

PRECURSORES FUNCIONALIZANTES DE POROS À BASE DE GEL DE SILICATOS PARA OBTENÇÃO DE CERÂMICAS BIOATIVAS

V. Cesarino*, C. P. Ferrão, R. Salomão, E. B. Ferreira
Depto. Engenharia de Materiais, Universidade de São Paulo
Av. Trabalhador São-carlense 400, São Carlos, SP, Brasil
*vivian@usp.br

RESUMO

O recobrimento de materiais bioinertes com cerâmicas bioativas pode servir para a obtenção de implantes que combinem propriedades mecânicas adequadas à presença de elementos necessários à adesão e ao crescimento celular, promovendo a regeneração dos tecidos danificados. Para que ocorra osteogênese, o implante deve ter poros com volume, geometria e interconectividade semelhantes aos dos tecidos ósseos que se pretendem substituir. Neste trabalho apresentamos uma nova metodologia para a produção de materiais para implantes em ossos à base de alumina, com macroporosidade funcionalizada, onde a formação e o revestimento dos poros são realizados in situ durante o processo de fabricação. Esferas de ~ 1-2 mm de diâmetro foram preparadas por gelificação de gotas de uma solução de alginato de sódio e silicato de sódio, e incorporadas em uma matriz de alumina por prensagem uniaxial. Após a sinterização, a microestrutura foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura, revelando a existência de macroporos esféricos (~ 600 μm de diâmetro), revestidos internamente por uma camada contendo quantidades variáveis de compostos de silício, sódio e cálcio.

Palavras Chave: cerâmicas macroporosas, cerâmicas bioativas, poros funcionais.

INTRODUÇÃO

Biomaterias vêm causando um grande impacto na medicina devido à possibilidade de novos tratamentos de lesões e doenças, em especial ósseas. Quando o interesse é a substituição completa de um osso, o implante deve apresentar propriedades mecânicas e químicas adequadas a fim de evitar complicações ao paciente. O enxerto ósseo deve ser esterilizável, possuir propriedades mecânicas comparáveis a do tecido em questão e apresentar porosidade interconectada que permita o fluxo de fluidos, a migração de células e a vascularização ⁽¹⁾. Além disso, o material deve ser bioativo, ou seja, apresentar resposta biológica favorável após sua implantação, de modo a proporcionar uma forte ligação do implante ao tecido hospedeiro e estimular a regeneração óssea ⁽²⁾.

Os materiais bioativos podem ser classificados como osteoindutores e osteocondutores. Os implantes osteoindutores (classe A) estimulam as células tronco mesenquimais, presentes no tecido circunjacente ao enxerto, gerando diferenciação fenotípica em osteoblastos e crescimento de tecido ósseo em sua superfície⁽³⁾. O Bioglass® (46,1 SiO₂, 24,4 Na₂O, 26,9 CaO e 2,6 P₂O₅, % mol) é um representante desta classe. Apesar de estudos mostrarem que ele é possivelmente o material que mais estimula a regeneração óssea⁽²⁾, a dificuldade de produzi-lo com porosidade adequada e suas propriedades mecânicas limitadas inviabilizam seu uso para determinadas aplicações. Os implantes osteocondutores (classe B) possuem uma superfície onde as células responsáveis pela produção de tecido ósseo conseguem aderir, facilitando sua fixação. Os implantes classe B, tais como alguns fosfatos de cálcio, apresentam índices menores de bioatividade e também possuem propriedades mecânicas restritas. Portanto, obter um material que atenda às exigências de osteoindução e osteocondução de forma combinada e com propriedades mecânicas adequadas é um grande desafio.

Uma possibilidade de obtenção dessa combinação de propriedades é o recobrimento da superfície de materiais com boas propriedades mecânicas, embora mais inertes, com materiais bioativos⁽⁴⁾. Como a superfície do implante é a região que mais interage com o corpo do paciente, tal modificação superficial pode melhorar sua biocompatibilidade e estimular a osteocondução, preservando a resistência à fratura. As técnicas físicas de recobrimento com vidro bioativo ainda não são muito eficazes. Para revestir um determinado material como o Bioglass®, por exemplo, os coeficientes de expansão térmica da cobertura e do substrato devem ser compatíveis entre si para evitar o descolamento do vidro⁽⁵⁾, o que é relativamente difícil de se alcançar. Outro problema é que esse vidro, em particular, cristaliza-se rapidamente durante a sinterização, dificultando sua densificação e a aplicação como recobrimento. As técnicas química via úmida, tais como sol-gel^(6,7) e deposição eletroforética⁽⁸⁾, têm resultado em vidros com concentração de Na₂O menor que a necessária para formação de hidroxiapatita, diminuindo a bioatividade.

