

BIOCERÂMICA DE APATITAS - UMA OPÇÃO PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA

Eliana Alves Arxer, Edson de Almeida Filho, Antonio Carlos Guastaldi
Instituto de Química Unesp de Araraquara
liarxer@iq.unesp.br

RESUMO

As biocerâmicas de fosfato de cálcio, denominadas apatitas, são amplamente utilizadas como material para substituição e regeneração óssea, devido a sua similaridade com os componentes minerais de ossos e dentes. As apatitas são biocompatíveis, bioativas e integram-se ao tecido vivo pelo mesmo processo ativo de remodelamento ósseo fisiológico. Estas biocerâmicas podem ser utilizadas em aplicações médicas, ortopédicas e odontológicas. Utilizou-se método de via úmida para a síntese das fases em pó e o método biomimético para o recobrimento de superfície. Foi realizado estudo de solubilidade na camada depositada, apatitas, para possível aplicação como plataforma inorgânica para liberação de fármacos. As biocerâmicas obtidas foram caracterizadas por MEV, DRX, e EDS. As curvas de solubilidade das apatitas nos recobrimentos mostraram que a fase OCP teve um maior índice de liberação a curto prazo (4 dias) enquanto que a fase HA apresentou uma liberação progressiva durante todo o experimento (16 dias).

Palavras-chave: biomateriais, biocerâmicas, apatitas, fosfatos-de-cálcio, congresso

INTRODUÇÃO

O aumento da longevidade é uma conquista, contudo, quanto mais tempo se vive, maior a possibilidade do desenvolvimento de doenças degenerativas consideradas crônicas, tais como a Osteoporose e a Osteopenia. Novas descobertas de biomateriais tendem a reverter este processo através da regeneração óssea, como é o caso dos estudos relacionados às apatitas (Biocerâmicas de Fosfatos de Cálcio) e sua intrínseca relação com a regeneração do tecido ósseo. Para tanto há a necessidade de novos estudos relacionados aos biomateriais, e as interações biológicas destes com o organismo.

Podemos definir biomaterial como um material que quando inserido ou

colocado em contato com o sistema biológico, tende a favorecer o hospedeiro, sem causar efeitos colaterais [Williams, 1987], [Buddy, 2004]. Para que um material seja aceito e aplicado como biomaterial, deve ser submetido a uma série de ensaios para dispositivos médicos que exige o cumprimento de várias normas relacionadas com o caráter não tóxico, não carcinogênico, e não gerador de efeitos colaterais no organismo. Estas normas norteiam o desenvolvimento de testes de dispositivos para aplicação médica, a norma mais conhecida e amplamente utilizada é a ISO 10.993 - Biological evaluation of medical devices - sendo esta a principal norma que é seguida para a avaliação e testes dos dispositivos para aplicação médica, de natureza genotóxica, carcinogênica, de toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento.

A resposta do meio biológico aos biomateriais bioativos é o estabelecimento de uma ligação química interfacial entre o implante e o tecido vivo, sem a interposição de tecido fibroso, denominada Fixação Bioativa. Uma importante vantagem da fixação bioativa é que a ligação do implante com o tecido ósseo pode alcançar uma resistência igual ou superior a existente no próprio osso, num intervalo de 3 a 6 meses.

As biocerâmicas de apatitas tem sido estudadas devido as propriedades inerentes ao biomaterial e a estreita relação com os ossos, a composição baseada fosfatos de cálcio. Os fosfatos de cálcio possuem propriedades físico-químicas semelhantes aos ossos e dentes, sendo a composição de menor índice de rejeição dentro do organismo possibilitando uma boa osseointegração. Além disso, ao serem reabsorvidos induz a regeneração óssea na substituição, o que é de interesse biomédico.

Recobrimento biomimético:

Este método consiste em colocar o substrato a ser recoberto em uma solução sintética (SBF - Simulated Body Fluid) de composição iônica semelhante à do plasma sanguíneo [Abe, 1990], [Aparecida, 2006], [Almeida Filho, 2007]. Abe e colaboradores propuseram o seguinte mecanismo de recobrimento **Fig. 1**.

