DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE CIMENTO ÓSSEO DE α-FOSFATO TRICÁLCICO COM DIFERENTES TEMPOS DE IMERSÃO EM FLUIDO CORPÓREO SIMULADO

H. A. I. Cardoso ⁽¹⁾, M. Motisuke ⁽¹⁾, C. A. C. Zavaglia ⁽¹⁾ C.P. 6122 – e-mail: hugocardos@fem.unicamp.br (1) Labiomec – DEMA – FEM – Unicamp – C.P. 6122

RESUMO

Os cimentos de fosfato de cálcio têm despertado bastante interesse devido à sua biocompatibilidade e à sua bioatividade no reparo e substituição de defeitos ósseos, induzindo o crescimento de tecido ósseo. Neste trabalho, procurou-se obter cimento ósseo do tipo α -fosfato tricálcico com o menor nível de β -fosfato tricálcico, devido à sua biocompatibilidade, e realizou-se a caracterização do cimento ósseo obtido. Através da síntese de reagentes em laboratório, obteve-se reagentes com níveis baixos de magnésio, que age como estabilizador da fase de β , obtendo-se α -fosfato tricálcico com menos impurezas. O cimento ósseo obtido teve sua resistência mecânica aumentada com o aumento do tempo de imersão em FCS, porém os valores obtidos foram menores que os reportados por outros pesquisadores. Houve completa transformação do α -fosfato tricálcico em hidroxiapatita deficiente em cálcio com sete dias de imersão em FCS. A caracterização foi satisfatória e permite a utilização do cimento como material para implante.

Palavras-chave: biocerâmicas, fosfato tricálcico, cimento de fosfato de cálcio.

INTRODUÇÃO

Devido aos avanços da medicina e tecnologia na segunda metade do século XX, houve uma grande revolução que mudou o conceito de tratamento de um grande número de doenças. Essas alternativas apresentam vantagens e limitações, mas seu desenvolvimento tem sido espetacular e hoje oferece

garantias de vida que não seriam possíveis cerca de 30 anos atrás. A principal vantagem dos biomateriais e sua disponibilidade, reprodutibilidade e adaptação biomecânica ⁽¹⁾.

Os materiais cerâmicos foram utilizados pela primeira vez como biomateriais há cerca de 30 anos. Inicialmente, a atenção era voltada para o desenvolvimento de tipos que provocassem mínima ou nenhuma reação do tecido, características típicas destes materiais em meios agressivos. Mas o decorrer do tempo e o aumento do conhecimento na área de materiais cerâmicos geraram proposta conceitualmente oposta: as biocerâmicas deveriam provocar reações de formação de tecido e, se possível, com a formação de uma ligação intima entre a cerâmica e os tecidos ⁽²⁾.

As biocerâmicas de fosfato de cálcio tem merecido lugar de destaque por apresentarem ausência de toxicidade local ou sistêmica, ausência de respostas a corpos estranhos e inflamações, e aparente habilidade em se ligar ao tecido hospedeiro. Tais características positivas podem ser explicadas pela natureza química destes materiais que por serem formados basicamente de íons cálcio e fosfato, participam ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica ⁽³⁾.

O fosfato tricálcico e um composto que apresenta polimorfismo, a mesma composição pode apresentar diferentes estruturas. Existem três polimorfos deste composto que se conhecem como as fases β , α , α '. A fase β cristaliza no sistema hexagonal, a fase α apresenta sistema cristalino ortorrômbico e a fase α ' cristaliza no sistema monoclínico ⁽⁴⁾.

O β -TCP pode ser obtido por um tratamento térmico acima de pelo menos 650 °C, e tem sido utilizado no mercado como substituto do osso, na forma de grânulos ou blocos. O α -TCP e normalmente obtido pelo aquecimento do β -TCP acima de 1125 °C, alem de ser mais biocompatível e mais biodegradável que o β -TCP ⁽⁵⁾.

O termo "cimento de fosfato de cálcio" foi introduzido por Gruninger e colaboradores ⁽⁶⁾. Segundo eles, um cimento desse tipo pode ser preparado misturando-se um sal de fosfato de cálcio com água ou com uma solução aquosa para que se forme uma pasta que possa reagir a temperatura ambiente ou corporal a fim de dar lugar a um precipitado que contenha um ou mais

fosfatos de cálcio e de pega por meio do intercruzamento dos cristais deste precipitado.

Os cimentos de fosfato de cálcio estão sendo objeto de intenso estudo nos últimos anos devido a sua potencial utilidade em aplicações biomédicas e, também, a serem materiais biocompatíveis que endurecem ou pegam no sítio de implantação ⁽⁷⁾.

