgem e sem adição de DMSO agente indutor de dano no ADN;
<i>Primeira amostra</i>		<i>c)</i> Células em crescimento numa placa com a membrana piezoelectrica virgem e sem adição de DMSO agente indutor de dano no ADN;
<i>Segunda amostra</i>		<i>d)</i> Células em crescimento numa placa com a membrana piezoelectrica virgem e sem adição de DMSO agente indutor de dano no ADN;
<i>Terceira amostra</i>		<i>e)</i> Células em crescimento numa placa com a membrana piezoelectrica virgem e sem adição de DMSO agente indutor de dano no ADN;

5.2.1.3 Revestimentos das membranas piezoelétricas

Optou-se por um revestimento de acrílico, com propriedades de isolante eléctrico e biocompatível, o polimetacrilato de metilo (PMMA) (*PERFEX[®]*, *International Dental Products, USA*). Cada membrana piezoelétrica foi revestida pelo método de *dip-coating* com quatro camadas de PMMA, a uma velocidade de 0.238 m/s . Na última camada foram adicionados 4% de micro-partículas ($250\text{-}500\ \mu\text{m}$) de *Bonelike[®]* comercial, com o objectivo de obter uma superfície que promovesse a adesão celular.

Para o processo de revestimento foi desenvolvido um equipamento simples que permite a imersão e recolha do PDVF numa solução de PMMA, a uma velocidade controlada. Todo o processo foi realizado numa sala limpa, reduzindo ao mínimo a contaminação do revestimento (ver Figura 5.4).

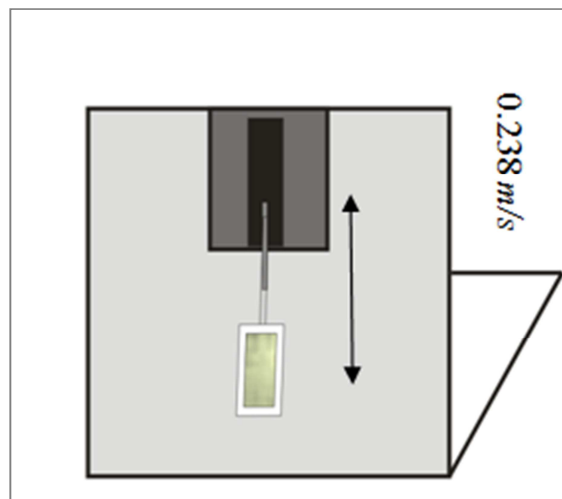


Figura 1.34– Esquema ilustrativo do equipamento de revestimento com velocidade controlada (0.238 m/s), desenvolvido para o revestimento de cada membrana piezoelétrica.

Imagens microscópicas mostram que cada membrana piezoelétrica adquiriu um revestimento uniforme, tendo as quatro camadas uma espessura total de $10\ \mu\text{m}$ (ver Figura 1.35).

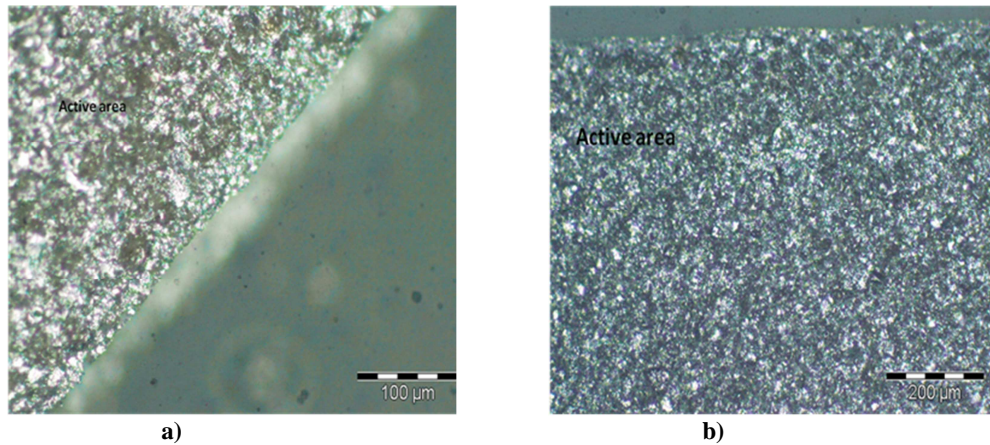


Figura 1.35– Imagens em microscópio óptico (microscópio óptico de platina invertida, *Olympus PMG3*) da distribuição do PMMA/BoneLike[®] na membrana piezoelétrica.

A biocompatibilidade é promovida com a opção de revestimento com um material biocompatível, garantindo a possibilidade do estudo *in vitro* com linhas celulares dependentes da adesão, como é o caso da linhagem osteoblástica.

O estudo em cultura celular pressupõe a esterilidade dos substratos piezoelétricos que estarão em contacto directo com as células. Métodos de esterilização que utilizam temperaturas superiores a 70°C não poderiam ser usados, pois levariam à despolarização da membrana piezoelétrica e consequente perda da capacidade de actuação mecânica.

5.2.1.4 Processo de esterilização dos actuadores piezoelétricos

O processo de esterilização nesta aplicação foi a radiação ionizante (radiação gama), utilizada na esterilização de diversos produtos farmacológicos e dispositivos médicos [11]. A esterilização foi efectuada no Instituto de Tecnológico e Nuclear.

Para a esterilização foi aplicada uma dose total de 25 KGy, numa taxa de dose de 2,08 KGy/h, durante um período de doze horas. Contudo, a dose de radiação não pode ser medida directamente (tabela 6). Os valores reais médios foram obtidos através de dosímetros (Red

Perspex 4034) [12]. Dois dosímetros foram usados para verificar as doses de irradiação reais em cada irradiação, um colocado sob a amostra e outro sobre superfície.

Tabela 6 - Especificações do processo de esterilização por radiação ionizante; taxa de dose, dose teórica e dose real.

Taxa de dose (kGy/h)	Dose teórica (kGy)	Dose real(kGy)		Duração
		No topo da amostra	Debaixo da amostra	
2,08	25	25,71	28,43	12

5.2.2 Caracterização dos níveis de deformação mecânica

5.2.2.1 Modelação numérica através do método de elementos finitos

Os estudos do comportamento do actuador piezoeléctrico por métodos numéricos permitem a compreensão da distribuição e amplitude das deformações ao longo da área de cultura celular. Teoricamente, para uma tensão de 5 Volt, uma membrana piezoeléctrica não revestida admite uma deformação longitudinal (directção 2), definida pela equação (6), de $\epsilon_{22}=2,2\mu\epsilon$.

Através de modelação numérica estimaram-se e quantificaram-se os valores de deslocamento/deformação na superfície activa da membrana piezoeléctrica. A malha foi feita através de análise de elementos finitos com elementos piezoeléctricos (com nove graus de liberdade no deslocamento e potencial eléctrico) usando o ABAQUS 6.7-1 como simulador para o estudo em condição estática. O modelo é composto por 9109 nós e encastrado numa das extremidades. As propriedades eléctricas e mecânicas foram recolhidas a partir da ficha técnica do fornecedor. O estudo numérico foi efectuado para as membranas piezoeléctricas não revestidas. A condição estática imposta foi a aplicação de uma diferença de potencial de 5 volts numa das faces da área activa do elemento piezoeléctrico.

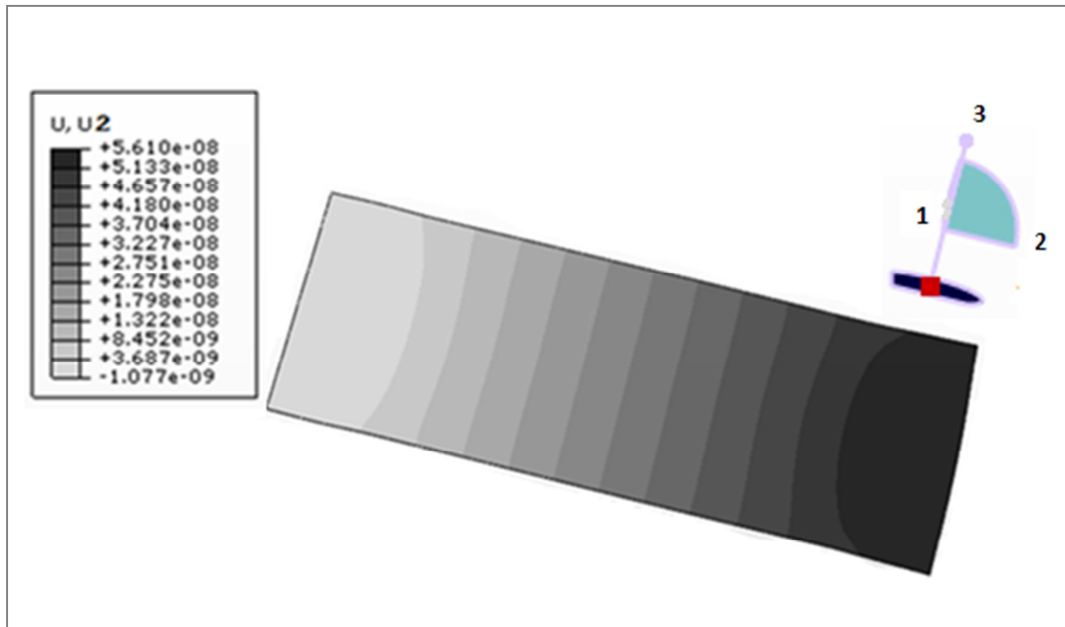


Figura 1.36- Modelo da distribuição do deslocamento na direcção 2, direcção do efeito piezoelétrico, para uma diferença de potencial de 5 Volt numa malha com 9109 nós. Os valores menores de deslocamento correspondem à extremidade encastrada.

