

COMPÓSITOS DE HIDROXIAPATITA ÓSSEA BOVINA DISPERSA EM BIOVIDRO: DESENVOLVIMENTO DA MATRIZ VÍTREA SILICATO-FOSFATO

Silva, A. C.^{1,2}, Aparecida, A. H.^{1,3}, Braga, F. J. C.²

¹Consulmat Produtos Técnicos Indústria e Comércio Ltda. ²Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). ³Instituto de Química de Araraquara – Unesp
Rua Juan Lopes, 159, São Carlos, SP, Brasil
E-mail: dasilva.ac@uol.com.br

Resumo

A Hidroxiapatita (HA) é uma biocerâmica de referência para o emprego como substituto ósseo, contudo, sua lenta taxa de degradação e seu baixo índice de bioatividade (I_b) apresentam-se como fatores limitantes para aplicação como enxerto ósseo. Diferentemente o biovidro é um material reabsorvível e osteoindutor. Neste contexto o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de compósitos de HA óssea bovina dispersa em biovidro silicato-fosfato, buscando obter um biomaterial com propriedades adequadas para a aplicação como enxertos ósseos. Os compósitos foram preparados pela mistura entre os componentes em pó seguida de sinterização durante 1h. Utilizou-se HA e biovidro (45S5) com tamanho de partículas < 240 μ m nas proporções HA/45S5 de 20/80, 30/70 e 40/60 (% em massa). Para a caracterização dos compósitos empregou-se: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectrometria no Infra-Vermelho (FT-IR) e Resistência Hidrolítica. Os resultados dos ensaios indicam o potencial de uso dos materiais desenvolvidos para aplicações como enxerto ósseo.

Palavras-chave: Hidroxiapatita, Biomateriais para substituição óssea, Biovidro.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, biocerâmicas vêm sendo utilizadas para a reparação e reconstrução de partes danificadas do corpo ou que apresentam algum problema. Estes materiais são obtidos e processados de forma a apresentar comportamento fisiológico específico para aplicações como material constituinte de aparelhos protéticos ou material de enxertos ósseos. Para o emprego como enxertos ósseos, as biocerâmicas devem ser reabsorvíveis, atuando assim, como material temporário, sendo gradualmente repostos por novo osso^(1,2,3).

A Hidroxiapatita (HA), uma biocerâmica de fosfato de cálcio, é o principal material de escolha para aplicações de substituição do tecido ósseo, pois trata-se de

um material que apresenta ausência de toxicidade local e sistêmica, ausência de respostas inflamatórias e aparente habilidade em se ligar ao tecido hospedeiro. Contudo, apesar de suas propriedades biológicas promissoras, seu baixo índice de bioatividade (I_b) e sua lenta velocidade de degradação se apresentam como fatores limitantes para sua aplicação como enxerto ósseo ⁽⁴⁾.

A bioatividade dos materiais bioativos pode ser quantificada pelo índice de bioatividade (I_b), que é descrito como o tempo necessário para ocorrer 50% de ligação interfacial entre um biomaterial e o tecido ósseo. Materiais que apresentam índice de bioatividade maior que oito são classificados como de classe A, e são osteoprodutores, ou seja, promovem uma resposta intracelular e extracelular que permite a colonização de sua superfície por células troncos livres no ambiente defeituoso. Materiais com índice entre zero e oito são classificados como de classe B, exibindo somente osteocondutividade, propiciando o crescimento ósseo ao longo de sua superfície. Pode-se observar na tabela 1 o baixo I_b da HA, classificando esta biocerâmica como um material osteocondutivo ⁽⁴⁾.

Tabela 1: Índice de Bioatividade (I_b) de diferentes biomateriais.