A principal desvantagem dos cimentos de fosfato de cálcio conhecidos e sua baixa resistência mecânica, que no melhor dos casos consegue igualar-se a do osso trabecular, ou a um quinto do osso cortical. Composições mais resistentes de cimentos de fosfato de cálcio encontrariam aplicações em ortopedia e neurocirurgia, como alternativa para a consolidação de fraturas múltiplas de ossos longos, fixação de próteses articulares cimentadas e substituição de discos intervertebrais e corpos vertebrais ⁽⁸⁾.

Normalmente, os materiais sintéticos utilizados para a reconstituição de defeitos ósseos, ao entrarem em contato com o corpo humano são encapsulados por um tecido fibroso que inibe a ligação deste com o tecido ósseo. No entanto, sabe-se que alguns materiais cerâmicos e vidros são capazes de se ligar diretamente ao osso sem que o tecido fibroso se forme, tornando-se então ótimos substitutos ósseos. O estudo de imersão em Fluido Corpóreo Simulado baseia-se em verificar a formação de uma camada de apatita na superfície dos materiais em estudo. No caso dos fosfatos de cálcio, materiais que com certeza se ligam ao ósseo, este estudo pode ter outros intuitos, como verificar a sua degradação (mudança de pH e de fase cristalina) e a precipitação de uma camada de apatita quando o material em estudo não é a própria hidroxiapatita ⁽⁹⁾.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram obtidos em laboratório o carbonato de cálcio (CaCO₃, CC) e a monetita (CaHPO₄, DCPA) através de preparação de soluções aquosas, em que o EDTA sal dissódico foi utilizado como agente sequestrante de magnésio, a fim de se conseguir reagentes livres desta impureza que tende a estabilizar o β -TCP ⁽¹⁰⁾. As reações (A) e (B) representam a obtenção do carbonato de

cálcio e da brushita, (CaHPO₄.2H₂O), respectivamente. A brushita após calcinação a 200 °C transforma-se em monetita:

$$Ca(CH_{3}COO)_{2}.H_{2}O + (NH_{4})_{2}CO_{3} + 2 H_{2}O \rightarrow CaCO_{3}$$
(A)
$$Ca(CH_{3}COO)_{2}.H_{2}O + (NH_{4})_{2}H_{2}PO_{4} + H_{2}O \rightarrow CaHPO_{4}.2H_{2}O$$
(B)

O α-TCP difratometricamente puro foi obtido através da reação no estado sólido de carbonato de cálcio (CC) e monetita (DCPA) segundo a reação (C) e posterior sinterização sob temperaturas elevadas, sendo então moído:

$$CaCO_3 + CaHPO_4 \rightarrow Ca_3(PO_4)_2 + H_2O + CO_2$$
(C)

O cimento foi obtido pela reação do α-TCP com uma solução aquosa com 2,5% em massa de Na2HPO4 e 1,5% em massa de acido cítrico, sendo que o líquido e o pó foram misturados até que o cimento ficasse com uma mistura homogênea. Logo em seguida, antes que o cimento perdesse sua plasticidade, ele foi vertido em moldes de Teflon[®], cilindros de 6 mm de diâmetro por 12 mm de altura, e levados a um ambiente com 100% de umidade durante 1h e, em seguida, deixados para secar ao ar sendo, então, retirados dos moldes.

Foi preparado o Fluido Corpóreo Simulado de acordo com Kokubo ⁽⁹⁾. Os corpos de prova foram separados em grupos e em seguida submetidos a imersão em fluido corpóreo simulado por três diferentes tempos: sem imersão, 24 horas e 7 dias de imersão. Para cada tempo de imersão, foram feitas análises de difração de raios-X, fluorescência de raios-X, resistência à compressão axial e microscopia eletrônica de varredura.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Reagentes

Os reagentes obtidos, tanto a monetita quanto o carbonato de cálcio, em laboratório são puros e difratometricamente correspondentes aos padrões, tanto na intensidade dos picos, bem como nas suas posições angulares. Os

difratogramas dos reagentes obtidos e os padrões utilizados para verificação encontram-se na Figura 1:



Figura 1: Difratograma da Monetita e do Carbonato de Cálcio obtidos em laboratório, respectivamente.

As fluorescências de raios-X confirmam a eficiência do método empregado para a diminuição dos teores de magnésio nos reagentes, através da analise da quantidade dos elementos presentes na composição. O magnésio foi completamente eliminado da monetita e reduzido drasticamente quase a zero no carbonato de cálcio (0,0191 em porcentagem de massa).

<u>α-TCP</u>

O α -TCP obtido, através de reação no estado sólido, apresenta uma pequena quantidade de β -TCP como impureza, como podemos ver na Figura 2:



Figura 2: Difratograma do α-TCP.

Possivelmente, o Magnésio encontrado como impureza no Carbonato de Cálcio, mesmo que numa quantidade ínfima atuou como agente estabilizador da fase de β -TCP. A Fluorescência de Raios-X mostra que o α -TCP obtido e composto majoritariamente (97,4948% em porcentagem de massa) por Ca, P e O, como esperado, apresentando alguns outros elementos como impureza, provavelmente provenientes dos reagentes precursores dos reagentes utilizados na obtenção do CC ou da DCPA.