Além da bioatividade, a vascularização é uma pré-condição para a cicatrização de ossos defeituosos⁽⁹⁾ e, sendo assim, os implantes devem apresentar porosidade com volume, geometria e interconectividade controlados para que a mesma ocorra adequadamente. Uma das técnicas mais utilizadas para obtenção de cerâmica porosa é a do molde de sacrifício, que consiste na preparação de um compósito

bifásico de matriz cerâmica e um material de sacrifício homogeneamente distribuído. Durante o processo de sinterização, o molde se decompõe deixando poros em seu lugar. A grande vantagem desse método é a possibilidade de adaptar a morfologia, tamanho e distribuição dos poros às especificações necessárias.

Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma nova metodologia para a produção de enxertos ósseos com matriz de alumina e macroporosidade revestida com material bioativo. O estudo abrange a síntese de macroesferas contendo os elementos necessários para a formação de um vidro bioativo em altas temperaturas. Ao serem incorporadas em uma matriz cerâmica densa à verde, as esferas funcionam como um agente porogênico que, ao se decompor, deixam em seu lugar poros esféricos e funcionalizados com as propriedades de interesse.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os reagentes metassilicato de sódio [$\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O} = 1$] (UNAPROSIL, Brasil), ácido fosfórico (85% de pureza, MERCK, Brasil), nitrato de cálcio (99% de pureza, SYNTH, Brasil), alginato de sódio de baixa viscosidade (VETEC, Brasil) e ácido acético (MERCK, Brasil) foram utilizados como precursores para a síntese das esferas. Para a síntese da matriz cerâmica porosa foram utilizados alumina calcinada (A1000SG, ALMATIS, EUA), de diâmetro médio de partícula equivalente a $0,5 \mu\text{m}$ e densidade $3,99 \text{ g/cm}^3$, e polivinil butiral (Butvar® B-98, Sigma-Aldrich).

A elaboração das macroesferas se iniciou pela preparação de uma solução aquosa de 3% em massa de alginato de sódio e metassilicato de sódio (1%, 2%, 5% e 7% em massa). A suspensão foi colocada em uma seringa de 20 ml conectada a um banho térmico a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ e gotejada em uma solução de nitrato de cálcio 0,5 M acidificada com 0,012 M de ácido fosfórico e 0,12 M de ácido acético. Os íons de cálcio coagulam o alginato ligando-se ionicamente aos blocos do monômero α - L - glucorônico (G), formando uma rede tridimensional conhecida como “modelo da caixa de ovo” e resultando na formação de um gel (^{10,11}). A solução de nitrato de cálcio foi acidificada para catalisar a gelificação do silicato. Esferas contendo apenas alginato de Ca^{++} foram sintetizadas de modo similar, como referência, exceto pela não adição de metassilicato de sódio e a solução aglutinante não necessitar ser acidificada.

As esferas permaneceram em contato com a solução coagulante por 24 h. Em seguida, foram enxaguadas com água destilada, imersas em etanol PA por 24 h para remoção da água residual e secas a 80 °C por mais 24 h. Um esquema do processo pode ser observado na Figura 1.

Para a preparação da matriz, PVB (polivinil butiral) foi misturado como ligante à alumina para conferir resistência mecânica ao material à verde, após a prensagem. A mistura foi realizada em uma suspensão alcoólica (etanol) contendo (em volume) 13% alumina e 2% PVB, homogeneizada por 2 h em um moinho de bolas, utilizando-se um jarro de moagem de plástico e bolas de zircônia. Após a evaporação total do etanol, o material obtido foi posteriormente triturado em um almofariz de porcelana e passado em uma peneira de 80 mesh.

