

Caracterização de compósitos bioabsorvíveis PLA/Biovidro para reconstrução óssea (Characterization of bioabsorbable composites PLA/Bioglass for bone reconstruction)

K.J.S. Grancianinov¹; I.N.G. Vicuna¹, D.P. Lauda², F.S. Ortega³; V.C. Pandolfelli², I.R. de Oliveira¹

¹Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – Universidade do Vale do Paraíba
São José dos Campos – SP

²SELAZ – Indústria e Comércio de Aparelhos Biomecânicos
São José dos Campos – SP

³Centro Universitário da FEI – São Bernardo do Campo – SP

⁴Departamento de Engenharia de Materiais – Universidade Federal de São Carlos
São Carlos – SP

karenjulie03@gmail.com

Resumo

O emprego de vidros bioativos(biovidro) como enxertos é descrito em diversos trabalhos científicos, com vantagens reconhecidas em termos de osteoindução, osteocondução e propriedades bactericidas. Considerando-se essas vantagens, este trabalho, sintetizou materiais compósitos a base de polímero ácido láctico (PLA) contendo vidro bioativo, que possam ser usados como enxertos ósseos bioabsorvíveis. As amostras foram produzidas por prensagem a quente, tanto para PLA puro como para o PLA contendo 10% em peso de vidro bioativo, as quais foram submetidas a ensaios de degradação, por meio de imersão em solução tampão (PBS) a 70±1 °C. Após os tempos de 0 a 7 dias de imersão, as amostras foram caracterizadas quanto à perda de massa, comportamento de pH, morfologia via microscopia eletrônica de varredura (MEV) e composição por espectroscopia por energia dispersiva (EDS). O ensaio de degradação demonstrou que a incorporação das partículas de vidro bioativo ao polímero acelerou o processo de degradação quando comparado ao PLA puro. A formação de uma camada de apatita na superfície do compósito, indicou bioatividade para os materiais produzidos.

Palavras-chave: vidro bioativo, PLA, implantes bioabsorvíveis, enxertos ósseos.

Abstract

The use of bioactive glasses(bioglass) as bone grafts has been investigated in several scientific studies due to the advantages such as osteoinduction, osteoconduction, and bactericidal properties. For this reason in this research, composites material based of the lactic acid polymer (PLA) with bioactive glass, that can be used as bioabsorbable bone grafts. The samples were produced by hot pressing for pure PLA and PLA containing bioactive glass (10%wt), these were submitted to degradation test through of the immersion in buffer solution (PBS) at 70 ± 1 ° C. After the 0 to 7 days' immersion times, the samples were characterized for mass loss, pH behavior, morphology by scanning electron microscopy (SEM) and composition by Energy Dispersive Spectroscopy (EDS). The degradation test showed that the incorporation of the bioactive glass particles into the polymer accelerated the degradation process when compared to the pure PLA. The formation of a apatite layer on the surface composite indicated bioactivity for the materials produced.

Keywords: bioactive glass, PLA, bioabsorbable implants, bone grafts.

INTRODUÇÃO

Anualmente, milhões de pessoas sofrem de falhas e defeitos nos tecidos ósseos, decorrentes de má formações congênitas, tumores ou fraturas de mal prognóstico, fatalmente culminando em casos de pseudoartrose ou osteomielites. O tratamento desses tipos de patologias ocorre por meio de um ato cirúrgico voltado a remoção mecânica dos tecidos afetados, seguido da aplicação de enxertos ósseos, visando assim reestabelecer a forma e a função do tecido lesionado por meio de um processo de reconstrução óssea [1].

Em casos mais complexos, com grandes perdas de tecido ósseo em pacientes com limitado potencial osteogênico, a aplicação de enxertos aloplásticos mostra-se como uma alternativa interessante ao enxerto autógeno, permitindo uma maior diversidade de formatos, com vistas a preencher por completo a falha óssea do paciente [2, 3].

Segundo Chow, o emprego de biomateriais sintéticos, em aplicações de enxertia óssea, possui caráter trivial, [4] e se destaca frente ao enxerto autógeno (padrão-ouro) uma vez que este último apresenta limitações como: morbidade do sítio doador, baixa disponibilidade e custos operacionais elevados [5]. Do mesmo modo que os enxertos autógenos, os aloenxertos e os xenoenxertos também apresentam riscos de transmissões de doenças ou ainda, de rejeições pelo corpo do paciente [6].

