

BIOVIDRO OSTEOCONDUTOR SINTETIZADO PELO PROCESSO SOL-GEL

R. V. Pereira¹; Á. Aragonés²; G. O. M. Barra³; G. V. Salmoria⁴; M. C. Fredel⁵

1 – CERMAT, Departamento de Engenharia Mecânica, UFSC

2 – Departamento de Odontologia, UFSC

3 – PoliCom, Departamento de Engenharia Mecânica, UFSC

4 – Cimject, Departamento de Engenharia Mecânica, UFSC

5 – CERMAT, Departamento de Engenharia Mecânica, UFSC

1 – Departamento de Engenharia Mecânica, Bloco B EMC – CTC, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Reitor João Ferreira Lima, Trindade, 88040-970, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. rafaelavpereira@gmail.com

A presença de biovidros em arcabouços tem sido estudada visto que estes contribuem para a osteocondução. Estes arcabouços são desenvolvidos com o intuito de induzir o reparo e a regeneração de tecidos ósseos. Para produzir estes arcabouços, o biovidro absorvível 58S, do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$, foi sintetizado pelo processo sol-gel, sendo estabelecido para o estudo por apresentar íons (cálcio e fósforo) que auxiliam na formação de uma camada de apatita carbonatada ao serem liberados. Tal camada está envolvida na regeneração e no metabolismo do osso apresentando um papel importante no crescimento e na mineralização do mesmo. Para caracterizar o biovidro sintetizado, FTIR foi utilizado para análise de sua composição química, DRX para analisar sua estrutura cristalina, teste de solubilidade para observar sua variação de massa e MEV para observar a morfologia das partículas. Os resultados obtidos comprovaram a produção de um biovidro com a composição desejada para fabricação de arcabouços osteocondutores.

Palavras-chave: biovidro, sol-gel, apatita, osteocondutor.

INTRODUÇÃO

Para que possam ser obtidas melhoras que propiciem mais qualidade de vida para os seres humanos, a ciência de materiais é combinada com a medicina e com a biologia através de técnicas de reconstrução ou substituição de tecidos ou órgãos lesionados, como por exemplo, através de implantes ósseos e arcabouços. ⁽¹⁾

Um grupo de materiais que vem sendo estudado para a função de arcabouços é o dos vidros bioativos (BG) e biodegradáveis, os quais promovem a osteocondução, auxiliando na regeneração dos ossos. Essa regeneração ocorre pela liberação de íons de cálcio e fósforo presentes na composição dos vidros bioativos, os quais estão envolvidos no metabolismo ósseo e desempenham importante papel na angiogênese, no crescimento e na mineralização do tecido ósseo.⁽²⁾

No presente caso foi estudado o vidro bioativo 58S, cuja composição química é 60%SiO₂, 36%CaO, 4%P₂O₅ (% em mol) e 58%SiO₂, 33%CaO, 9%P₂O₅ (% em massa),^(2; 3; 4) e analisadas suas características para que o mesmo seja utilizado como partícula dispersa em uma matriz polimérica. Este vidro bioativo foi sintetizado pelo processo denominado sol-gel, onde inicialmente são utilizados reagentes que formam o sol, partículas coloidais (diâmetro de 1 – 100 nm) dispersas em um líquido e, em seguida, forma-se o gel, rede rígida e interconectada com porosidade submicrométrica e cadeias poliméricas cujo comprimento médio é superior a 1 µm.^(5; 6)

Os materiais produzidos via sol-gel além de apresentarem alta bioatividade, até mesmo para 90% em mol de concentração de sílica, apresentam maior velocidade de formação de HCA (hidroxiapatita carbonatada) em relação aos biovidros produzidos pela fundição convencional. Esta velocidade mais elevada se deve à maior liberação de sílica solúvel promovendo a nucleação de cristais de apatita nos poros do material vítreo.^(5; 7; 8)

O BG 58S apresenta significativa degradação com correspondente liberação de sílica solúvel e, além disso, estudos mostram que tratamentos realizados com os produtos da dissolução iônica deste BG promovem a ativação celular por meio da simulação de proliferação de osteoblastos.^(2; 3; 4)

Por apresentar tais características e bioatividade, o estudo do BG 58S foi o objetivo deste trabalho, sendo sintetizado e caracterizado para futura aplicação em trabalhos relacionados, atuando como partícula osteocondutora dispersa em matriz polimérica, produzindo arcabouços compósitos osteocondutores.