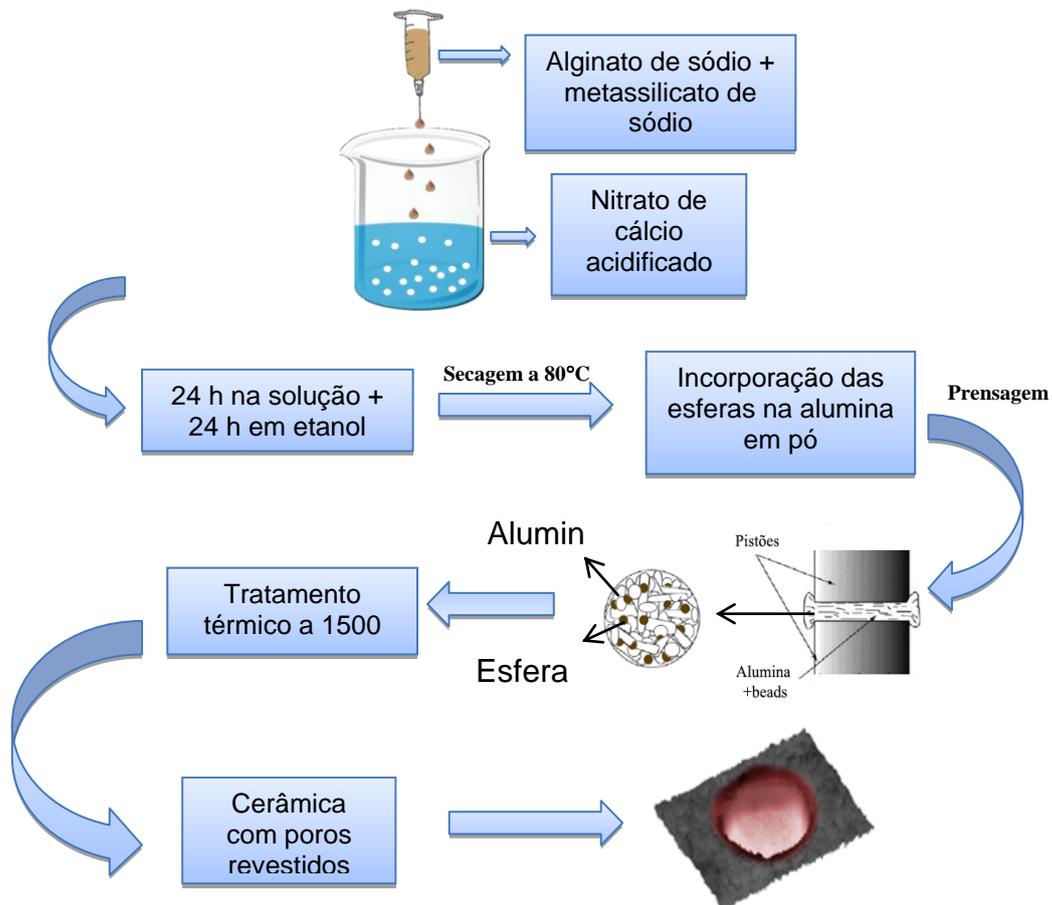


Figura 1: Esquema do mecanismo de síntese da cerâmica com poros revestidos

As esferas (10% em massa) foram então misturadas ao pó de alumina aglomerada e o composto foi prensado uniaxialmente a 47 MPa. Os compactos resultantes foram sinterizados a 1500 °C (1 °C/min até 600 °C e permanência por 1

h, 5 °C/min até a temperatura máxima, permanência por 2 h e taxa de resfriamento de 5 °C/min).

O comportamento térmico das esferas foi caracterizado por termogravimetria (Pyris 1 TGA, Perkin Elmer-Pyris, EUA). A microestrutura dos materiais obtidos foi caracterizada por microscopia óptica (Hirox-KH-7700, Japão) e eletrônica de varredura MEV-FEG (Inspect F-50, FEI, Holanda). O corante vermelho fucsina foi utilizado para aumentar o contraste da imagem analisada por microscopia óptica. A composição química foi caracterizada por espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS), acoplada ao MEV acima.

RESULTADO E DISCUSSÕES

Caraterização morfológica e composicional das esferas e dos poros em matriz de alumina

A funcionalização dos poros se origina da decomposição térmica das esferas e de sua adesão nas paredes adjacentes. Neste processo, o alginato de Ca^{++} se decompõe resultando em CaO , enquanto o metassilicato de sódio ($\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{SiO}_2$) e o P_2O_5 proveniente do ácido fosfórico não sofrem degradação térmica no intervalo de temperaturas. Os óxidos formados no interior das esferas provavelmente irão reagir e revestir o poro formado. Para que o revestimento possua alto índice de bioatividade, as proporções desses elementos devem ser otimizadas para que o composto formado possua composição similar à do Bioglass®⁽¹²⁾.

O efeito da concentração de metassilicato de sódio na habilidade de funcionalização dos poros foi avaliado. Para isso, a concentração de alginato de sódio foi mantida constante enquanto a do metassilicato de sódio foi variada. A presença de ácido fosfórico é extremamente importante para o vidro ter um alto índice de bioatividade, pois os íons PO_4^{-3} reagem com os íons Ca^{++} para a formação de uma camada de hidroxiapatita na superfície. Entretanto, a quantidade de H_3PO_4 deve ser ajustada uma vez que o PO_4^{-3} tende a sequestrar íons de Ca^{++} do alginato e precipitar fosfato de cálcio⁽¹³⁾, dificultando a permanência do cálcio nas esferas.