Recentemente, novas soluções têm sido empregadas na busca de contornar tais problemas, como o uso de poliésteres alifáticos bioreabsorvíveis em particular o poli (ácido láctico) (PLA). Este polímero é amplamente utilizadas em pesquisas relacionadas à engenharia de tecidos [7, 8], pelo fato de apresentar: facilidade de processamento, biocompatibilidade, biodegradabilidade, possibilidade de modular as propriedades mecânicas [9, 10] e a taxa de degradação, ao se alterar suas características físicas e químicas [11].

Portanto, considerando-se as vantagens das aplicações do polímero PLA, esse material vem sendo usado em biocompósitos, juntamente com o vidro bioativo, dando origem a enxertos ósseos bioabsorvíveis com excelentes características mecânicas, osteoprodutivas, antibacterianas e bioativas, proporcionando assim uma rápida reparação óssea, isenta de instabilidade biológica o que oferece um tratamento vantajoso para o paciente [8, 12, 13].

Mediante a este fato, o objetivo deste trabalho consistiu em sintetizar enxertos ósseos baseados em uma matriz polimérica de PLA com 10% de biovidro e caracterizá-los quanto a seus respectivos comportamentos degradativos, por meio de medições referentes a: perda de massa, pH, microestrutura e composição (MEV e EDS).

MATERIAIS E MÉTODOS

Inicialmente ao polímero ácido láctico (PLA, *Naturework-PLI005*) foi adicionado o biovidro em forma de pó, com teor de 10% em peso de PLA. Em seguida, PLA PURO e a mistura foram adicionados a uma homogeneizadora (marca MH, modelo MH-100) e prensado numa prensa hidráulica de laboratório (marca MH, modelo MH-8MT) sobre uma placa de aço inox, com furos (diâmetro de 20mm) e espessura de 1mm, conforme requerido pela norma ABNT. NBR 13781 [14]. A denominação das amostras, estão expostas na Tabela I.

Tabela I. Denominação das amostras

Polímero	% Vidro Bioativo (BG)	Denominação
PLA	0	PLA PURO
PLA	10	PLABG10%

Para a avaliação do tempo de degradação, as amostras foram secas à vácuo e pesadas numa balança analítica para posterior esterilização em uma capela de fluxo laminar por meio de luz ultravioleta. Após este procedimento, as amostras foram inseridas em potes plásticos estéreis com 17 ml de solução de imersão (solução-tampão de fosfato- PBS- pH 7,4 ± 0,2, Specsol).

O ensaio de degradação, foi conduzido em uma estufa de esterilização a 70°C, avaliando-se os seguintes tempos de imersão em solução PBS: 0, 1, 2, 3, 5 e 7 dias. Estes tempos foram estabelecidos com base no estudo de P. Chauhan, et al. [15].

Após passado os tempos de imersões, foi medido o pH das soluções PBS e cada amostra foi filtrada sob vácuo sobre papel filtro e lavada com água destilada. Na sequência as amostras foram secas em dessecador à vácuo até pesagem estável (Wt). A porcentagem de perda de massa foi determinada usando a seguinte equação (A):

$$\% W = (W_0 - W_t) \times 100 / W_0 \quad (A)$$

onde W_0 é a massa inicial da amostra e W_t é a massa da amostra pesada após estabilização menos a massa do papel filtro [16].

As amostras secas foram caracterizadas por meio de um Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV, EVOMA10 Zeiss) com Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (voltagem de 10KV) antes e após imersão em PBS, nos tempos de: 0, 1, 3 e 7 dias. As

amostras foram recobertas via sputtering com uma camada de Au, a partir de uma corrente de 40mA por 60s e as aproximações das imagens foram feitas em: 30x, 200x e 800x.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de perda de massa das amostras tratadas em PBS são apresentadas na Figura 1.

Inicialmente observa-se um aumento de massa para ambas as amostras, dado que, no início do processo de degradação hidrolítica ocorre absorção de água na estrutura polimérica. Somente, após este ocorrido inicia-se o processo de quebra das cadeias poliméricas, o que provoca a perda de massa [17].

A perda de massa é acelerada na presença de biovidro, especialmente após 2 dias de imersão, mantendo-se constante após esse período.