Biomaterial	I_b	Classe de Bioatividade	Ligação com o Osso	Ligação com Tecido Mole
Vidro bioativo (4555)	12,5	A	Sim	Sim
Vidro Bioativo (5254)	10,5	A	Sim	Sim
Cerâmica Bioativa (AW)	6,0	B	Sim	Não
Hidroxiapatita (HA)	3,1	B	Sim	Não

Diferentemente da HA, o biovidro é um biomaterial reabsorvível e que apresenta elevado I_b , sendo osteoindutor, o que permite que ocorra uma resposta intracelular e extracelular na interface com o tecido vivo, possibilitando que a superfície seja colonizada por células troncos livres no ambiente defeituoso como resultado de intervenções cirúrgicas.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de compósitos de HA óssea bovina dispersa em biovidro silicato-fosfato, buscando combinar as propriedades osteocondutiva e osteoindutiva de ambos os materiais, obtendo-se dessa

forma um biomaterial com propriedades adequadas para a aplicação como enxertos ósseos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação do Biovidro 45S5

A composição de vidro 45S5 ⁽⁵⁾ foi preparada utilizando-se reagentes de grau analítico e fundida a 1500°C por 2 horas em forno vertical. Os biovidros foram moldados em barras de 10x10x50 mm e recozidos a 500°C por 2 h, sendo que parte do material foi pulverizada ($\leq 250\mu\text{m}$).

2.2 Obtenção da HA óssea bovina

A produção da HA bovina envolve a lavagem em autoclave dos ossos para eliminação de tecidos animais agregados e subseqüentes separação dos componentes orgânicos. Esta operação foi realizada, tratando-se os ossos bovinos em autoclave de laboratório por 1h à pressão de 2 atm e posterior decomposição dos resíduos remanescentes por oxidação em peróxido. Após esse processo os ossos são secos em estufa a 90°C por 3 dias. Após esse processo os ossos são cortados em cubos (1x1x1 cm) em serra de fita e moídos em moinho tipo wyllie. Os grãos são calcinados em forno a 900°C por 2h utilizando-se forno tipo mufla e acomodando o material em cadinhos de alumina. A taxa de aquecimento utilizada foi de 5°C/min e resfriamento natural no forno. Posteriormente os ossos foram pulverizados em moinho ($\leq 250\mu\text{m}$) ^(6,7).

2.3 Preparação dos compósitos

Partindo-se dos componentes em pó (Mesh 60 - $\leq 250\mu\text{m}$), os compósitos foram preparados nas seguintes proporções em massa de HA e Biovidro: 20/80, 30/70 e 40/60. A homogeneização foi feita em grau de ágata e aproximadamente 0,2 g de material foi compactada em prensa uniaxial com carga de aproximadamente 1000Kgf, utilizando-se matriz cilíndrica de 5,0mm de diâmetro. A sinterização dos cilindros verdes, dispostos em navículas de zircônia, foi realizada em forno tipo mufla PID programável à 1100°C durante 2h, com taxa de aquecimento de 15°C/min e resfriamento natural dentro do forno. A caracterização das amostras sinterizadas foi

realizada utilizando-se as técnicas de Difratomia de Raio X - DRX, Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV, Espectroscopia no Infravermelho com a Transformada de Fourier - FTIR e ensaios mecânicos de compressão. A resistência química dos vidros obtidos foi avaliada pelo método de resistência hidrolítica descrito por Day ⁽⁸⁾.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise da figura 1, observa-se que o DRX dos compósitos desenvolvidos é característico de materiais cristalinos, evidenciando que o período de sinterização foi suficiente para a ocorrência da evolução das fases cristalinas.