As esferas obtidas com 5% $\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{SiO}_2$ (Figura 2A) apresentaram-se com geometrias e tamanhos mais irregulares comparadas às com outras concentrações. Utilizando o software ImagePro, foi possível medir o diâmetro médio (média dos

diâmetros medidos a cada 2 graus passando pela centroide) a partir de uma imagem bidimensional das esferas de cada composição. As esferas contendo 1% e 2% são as que apresentaram menores valores de diâmetro, entre 1,2 e 1,7 mm, enquanto as esferas obtidas com 5% e 7% variaram entre 1,9 e 2,0 mm. O coeficiente de variação (CV) dos diâmetros, obtido pela razão entre o desvio-padrão e a média, foi calculado para cada concentração de metassilicato. Foi possível constatar que as esferas contendo 5% de metassilicato obteve o maior valor de CV (0,11) comparado às esferas com 1%, 2% e 7% (CV = 0,07, 0,09 e 0,09 respectivamente). Dessa forma, pode-se confirmar que as esferas com 5% de metassilicato resultaram na distribuição de tamanhos mais irregular. Além disso, nota-se que quanto menor a concentração de metassilicato, maior a translucidez das esferas.

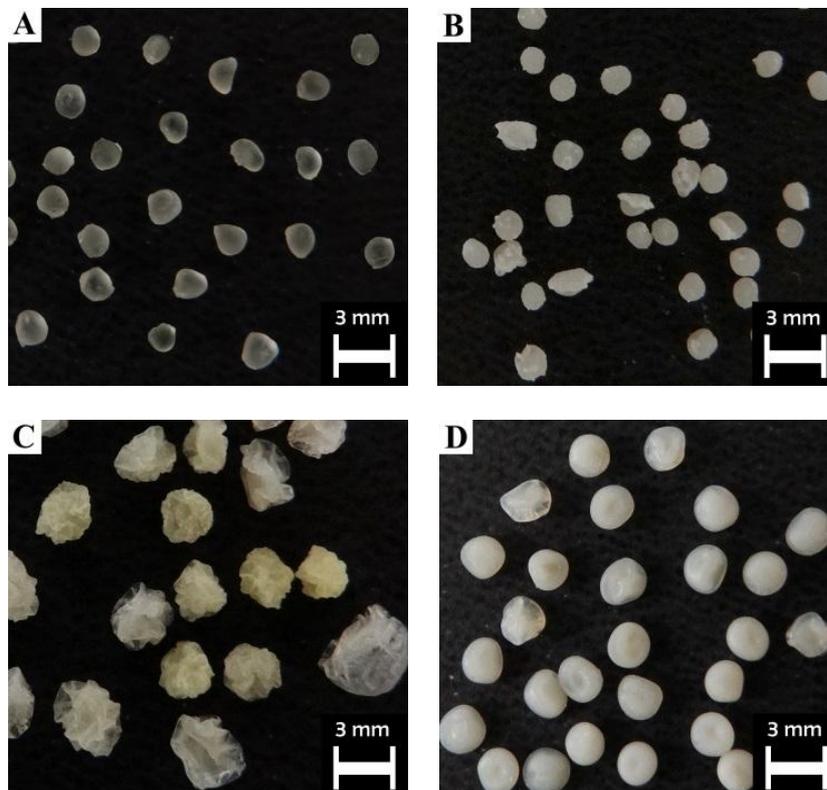


Figura 2: Esferas contendo (A) 1%, (B) 2%, (C) 5% e (D) 7% de metassilicato de sódio e 3% de alginato, em massa. Imagens obtidas através de uma câmera digital.

Um mecanismo possível para a formação das esferas pode ser a aglutinação do polímero alginato com íons Ca^{++} simultaneamente à precipitação de partículas de um silicato e fosfato de cálcio.

Caracterização térmica das esferas

Como as macroesferas devem ser sinterizadas junto com a matriz cerâmica, é importante conhecer o seu comportamento térmico, a fim de se definir um tratamento térmico que assegure a eliminação total do material orgânico. Para auxiliar a compreensão da curva de termogravimetria (TG) das esferas de metassilicato de sódio e alginato de Ca^{++} , foi estudado como esses materiais respondem à temperatura separadamente.

A Figura 3A apresenta a curva de TG e DTG (diferencial da curva TG) das esferas de alginato de cálcio. De acordo com Zhang et al.⁽¹³⁾ observam-se quatro estágios de perda de massa: o primeiro (25 – 218 °C) é referente à desidratação e à quebra parcial das ligações glicosídicas do alginato. Entre 218 e 374 °C ocorre a formação de um composto carbonoso intermediário que é oxidado com o aumento da temperatura (375 – 701 °C). Após o término da oxidação, pode-se observar uma ligeira perda de massa (701 – 758 °C) que corresponde à decomposição do carbonato de cálcio, resultando na formação do óxido de cálcio.