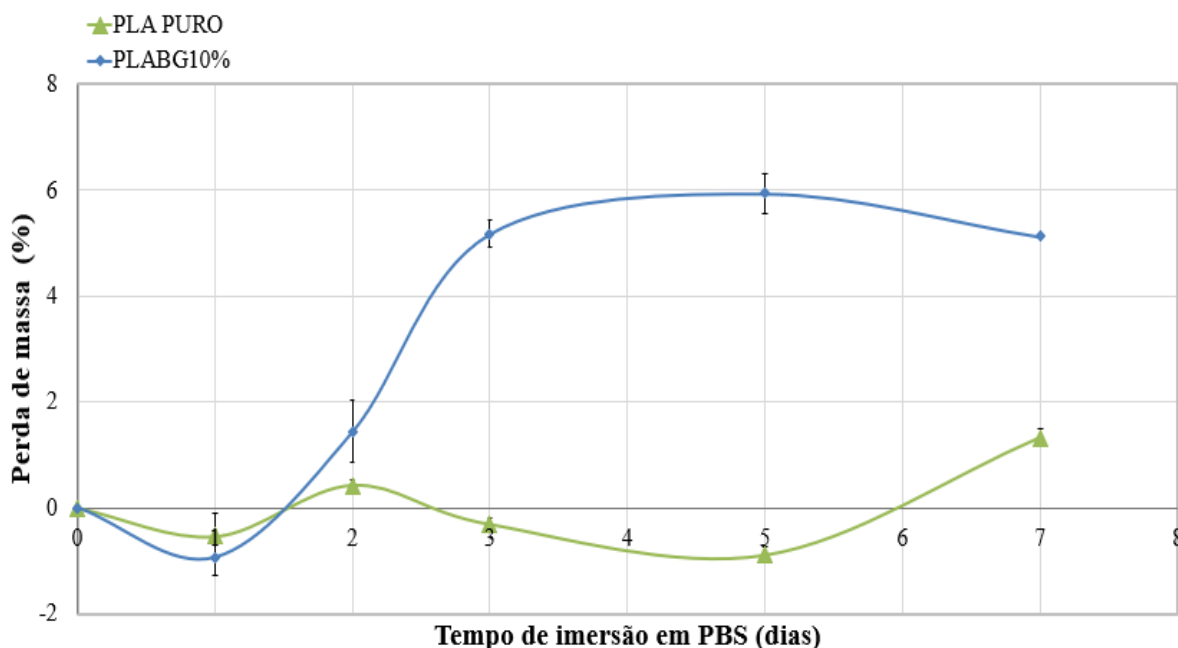


Figura 1. Perda de massa das amostras de PLA PURO e PLABG10% tratadas em PBS pelos períodos de 0, 1, 2, 3, 5 e 7 dias.

Conforme apresentado na figura 2, observa-se que o comportamento do pH para as amostras de PLA PURO, manteve-se estável (pH médio $7,16 \pm 0,01$) até o 5º dia de imersão. Posteriormente, o pH tornou-se mais ácido, devido a fase inicial do processo de degradação,

que estabelece a fragmentação dos monômeros e liberação dos oligômeros solúveis na solução [17].

Para as amostras de PLABG10% verificou-se que a queda de pH iniciou-se desde o 0º dia, indicando caráter ácido para a solução de PBS, confirmando deste modo, a quebra das cadeias poliméricas devido a degradação mais acelerada na presença de biovidro. Portanto a queda de pH confirmou que a presença de biovidro acelerou a taxa de degradação da matriz polimérica. Tal fato também foi verificado por Chouzouri et al. [18] e Larrañaga et al. [19].