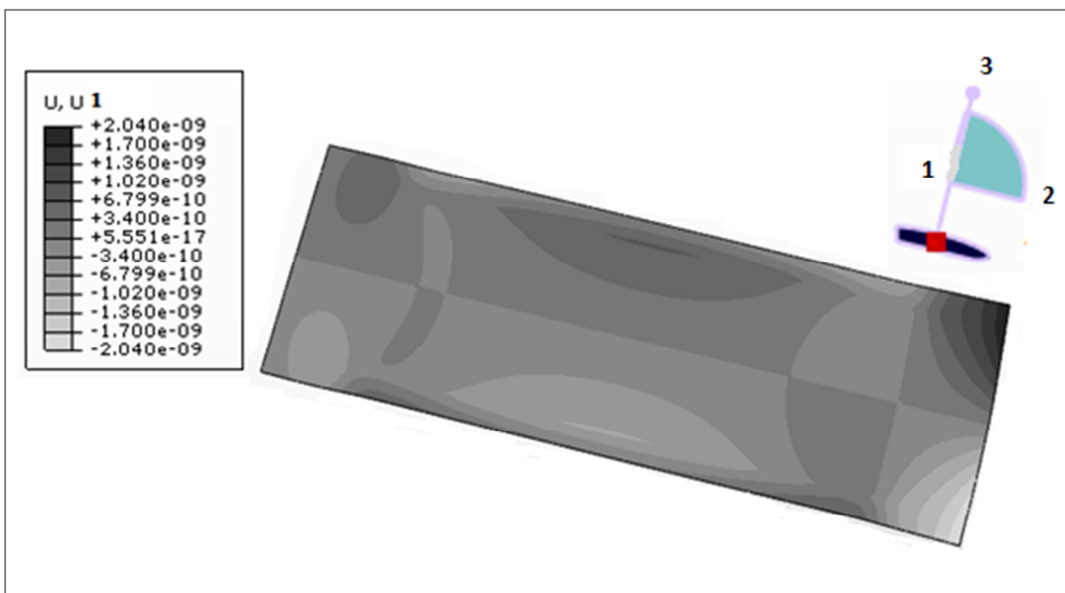


Figura 1.37 -Modelo da distribuição do deslocamento na direcção 1, direcção transversal ao efeito piezoelétrico, para uma diferença de potencial de 5 Volt numa malha com 9109 nós.

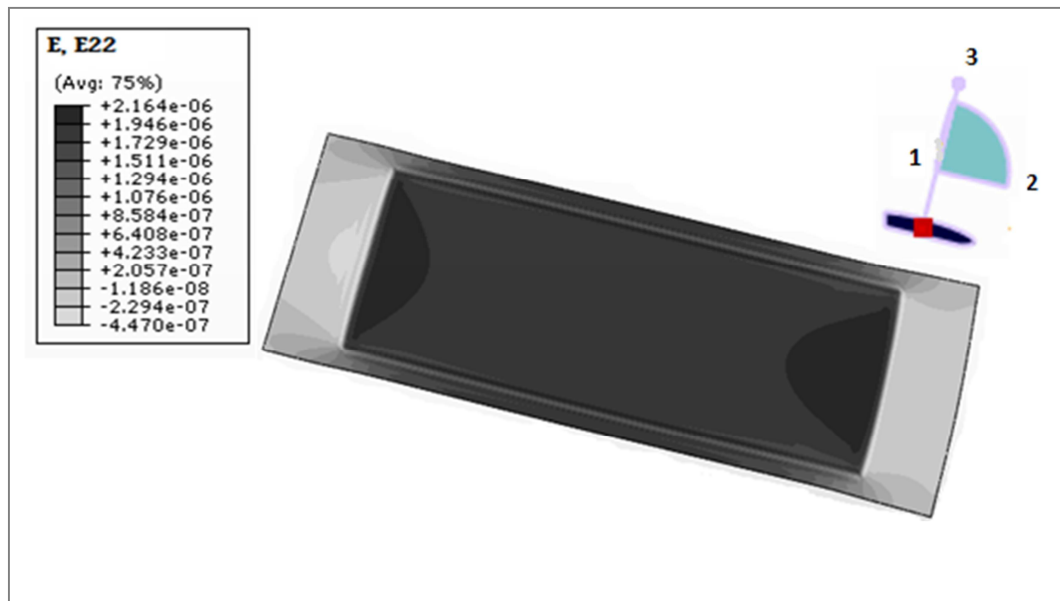


Figura 1.38 -Modelo da distribuição da deformação na direcção 13, no sentido do efeito piezoelétrico, para uma diferença de potencial de 5 Volt numa malha com 9109 nós.

Os valores obtidos para o deslocamento longitudinal, no sentido de maior efeito piezoelétrico (direcção 2), estão compreendidos entre $-1,07 \text{ nm}$ e $56,1 \text{ nm}$. O valor de deslocamento mais elevado é observado na extremidade livre da membrana (ver Figura 5.6). Na direcção transversal à direcção de maior efeito piezoelétrico é observado um deslocamento mínimo, que é resultante das propriedades constitutivas do material, nomeadamente o coeficiente de *Poisson* (ver Figura 5.7). Pelas propriedades piezoelétricas do material o deslocamento neste sentido deveria ser nulo. Os valores de deformação na direcção 13, ϵ_{13} , são próximos do teórico, pois estão compreendidos entre $2,16 \mu\epsilon$ e $1,73 \mu\epsilon$.

5.2.3 Estudo experimental do comportamento piezoelétrico por processo de holografia (Electronic Speckle Pattern Interferometry).

O comportamento da membrana piezoelétrica, para um diferencial de 5 Volt, foi ainda estudado experimentalmente por um processo de holografia *Electronic Speckle Pattern Interferometry* (ESPI). Este processo experimental permitiu observar o comportamento no plano zO_3 da membrana piezoelétrica não revestida e da membrana piezoelétrica revestida e após esterilização por radiação ionizante.

A figura 5.9 e figura 5.10 mostram o comportamento tridimensional da área activa das membranas piezoelétricas não revestida e revestida, respectivamente. Os níveis de deformação são maiores na membrana não revestida, em que a zona de maior amplitude de deformação é na extremidade livre. A membrana piezoelétrica revestida apresenta uma redução percentual de aproximadamente 50% relativamente ao valor máximo absoluto de deformação da membrana não revestida. O seu valor máximo de deslocamento (deflexão), $0,740 \mu m$ (na direcção 3), está situado na zona central da área activa, local de máxima concentração celular.

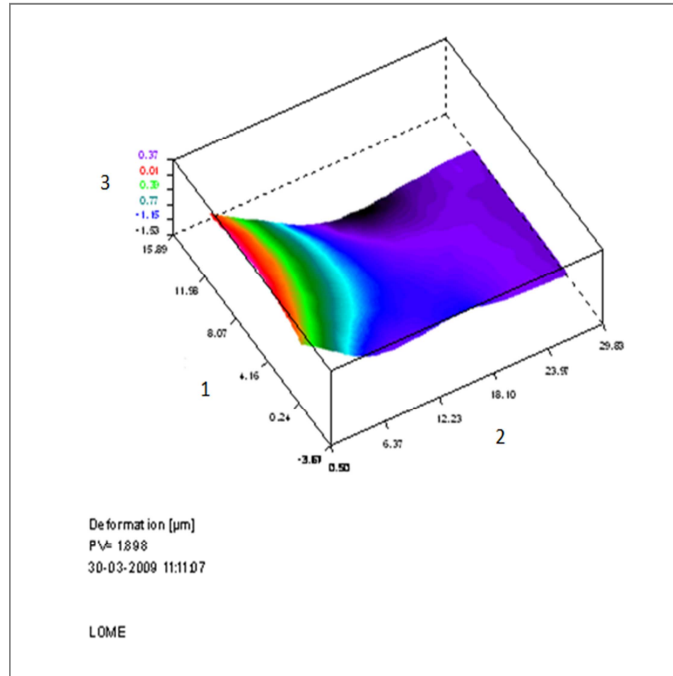


Figura 1.39 - Estudo por holografia do comportamento tridimensional da membrana piezoelétrica

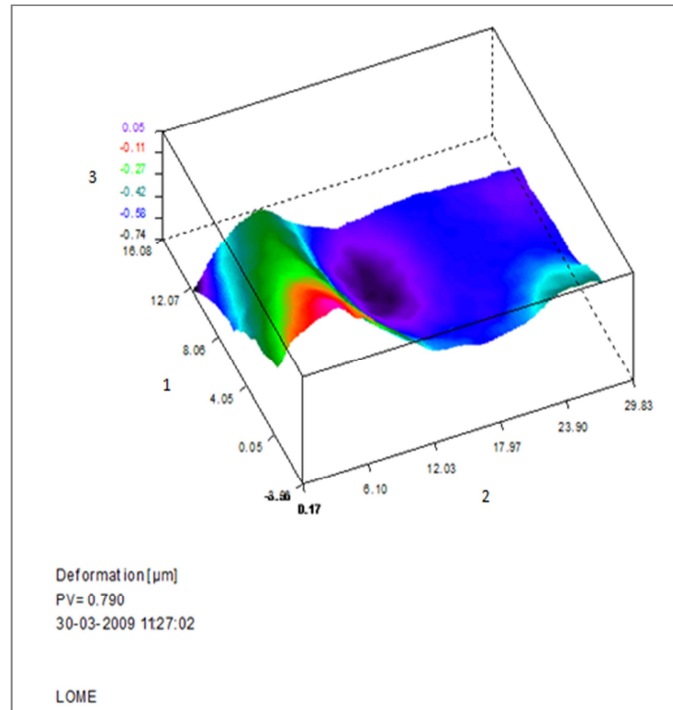


Figura 1.40 - Estudo por holografia do comportamento tridimensional da membrana piezoelétrica revestida e após esterilização por radiação ionizante (para uma diferença de potencial de 5 volts).