MATERIAIS

Para o processamento do biovidro 58S foi utilizado Tetraetilortosilicato (TEOS) (Sigma Aldrich, grau reagente 98%, 131903-1litro, lote STBB8489V), a partir do qual

é obtida a sílica. Trietil fosfato (TEP) (Sigma Aldrich, 99,8%, 538728-1litro, lote MKBC5090), a partir do qual é obtido o fosfato presente nos biovidros, sendo este fosfato influente na biodegradação dos BGs. Nitrato de cálcio tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) (Vetec, cod. 000663.08, lote 1006753), deste são obtidos os íons de cálcio que, junto com os íons de fósforo, favorecem a formação da camada de tecido na superfície do material. Ácido nítrico (HNO_3) (Vetec, 68%, cód. 000451.06, lote:0903829), utilizado para controlar o pH da solução. Álcool etílico (Synth, P.A.-A.C.S., lote A1084.01.BJ), utilizado como solvente da solução.

Para o ensaio de variação de massa das amostras de BG58S foi utilizado SBF (simulated body fluid) produzido em laboratório. Para preparar 1l de SBF, os reagentes foram adicionados em 960 ml de água destilada com as seguintes quantidades e ordem: 6,5456 g NaCl, 2,2682 g NaHCO_3 , 0,373 KCl, 0,1419 Na_2HPO_4 , (a solução é aquecida a 36,5-37°C) 0,3049 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10 mL 1M-HCl, 0,3675 g CaCl_2 , 0,071 g Na_2SO_4 , 6,057 g Tris [$\text{CNH}_2(\text{CH}_2\text{OH})_3$]. Após a completa dissolução o pH foi ajustado para 7,4 por meio da adição de 30 ml de 1M HCl. ^(9; 10)

MÉTODOS

Síntese pelo processo sol-gel

O vidro bioativo 58S foi sintetizado pelo processo sol-gel como descrito a seguir. Primeiramente foram adicionados TEOS, TEP, ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), etanol e HNO_3 em um erlenmeyer, estando os mesmos sob agitação e temperatura constante de 50°C. A solução pronta foi colocada em estufa (Estufa esterilização e secagem, Nova Ética, 402/D) a 70°C por 24h para promover a secagem e geleificação do material. Posteriormente foi realizado o tratamento térmico do material em forno tipo mufla a 600°C. O material tratado foi submetido à moagem em moinho excêntrico (BP Engenharia, CB2-T), obtendo partículas com tamanho menor que 106µm.

Com este material na forma de pó foram realizados os ensaios de Infra Vermelho (IV) (Espectrofotômetro Bruker, Tensor 27), difração de raio-X (DRX) (Difratômetro vertical, Philips, PW1150) e produzidas pastilhas para o teste de variação de massa.

Preparação de amostras para teste de variação de massa

Ao ser implantado no corpo humano, o material apresenta reações como a formação de camadas de apatita carbonatada em sua superfície. Este fato provoca variação de massa no mesmo. Para observar esta variação no BG 58S foram produzidas pastilhas de BG compactado. Estas pastilhas foram compactadas com BG puro, sem aditivos, em uma prensa uniaxial com pressão inicial de compactação de 65 MPa durante 1 minuto e, em seguida, pressão de 170 MPa, também durante 1 minuto. A matriz utilizada foi uma matriz cilíndrica de diâmetro igual a 10 mm, sendo compactadas amostras com altura de 2,40 mm ($\pm 0,06$).⁽¹¹⁾

Cada pastilha teve sua massa medida e foi colocada em um tubo Falcon contendo 40 ml de SBF.⁽¹¹⁾ Estes tubos foram colocados em banho-maria (Banho maria com agitação, Nova Ética, 500/D) a 37°C, para simular a temperatura do corpo humano. O pH da solução de cada tubo foi medido após 5h de imersão das amostras. Um grupo de amostras foi retirado do banho após 1 dia, sendo medido o pH da solução de SBF do tubo e a massa das amostras úmidas. Estas foram secas em estufa a 35°C por 48h e suas massas foram novamente medidas. Este processo foi repetido para outros grupos de amostras retirados do banho após 5, 15 e 30 dias de imersão.