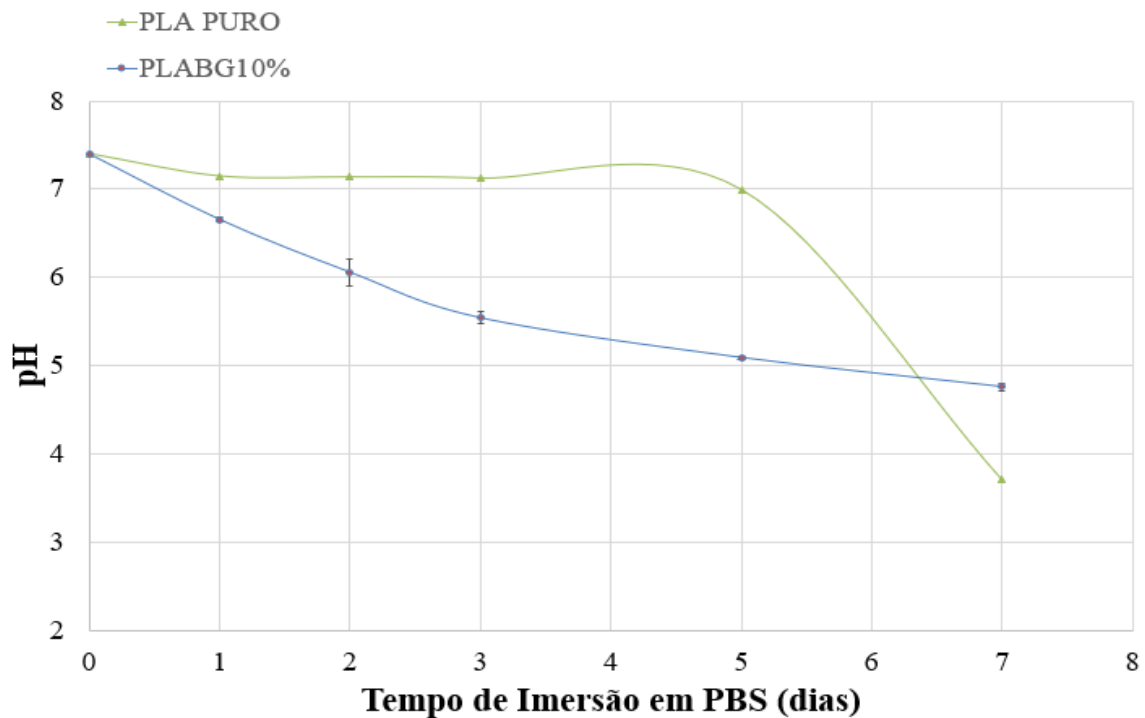


Figura 2. Comportamento do pH para o PLA PURO e PLABG10% tratadas em PBS pelos períodos de 0, 1, 2, 3, 5 e 7 dias.

Após o ensaio de degradação as amostras foram submetidas à caracterização por MEV (Figura 3 e 4), seguidas de microanálise elementar por EDS, conforme apresentado na Figura 5 e Tabela II.