5.3 *Discussão dos resultados e conclusões*

O trabalho experimental descrito neste capítulo consistiu na avaliação prévia de um tipo de material piezoelétrico para futura estimulação directa de osteoblastos. A selecção de uma membrana piezoelétrica para estimulação mecânica fez-se através do controlo da tensão aplicada e das constantes piezoelétricas associadas é possível controlar quatro parâmetros na aplicação de uma deformação (magnitude, duração, frequência e direcção). Estas membranas apresentam uma dimensão reduzida, ao contrário dos sistemas de actuação actualmente utilizados, podendo o estudo celular com este tipo de materiais ser reproduzível em estudos animais, como está sugerido nos desenvolvimentos futuros.

A implementação de propriedades piezoelétricas em materiais com função osseointegradora é hipoteticamente proposta por Miara *et al.* [13]. Porém, até à data, não foram encontrados na literatura dados referentes a aplicações *in vitro* usando materiais piezoelétricos como suportes de estimulação mecânica de células ósseas ou outras.

As membranas piezoelétricas (PVDF) encontram-se disponíveis no mercado e foram apresentados alguns estudos relativamente à resposta celular à sua presença [40]. Nos resultados obtidos para os estudos de proliferação e viabilidade verificou-se uma redução, relativamente ao controlo, de 20%. Redução essa que poderá estar associada a muitos factores, entre os quais a dificuldade de adesão celular. Já os resultados de genotoxicidade demonstram que a presença deste material não altera o genoma celular, não tendo, portanto, carácter mutagénico.

Foi necessário desenvolver um revestimento uniforme e fino de PMMA para isolar electricamente as membranas. A adição de 4 % de BoneLike® comercial à última camada teve por objectivo promover a adesão celular, tornando-se possível elaborar uma validação *in vitro* do conceito, tal como descrito no capítulo seguinte.

A membrana seleccionada apresenta as propriedades piezoelétricas bem definidas, assim como a equação de transformação da tensão aplicada em deformação livre. Neste caso concreto, a deformação livre teórica da direcção 2 (direcção longitudinal do PVDF) é de $\epsilon_{22}=2,2\mu\epsilon$. Mas para compreender a distribuição da deformação ao longo da área activa da membrana, local de sementeira da cultura celular, fez-se um estudo por modelação numérica. Os resultados obtidos mostram deformações próximos do valor teórico, estando compreendidos entre $2,16\mu\epsilon$ e $1,73\mu\epsilon$ e um deslocamento máximo na direcção 2 de 56,1 nm. Estes valores obtidos estão próximos dos valores observados nas plataformas de micro-engenharia para estimulação celular, assim como é admissível para a fisiologia das células ósseas [14]. Os modelos numéricos foram realizados apenas para as membranas piezoelétricas comerciais, sem revestimento, pois não foi possível determinar as propriedades mecânicas das películas de revestimento, sendo também desprezável a sua espessura. Também havia singularidades computacionais numéricas que limitavam a simulação das membranas piezoelétricas revestidas. Todavia, os estudos de ESPI realizados permitiram complementar a informação fornecida pela modelação numérica, e melhor compreender o comportamento das películas revestidas.

5.4 Referencias Bibliográficas

1. Burr, D.B., A.G. Robling, and C.H. Turner, Effects of biomechanical stress on bones in animals. *Bone*, 2002. 30(5): p. 781-786.
2. Forwood, M.R. and C.H. Turner, Skeletal adaptations to mechanical usage: results from tibial loading studies in rats. *Bone*, 1995. 17(4): p. S197-S205.
3. Turner, C.H., I. Owan, and Y. Takano, Mechanotransduction in bone: role of strain rate. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1995. 269(3): p. E438-442.
4. Turner, C.H., Three rules for bone adaptation to mechanical stimuli. *Bone*, 1998. 23(5): p. 399-407.

5. Hsieh, Y.F. and C.H. Turner, Effects of loading frequency on mechanically induced bone formation. *J Bone Miner Res*, 2001. 16: p. 918 - 924.
6. Janmey, P.A. and C.A. McCulloch, Cell Mechanics: Integrating Cell Responses to Mechanical Stimuli. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2007. 9(1): p. 1-34.
7. Robling, A.G., A.B. Castillo, and C.H. Turner, Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2006. 8(1): p. 455-498.
8. Kahn, L.B., Pathology of Bone and Joint Disorders with Clinical and Radiographic Correlation. *N Engl J Med*, 1999. 340(11): p. 899-.
9. Young, B.L., J.S.; Stevens, A.; Heath, J.W. Wheater's Functional Histology, ed. t. edition. 2006, Amsterdam: Elsevier.
10. Pauwels, F. and Y.C. Fung, Biomechanics of the Locomotor Apparatus, Contributions on the Functional Anatomy of the Locomotor Apparatus. *Journal of Biomechanical Engineering*, 1982. 104(4): p. 346-347.
11. Jones, D.B., et al., Biochemical signal transduction of mechanical strain in osteoblast-like cells. *Biomaterials*, 1991. 12(2): p. 101-110.
12. Tanaka, S.M., et al., Effects of broad frequency vibration on cultured osteoblasts. *Journal of Biomechanics*, 2003. 36(1): p. 73-80.
13. Warden, S.J. and C.H. Turner, Mechanotransduction in the cortical bone is most efficient at loading frequencies of 5-10 Hz. *Bone*, 2004. 34(2): p. 261-270.
14. Kim, D.-H., et al., Microengineered Platforms for Cell Mechanobiology. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2009. 11(1): p. 203-233.
15. Judex, S. and R.F. Zernicke, High-impact exercise and growing bone: relation between high strain rates and enhanced bone formation. *J Appl Physiol*, 2000. 88(6): p. 2183-2191.
16. Ahn, A.C. and A.J. Grodzinsky, Relevance of collagen piezoelectricity to "Wolff's Law": A critical review. *Medical Engineering & Physics*, 2009. 31(7): p. 733-741.
17. Hastings, G.W. and F.A. Mahmud, Electrical effects in bone. *Journal of Biomedical Engineering*, 1988. 10(6): p. 515-521.

18. Miara, B., et al., Piezomaterials for bone regeneration design--homogenization approach. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 2005. 53(11): p. 2529-2556.
19. Silva, C.C., et al., Collagen-hydroxyapatite films: piezoelectric properties. *Materials Science and Engineering B*, 2001. 86(3): p. 210-218.
20. Bassett, C.A.L., R.J. Pawluk, and R.O. Becker, Effects of Electric Currents on Bone In Vivo. *Nature*, 1964. 204(4959): p. 652-654.
21. Rubin, C.T. and L.E. Lanyon, Regulation of bone formation by applied dynamic loads. *J Bone Joint Surg Am*, 1984. 66(3): p. 397-402.
22. Rubin, C.T., K.J. McLeod, and L.E. Lanyon, Prevention of osteoporosis by pulsed electromagnetic fields. *J Bone Joint Surg Am*, 1989. 71(3): p. 411-417.
23. Brown, T.D., Techniques for mechanical stimulation of cells in vitro: a review. *Journal of Biomechanics*, 2000. 33(1): p. 3-14.
24. Stamenovic, D. and N. Wang, Cellular Responses to Mechanical Stress: Invited Review: Engineering approaches to cytoskeletal mechanics. *J Appl Physiol*, 2000. 89(5): p. 2085-2090.
25. Labat, B., et al., Practice of a testing bench to study the effects of cyclic stretching on osteoblast-orthopaedic ceramic interactions. *Biomaterials*, 2000. 21(12): p. 1275-1281.
26. Peake, M.A., et al., Cellular Responses to Mechanical Stress: Selected Contribution: Regulatory pathways involved in mechanical induction of c-fos gene expression in bone cells. *J Appl Physiol*, 2000. 89(6): p. 2498-2507.
27. Brighton, C.T., et al., The proliferative and synthetic response of isolated calvarial bone cells of rats to cyclic biaxial mechanical strain. *J Bone Joint Surg Am*, 1991. 73(3): p. 320-331.
28. Tanaka, S.M., A new mechanical stimulator for cultured bone cells using piezoelectric actuator. *Journal of Biomechanics*, 1999. 32(4): p. 427-430.
29. Kaspar, D., et al., Proliferation of human-derived osteoblast-like cells depends on the cycle number and frequency of uniaxial strain. *Journal of Biomechanics*, 2002. 35(7): p. 873-880.