Com os valores obtidos foi calculada a variação de massa das amostras, como descrito na equação (A).^(12; 13)

$$Vm = \frac{(M_S - M_0)}{M_0} \times 100 \quad (A)$$

Vm refere-se à variação de massa da amostra, M_S refere-se à massa da amostra seca e M_0 à massa inicial.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O espectro de IV obtido para o BG 58S é apresentado na Figura 1. Neste pode-se observar picos. O pico de 465 cm^{-1} refere-se às ligações Si-O. O pico de 1045 cm^{-1} refere-se às ligações de Si-O-Si e é indicativo de resíduos de fosfato. Os picos de 1395 e 1647 cm^{-1} , apresentam ligações referentes à presença de C e O. O pico de 3410 cm^{-1} refere-se à ligação OH.^(4; 14)

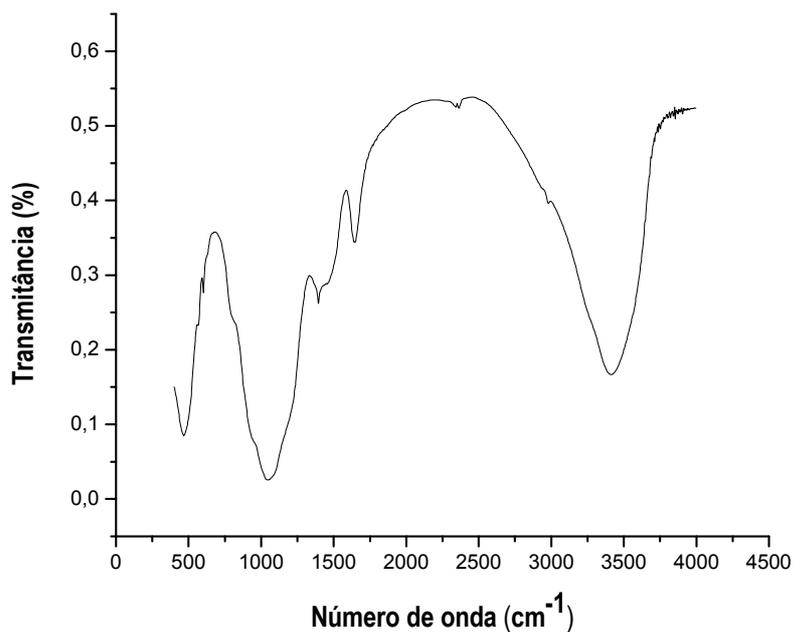


Figura 1: Espectro de IV do BG 58S sintetizado.

A Figura 2 apresenta o espectro de DRX do BG 58S, onde é observada a região amorfa do material e o pico indicando a presença de fase cristalina correspondente à wollastonita (CaSiO_3). Esta fase apresenta grande influência na bioatividade do material, auxiliando na formação da camada de apatita carbonatada, responsável pela ligação com o tecido ósseo. ^(3; 15)