Após a moagem do material, a sedimentometria do α-TCP obtido apresentou tamanho médio de partícula de 7,72µm (50,55%), com sua distribuição prioritariamente entre 1,06µm e 19,31µm (9,98% e 88,92%), valores estes próximos aos reportados na literatura.

<u>Cimento Ósseo de α-TCP: DRX e MEV</u>

A relação liquido/pó obtida para a obtenção do cimento foi de 0,6mL/g, acima da reportada em literatura ⁽⁸⁾ provavelmente devido a distribuição granulométrica do pó de α -TCP obtido.

Após a mistura do α-TCP com a solução aquosa espera-se que haja inicio a reação de transformação de α-TCP em Hidroxiapatita Deficiente em Cálcio (CDHA), de acordo com a reação (D):

$$3 \operatorname{Ca}_3(PO_4)_2 + H_2O \rightarrow \operatorname{Ca}_9(HPO_4)(PO_4)_5(OH)$$
(D)

Pela DRX, observa-se que teve início a reação esperada. Os picos de α-TCP estão mais presentes, evidenciando a grande quantidade de α-TCP sem reagir antes da imersão em FCS. Através do MEV, Figura 3, percebe-se que a precipitação de placas de CDHA já se iniciou, comprovando o resultado da DRX. Na DRX, percebe-se a presença majoritariamente de alfa e menor presença de CDHA, já no MEV não nota-se a presença dos grãos de alfa, provavelmente porque a reação se dá pela dissolução do alfa e precipitação de CDHA na superfície do grão, e a superfície de fratura evidencie a estrutura de CDHA.



Figura 3: Difratograma e MEV do α-TCP sem imersão em FCS, respectivamente.

Para 24h de imersão, pela DRX , observa-se que a transformação de α -TCP em CDHA evoluiu, pois os picos de CDHA estão mais evidentes. Comprova-se a evolução dessa reação através do MEV da superfície de fratura do corpo de prova, onde as placas de CDHA estão maiores, Figura 4. A estrutura de α -TCP presente é bem menor em quantidade e nota-se a presença de placas de CDHA.



Figura 4: Difratograma e MEV do α -TCP com 24h de imersão em FCS, respectivamente.

Após 7 dias de imersão em SBF, a conversão de α -TCP em CDHA esta completa. Não nota-se mais a presença de picos de α -TCP, apenas de CDHA. Percebe-se que as placas de CDHA estão maiores e mais definidas, além de não notar-se mais a presença da estrutura de α -TCP não reagido, conforme .



Figura 5: Difratograma e MEV do α-TCP com 7 dias de imersão em FCS, respectivamente.

<u>Cimento Ósseo de α-TCP: Resistência Mecânica</u>

As análises das microscopias eletrônicas de varredura e dos difratogramas de raios-X acima confirmam os resultados obtidos para a resistência mecânica: a resistência mecânica à compressão aumenta com o tempo de imersão em FCS. Este aumento da resistência explica-se pelo fato de que quando em imersão em FCS, a reação de pega do cimento tem continuidade, aumentando a formação e a precipitação de placas de CDHA, que são responsáveis pelo aumento da resistência mecânica no cimento. Os dados da resistência mecânica encontram-se na Tabela 1:

Amostra	Resistência à Compressão Axial (MPa)	Desvio Padrão (MPa)
0h FCS	5.610	0.936
24h FCS	14.750	2.560
7D FCS	20.285	2.978

Tabela 1: Resistência Mecânica x Tempo de Imersão em FCS.

Assim como na literatura, os valores de resistência mecânica à compressão aumentam com a imersão em FCS, porém os valores encontrados são inferiores aos reportados na literatura ⁽⁸⁾. São vários os possíveis fatores, como a relação líquido/pó, homogeneidade do tamanho de partícula, porosidade e menor reatividade do pó obtido. A relação líquido/pó utilizada por esses autores é menor do que a utilizada neste projeto, o que pode aumentar a

resistência mecânica do mesmo. O tamanho de partícula teve uma distribuição muito homogênea, o que pode influenciar na reação de transformação do α-TCP para a CDHA. A porosidade, não controlada no processo de obtenção do cimento, podendo levar a núcleos de concentração de tensão e menor resistência a compressão do material. O método de obtenção dos reagentes utilizados pode resultar em um TCP não muito reativo quanto o utilizado pelos outros autores. São diversos os parâmetros que podem ter levado a menores valores de resistência mecânica. Mas ainda assim, os valores encontrados são satisfatórios.

Na Figura 6, encontra-se a distribuição feita pelo teste estatístico Oneway ANOVA com os 10 corpos de prova para os 3 diferentes tempos de imersão.