30. Schwartz, M., Encyclopedia of smart materials ed. I. John Wiley & Sons. Vol. I. 2002, New York: A Wiley-Interscience. 1073.
31. Fukada, E., Piezoelectricity in polymers and biological materials. Ultrasonics, 1968. 6(4): p. 229-234.
32. Williams, W.S. and L. Breger, Piezoelectricity in tendon and bone. Journal of Biomechanics, 1975. 8(6): p. 407-413.
33. <http://www.meas-spec.com/>.
34. Sudo, H., et al., In vitro differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria. J. Cell Biol., 1983. 96(1): p. 191-198.
35. Wang, D., et al., Isolation and Characterization of MC3T3-E1 Preosteoblast Subclones with Distinct In Vitro and In Vivo Differentiation/Mineralization Potential. Journal of Bone and Mineral Research, 1999. 14(6): p. 893-903.
36. Chung, C.Y., et al., Serial Passage of MC3T3-E1 Cells Alters Osteoblastic Function and Responsiveness to Transforming Growth Factor-[beta]1 and Bone Morphogenetic Protein-2. biochemical and biophysical research communications. Biochemical and biophysical research communications, 1999. 265(1): p. 246-251.
37. Wenstrup, R.J., et al., Discordant Expression of Osteoblast Markers in MC3T3-E1 Cells that Synthesize a High Turnover Matrix. Journal of Biological Chemistry, 1996. 271(17): p. 10271-10276.
38. Ana, R., A. Isabel, and S. Raquel, Progesterone sensitizes breast cancer MCF7 cells to imatinib inhibitory effects. Journal of Cellular Biochemistry, 2008. 103(2): p. 607-614.
39. Hung, C.-H., Y.-L. Lin, and T.-H. Young, The effect of chitosan and PVDF substrates on the behavior of embryonic rat cerebral cortical stem cells. Biomaterials, 2006. 27(25): p. 4461-4469.
40. Braga, F.J.C., et al., Characterization of PVDF/HAP composites for medical applications. Materials Research, 2007. 10: p. 247-251.

41. Tabary, N., et al., Functionalization of PVDF membranes with carbohydrate derivatives for the controlled delivery of chlorhexidin. *Biomolecular Engineering*, 2007. 24(5): p. 472-476.
42. Singh, N.P., et al., A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 1988. 175(1): p. 184-191.
43. Melo, R., et al., Gamma radiation induced effects on slaughterhouse wastewater treatment. *Radiation Physics and Chemistry*, 2008. 77(1): p. 98-100.
44. <http://www.harwell-dosimeters.co.uk/>. [cited].
45. Singh, N.P, et al., A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell Res.*, **175**, 184-91 (1988).

Capítulo 6 - Aplicação *in-vitro* de materiais piezoelétricos como estimuladores mecânicos de células osteoblásticas

6.1 Objectivo

A arquitectura e densidade do tecido ósseo estão condicionadas pelas forças externas aplicadas. Solicitações mecânicas do tecido ósseo induzem formação de osso novo assim como aumento da actividade metabólica e síntese proteica nas culturas de osteoblastos.

A literatura descreve uma variedade de dispositivos desenvolvidos para estimulação mecânica de culturas celulares e tecidos vivos, dos quais alguns foram já descritos no capítulo anterior. O objectivo deste trabalho experimental foi validar a aplicação de materiais piezoelétricos na estimulação directa de osteoblastos, através do efeito piezoelétrico inverso. A magnitude e distribuição das deformações provocadas nas culturas celulares durante o ensaio

é aqui descrita, tendo sido estimada através de modelos numéricos e estudos experimentais ópticos por *Electronic Speckle Pattern Interferometric Process* (ESPI).

Células osteoblásticas foram cultivadas na superfície de um substrato piezoelétrico revestido com material biocompatível, para melhorar o isolamento eléctrico e a adesão celular, em condições estáticas e dinâmica. Para assegurar a reprodutibilidade do ensaio e robustez da análise estatística, o estudo foi conduzido com um mínimo de seis amostras por grupo, e repetido por três vezes. Os parâmetros estudados foram os níveis de proteína total, a viabilidade e proliferação celular e níveis de óxido nítrico para os três grupos (substrato piezoelétrico em condição dinâmica e estática, e controlo em placa de cultura convencional).

6.2 Introdução

O osso é uma estrutura viva que activamente se adapta, monitorizando o seu desempenho e optimizando a sua função por processos de remodelação e reabsorção óssea. Os processos de reabsorção e deposição de matriz óssea estão fortemente relacionados com estímulos mecânicos externos [1-4]. Os osteócitos e osteoblastos desempenham um papel fundamental na monitorização da detecção e tradução dos estímulos mecânicos no osso, e consequentemente na actividade osteoclástica.

A mecanossensibilidade celular implica a capacidade de “sentir” uma determinada força aplicada, nem sempre traduzida numa resposta que consiste num estímulo químico. Têm sido sugerido que as forças capazes de induzir a deformação celular originam mudanças nos canais de membrana e na estrutura das proteínas [5, 6], e em última instância causam deformação do citoesqueleto, exercendo influência directa no núcleo e organelos celulares [6-9]. São diversas as moléculas mensageiras produzidas pelos osteoblastos em resposta ao estímulo

mecânico, das quais a prostaglandina E₂ (PGE₂) e o óxido nítrico (NO) [10-13]. Um osteócito isolado pode transferir um estímulo mecânico a uma rede de osteócitos circundantes via moléculas solúveis como o óxido nítrico [14]. Diversos dispositivos têm sido utilizados na estimulação mecânica de células e tecidos vivos, nomeadamente de osteócitos e osteoblastos, sendo a principal falha destes dispositivos a impossibilidade da sua aplicação *in vivo*.

A resposta celular depende da conjugação das três componentes de um estímulo mecânico: deformação, amplitude e frequência [20]. Pequenas cargas dinâmicas podem causar uma resposta intensa do tecido ósseo, e as células tendem a acomodar-se a ciclos de estimulação rotineiros [21-23]. Desta forma os estímulos devem variar de modo a obter respostas celulares do mesmo nível; têm sido relatadas em diversos estudos respostas padronizadas de células ósseas a estímulos estocásticos do tecido [8, 11, 20-27]. Alguns autores sugerem que, para um determinado número de ciclos, são necessárias frequências elevadas para maximizar a proliferação osteoblástica *in vitro* [28]. A utilização de actuadores piezoeléctricos na estimulação mecânica de células ósseas foi relatada apenas por *Tanaka et al*, [19], não como substrato bio-activo, mas como um elemento do dispositivo mecânico desenvolvido [29]. As células eram semeadas num bloco de gel de colagénio e este deformado pela acção de dois piezoeléctricos cerâmicos, resultando numa tensão uni-axial. A amplitude e a frequência de estimulação podiam variar [29].

O desenvolvimento de materiais biocompatíveis e bio-activos que de modo independente possam simular comportamentos mecânicos pode vir a representar uma poderosa ferramenta terapêutica. Existe a necessidade de desenvolver biomateriais com matrizes piezoeléctricas semelhantes às do tecido ósseo [30], que reúnam alguns dos fundamentos teóricos presentes na literatura e que combinem a piezoelectricidade do colagénio e materiais osteointegradores, nomeadamente a hidroxiapatite [31, 32].

Os estudos realizados e descritos ao longo deste capítulo validam o conceito de aplicação directa de materiais piezoeléctricos como um meio de produzir e controlar com eficiência a estimulação mecânica pretendida.

Os valores da proteína total e viabilidade celular obtidos durante este trabalho demonstram estar na gama dos valores obtidos para as condições estáticas. O NO é uma das principais moléculas sinalizadoras de estimulação mecânica dos osteoblastos e a sua síntese pode ser induzida em células da linhagem osteoblástica por vários tipos de estímulos mecânicos, nomeadamente deformação mecânica das células e tensão de corte, induzida por fluxo de fluidos.

Foi verificado que da estimulação mecânica dos osteócitos resulta uma maior concentração de NO que a estimada em osteoblastos nas mesmas condições. Este facto suporta a tese que os osteócitos puderem ser os principais sensores do estímulo mecânico no osso. A síntese de NO pelos osteócitos parece estar relacionada com uma rápida activação da isoforma da enzima eNOS, pelo que a eNOS pode constituir parte integrante na resposta adaptativa do osso à carga mecânica [33, 34]. Contudo, verifica-se que pequenas concentrações de óxido nítrico, produzidas pelos osteoblastos, provocam efeitos estimuladores na formação dos osteoclastos, bem como na produção de citocinas. No entanto, elevadas concentrações de NO, resultantes da presença de citocinas pro-inflamatórias, revelam efeitos inibidores na diferenciação e desenvolvimento osteoclásticos [35]. Estudos continuados deverão estudar o comportamento dos três tipos fundamentais de células ósseas (osteoblastos, osteoclastos e osteócitos) de modo a compreender as reacções desencadeadas pelas diferentes concentrações de óxido nítrico. Este estudo pretendeu validar a utilização de materiais piezoeléctricos e do efeito piezoeléctrico inverso na estimulação mecânica de células da linhagem osteoblástica.

6.3 Estudos experimentais

O revestimento uniforme do substrato piezoelétrico com polimetil-metacrilato (*PERFEX*[®], *International Dental Products, USA*) e micro partículas de Bonelike[®], teve como objectivo contribuir para a adesão dos osteoblastos ao substrato. Este revestimento teve ainda a função de isolamento eléctrico entre o eléctrodo e a cultura celular. Cada piezoeléctrico foi previamente esterilizado por um processo de irradiação *gama* permitindo a sua aplicação em cultivo celular, tal como está referenciado no capítulo anterior.

Teoricamente para cada impulso eléctrico de 5 V, teríamos uma deformação de 2,25 µε. Porém, o revestimento, apesar de muito fino, levou a que o deslocamento real fosse menos do que o teórico.