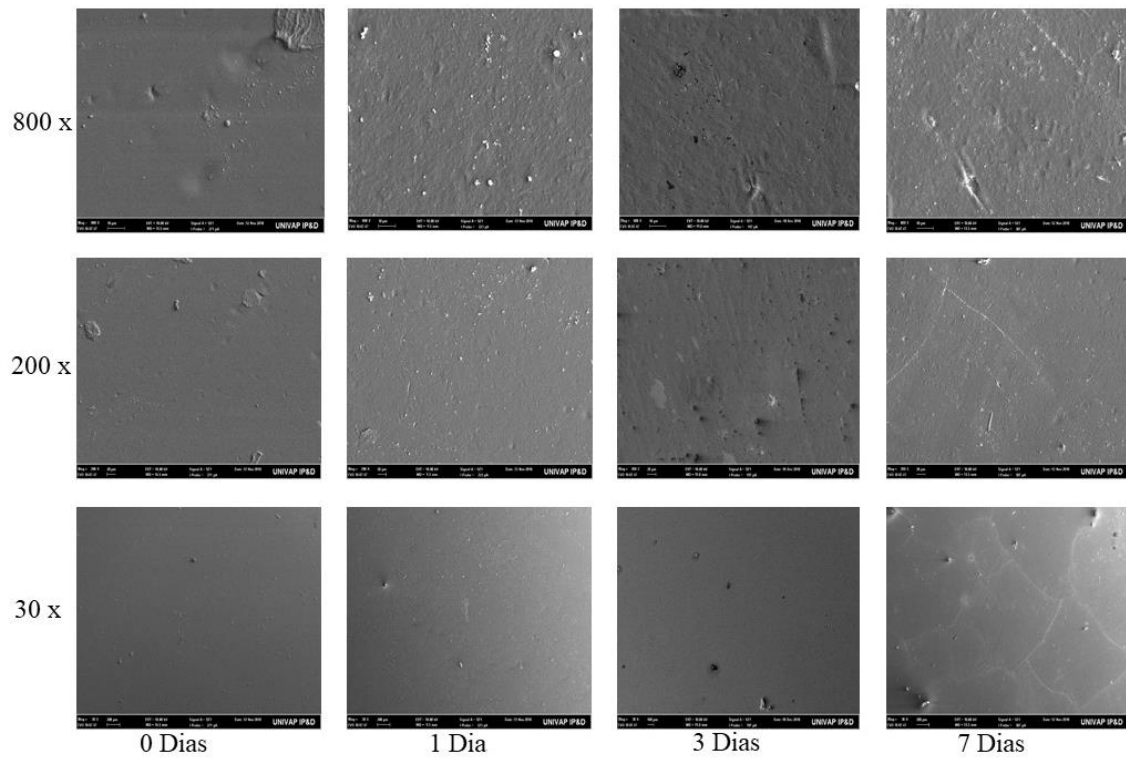


Figura 3. Micrografias da superfície das amostras de PLA obtidas antes e após imersão em PBS.

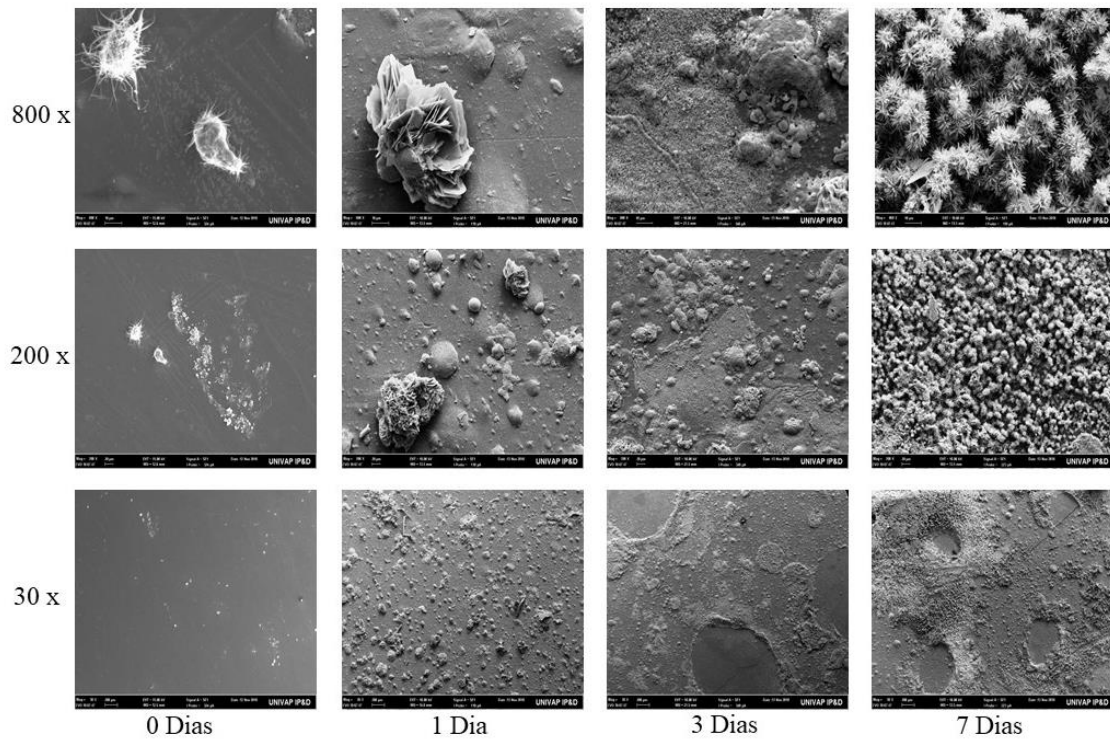
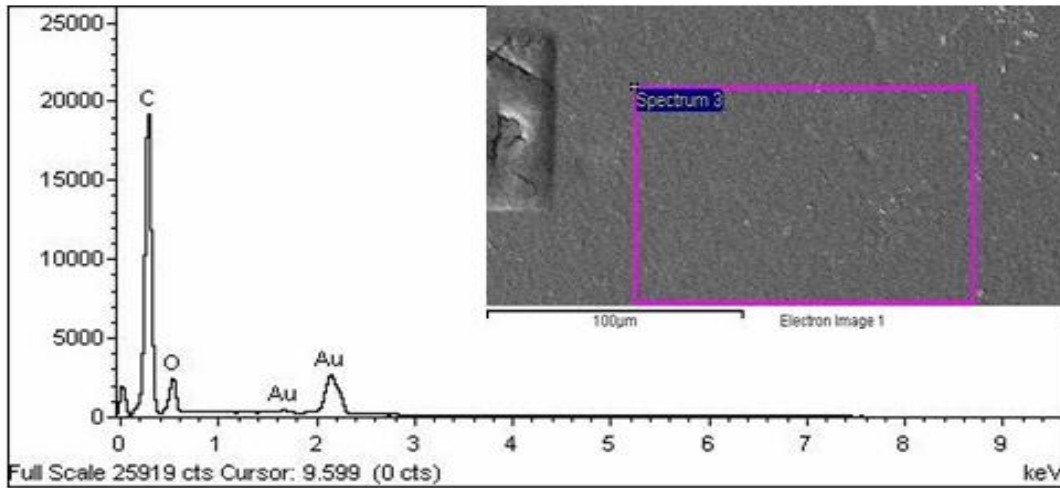
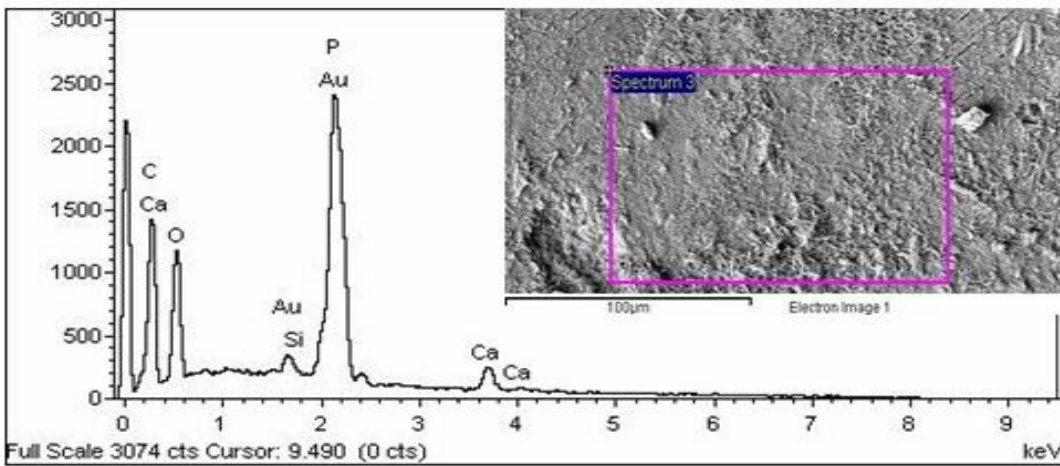