Em relação à estabilidade térmica do gel formado apenas com metassilicato de sódio (Figura 3B), observa-se apenas um evento térmico entre 25 – 200 °C que corresponde à desidratação do gel. Após essa temperatura, o material atingiu um patamar e não apresentou mais perda de massa.

A Figura 4A apresenta as curvas TG e DTG das macroesferas de alginato e metassilicato de sódio. Pode-se observar a ausência dos picos nas curvas DTG correspondentes à decomposição térmica do alginato. O material apresentou perda de massa na faixa de temperatura de 25 a 235 °C e continuou perdendo massa gradualmente até 900 °C. Ao analisar o resíduo da decomposição, foi observada uma coloração preta, indicando a presença de carbono residual da decomposição do material orgânico. Provavelmente, a presença do metassilicato de sódio ocasiona a formação de elementos mais densos e isso dificulta a eliminação dos compostos voláteis, impossibilitando a total degradação do polímero.

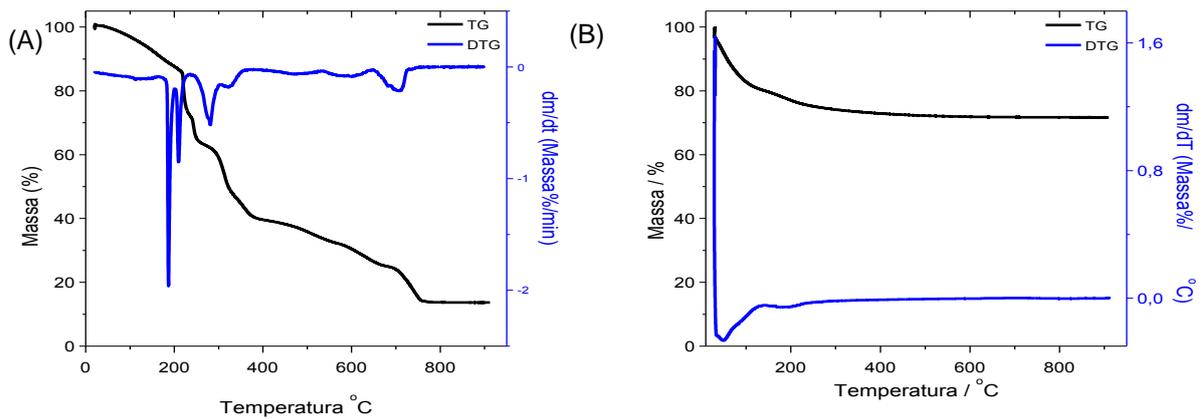


Figura 3: Curvas TG e DTG de (A) esfera de alginato de cálcio e (B) gel de metassilicato de sódio. Aquecimento a 10 °C/min, ar sintético (20 ml/min) e massa inicial 3,3 g

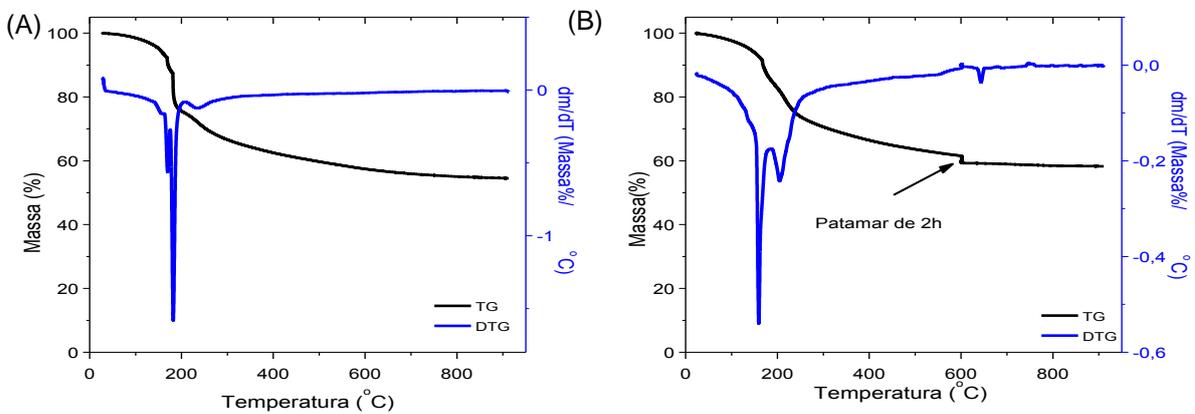


Figura 4: Curvas TG e DTG de esferas de alginato de cálcio e metassilicato de sódio.