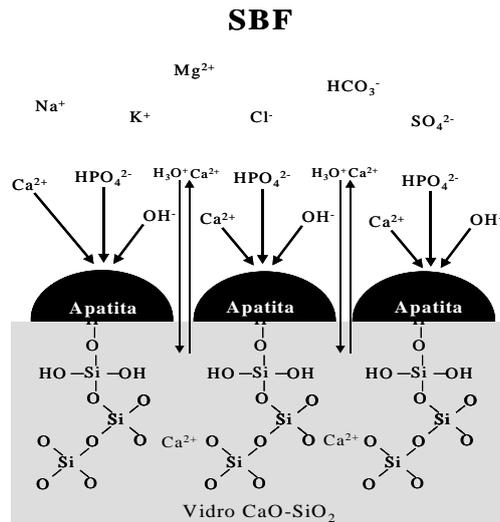


Fig. 1: Mecanismo da formação de apatita sobre superfícies de vidros a base de CaO-SiO₂ e vitro-cerâmicas. **Fonte:** Abe, 1990

Fosfatos de Cálcio

Uma forma conveniente de classificar os fosfatos de cálcio é através da razão molar entre os átomos de cálcio e fósforo – Ca/P, a qual varia de 0,5 a 2,0, a **tabela 1** mostra as fases de interesse para este trabalho

Tabela 1. Relação Ca/P das fases de apatita de interesse.

Fosfato de Cálcio	Fórmula Química	Ca/P
Hidroxiapatita (HA)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	1,67
Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	Ca ₃ (PO ₄) ₂ · nH ₂ O	1,5
Fosfato octacálcico (OCP)	Ca ₈ H ₂ (PO ₄) ₆ ·5H ₂ O	1,33

Fonte: AOKI, H, 1991.

Os fosfatos de cálcio podem ser sintetizados por precipitação a partir de soluções contendo íons Ca²⁺ e PO₄³⁻, sob condições alcalinas ou ácidas.

Biocerâmicas de interesse:

Hidroxiapatita

A hidroxiapatita **Fig. 2** representa 5% do peso total de um indivíduo adulto. Apresenta fórmula química $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ e razão molar Ca/P 1,67, e é responsável por fornecer estabilidade estrutural ao corpo, protegendo órgãos vitais como pulmões e coração, funcionando como um depósito regulador de íons. Por muito tempo acreditou-se que a hidroxiapatita era a melhor fase para utilização em seres vivos, mas estudos atuais indicam que dependendo da aplicação outras podem ser melhores ainda, como a OCP e a TCP.

A equação (A) descreve reação de formação de hidroxiapatita:

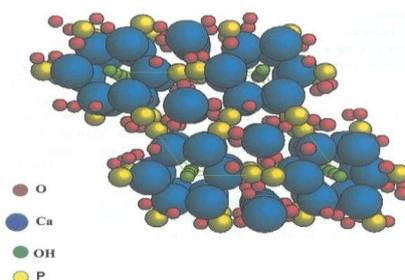
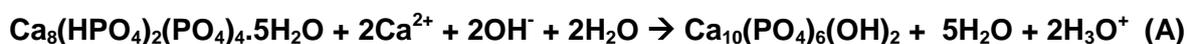
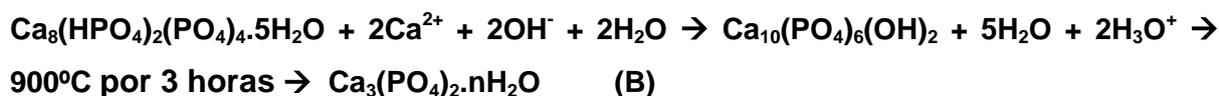


Fig. 2: Estrutura cristalina da HA.

Fonte: Aoki 1991.