Figura 4. Micrografias da superfície dos compostos de PLABG10% obtidas antes e após imersão em PBS.



(a)



(b)

Figura 5- Microanálise elemental por EDS da superfície das amostras (a) PLA PURO e (b) PLABG10%, após 7 dias de imersão em PBS.

Tabela II. Microanálise elemental por EDS das superfícies das amostras antes e após imersão em PBS a 500x.

Elemento	PLA PURO				PLABG10%			
	0 dias	1 dia	3 dias	7 dias	0 dias	1 dia	3 dias	7 dias
Carbono	77,94 ± 0,77	61,15 ± 2,67	62,58 ± 0,82	81,52 ± 0,82	58,7 ± 3,27	55,68 ± 1,19	42,20 ± 0,58	16,92 ± 4,51
Oxigênio	22,06 ± 0,77	38,85 ± 2,67	37,42 ± 0,82	18,48 ± 0,82	33,11 ± 0,75	37,05 ± 0,60	46,41 ± 0,31	44,30 ± 0,26
Silício	0,00	0,00	0,00	0,00	1,87 ± 0,46	1,28 ± 0,22	0,30 ± 0,04	0,00
Cálcio	0,00	0,00	0,00	0,00	6,32 ± 4,48	4,02 ± 0,34	7,24 ± 0,45	24,64 ± 2,88
Fósforo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,97 ± 0,48	3,86 ± 0,41	14,17 ± 1,55

Observou-se que os compósitos constituídos de PLA com biovidro a 10%, apresentaram alterações em sua superfície, a partir do primeiro dia de imersão em PBS até o 7º dia. Estas alterações corresponderam a formações de precipitados, que recobriram a superfície do compósito. Por meio de microanálise elementar por EDS foram detectadas quantidades crescentes de cálcio e fósforo e diminuição de Silício. A presença de Ca e P indica a formação de uma camada de apatita, comprovando assim o caráter bioativo para compósitos contendo 10% de biovidro.