A linha celular utilizada, células MC3T3-E1 (décima primeira passagem), exhibe uma sequência de desenvolvimento típica dos osteoblastos [36], embora se distinga quanto à capacidade para formar matriz óssea [37]. Algumas variáveis durante o processo de cultura podem influenciar a diferenciação e o comportamento de maturação, assim como o número de passagens e as características da colónia original [37-39]. Esta linha celular tem sido usada em alguns estudos direccionados para a compressão dos efeitos de estimulação mecânica em células osteoblasticas [40-42]. As condições de sementeira das células MC3T3-E1 foram as normalizadas; estufa a 37°C, 5% dióxido de carbono em atmosfera húmida, usando meio *α*-Minimal Essential Medium (*α*-MEM) (Cambrex) suplementado com 2 mM L-Glutamina (Cambrex), 10% de soro bovino fetal (Gibco), 0.5% gentamicina e 1% anfotericina B (Gibco).

Quer as culturas efectuadas em substratos piezoelétricos (dinâmica vs. estática) quer as de controlo foram colocadas em placas de cultura (TPP). No grupo de controlo, as células eram semeadas em contacto directo com a placa convencional; nos grupos dinâmico e estático, as células foram semeadas sobre o substrato piezoelétrico. Cada amostra foi semeada com 16×10^4 células, num volume total de 100 mL de suspensão celular colocado na área activa de cada membrana piezoelétrica e no centro das placas do grupo controlo.

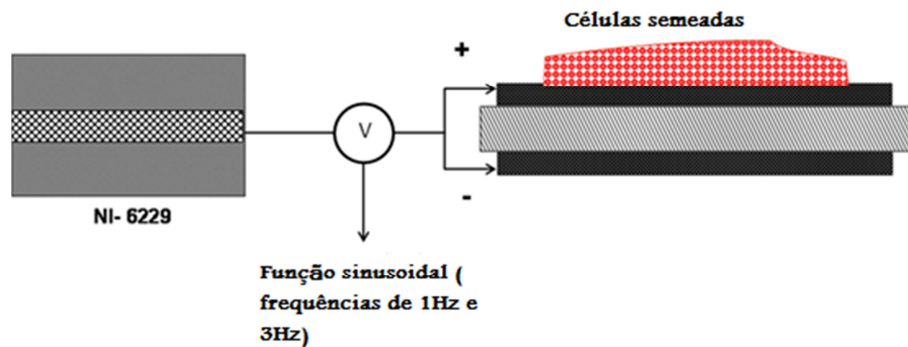


Figura 1.41 Esquema ilustrativo da sementeira da cultura celular na área activa de um substrato piezoelétrico. A voltagem é aplicada ao substrato piezoelétrico com frequências de 1Hz e 3Hz.

Foi permitida a adesão das células ao substrato em todas as amostras durante um período de 30 minutos, comum a todos os grupos (dinâmico, estático e controlo), antes de acrescentar o restante meio de cultura (até perfazer 4 mL).

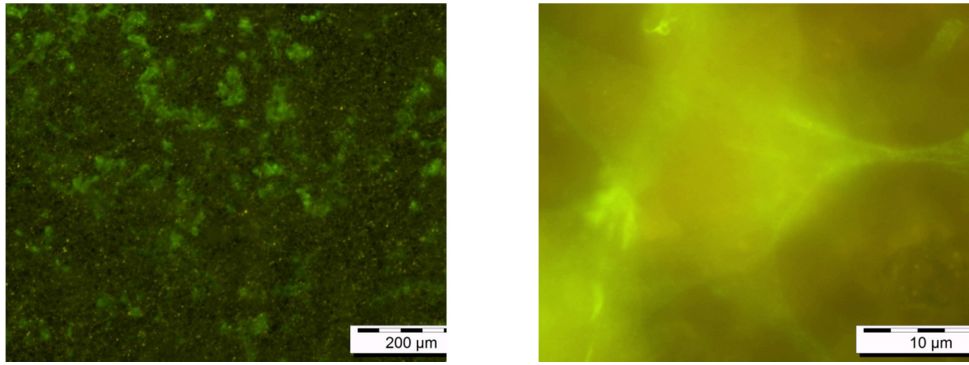


Figura 1.42 Células MC3T3 na zona activa do substrato piezoeléctrico duas horas após a sementeira; marcação do citoesqueleto (actina) por imunofluorescência indirecta utilizando anticorpos primários contra a actina (Actina, pan Ab-5, Thermo Scientific, usada à concentração de 1:50) e anticorpo secundário (Chromeo™ 488 conjugated Goat anti-Mouse IgG, Active Motif usado à concentração de 1:500) (microscópio e câmara Olympus BX41, Olympus Cell A Imaging Software). Devido à opacidade da zona activa do substrato piezoeléctrico, a observação das células não era passível de ser feita sem recurso a técnicas como a imunofluorescência.

O substrato piezoeléctrico do grupo dinâmico foi exposto uma tensão sinusoidal de 5 Volt, a uma frequência de 1Hz e 3Hz com a duração de quinze minutos cada. Assim se provocou deformação dinâmica, pelo efeito piezoeléctrico inverso, nas culturas celulares. Cada solicitação dinâmica foi efectuada 24h e 48h após sementeira.

Todos os comandos eléctricos ocorreram através de uma placa de aquisição (DAQ) e software LabView. É de salientar que cada procedimento experimental foi repetido três vezes para uma amostra de $n=6$.

Após cada período de estimulação mecânica, quatro parâmetros eram monitorizados nas culturas celulares. As variações do pH, a viabilidade e a actividade metabólica, bem como a medição dos níveis de concentração do óxido nítrico foram determinados no meio de cultura e os níveis de proteína total nos lisados obtidos a partir das células cultivadas.

Todos os resultados experimentais obtidos, para cada parâmetro, verificaram uma distribuição normal através do teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*, para $n > 3$, o teste de *Levene* para análise de variâncias, e *one-way ANOVA* para as diferenças entre os grupos. Diferenças significativas foram consideradas para um valor de $P > 0.05$.

6.3.1 pH no meio de cultura

Efectuou-se a medição do pH nas amostras, imediatamente após cada estimulação mecânica, através de um equipamento padrão medidor de pH (*Meterlab, Radiometer, Copenhagen*).

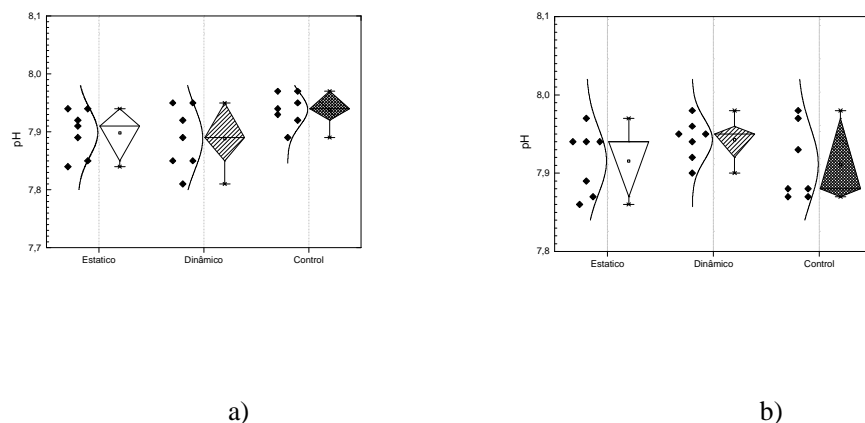


Figura 1.43 Os gráficos apresentam a medição dos níveis de pH para cada grupo estático e controlo, após a estimulação mecânica do grupo dinâmico: a) medições após a primeira estimulação, 24h após sementeira; b) medições após a segunda estimulação, 48h após sementeira.

O valor médio do pH no meio de cultura, para os dois períodos de recolha, 24h e 48h, apresenta uma variação entre 7,89 e 7,94 com um erro padrão da média $<\pm 0,02$ em todos os grupos. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos, em qualquer período.

6.3.2 Determinação da viabilidade e da actividade metabólica pelo método da resazurina

O método de determinação da viabilidade da resazurina baseia-se na redução da resazurina pelas células metabolicamente activas num produto altamente fluorescente (resorufina). A intensidade da fluorescência mensurada é dependente da viabilidade celular [43-45]. Após cada estimulação mecânica, o meio de cultura foi aspirado e substituído por novo meio com 10% de solução de resazurina, na concentração final de 0,01 mg de resazurina por mL de meio completo. As células foram depois incubadas por um período de três horas, seguindo-se a colheita das amostras de meio e realizadas as leituras de fluorescência usando um espectofotómetro de fluorescência (RF-5000, *Shimadzu, Japan*), ver figura 6.4 e figura 6.5. Os resultados são expressos em percentagem relativamente aos controlos.

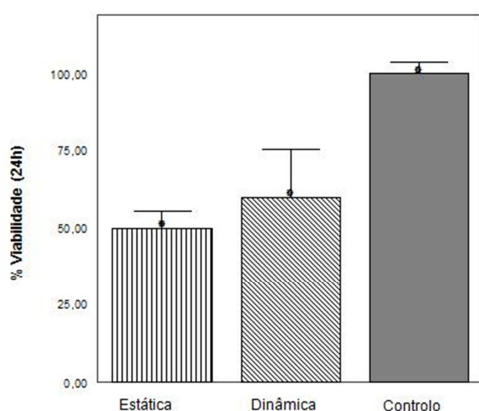


Figura 1.44 Viabilidade celular dos três grupos, 24h após sementeira e estimulação do grupo dinâmico, os resultados estão expressos em percentagem relativamente ao controlo (células em placas de cultura). A disposição gráfica mostra a média nas barras e o erro da barra mostra a média \pm erro padrão da média.