Para evitar a formação desse resíduo, foi necessário aplicar uma isoterma de 2 h em 600 °C (Figura 4B). A curva TG da Figura 4B apresenta etapas de perda de massa em 120°C e durante a isoterma em 600 °C. Após esse tratamento o alginato provavelmente se degradou por completo, já que a curva TG atingiu um patamar de massa aproximadamente constante e o resíduo apresentou coloração esbranquiçada. Dessa forma, para garantir a total eliminação do carbono das esferas durante o tratamento térmico da peça, é necessário que a taxa de aquecimento seja lenta e que seja aplicada uma isoterma em 600 °C.

Caracterização do poro revestido

As esferas sintetizadas com diferentes porcentagens de metassilicato de sódio foram posicionadas no interior de um compacto de alumina em pó e, após o

tratamento térmico, foi verificado que algumas delas atuaram como agentes porogênicos e funcionalizadores de poros. As microscopias ópticas (Figura 5) das amostras sinterizadas mostram que as esferas sintetizadas com menor porcentagem de $\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{SiO}_2$ formaram poros parcialmente preenchidos. Nesses casos, a esfera diminuiu de tamanho, devido à degradação da parte orgânica. Na Figura 5C observa-se que a esfera está deformada, o que pode indicar que ela fundiu com o tratamento, entretanto, o poro também permaneceu preenchido. O resultado mais promissor foi obtido utilizando-se esferas com 7% metassilicato (Figura 5D e 6A), pois foram obtidos poros de tamanhos regulares e totalmente ociosos. É interessante observar que este poro está aparentemente recoberto com material, indicando a ocorrência de sinterização por fase líquida.

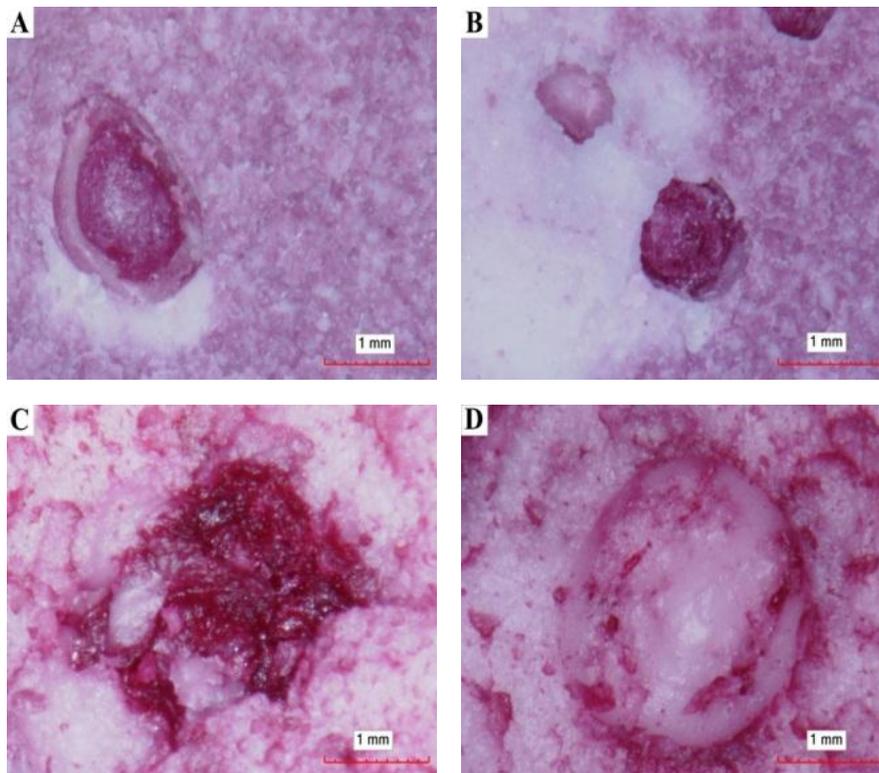
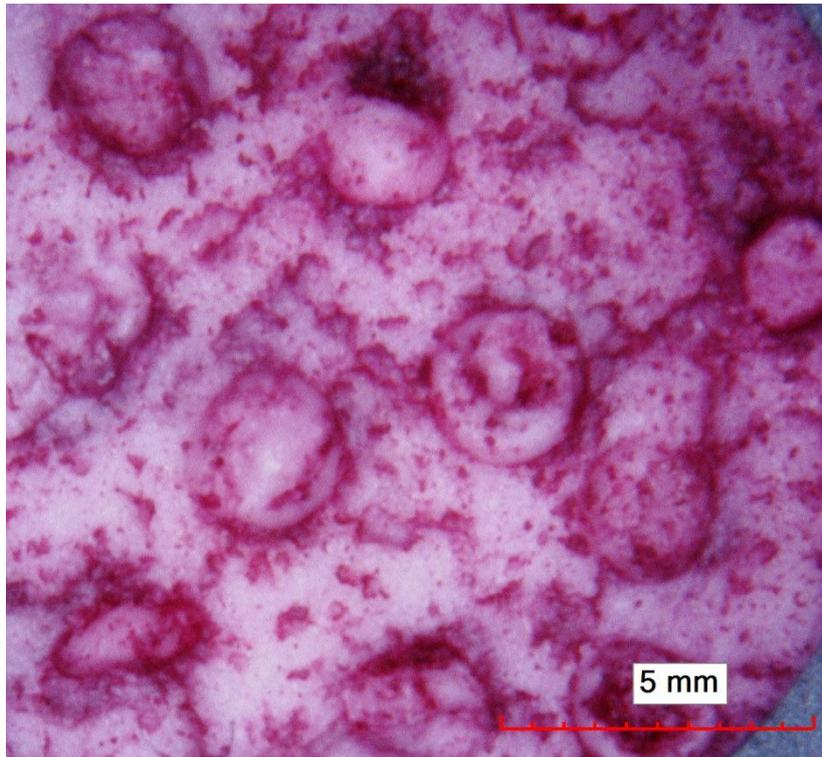