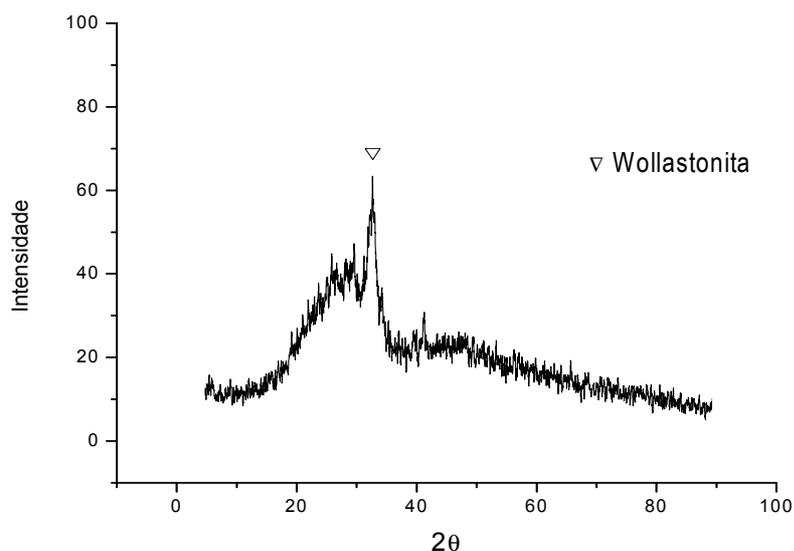


Figura 2: DRX do BG 58S sintetizado.

Na Figura 3 e na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** são apresentados os resultados referentes ao ensaio de variação de massa das pastilhas de BG 58S.

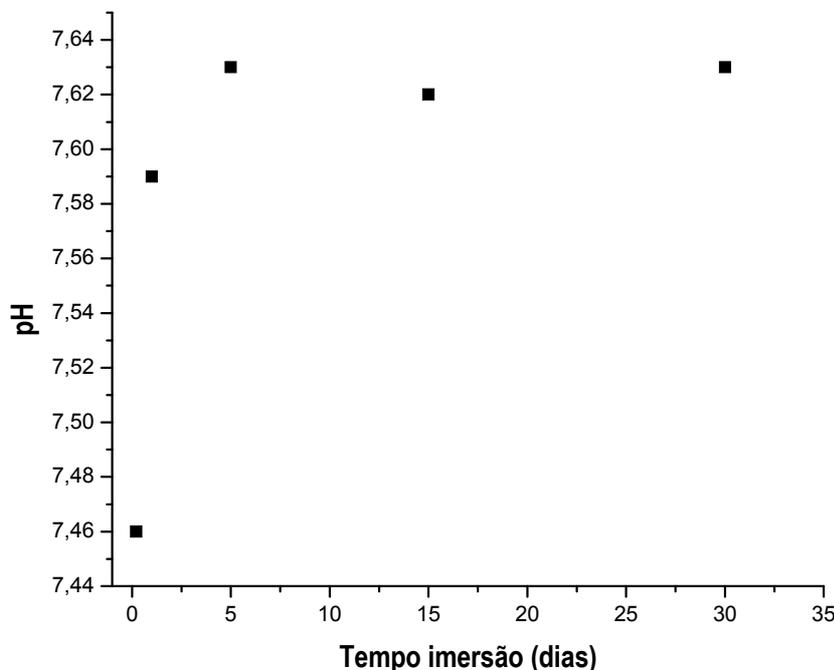


Figura 3: Gráfico do comportamento do pH em relação ao tempo de imersão das amostras.

Na Figura 3 é apresentado o comportamento do pH da solução de SBF em relação ao tempo de imersão das amostras, no qual pode-se observar o aumento do pH da solução ao longo do tempo de imersão das mesmas. Isto se deve à troca iônica do material com a solução. Quando as amostras são imersas em SBF, cátions do material são substituídos por íons H^+ da solução para formação da camada de grupos silanóis (Si-OH) na superfície do material. Com a retirada de íons H^+ do meio, ocorre o aumento do pH. ^(5; 7)

Na Figura 4 pode-se observar o aumento de massa do material após o tempo de imersão do mesmo em SBF.