O ACP ou fosfato de Cálcio Amorfo

O ACP **Fig. 3** corresponde composicionalmente a hidroxiapatita deficiente em cálcio – (Had, sendo a composição $\text{Ca}_9\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot n\text{H}_2\text{O}$). A fórmula estrutura do ACP é dada por $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, com $n=3$ a $4,5$. A morfologia é flocular de grãos esféricos. Existem ocorrências do ACP em Cálculo dentário e urinário. A razão Ca/P é 1,5 (Aparecida, A. H. 2006). A equação (B) descreve reação de formação de ACP:



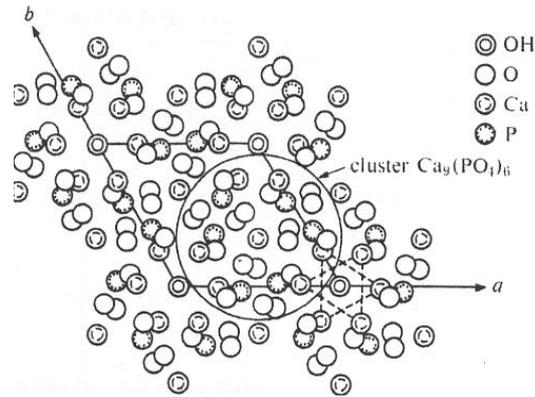


Fig. 3: Estrutura e distribuição de clusters da ACP.

Fonte: Kanazawa, 1989.

O OCP ou Fosfato octacálcico

O OCP **Fig. 4** apresenta fórmula $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, embora a quantidade de água seja variável. O OCP é uma fase termodinamicamente metaestável e se transforma espontaneamente em HA, mantendo a morfologia e o parâmetro da estrutura cristalina original, a razão Ca/P é 1,33.

Deduz-se que ocorre a presença de OCP durante a mineralização na formação do esmalte dentário. A equação (C) descreve reação de formação de OCP:

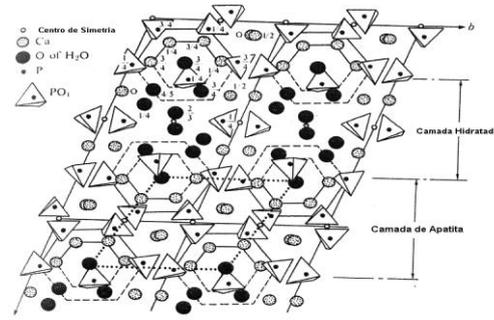
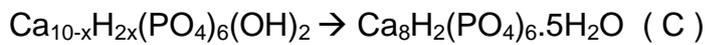


Fig. 4: Estrutura cristalina do OCP.

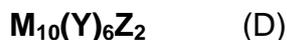
Fonte: Kanazawa, 1989.

Ordem espontânea de formação das fases em (E):



As biocerâmicas de fosfato de cálcio apresentam propriedades desejáveis para o estudo e aplicação em regeneração óssea.

A fórmula geral para as apatitas é descrito em (D):



Legenda:

M - Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} ou Mg^{2+}

Y - PO_4^{3-} , AsO_4^{3-} , VO_4^{3-} , CrO_4^{3-} ou MnO_4^{3-} .

Z - OH^- , F^- , Br^- ou Cl^-

Materiais e métodos - Obtenção das fases de apatita:

As sínteses das apatitas (ACP, HA e OCP) foram efetuadas a partir do método de via úmida pelo fato de ser simples, de baixo custo e produtos de maior grau de pureza. Ca/P de 1,5 para ACP; 1,67 para HA; 1,33 na razão molar para o OCP

Método via úmida para síntese de ACP

Através da precipitação de solução de hidróxido de cálcio 2M e ácido fosfórico 2M sob agitação em temperatura controlada em recipiente fechado até a secagem. O produto obtido, após 24 horas em estufa a 60°C é a HA.

Hidroxiapatita

Para a HA foi feito o mesmo procedimento e posteriormente empregando-se o tratamento térmico a 900°C por 1 hora após a obtenção da ACP, com taxa de aquecimento e resfriamento de 5°C/min. Temperatura, pH, velocidade de agitação e de adição de ácido fosfórico e tratamento térmico foram os parâmetros controlados para a obtenção de cada fase de apatita.

Octacálcico de Cálcio, OCP

Através da precipitação de solução de hidróxido de cálcio 0,4 mol/L e ácido fosfórico 0,3 mol/L, submetidos a aquecimento de 60°C com pH controlado (inicial 12,0 e posteriormente reduzido a 4,0 com adição de HNO_3 1 mol/L) sob agitação por 6 horas. Após repouso de 24h o produto foi filtrado a vácuo e deixado em estufa a 40° C por 24h.