Figura 5: Microscopia óptica da cerâmica sinterizada com as esferas contendo 1%(A), 2%(B), 5%(C) e 7%(D) de metassilicato de sódio e 3% de alginato.

Os detalhes dos poros cerâmico obtido com as esferas contendo 7% de metassilicato foram caracterizados através de MEV-FEG (Figura 6B). Foi possível constatar a presença de uma região mais clara no centro do poro, o que indica a presença de elementos com maior peso atômico. O EDS da região mais clara indicou a presença de cálcio, fósforo, sódio e silício. Apesar da área de revestimento

ser pequena, há assim indícios de que um material com composição interessante em termos de bioatividade se formou no interior do poro. Uma possível razão para a pequena área do revestimento é o líquido formado ter alcançado valores baixos de viscosidade, devido à relativa alta temperatura atingida durante o tratamento, e percolado para o interior da amostra.

(A)



(B)

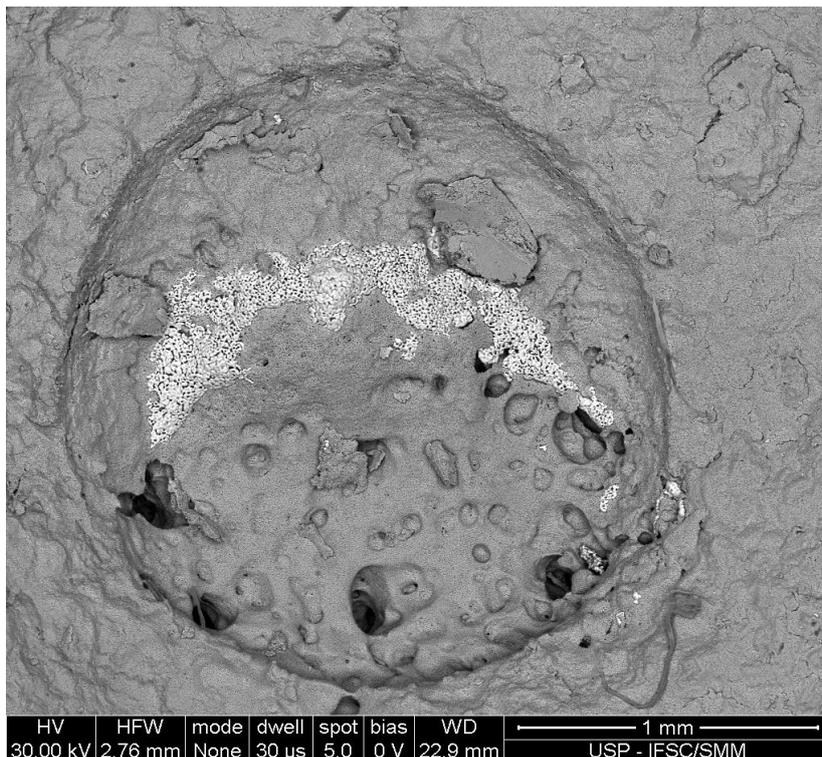


Figura 6: Micrografia (A) óptica e (B) MEV-FEG (imagem de elétrons retroespalhados) da superfície interna de um poro gerado por uma esfera contendo 3% de alginato e 7% de metassilicato de sódio, em massa.