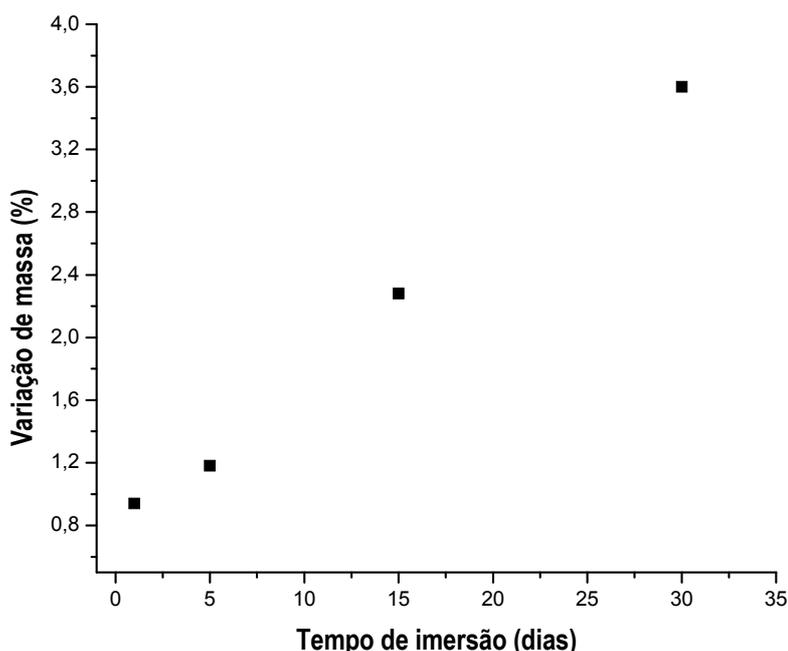


Figura 4: Variação de massa das amostras de BG 58S sintetizado.

Como já mencionado, quando o material é imerso em SBF, ocorre intensa troca iônica do mesmo com o meio, sendo íons de H^+ incorporados pelo material. Devido a esta intensa troca iônica, ocorre a quebra de ligações Si-O-Si do material, liberando sílica solúvel no meio. Os grupos silanóis da superfície do material sofrem policondensação formando uma camada rica em SiO_2 . Em seguida, ocorre migração de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} para superfície do material formando um filme amorfo rico em $CaO-P_2O_5$ na superfície da camada rica em SiO_2 . Este filme amorfo cristaliza devido à incorporação de íons OH^- e CO_3^{2-} da solução e forma uma camada de apatita carbonatada. Nesta camada ocorre a adsorção de fatores de crescimento biológico, ativando a diferenciação de células, que promovem a formação e crescimento do tecido ósseo e a consequente interação do material com o tecido. ^(5;7)

Esta nova camada cristalina formada na superfície do material, responsável pelo aumento de massa, é apresentada nas micrografias das amostras obtidas através do microscópio eletrônico de varredura (Philips, XL 30).

Estas micrografias apresentam a superfície de uma pastilha de BG sem ter sido imersa em SBF, não apresentando a camada de cristais (Figura 5); em seqüência, a superfície de pastilhas imersas em SBF por 1, 5, 15 e 30 dias. Nas pastilhas imersas por 1 e 5 dias (Figura 6 e Figura 7) é observado o início de

formação dos cristais na superfície do material. Nas pastilhas imersas por 15 e 30 dias (Figura 8 e Figura 9) pode ser vista a camada de cristais de apatita que apresenta estruturas facetadas e recobre toda a superfície da amostra.

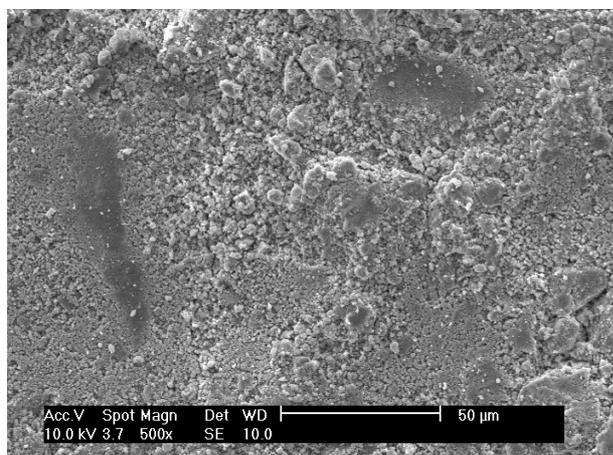


Figura 5: Micrografia de pastilha de BG sem imersão em SBF. 500x.