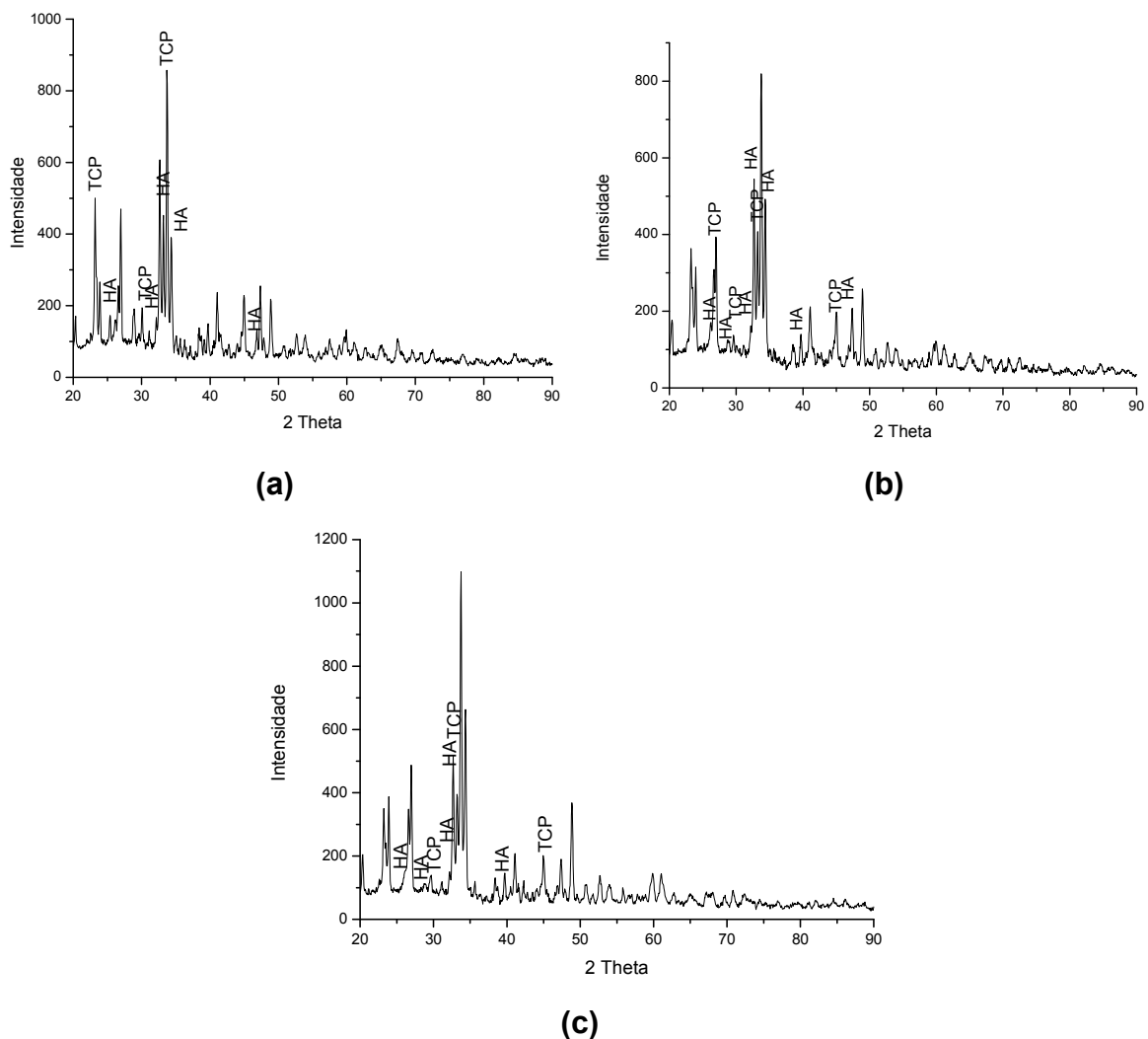


Figura 1: Difratogramas de raios-X dos compósitos HA/Biovidro: (a) 20/80, (b) 30/70, e (c) 40/60

Os compósitos desenvolvidos apresentaram, além de picos característicos da fase vítrea, tais como sílica em sua forma de Cristobalita (SiO_2), silicato de cálcio (CaSiO_3) e devitrita ($\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$), picos referentes a HA e ao β -fosfato tricálcico (β -TCP). A utilização do β -TCP tem se tornado objeto de interesse na área de biomateriais devido ao seu comportamento reabsorvível. A utilização de β -TCP juntamente com a HA tem sido uma alternativa viável para aumentar a velocidade de degradação desta última ⁽⁴⁾.