Figura 6: Boxplot da Compressão Axial x Tempo de Imersão em FCS.

O teste estatístico realizado afirma que as amostras são estatisticamente diferentes (p=0,00) e comprovam que a imersão em FCS faz com que a resistência à compressão axial realmente aumente. Fazendo uma análise estatística dos dados, verifica-se que a amostra sem imersão em FCS foi a que teve menor variabilidade nos resultados, já as amostras que foram imersas em FCS apresentaram uma variabilidade maior. Tal fato ocorre provavelmente porque a imersão em FCS proporciona a precipitação de novas fases e

dissolução de fases existentes. A microestrutura formada depende da porosidade e, conseqüentemente, de como o FCS penetra no corpo de prova. E, como já dito anteriormente, a porosidade não e um parâmetro controlado na obtenção do cimento. Mesmo que fosse aumentado o tamanho da amostragem, provavelmente não seria possível diminuir o desvio.

CONCLUSÕES

A síntese dos reagentes em laboratório foi efetiva, obtendo-se monetita livre de magnésio e carbonato de cálcio com teores de magnésio muito reduzidos. Houve a detecção de outros elementos nos reagentes, porém estes não influenciam na transformação β-TCP - α-TCP.

O α-TCP obtido apresentou uma pequena quantidade de β-TCP como impureza, demonstrando a eficiência dos reagentes sintetizados em laboratório. O cimento ósseo obtido teve seu valor de resistência mecânica à compressão axial aumentado de acordo com o aumento do tempo de imersão em Fluido Corpóreo Simulado, porém os valores encontrados foram menores que os reportados em literatura.

A transformação completa de α -TCP em CDHA deu-se apenas com a imersão por 7 dias.

REFERÊNCIAS

⁽¹⁾ LEAL, C. V. Desenvolvimento e Avaliação In Vitro de um Cimento de Fosfato de

Cálcio. Campinas: Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2006, Tese (Mestrado).

- ⁽²⁾ WILLIAMS, D.F. Definitions in biomaterials, Progress in Biomedical Engineering, v.4, 1987.
- ⁽³⁾ KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C.A.; REIS, R.; ALVES, O.L. Bioceramicas: tendências e perspectivas de uma area interdisciplinar. Quimica Nova, v. 23, 2000.
- ⁽⁴⁾ AZA, PIEDAD N.; AZA, SALVADOR. Bioceramicas. Biomateriales, 2004.

- ⁽⁵⁾ BOHNER, M. Calcium Orthophosphate in medicine: from ceramics to calcium phosphate cement. Injury, Int. J. Care Injures, v. 31, 2000.
- ⁽⁶⁾ MIRTCHI, A.; LEMAITRE, J.; MUNTING, E. Calcium phosphate cements: study of the α-TCP DCPD CC cements. Biomaterials, v.11, 1990.
- ⁽⁷⁾ DRIESSENS, F. C. M.; FERNANDEZ, E.; GINEBRA, M. P.; BOLTONG, M. G.; PLANELL, J. A. Calcium phosphates and ceramic bone cements vs. acrylic cements. Anal. Quim. Int. Ed., v. 93, 1997.
- ⁽⁸⁾ SANTOS, L. A. Desenvolvimento de Cimento de Fosfato de Cálcio Reforçado por Fibras para Uso na Área Médico-Odontológica. Campinas: Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2002, Tese (Doutorado).
- ⁽⁹⁾ KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity, Biomaterials 27 (2006), pp. 2907-2915.
- ⁽¹⁰⁾ MOTISUKE M., et.al., Engineering Materials Vols. 361-363, p.199-202, 2008.

CHARACTERIZATION α -TRICALCIUM PHOSPHATES BONE CEMENT WITH DIFFERENT TIMES OF SIMULATED BODY FLUID IMMERSION

ABSTRACT

Calcium phosphate cements have excited enough interest due to its biocompatibility and bioactivity in the repairment and substituition of bone defects, inducing the growth of bone tissue. In this work, a synthetic route to to obtain α -tricalcium phosphate with the least amount of β -tricalcium phosphate by using Mg-free reagents are tested and characterization of the bone cement had been done. Through the synthesis of Mg-free reagents in laboratory, it was verified that the reagents were obtained with low levels of magnesium, a well established β phase stabilizer, resulting on a α - tricalcium phosphate with fewer quantities of impurities. The bone cement obtained had its mechanical resistance increased by the higher length of SBF immersion's time, however the values obtained were lower than the ones reported on the literature. There was

complete transformation of α -tricalcium phosphate into calcium deficient hidroxyapatite after seven days of immersion in SBF. The characterization was satisfactory and it allows the use of this cement as an implantation material.

Key-words: bioceramics, tricalcium phosphate, calcium phosphate cement.