Recobrimento biomimético

Amostras de titânio foram irradiadas a laser e posteriormente, foram colocadas em solução de SBF. Após 7 dias a 36,5°C formou-se sobre o substrato uma camada contínua e homogênea de 1µm de espessura composta por cristaltos de HA biológica muito finos e de aparência fibrosa. Através da re-imersão durante 7 dias em uma solução 1,5 vezes mais concentrada do que a primeira obteve-se um aumento na espessura da camada de até 15 µm.

Resultados e Discussão

Caracterização das apatitas:

Os fosfatos de cálcio foram caracterizados por MEV, DRX e EDS.

As **Fig. 5, 6 e 7** mostram o MEV das fases em pó e os respectivos DRX.

MEV - Caracterização da fase ACP

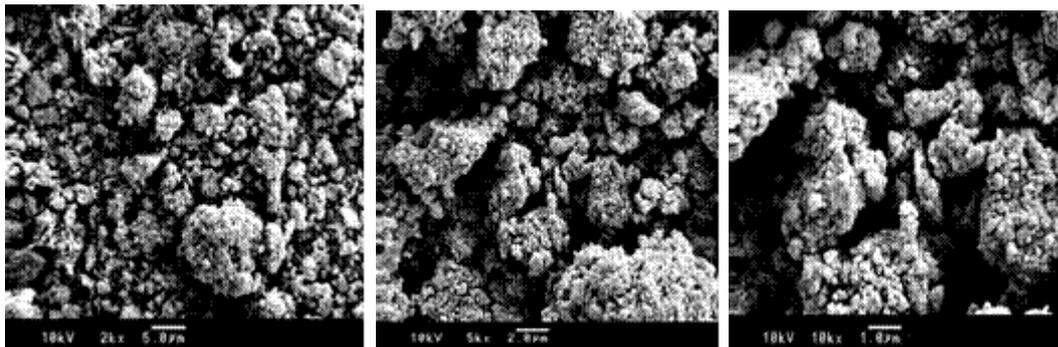
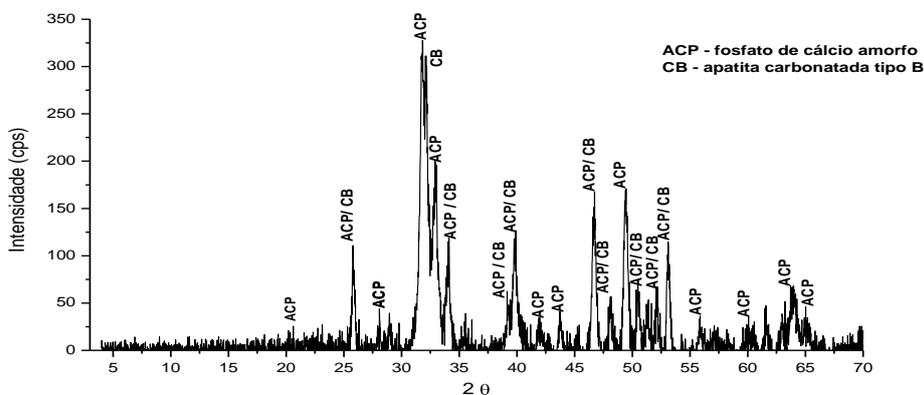


Fig. 5: (a) 2.000x

(b) 5.000x

(c) 10.000x



(d) Gráfico DRX ACP

Caracterização da fase Hidroxiapatita – HA.