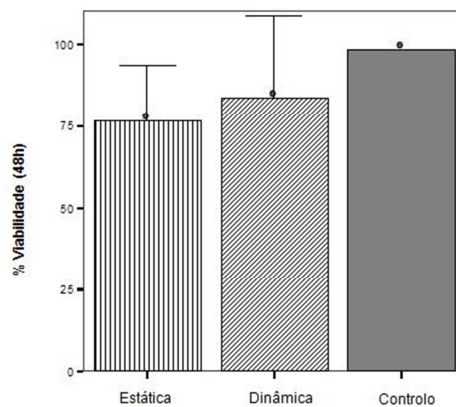


Figura 1.45 Viabilidade celular dos três grupos, 48h após sementeira e estimulação do grupo dinâmico, os resultados estão expressos em percentagem relativamente ao controlo (células em placas de cultura). A disposição gráfica mostra a média nas barras e o erro da barra mostra a média \pm erro padrão da média.

A proliferação e viabilidade celular foram afectadas pela presença do substrato piezoeléctrico (substrato piezoeléctrico vs. placas de cultura convencionais). A viabilidade diminuiu significativamente nos grupos contendo o substrato piezoeléctrico (Figuras 6.4 e 6.5). Embora a viabilidade pareça ser superior no grupo submetido à estimulação, às 24 e às 48 horas após sementeira, as diferenças não foram estatisticamente significativas.

6.3.3 Medição dos níveis de concentração do óxido nítrico (NO) no meio de cultura

O NO é um mensageiro molecular produzido como resposta a estímulos mecânicos pelos osteoblastos e osteócitos, com uma alargada variedade de funções biológicas [12, 46]. O óxido nítrico (NO) é um gás solúvel, altamente lipofílico, também sintetizado por células endoteliais, macrófagos e certos grupos de células neuronais do cérebro. É um radical livre, cujo

tempo de semi-vida é muito pequeno, sendo rapidamente oxidado em nitrato e nitrito nos sistemas biológicos. O nitrato e nitrito não são voláteis nem estáveis, são produto da degradação do NO. Nos meios aquosos e condições de cultura o nitrito é o principal produto da oxidação do NO [47]. Neste estudo, o meio de cultura foi recolhido imediatamente após a estimulação mecânica e medidos os níveis de concentração de nitrito, através de um kit (*Nitric Oxide Assay Kit (Biochain)*) baseado na reacção de Griess , após a desproteínização e seguindo as recomendações do fornecedor.

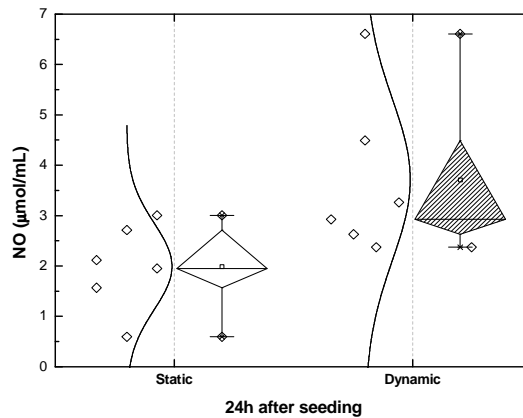


Figura 1.46 valores da medição dos níveis de concentração de NO ($\mu\text{mol/mL}$) nas culturas com substrato piezoeléctrico nas condições Estática vs. Dinâmica, 24 horas após sementeira, e imediatamente após estimulação a 1Hz e 3Hz. Os valores de NO são significativamente elevados no grupo dinâmico. A distribuição foi normal, média \pm erro padrão da média, $2,0 \pm 0,35$ e $3,7 \pm 0,65$, grupo estático e dinâmico respectivamente.

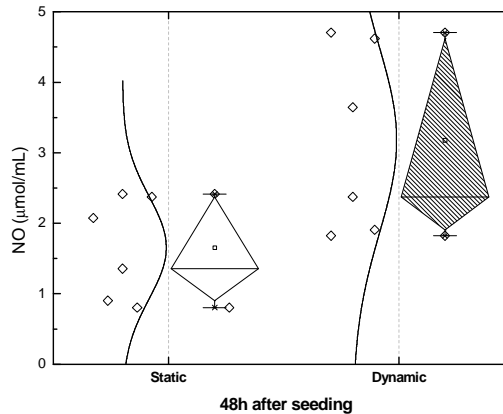


Figure 6.7 Valores da medição dos níveis de concentração de NO ($\mu\text{mol/mL}$) nas culturas com substrato piezoelétrico nas condições Estática vs. Dinâmica, 48 horas após sementeiras, e imediatamente após estimulação a 1Hz e 3Hz. Os valores de NO são significativamente elevados no grupo dinâmico. A distribuição foi normal, média \pm erro padrão da média, $1,7 \pm 0,30$ e $3,2 \pm 0,54$, grupo estático e dinâmico respectivamente.

O valor médio de concentração de NO nos meios de cultura estimulados dinamicamente era significativamente mais elevado do que em condições estáticas. Quando comparados os valores médios de NO do grupo estático às 24h e 48h (ver figura 7.5 e 7.6), não são encontradas diferenças significativas; o mesmo acontecendo com os valores do grupo dinâmico.

6.3.4 Teor de proteína total

O teor da proteína celular foi medido através de um kit de ensaios de proteína BCA *Protein Assay Reagent* (bicinchoninic acid) (*Calbiochem*). Resumidamente, as células foram recolhidas dos diapositivos piezoelétricos e das placas de culturas por um procedimento normal de tripsinização, após o que as suspensões celulares foram centrifugadas, o *pellet* celu-

lar lavado com PBS e as células lisadas adicionando 200 µl de Triton X 100 a 1% (*Sigma*) e realizando três ciclos de congelamento/descongelamento. Após nova centrifugação, foram distribuídos volumes de 25 µl de sobrenadante dos lisados celulares pelos poços de microplacas (96 poços, *TPP*) e foram adicionados 200 µl de reagente de trabalho BCA. Após 30 minutos de incubação a 37°C a densidade óptica resultante foi medida a 540 nm num espectrofotômetro (CODA). Para a obtenção da curva padrão foi usada albumina bovina.

Não foram encontradas diferenças significativas nos teores de proteína total entre os grupos controle e substratos piezoelétricos em condições estáticas e dinâmicas, 24 e 48 horas após a sementeira, apesar de serem sempre superiores nos controles (Tabela 7):

Tabela 7 - Teor de proteína total (µg/mL) 24 and 48 h após sementeira no grupo dinâmico, estático e controle (media n ± erro pradrão da média, para n=6). SEM for n=6.

Estático		Dinâmico		Controle	
24h	48h	24h	48h	24h	48h
6.67 ± 0.34	16.81 ± 1.25	6.87 ± 0.07	16.8 ± 0.92	7.19 ± 0.14	20.36 ± 1.11

6.4 Discussão dos resultados e conclusões

Neste trabalho o pico de deformação foi constante devido à tensão aplicada ter sido constante, embora a frequência tenha variado. De acordo com o fenômeno de piezoeletricidade, cada vez que uma tensão é aplicada, ocorre um pico de deformação máxima recuperando de seguida o material a sua forma inicial. A distribuição da deformação no substrato piezo-

léctrico foi assumida como atingindo valores que as células seriam capazes de suportar sem ver afectada negativamente a sua integridade.

Os presentes resultados sugerem que a viabilidade e proliferação celular são afectadas pelos substratos, quer em condições estáticas, quer em condições dinâmicas. Apesar de *Braga et al.* não descreverem evidência de efeitos deletérios de extractos obtidos a partir da imersão de membranas compósitas de PVDF/HA em meio, existem poucos estudos disponíveis de citotoxicidade de PVDF [48].

Um estudo conduzido usando células epiteliais humanas L132, refere uma proliferação de 37%, três dias após sementeira, aumentando para 45% seis dias após sementeira, relativamente ao controlo, em PVDF virgens [49]. *Hung et al.* verificou que o PVDF tem um efeito inibidor na diferenciação de células estaminais neuronais, reflectida pela diminuição dos valores de MTT (teste colorimétrico standard que mede a viabilidade celular através da redução pelas enzimas mitocondriais celulares dum composto tetrazólico - 3- (4,5-dimetiltiazol-2yl) - 2,5-difenil brometo de tetrazolina - em *formazan*) [50].

Para além do impacto do PVDF em si, o revestimento pode aumentar ou diminuir a adsorção de proteínas, assim como a adesão celular, o que é de grande importância para linhas celulares aderentes como as células MC3T3. As propriedades de superfície são também influenciadas pelo método de esterilização, neste caso, irradiação gama. O método utilizado pode condicionar fenómenos de oxidação no revestimento e aumentar a adsorção de proteínas em membranas de PVDF virgens, embora possa não influenciar significativamente a densidade celular, como foi sugerido num estudo realizado com fibroblastos de murganho L929 [51]. O revestimento efectuado nas membranas piezoeléctricas para este estudo procurou garantir o isolamento eléctrico e incrementar a adesão celular, o que justifica que a viabilidade e proliferação apresentem valores superiores aos descritos em estudos anteriores [49, 50].

O aumento significativo dos valores de NO nas culturas em substratos piezoelétricos estimulados dinamicamente, quando comparados com os estáticos, é justificado pela estimulação mecânica das células e não relacionado com fenómenos de apoptose, já que os teores de proteína total e os resultados dos testes de resazurina não apresentam diferenças significativas. Os níveis de pH medidos sugerem que houve um bom isolamento eléctrico, daí as células não sofrerem cargas eléctricas provenientes da área activa.