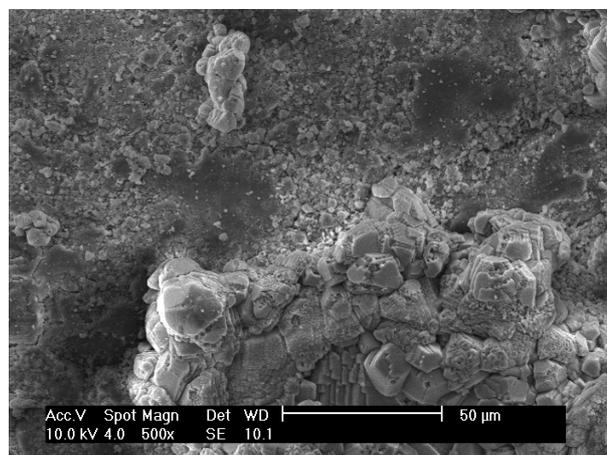


Figura 6: Micrografia de pastilha de BG após 1 dia de imersão. 500x.

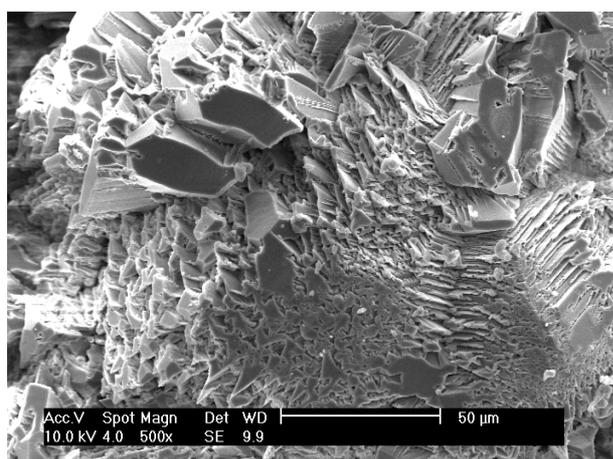


Figura 7: Micrografia de pastilha de BG após 5 dias de imersão. 500x.

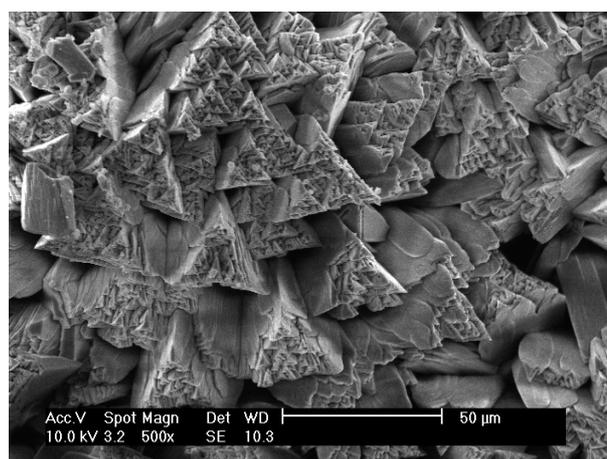


Figura 8: Micrografia de pastilha de BG após 15 dias de imersão. 500x.

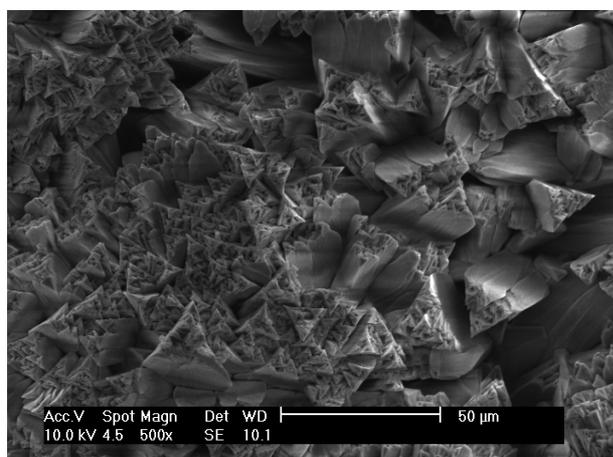


Figura 9: Micrografia de pastilha de BG após 30 dias de imersão. 500x.