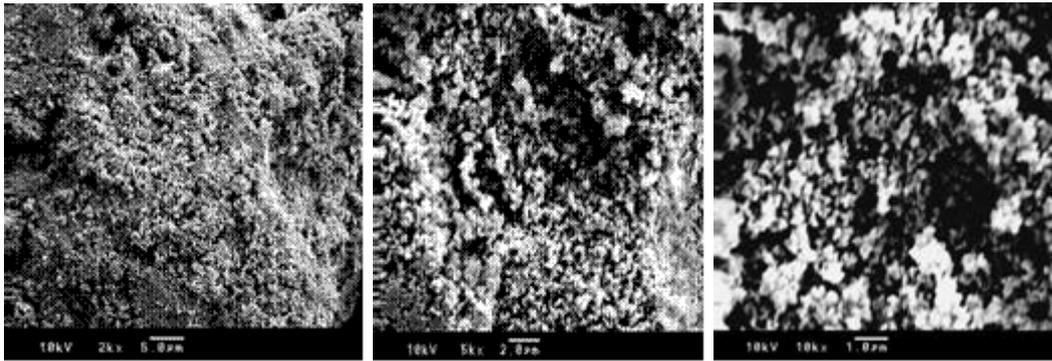
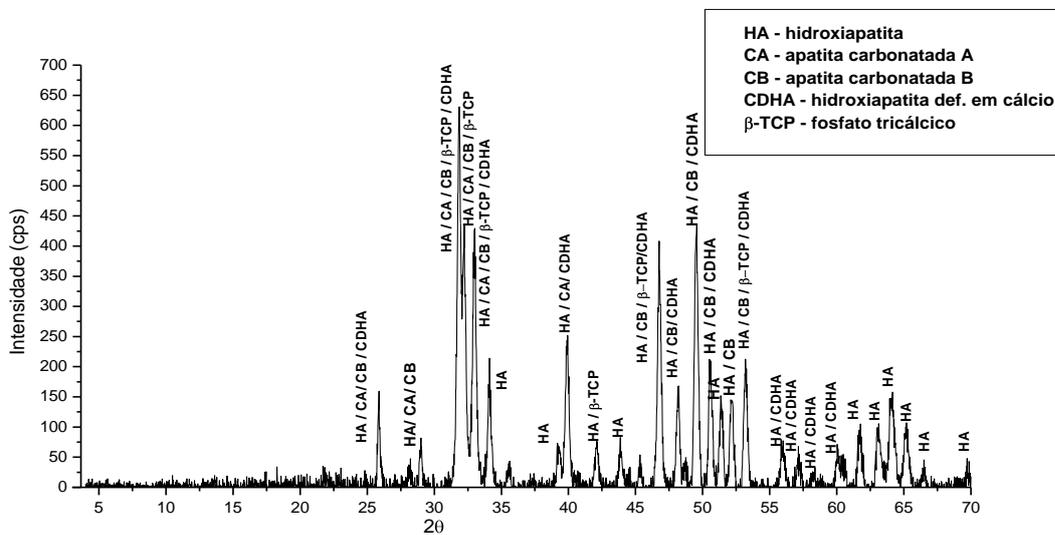


Fig. 6: (a) 2.000x (b) 5.000x (c) 10.000x



(d) Gráfico DRX HA

Caracterização da fase OCP

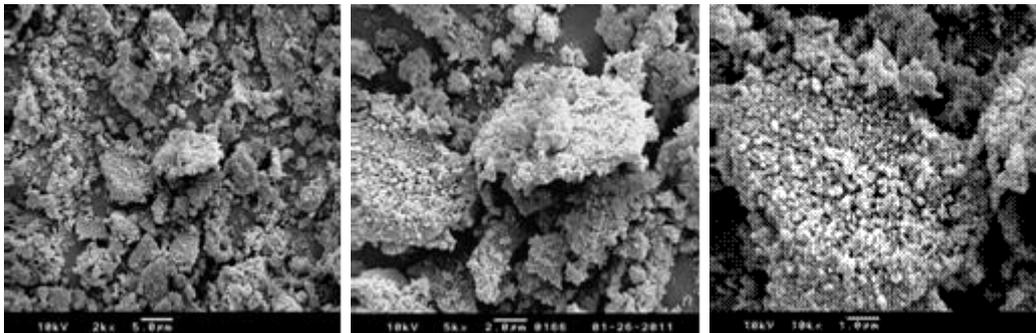
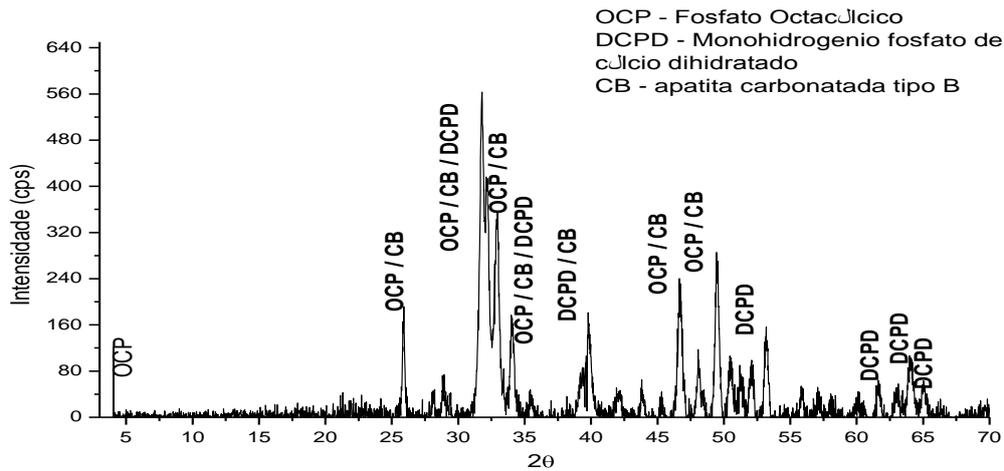