O estudo do crescimento de células em substratos piezoelectricos activos, não foi descrito na literatura, embora existam algumas hipóteses teóricas [30]. As vantagens de utilizar um material piezoelétrico para a estimulação de células ósseas são:

- O controlo das amplitudes de estimulação/deformação aplicada dependem do controlo das quantidades de energia eléctrica aplicada;
- A rapidez de resposta do material aos estímulos eléctricos permite trabalhar a frequências fisiológicas, como as utilizadas nesta validação de conceito.

Outras possibilidades estão relacionadas com o desenvolvimento de materiais piezoelétricos biocompatíveis ajustando as constantes piezoelétricas para obter níveis de deformação e direcção de aplicação mais próximos do tecido ósseo. Seria interessante para o desenvolvimento destes materiais bioactivos, um varrimento de uma maior gama de frequências e de gamas de deformação para além das apresentadas neste trabalho.

6.5 Referências Bibliográficas

1. Bourrin, S., et al., Effect of physical training on bone adaptation in three zones of the rat tibia. *J Bone Miner Res*, 1995. **10**: p. 1745 - 1752.

2. Judex, S. and R.F. Zernicke, High-impact exercise and growing bone: relation between high strain rates and enhanced bone formation. *J Appl Physiol*, 2000. **88**(6): p. 2183-2191.
3. Forwood, M.R. and C.H. Turner, Skeletal adaptations to mechanical usage: results from tibial loading studies in rats. *Bone*, 1995. **17**(4): p. S197-S205.
4. Hillam, R.A. and T.M. Skerry, Inhibition of bone resorption and stimulation of formation by mechanical loading of the modeling rat ulna in vivo. *J Bone Miner Res*, 1995. **10**: p. 683 - 689.
5. Gudi, S.R.P., et al., Equibiaxial strain and strain rate stimulate early activation of G proteins in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol*, 1998. **274**(5): p. C1424-1428.
6. Charras, G.T., et al., Estimating the Sensitivity of Mechanosensitive Ion Channels to Membrane Strain and Tension. 2004. **87**(4): p. 2870-2884.
7. Bacabac, R.G., et al., Bone cell responses to high-frequency vibration stress: does the nucleus oscillate within the cytoplasm? *FASEB J.*, 2006. **20**(7): p. 858-864.
8. Burger, E.H. and J. Klein-Nulend, Mechanotransduction in bone—role of the lacuno-canalicular network. *FASEB J.*, 1999. **13**(9001): p. 101-112.
9. Jessop, H.L., et al, Mechanical strain and fluid movement both activate extracellular regulated kinase (ERK) in osteoblast-like cells but via different signaling pathways. *Bone*, 2002. **31**(1): p. 186-194.
10. Kanamaru, Y., et al., , Effect of nitric oxide on mouse clonal osteogenic cell, MC3T3-E1, proliferation in vitro. *Kobe Journal of Medical Sciences*, 2001. **47**(1): p. 1-11.

11. Bakker, A.D., et al., The production of nitric oxide and prostaglandin E2 by primary bone cells is shear stress dependent. *Journal of Biomechanics*, 2001. **34**(5): p. 671-677.
12. Smalt, R., et al., Induction of NO and prostaglandin E2 in osteoblasts by wall-shear stress but not mechanical strain. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1997. **273**(4): p. E751-758.
13. Xian, F., et al., Response to mechanical strain in an immortalized pre-osteoblast cell is dependent on ERK1/2. *Journal of Cellular Physiology*, 2006. **207**(2): p. 454-460.
14. Vatsa, A., T.H. Smit, and J. Klein-Nulend, Extracellular NO signalling from a mechanically stimulated osteocyte. *Journal of Biomechanics*, 2007. **40**(Supplement 1): p. S89-S95.
15. Lewandowska-Szumiel, M., et al., Osteoblast response to the elastic strain of metallic support. *Journal of Biomechanics*, 2007. **40**(3): p. 554-560.
16. Brown, T.D., Techniques for mechanical stimulation of cells in vitro: a review. *Journal of Biomechanics*, 2000. **33**(1): p. 3-14.
17. James, G.M., et al., Stimulation of nitric oxide mechanotransduction in single osteoblasts using atomic force microscopy. *Journal of Orthopaedic Research*, 2008. **26**(4): p. 513-521.
18. Appleford, M.R., et al., Ultrasound effect on osteoblast precursor cells in trabecular calcium phosphate scaffolds. *Biomaterials*, 2007. **28**(32): p. 4788-4794.
19. Tanaka, S.M., I.M. Alam, and C.H. Turner, Stochastic resonance in osteogenic response to mechanical loading. *FASEB J.*, 2003. **17**(2): p. 313-314.

20. Turner, C.H., Three rules for bone adaptation to mechanical stimuli. *Bone*, 1998. **23**(5): p. 399-407.
21. Spencer, G. and P. Genever, Long-term potentiation in bone - a role for glutamate in strain-induced cellular memory? *BMC Cell Biology*, 2003. **4**(1): p. 9.
22. Spencer, G.J., et al., Long-term potentiation in bone: A cellular basis of memory in osteoblasts. *Bone*, 2001. **28**(5S): p. S65 - OR72.
23. Fukunaga, K. and E. Miyamoto, A working model of CaM kinase II activity in hippocampal long-term potentiation and memory. *Neurosci Res*, 2000. **38**: p. 3 - 17.
24. Spencer, G.J., et al., Calcium dependent protein kinase II activity is obligate for bone formation in vitro. *J Bone Miner Res*, 2001. **16**(6): p. OC25.
25. Hsieh, Y.F. and C.H. Turner, Effects of loading frequency on mechanically induced bone formation. *J Bone Miner Res*, 2001. **16**: p. 918 - 924.
26. Robling, A.G., D.B. Burr, and C.H. Turner, Recovery periods restore mechanosensitivity to dynamically loaded bone. *J Exp Biol*, 2001. **204**(19): p. 3389-3399.
27. Tanaka, S.M., et al., Effects of broad frequency vibration on cultured osteoblasts. *Journal of Biomechanics*, 2003. **36**(1): p. 73-80.
28. Kaspar, D., et al., Proliferation of human-derived osteoblast-like cells depends on the cycle number and frequency of uniaxial strain. *Journal of Biomechanics*, 2002. **35**(7): p. 873-880.
29. Tanaka, S.M., A new mechanical stimulator for cultured bone cells using piezoelectric actuator. *Journal of Biomechanics*, 1999. **32**(4): p. 427-430.

30. Miara, B., et al., Piezomaterials for bone regeneration design--homogenization approach. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 2005. **53**(11): p. 2529-2556.
31. Li, Z., et al., Bioactive nano-titania ceramics with biomechanical compatibility prepared by doping with piezoelectric BaTiO₃. *Acta Biomaterialia*, 2009. **5**(6): p. 2189-2195.
32. Dekhtyar, Y., N. Polyaka, and R. Sammons, Electrically Charged Hydroxyapatite Enhances Immobilization and Proliferation of Osteoblasts, in 14th Nordic-Baltic Conference on Biomedical Engineering and Medical Physics. 2008. p. 23-25.
33. Vezeridis, P.S., et al., Osteocytes subjected to pulsating fluid flow regulate osteoblast proliferation and differentiation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006. **348**(3): p. 1082-1088.
34. Zaman G, P.A., Rawlinson SC, Suswillo RF, Moseley JR, Cheng MZ, Platts LA, Hukkanen M, Polak JM, Lanyon LE, Mechanical strain stimulates nitric oxide production by rapid activation of endothelial nitric oxide synthase in osteocytes. *J Bone Miner Res* 1999. **14**: p. 1123-1131.
35. Fox, S.W. and J.W.M. Chow, Nitric Oxide Synthase Expression in Bone Cells. *Bone*, 1998. **23**(1): p. 1-6.
36. Sudo, H., et al., In vitro differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria. *J. Cell Biol.*, 1983. **96**(1): p. 191-198.
37. Wang, D., et al., Isolation and Characterization of MC3T3-E1 Preosteoblast Subclones with Distinct In Vitro and In Vivo Differentiation/Mineralization Potential. *Journal of Bone and Mineral Research*, 1999. **14**(6): p. 893-903.
38. Chung, C.Y., et al., Serial Passage of MC3T3-E1 Cells Alters Osteoblastic Function and Responsiveness to Transforming Growth Factor- β 1 and Bone Morphoge-

netic Protein-2. biochemical and biophysical research communications. Biochemical and biophysical research communications, 1999. **265(1)**: p. 246-251.

39. Wenstrup, R.J., et al., Discordant Expression of Osteoblast Markers in MC3T3-E1 Cells that Synthesize a High Turnover Matrix. Journal of Biological Chemistry, 1996. **271(17)**: p. 10271-10276.

40. Saunders, M.M., et al., Gap junctions and fluid flow response in MC3T3-E1 cells. Am J Physiol Cell Physiol, 2001. **281(6)**: p. C1917-1925.

41. Liu, D., et al., Activation of extracellular-signal regulated kinase (ERK1/2) by fluid shear is Ca²⁺ and ATP-dependent in MC3T3-E1 osteoblasts. Bone, 2008. **42(4)**: p. 644-652.

42. Jaasma, M.J.a.F.J.O.B., Mechanical Stimulation of Osteoblasts Using Steady and Dynamic Fluid Flow. Tissue Engineering **Part A**. **0(0)**.

43. ansar Ahmed, S., R.M. Gogal Jr, and J.E. Walsh, A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [3H]thymidine incorporation assay. Journal of Immunological Methods, 1994. **170(2)**: p. 211-224.