Pode-se observar, pela análise da tabela 2, que após a sinterização ocorre uma pequena contração para a composição HA/Biovidro 20/80, enquanto que com o aumento da concentração de HA, observa-se a ocorrência da expansão das composições 30/70 e 40/60. Dessa forma, observa-se a ocorrência da contração da fase representada pelo biovidro, por consequência das reações de sinterização, a qual foi menos evidenciada para maiores concentrações de HA devido à sua degradação a β -TCP, o que resultou em um aumento volumétrico da mesma⁽⁹⁾. Este efeito pode ser atenuado e/ou eliminado em desenvolvimentos futuros de biovidros os quais permitam a sinterização a temperaturas menores que a utilizada no presente estudo (1100°C).

Tabela 2: Contração à queima observada nos compósitos HA/Biovidro.

Composição (HA/Biovidro)	20/80	30/70	40/60
Contração na queima (% vol.)	4,3	-5,4	-31,7

Comparando-se os espectros obtidos por FTIR, figuras 2 e 3, observa-se a despolimerização do Biovidro 45S5 a qual é auxiliar na formação da interface com a HA. Tal fato se observa com a redução do pico indicativo Si-O-Si [Q^3] e o aumento dos picos indicativo das ligações Si-O-Si [Q^4], Si-O-Si [Q^1], Si-O-Si [Q^0], após a sinterização, ou seja, a rede estrutural aleatória inicial do vidro, composta principalmente pelos tetraedros de sílica Q^3 , as quais são as de ocorrência típica para este tipo de vidro, passam a se segregar em aglomerados de sílica Q^4 , que tendem à formação de fases cristalinas e por outra parte, silicatos Q^1 e Q^0 , provavelmente associados a Fósforo, como sugerem os picos indicativos das ligações típicas de silicatos. Neste sentido, observa-se também a redução da intensidade dos picos indicativos das ligações P-O

vítreo e aumento do P-O cristalino. O pico indicativo do grupo funcional OH na HA, indica que pelo menos parte deste material permanece sem se degradar após a queima.

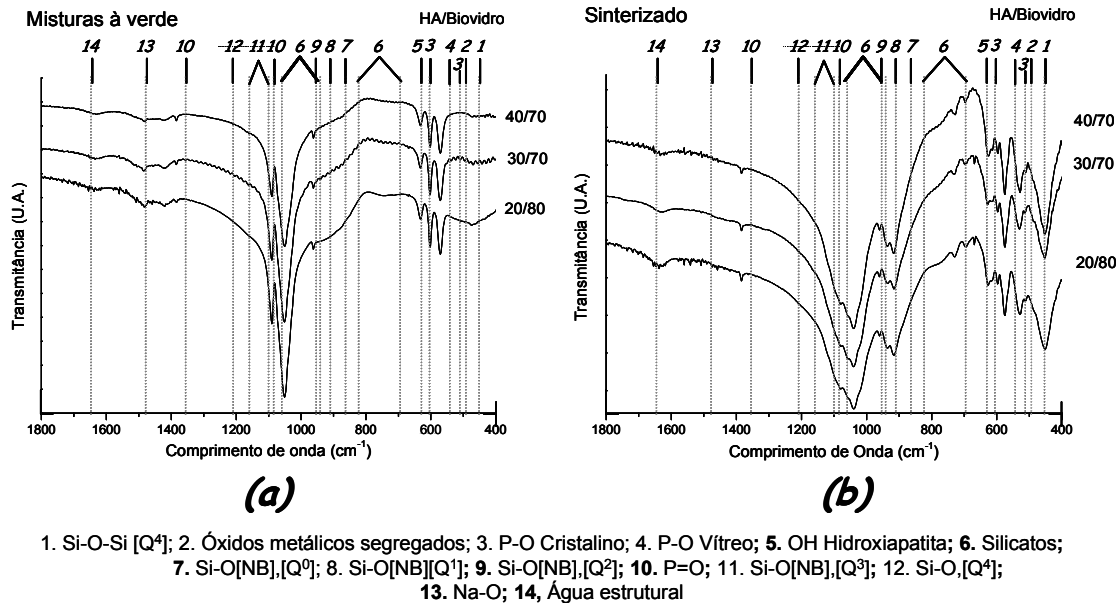


Figura 2: Espectro de FTIR: (a) composições à verde; (b) composições após a sinterização.