Fig. 7: (a) 2.000x (b) 5.000x (c) 10.000x



(d) Gráfico DRX OCP

Para o Recobrimento biomimético:

A Fig. 8(a), (b), (c), (d), (e) e (f) apresenta as micrografias das amostras de titânio, após tratamento a laser e os seus respectivos EDS referentes às amostras recobertas com apatitas pelo método biomimético.

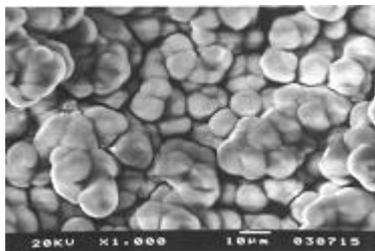
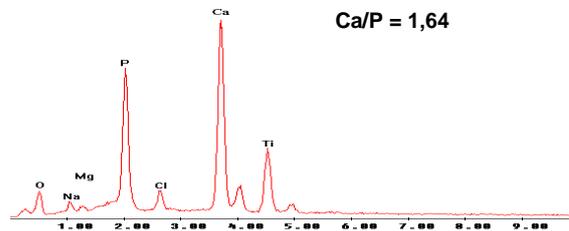
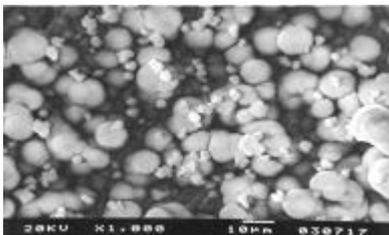


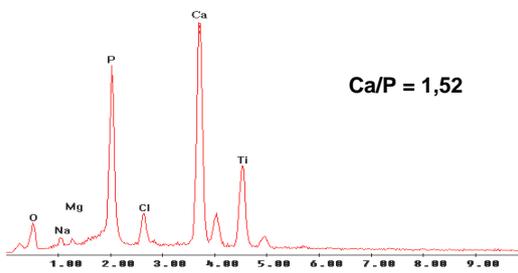
Fig. 8 (a) MEV HA



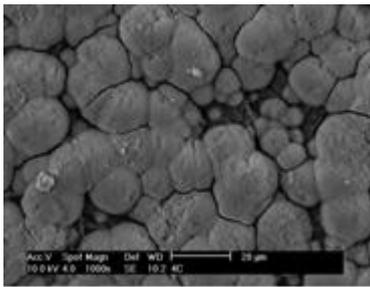
(b) EDS HA



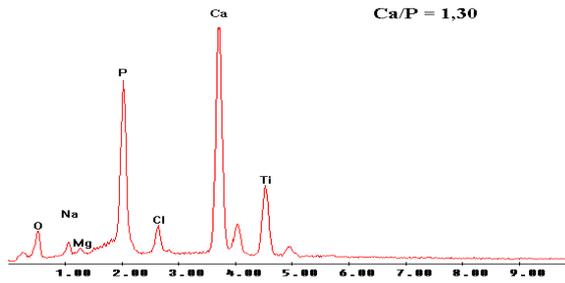
(c) MEV ACP



(d) EDS ACP



(e) MEV OCP



(f) EDS OCP

Curvas de solubilidade para o recobrimento:

A **fig. 9** (a), (b) e (c) apresenta as curvas de solubilidade para os recobrimentos pelas fases de interesse.