Comprovando a composição química destas estruturas, são apresentados nas figuras 10, 11 e 12, os espectros da análise química realizada através da energia dispersiva de raios-X (EDS) (microscópio eletrônico de varredura, Philips, XL 30).

Na Figura 10 apresenta-se a composição química do BG sem imersão, onde pode ser observada a presença de silício, cálcio, fósforo e oxigênio (principais componentes do BG) e a presença de ouro devido ao recobrimento da amostra para a análise.

Na Figura 11 apresenta-se a composição química do BG após 15 dias de imersão em SBF, contendo maior concentração de cálcio e menor concentração de silício. Na Figura 12 apresenta-se a composição química do BG após 30 dias de imersão, contendo maior concentração de cálcio e apresentando fósforo, necessário à composição da camada de apatita. Ambos os espectros confirmam a formação da estrutura de apatita na superfície do material.

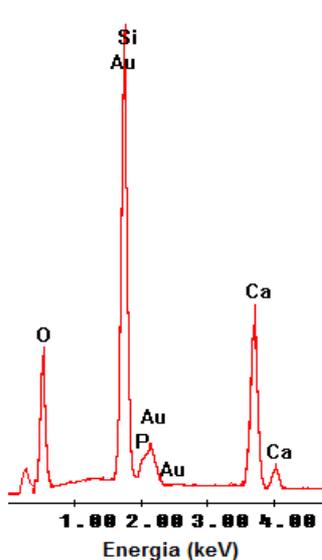


Figura 10: Espectro da composição química do BG sem imersão.

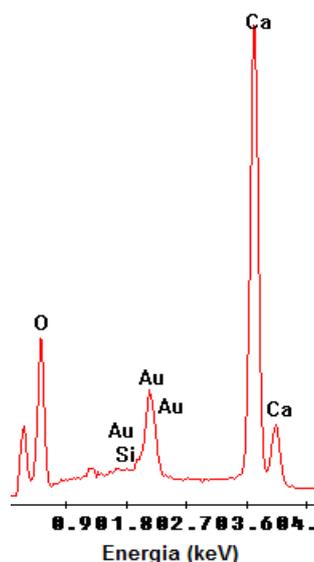


Figura 11: Espectro da composição química do BG após 15 dias de imersão.

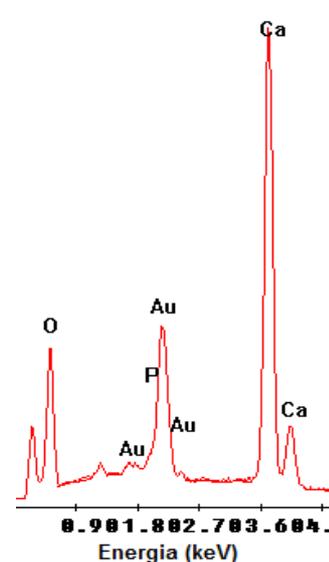


Figura 12: Espectro da composição química do BG após 30 dias de imersão.

CONCLUSÕES

A partir dos espectros de infravermelho e de DRX do material sintetizado foi comprovada a composição e estrutura referentes ao biovidro 58S (BG 58S). Esta composição também é confirmada através do espectro de EDS, no qual é identificada a presença de Si, Ca e P referentes à composição do biovidro.

O biovidro foi sintetizado com o intuito de ser utilizado como partícula osteocondutora dispersa em matriz polimérica em trabalhos futuros. Através da análise de variação de massa, das micrografias e do espectro de EDS apresentados, foi mostrada a característica osteocondutora do material, por meio da formação de cristais de apatita carbonatada na sua superfície. Tal característica está diretamente envolvida na formação de ligação entre o material e o tecido ósseo, confirmando as características almejadas no material sintetizado.