CONCLUSÕES

Utilizando a metodologia inédita desenvolvida, foi possível produzir macroesferas com os elementos necessários para a formação de um revestimento bioativo. Novos estudos estão em andamento para aprimorar a incorporação das esferas em matrizes cerâmicas, a fim de se obter uma estrutura similar ao tecido ósseo. As esferas podem ser então usadas como agente porogênico, gerando poros regulares e de tamanho controlado. Além disso, algumas composições estudadas são bastante promissoras para a formação de materiais bioativos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à FAPESP (2013/07793-6 e 2010/19274-5), NANOBIOTEC/CAPES, CNPq (130405/2013-2), NAP/USP (CTMH).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GOMEZ-VEGA, J. M. et al. Novel Bioactive Functionally Graded Coatings on Ti6Al4V. **Advanced Materials**, v. 12, n. 12, p. 894–898, 1 jun. 2000.
2. GRANT, G. T. et al. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. **FEBS Letters**, v. 32, n. 1, p. 195–198, maio 1973.
3. HENCH, L. L. et al. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 5, n. 6, p. 117–141, 1 nov. 1971.
4. HENCH, L. L. **An Introduction to Bioceramics**. [s.l.: s.n.]. p. 386
5. HERNANDEZ-MONTELONGO, J. et al. Calcium phosphate/porous silicon biocomposites prepared by cyclic deposition methods: spin coating vs electrochemical activation. **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, v. 34, p. 245–51, 1 jan. 2014.
6. HOLZAPFEL, B. M. et al. How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view. **Advanced drug delivery reviews**, v. 65, n. 4, p. 581–603, abr. 2013.
7. JONES, J. R. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. **Acta biomaterialia**, v. 9, n. 1, p. 4457–86, jan. 2013.

8. MEC, E.; FORTULAN, C. A. CLAUDIA CRISTIANE CAMILO Implantes de alumina em gradiente funcional de porosidade recobertos com hidroxiapatita e biovidro : avaliação da osseointegração São Carlos. 2010.
9. MEHDIPOUR, M.; AFSHAR, A.; MOHEBALI, M. Electrophoretic deposition of bioactive glass coating on 316L stainless steel and electrochemical behavior study. **Applied Surface Science**, v. 258, n. 24, p. 9832–9839, out. 2012.
10. POURHASHEM, S.; AFSHAR, A. Double layer bioglass-silica coatings on 316L stainless steel by sol-gel method. **Ceramics International**, v. 40, n. 1, p. 993–1000, jan. 2014.
11. RAJKUMAR, M.; MEENAKSHISUNDARAM, N.; RAJENDRAN, V. Development of nanocomposites based on hydroxyapatite/sodium alginate: Synthesis and characterisation. **Materials Characterization**, v. 62, n. 5, p. 469–479, maio 2011.
12. SIKORSKI, P. et al. Evidence for egg-box-compatible interactions in calcium-alginate gels from fiber X-ray diffraction. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 7, p. 2098–103, jul. 2007.
13. ZHANG, J. et al. Pyrolysis products and thermal degradation mechanism of intrinsically flame-retardant calcium alginate fibre. **Polymer Degradation and Stability**, v. 96, n. 5, p. 936–942, maio 2011b.

FUNCTIONALIZING PRECURSORS OF PORES BASED ON SILICATE GEL TO OBTAIN BIOACTIVE CERAMICS

ABSTRACT

High strength ceramics coated with bioactive materials can produce implants with good mechanical properties and bioactivity to enhance bond and regeneration of the host tissue. In order to increase the cellular growth and vascularization of the tissue, the graft also should present specific morphological properties such as porosity, pore size, surface area to volume ratio and pore interconnectivity similar to that of real bones. Therefore, the aim of the present study was to develop a new methodology for the production of implants based on alumina with functionalized macroporosity. The obtaining of a porous ceramic and the internal coating of the obtained pores with a bioactive material were performed in situ. Spheres (~1-2 mm) were prepared by gelation of sodium alginate and sodium metasilicate droplets, which were mixed with alumina powder and pressed uniaxially. After sintering, the ceramic was characterized by optical and scanning electronic microscopy, which indicated that the beads have been successfully used as a sacrificial template to produce spherical macropores (~ 600 μm diameter) coated by a layer of varying amounts of silicon, sodium and calcium.

Keywords: Macroporous ceramics, bioactive ceramics, functional pores.