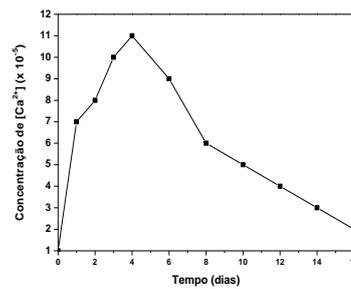
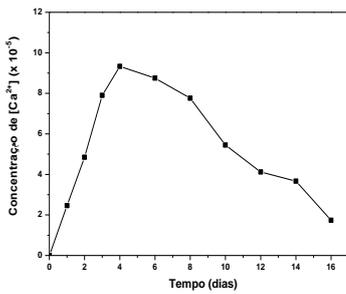
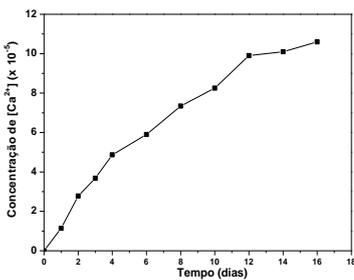


Fig. 9 (a) Curva de solubilidade de ACP

(b) Curva de solubilidade de OCP



(c) Curva de solubilidade de HA

Os teste de solubilidade foram realizados em água destilada sob o pH = 7,35 e a 37,5°C para as amostras, ao longo de 16 dias no Instituto de Química e Faculdade de Farmácia da Unesp de Araraquara.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a forma de síntese por via úmida e o recobrimento biomimético são adequados para obtenção das fases de interesse dos fosfatos de cálcio; a ACP a OCP e a HA. As curvas de solubilidade, das apatitas nos recobrimentos, demonstraram que até o quarto dia (curto prazo) a OCP é a fase mais solúvel, já ao fim do procedimento de dezesseis dias, a HA demonstrou um aumento progressivo da solubilidade. Os resultados poderão ser utilizados em um gama de aplicações.

Referências

Abe, Y. et al. Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilising a biological process. **J. Mater. Sci.: Mat. Med.**, n.1, p.536-540, 1990 .

AOKI, H. **Science and medical applications of hydroxyapatite**. Tokio: JAAS, 1991 230 p.

APARECIDA, A. H. Recobrimento de Apatitas empregando-se o método biomimético: estudo da influência dos íons K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} e HCO_3^{2-} na formação de hidroxiapatita. **Dissertação de Mestrado**, IQ, Unesp, Araraquara, 2006. T-972.

APARECIDA, A. H. Estudo da influência dos íons K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} e CO_3^{2-} na cristalização biomimética de fosfato de cálcio amorfo (ACP) e conversão a fosfato octacálcico (OCP), **Quím. Nova**, Vol. 30, No. 4, 892-896, 2007.

APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Quím. Nova**, Vol 33 No. 6, 1352-1358, 2010.

BUDDY, D. R., **Biomaterials Science: An Introduction to materials in Medicine**, 2004.

ALMEIDA FILHO, E., ET AL Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-cp modificada por aspensão térmica. **Quím. Nova** Vol 30, 1229-1232, 2007.

KANAZAWA, T. **Inorganic phosphate materials**. Tokio: Elsevier, 1989. 289 p.

WILLIAMS, D. F. **Definitions in biomaterials**: proceeding of a consensus conference of the european society for biomaterials, Chester. Progress in biomedical engineering. Amsterdam: Elsevier, 1987.

BIOCERAMICS OF APATITES - AN OPTION FOR BONE REGENERATION

ABSTRACT

The bioceramics of calcium phosphate called apatite, are widely used as material for bone replacement and regeneration, due to its similarity to the mineral component of bones and teeth. The apatites are biocompatible, bioactive and integrate with living tissue by the same active process of physiological bone remodeling. These bioceramics may be used in medical, dental and orthopedic applications. In this research, it was used the wet method for the synthesis of the powder and biomimetic method for coating the surface. The Solubility study was performed in the layer deposited, apatite, for possible application as a platform for inorganic drug delivery. The bioceramics were characterized by MEV, DRX, and EDS. The curves of solubility of apatite in coatings showed that the OCP phase had a higher rate of release in the short term (4 days) while the HA phase showed a gradual release throughout the experiment (16 days).

Key-words: biomaterials, bioceramics, apatite, calcium phosphate, congress.