44. Zhi-Jun, Y., et al., A dye-based lymphocyte proliferation assay that permits multiple immunological analyses: mRNA, cytogenetic, apoptosis, and immunophenotyping studies. Journal of Immunological Methods, 1997. **210(1)**: p. 25-39.

45. Slaughter, M.R., P.J. Bugelski, and P.J. O'Brien, Evaluation of Alamar Blue Reduction for the In Vitro Assay of Hepatocyte Toxicity. Toxicology in Vitro, 1999. **13(4-5)**: p. 567-569.

46. Rob, J.v.T.H., S. H. R., Nitric oxide and bone. *Immunology*, 2001. **103(3)**: p. 255-261.
47. Ignarro, L.J., et al., Oxidation of nitric oxide in aqueous solution to nitrite but not nitrate: comparison with enzymatically formed nitric oxide from L-arginine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993. **90(17)**: p. 8103-8107.
48. Braga, F.J.C., et al., Characterization of PVDF/HAP composites for medical applications. *Materials Research*, 2007. **10**: p. 247-251.
49. Tabary, N., et al., Functionalization of PVDF membranes with carbohydrate derivatives for the controlled delivery of chlorhexidin. *Biomolecular Engineering*, 2007. **24(5)**: p. 472-476.
50. Hung, C.-H., Y.-L. Lin, and T.-H. Young, The effect of chitosan and PVDF substrates on the behavior of embryonic rat cerebral cortical stem cells. *Biomaterials*, 2006. **27(25)**: p. 4461-4469.
51. Lleixà Calvet, J., et al., Sterilization effects on starPEG coated polymer surfaces: characterization and cell viability. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2008. **19(4)**: p. 1631-1636.

Capítulo 7 - Comentários Finais

O trabalho apresentado nesta dissertação consistiu na exploração de sensores para o desenvolvimento de um implante de anca inteligente. Foi uma rede de sensores capaz de monitorizar o desenvolvimento funcional do implante e uma rede de actuadores que intervenha sempre que existam alterações no meio que possam desencadear o insucesso do implante. Todo o estudo foi efectuado considerando apenas a componente femoral de um implante de anca, embora parte do conhecimento resultante deste estudo possa ser aplicado também ao componente acetabular ou outros implantes de substituição óssea.

Os sensores estudados foram os sensores em fibra óptica. Três parâmetros foram medidos com esta tecnologia sensora: a variação de temperatura, a deformação e o posicionamento espacial. Para o posicionamento espacial utilizou-se uma rede aperiódica gravada em fibra óptica e sensor óptico interferométrico usando uma rede de Bragg e um espelho reflector gravado na fibra óptica. Os resultados experimentais revelaram a possibilidade de utilização destes dois tipos de sensores na monitorização de micro-fissuras ou fissuras no manto de cimento, mas para uma boa precisão de resultados a rede de sensores teria que ser distribuída ao

longo do manto de cimento e não na superfície da prótese. Como sensor de temperatura e de deformação foram utilizadas sensores de Bragg gravados em fibra óptica. A aplicação deste tipo de sensor semi-embebido ou totalmente embebido num qualquer material requer uma calibração prévia para compreensão de como as diferentes variáveis podem influenciar o sinal óptico que é reflectido; só assim será possível otimizar a localização e distribuição dos sensores na estrutura final.

Desta forma, na fase final de monitorização de uma componente femoral comercial foram apenas utilizados sensores de Bragg gravados na fibra óptica. A monitorização foi efectuada através da distribuição de uma rede de oito sensores de Bragg ao longo da haste da componente femoral, número suficiente para compreender o desempenho funcional da componente femoral do implante. Os pontos mais frequentemente causadores de insucesso para um implante deste tipo apresentados na literatura são: a migração, o afundamento da haste no manto de cimento e zonas de cedência do manto de cimento. Estes pontos são passíveis de serem identificados e discriminados *in loco* através desta rede de sensores, contrariamente aos sistemas de monitorização por extensometria que são apresentados na literatura.

Um aspecto importante a considerar nos sensores de Bragg é a sensibilidade simultânea à deformação e à variação de temperatura. Este é um aspecto crítico quando se trata de estruturas expostas a elevadas variações de temperatura, nomeadamente estruturas compósitas. Neste caso específico de aplicação esta dificuldade de discriminação entre estes dois parâmetros representa um mal menor, pois a sensibilidade dos sensores de Bragg embebidos no manto de cimento é de $138,75 \text{ pm}/^\circ\text{C}$, uma ordem de grandeza inferior à obtida pela deformação longitudinal da fibra óptica durante os ensaios de fadiga para cargas de três vezes o peso corporal. A variação de temperatura no interior do organismo é de baixa amplitude, pelo que a interferência expectável não será significativa. A imunidade a campos electromagnéticos faz dos sensores ópticos privilegiados para esta aplicação, comparativamente com os sensores

eléctricos como os extensómetros e piezoeléctricos. Com sistemas de sensores ópticos não existe a necessidade de isolamento eléctrico numa haste metálica. As pequenas dimensões destes sensores e o processo de colocação são minimamente invasivos não alterando significativamente o comportamento estrutural da haste femoral original.

A monitorização através de sensores de Bragg pode ser aplicada em implantes de anca cimentados e não cimentados. Nos implantes de anca cimentados a utilização deste tipo de solução sensora permite medir a variação de temperatura originada pela reacção exotérmica da cura de cimento ósseo ao longo da haste. Esta informação permite deduzir de modo indirecto a uniformidade do manto de cimento. Picos de temperatura mais elevados correspondem a locais com maior espessura de cimento ósseo.

O conceito de implante inteligente, associado a uma rede de sensores e a uma rede actuadores terá maior potencial de aplicação nos implantes não cimentados, em que o contacto entre o osso e a prótese é directo. No caso de um implante cimentado, quando os primeiros sinais de cedência do implante surgem, existem poucas opções para medidas profiláticas ou de correcção, apenas repouso até a realização de uma segunda cirurgia de revisão.

As capacidades de actuação, tal como abordadas nesta dissertação, são no sentido de estimulação da proliferação do tecido ósseo e têm mais significado para implantes não cimentados. A existência de materiais bioactivos na superfície do implante seria benéfica para a obtenção de uma mais rápida estabilidade do implante, bem como possível compensação dos mecanismos de *stress-shielding* que conduzem a perda de massa óssea. Um dos maiores problemas identificados na selecção de possíveis actuadores que estimulem a proliferação do tecido ósseo foi a falta de total compreensão dos mecanismos responsáveis pela activação do processo de remodelação no tecido ósseo saudável. Várias hipóteses são apresentadas na literatura em que a maioria indica a estimulação mecânica das células ósseas como a principal

reguladora do processo de remodelação. Todavia, a amplitude do estímulo, a frequência e a aleatoriedade na estimulação não estão ainda suficientemente definidas.

Nesta dissertação foi estudada a possibilidade de aplicar materiais piezoelétricos como substratos activos para o desenvolvimento de culturas de células osteoblásticas. O material piezoelétrico utilizado foi uma fina membrana de PVDF comercial. Vários estudos de biocompatibilidade e processos de revestimento foram feitos para garantir este estudo *in vitro* e posterior aplicação *in vivo*. Foram também feitos estudos mecânicos (numéricos e experimentais) para identificar a amplitude de deformação. Os resultados obtidos foram considerados como aceitáveis para a fisiologia celular, tal como os estudos de proliferação, viabilidade e teor proteico sugerem.

Os estudos *in vitro* das culturas celulares demonstraram a sensibilidade das células à estimulação mecânica realizada, tal como sugerido pelos níveis de NO no meio de cultura. Apesar dos resultados, este estudo fica aquém do que seria necessário para padronizar o comportamento das células osteoblásticas face a estimulações mecânicas. Seria necessário efectuar um estudo considerando uma maior amplitude de níveis de deformação e de frequência da aplicação de carga, bem como estudo do número de ciclos e períodos de repouso mais adequados. Actualmente ainda não se encontram disponíveis no mercado biomateriais piezoelétricos que permitam efectuar este estudo sem comprometer a sua estrutura funcional e os critérios de biocompatibilidade.

Várias são as vantagens de utilização deste tipo de materiais: o facto de serem de pequenas dimensões, a possibilidade de serem utilizados em estudos *in-vivo*, a resposta dinâmica deste material e o facto de não requerer um *set-up* complexo.

As soluções desenvolvidas neste trabalho apresentam um ponto de vista na nova era de desenvolvimento de implantes na área da biomecânica.

Capítulo 8 - Trabalhos futuros

Os trabalhos futuros na sequência do estudo apresentado nesta dissertação incluem a avaliação destes materiais piezoelétricos como sensores aplicados em osso cadavérico (trabalho actualmente em curso), bem como a sua posterior aplicação *in vivo*, em funções sensoras e actuadoras. É ainda objectivo futuro, a exploração de uma maior gama de frequências, níveis de deformação do substrato e variação dos períodos de estimulação e repouso, de forma a otimizar a proliferação óssea.

O objectivo último será o desenvolvimento de materiais compósitos biocompatíveis que mimetiza a piezoelectricidade verificada nos compósitos naturais, nomeadamente, o osso.

A aplicação de tecnologia óptica é também uma possibilidade, embora avanços tecnológicos significativos tenham que ocorrer para permitir a miniaturização dos sistemas optoelectrónicos de interrogação.

A optimização da gestão energética, nomeadamente por controlo externo da activação do dispositivo é também de primordial importância para uma maior duração do período de monitorização e actuação do implante.