A comparação das micrografias obtidas por MEV do material em verde, figuras 4a, 4b e 4c, e do material após 336h (14 dias) de ataque hidrolítico, figuras 4d, 4e e 4f, indicam que a compactação do material e a formação de fase líquida durante a sinterização, atribuída ao vidro, a qual contribuiu para a obtenção de um material aparentemente com baixa porosidade.

Após o ataque hidrolítico, observa-se a intensa dissolução de uma das fases, correspondente ao biovidro. Dessa forma, quando implantados no organismo vivo, a dissolução do biovidro e também do β -TCP, o qual é reabsorvível, levará a formação de um material poroso, onde os canais formados poderão receber uma resposta intracelular e extracelular na interface com o tecido vivo, possibilitando que os mesmos sejam colonizados por células troncos livres, devido ao caráter osteoindutor do biovidro. Espera-se que com o avanço da dissolução da fase vítrea e do β -TCP, o tecido ósseo

formado envolva as partículas remanescentes de HA, interagindo com esta devido ao seu caráter osteocondutor.

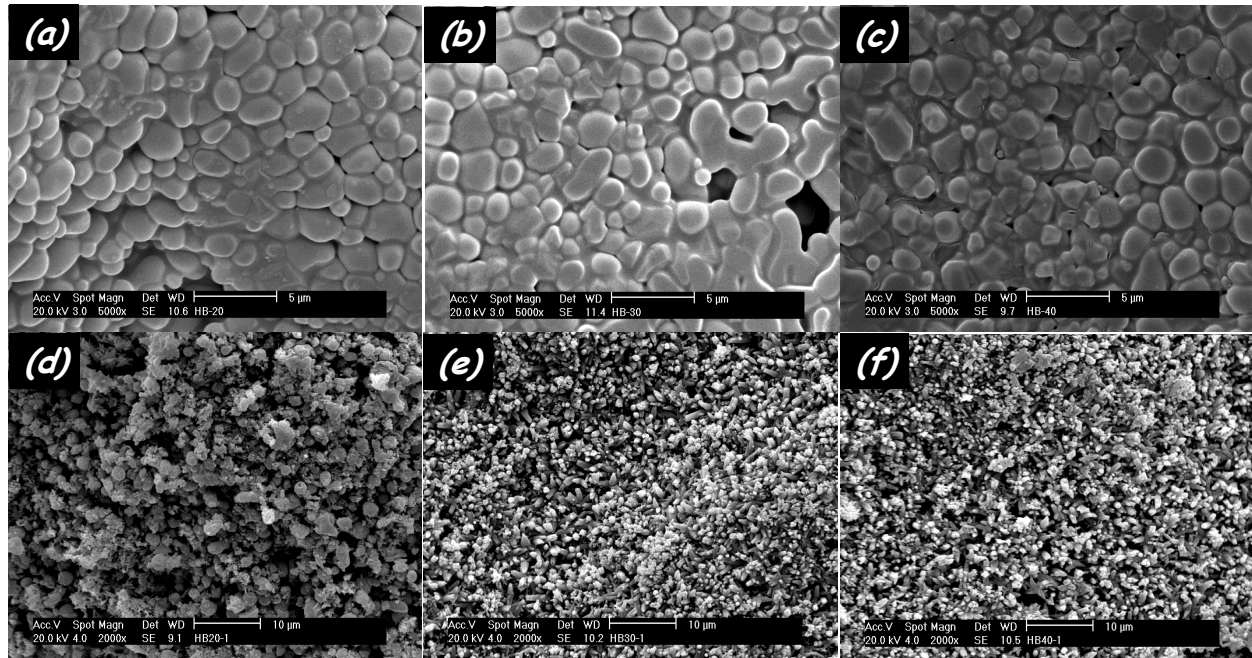


Figura 3: MEV dos compósitos HA/Biovidro, para as composições em massa 20/80, 30/70 e 40/60, após a sinterização (a; b; e c, respectivamente) e submetidas à 336 hs de ataque hidrolítico (d; e; e f, respectivamente).