REFERÊNCIAS

- 1 PEREIRA, R. V. **Fabrication of Open-Porous Resorbable Hydroxyapatite/Fibrinogen Scaffolds in a One Step Process**. 2010. 75 Diploma thesis (Materials Engineer). Bremen University, Bremen.
- 2 HOPPE, A.; GÜLDAL, N. S.; BOCCACCINI, A. R. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. **Biomaterials**, v. 32, n. 11, p. 2757-2774, 2011. ISSN 0142-9612.
- 3 SEPULVEDA, P.; JONES, J. R.; HENCH, L. L. Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses. **J Biomed Mater Res**, v. 58, n. 6, p. 734-40, 2001. ISSN 0021-9304 (Print)/ 0021-9304 (Linking).
- 4 ZHONG, J.; GREENSPAN, D. C. Processing and properties of sol-gel bioactive glasses. **J Biomed Mater Res**, v. 53, n. 6, p. 694-701, 2000. ISSN 0021-9304 (Print)/ 0021-9304 (Linking).
- 5 POLAK, J. M.; HENCH, L. L.; KEMP, P. **Future strategies for tissue and organ replacement**. London River Edge, NJ: Imperial College Press ; Distributed by World Scientific Pub., 2002. xix, 427 p. ISBN 1860943101/ 186094311X (pbk.).
- 6 HENCH, L. L.; WEST, J. K. The sol-gel process. **Chemical Reviews**, v. 90, n. 1, p. 33-72, 1990/01/01 1990. ISSN 0009-2665.
- 7 ANDRADE, Â. L.; DOMINGUES, R. Z. Cerâmicas bioativas: estado da arte. **Química Nova**, v. 29, p. 100-104, 2006. ISSN 0100-4042.
- 8 HENCH, L. L. The story of Bioglass. **J Mater Sci Mater Med**, v. 17, n. 11, p. 967-78, Nov 2006. ISSN 0957-4530 (Print)/ 0957-4530 (Linking).
- 9 SEPULVEDA, P.; JONES, J. R.; HENCH, L. L. In vitro dissolution of melt-derived 45S5 and sol-gel derived 58S bioactive glasses. **J Biomed Mater Res**, v. 61, n. 2, p. 301-11, Aug 2002. ISSN 0021-9304 (Print) 0021-9304 (Linking).
- 10 TAS, A. C. Biomimetic coating & testing. 2012. Disponível em: < <http://www.cuneyttas.com/How-to-prepare-SBF-solution.htm> >. Acesso em: 19 march 2012.
- 11 SIQUEIRA, R. L. **Processamento sol-gel de pós bioativos vítreos e cristalinos**. 2010. Dissertação, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- 12 ROOHANI-ESFAHANI, S. I. et al. Effects of bioactive glass nanoparticles on the mechanical and biological behavior of composite coated scaffolds. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 3, p. 1307-1318, 2011. ISSN 1742-7061.
- 13 BLAKER, J. J. et al. Long-term in vitro degradation of PDLLA/bioglass bone scaffolds in acellular simulated body fluid. **Acta Biomater**, v. 7, n. 2, p. 829-40, Feb 2011. ISSN 1878-7568 (Electronic) 1742-7061 (Linking).
- 14 MOVASAGHI, Z.; REHMAN, S.; REHMAN, I. U. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, p. 134-179, 2008. ISSN ISSN 0570-4928 print.

- 15 JONES, J. R.; EHRENFRIED, L. M.; HENCH, L. L. Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 27, n. 7, p. 964-73, Mar 2006. ISSN 0142-9612 (Print) 0142-9612 (Linking).

OSTEOCONDUCTING BIOGLASS SYNTHESIZED VIA SOL-GEL PROCESS

ABSTRACT

The presence of bioglasses in scaffolds has been studied as they promote the osteoconduction in bones. The scaffolds are developed in order to induce the repair and regeneration in bone tissue. An absorbable bioglass from $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ system was synthesized by sol-gel process with the intent of producing these scaffolds. Bioglass 58S was define for these work once it presents ions (Ca and P) which assist at the carbonated apatite layer formation when released. The apatite layer presents an important role at the bone regeneration and metabolism, being involved at grow and mineralization of bones. FTIR was realized to characterize the synthesized bioglass on its chemical composition, XRD to analyze the crystalline structure, solubility test to observe the weigth variance and SEM to observe the particles morphology. The obtained results confirmed the production of a bioglass with the desired composition to produce osteoconducting scaffolds.

Key-words: bioglass, sol-gel, apatite, osteoconductor.