4. CONCLUSÕES:

A adição de biovidro a HA de origem bovina permitiu a obtenção de compósitos potencialmente reabsorvíveis, os quais permitirão a conciliação das propriedades osteocondutivas e osteoindutivas dos materiais isolados. A presença de β -TCP nas composições dos compósitos apresenta-se como uma vantagem, pois trata-se de uma fase de apatita reabsorvível e de interesse biológico. À partir destes resultados torna-se possível o desenvolvimento de compósitos HA/Biovidro onde as propriedades de interesse em ambos os materiais possam ser combinadas originando biomateriais adequados para enxerto ósseo .

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem à CAPES/FINEP pelas bolsas de pós-doutoramento concedidas mediante o projeto PNPd/FINEP n.º 2462095 e à Fapesp/SP, projetos 96/09604-9, 99/01924-2 e 00/02483-9.

BIBLIOGRAFIA:

1. HENCH, L.L. Bioceramics: from concept to clinic. **J. Am. Ceram. Soc.** v.74, p.1,487 1991.
2. HENCH, L.L. WILSON, J. An introduction to bioceramics, in: Advanced Series in Ceramics, vol I, World Scientific, London, 1993.
3. HENCH, L.L. CAO, W. Bioactive Materials, **J. Ceram. Int.** v.22, p. 493,1996.
4. A. C. Guastaldi, A. H. Aparecida, Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova**, v.33, p. 1352, 2010.
5. Li, D. YANG, M.X. MURALIDHA, WUB, C. YANG, F. Local surface damage and material dissolution in 45S5 bioactive glass: Effect of the contact deformation **Jour. of Non-Cryst. Solids**, v.355, p. 874, 2009.
6. HERLIANSYAH, M.K. NASUTION, D.A. HAMDY, M.IDE-EKTESSABI, A. WILDAN, M.W. TONTOWI, A.E. Preparation and characterization of natural hydroxyapatite: A comparative study of bovine bone hydroxyapatite and hydroxyapatite from calcite. **Mat. Sci. Forum**, v.561-565, p. 1441, 2007.
7. MIYAHARA, R. Y. GOUVÊA, D. TOFFOLI, S. M. Obtenção e caracterização de cinza de ossos bovinos visando à fabricação de porcelana de ossos - bone china. **Cerâmica**, V. 53, p. 234, 2007.
8. DAY, D.E. WU, Z. RAY, C.S. HRMA, P. Chemically durable iron phosphate glass waste forms, **J. Non-Cryst. Solids**, v.241, p.1–12, 1998.
9. NAKAMURA, L. OTSUKA, R. AOKI, H. AKAO, M. MIURA, N. Thermal expansion of hydroxyapatite- β -tricalcium phosphate ceramics., **Thermochemica Acta**, v.165, p.57, 1990.

Abstract

The hydroxyapatite (HA) bioceramics is a reference material to employment as a bone substitute, however, their slow rate of degradation and its low rate of bioactivity (Ib) are presented as limiting factors for application as bone graft. In contrast, the bioglass is a resorbable and osteoinductive material. In this context, the present work objective the development of composites of dispersed bovine bone HA in silicate-phosphate bioglass, seeking to obtain a biomaterial with properties suitable for application as bone grafts. The composites were prepared by mixing between the powder components followed by sintering for 1h. Were used HA and bioglass (45S5) with particle size <240 μ m. The tested proportions of HA/45S5 were 20/80, 30/70 and 40/60 (wt%). The composites characterization was made employing scanning electron microscopy (SEM), Infra-Red Spectrometry (FT-IR) and hydrolytic resistance test. The test results indicate the potential use of the materials developed for applications such as bone graft.

Keywords: Hydroxyapatite, Biomaterials for bone replacement, bioglass