Por outro lado, observou-se que as superfícies das amostras de PLA PURO, mantiveram-se inalteradas antes e após imersão em PBS, não sendo verificada a presença de precipitados. A microanálise elementar por EDS, não detectou a presença de cálcio e fósforo, indicando ausência de bioatividade para o PLA PURO. Tal fato, também foi confirmado nos trabalhos de Barroca [20] e Larrañaga [19].

CONCLUSÕES

A incorporação de partículas de biovidro ao PLA, acelera o processo de degradação em comparação ao PLA PURO. O compósito apresenta formação de uma camada apatítica em sua superfície, o que deverá acelerar a formação de tecido ósseo. Portanto, o compósito avaliado neste trabalho, apresenta excelentes características biodegradáveis e bioativas, caracterizando-se assim como um biomaterial promissor para aplicações de enxertia, cujo principal objetivo consiste na regeneração óssea.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fapesp #2016/15032-3, UNIVAP e CNPq #301665/2015-0 pelo apoio a esta pesquisa, bem como a empresa SELAZ por fornecer diversos materiais necessários e dar suporte a todas as fases da pesquisa realizada.

REFERÊNCIAS

- [1] L. G. Heitzmann, R. Battisti, A. F. Rodrigues, J. V. Lestingi, C. Cavazzana e R. D. Queiroz, *Rev Bras Ortop.* (2018) 1-9.
- [2] C. A. Garrido e T. C. F. V. S. Sampaio, *Rer Bras Ortop.* 45, 4 (2010) 433-438.
- [3] V. Giordano, J. S. Franco, H. A. Koch, P. J. Labronici, R. E. S. Pires e P. d. Amaral, *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões* 43, 4 (2016) 276-285.
- [4] L.C. Chow, *Dental Materials Journal* 28.1 (2009) 1- 10.

- [5] I. I. Castro- Silva, L. A. C. Da Rocha Coutinho, *Revista Brasileira de Odontologia* 69, 2 (2013) 154.
- [6] H.V. Precheur, *Dental Clinics of North America* 51, 3 (2007) 729-746.
- [7] S.H. Barbanti, C.A.C. Zavaglia, E. A. R. Duek, *Polímeros: Ciência e Tecnologia* 15, 1 (2005) 13-21.
- [8] A. R. Boccaccini, J. J. Blaker, V. Maquet, R. Jerome, S. Blacher, J. A. Roether., *Materials Science forum* 494 (2005) 499-506.
- [9] H. Seyednejad, A. H. Ghassemi, C. F. Van Nostrum, T. Vermonden, W. E. Hennink, *Journal of Controlled release* 152.1 (2011) 168-176.
- [10] N. Y. Yu, A. Schindeler, D. G. Little, A. J. Ruys, *Journal of Biomedical Materials Research Part B* 93. 1 (2010) 285-295.
- [11] K. N. Bitar, E. Zakhem, *Biomedical engineering and computational biology* 6 (2014) 13-20.
- [12] K. Zhang, Y. Wang, M. A. Hillmyer, L. F. Francis, *Biomaterials* 25, 13 (2004) 2489-2500.
- [13] J. Yao, S. Radin, P. S. Leboy, P. Ducheyne, *Biomaterials* 26, 14 (2005) 1935-1943.
- [14] ABNT. NBR 13781, Resinas e formas fabricadas de poli (L-lactato) para implantes cirúrgicos - Ensaio de degradação in vitro, Associação Brasileira de normas técnicas (1998).
- [15] P. N. Chauhan, R. K. Jat, B. N. Shah, *Inventi Impact: Novel Excipients*, 2016.1 (2016) 9-14.
- [16] M. Navarro, M. P. Ginebra, J. A. Planell, C.C. Barris, M.A. Barbosa, *Acta Biomaterialia* 1, 4 (2005) 411-419.
- [17] L. Suming, M. Vert, *Journal of Biomaterials Science*, 7. 9 (1996) 817-827.
- [18] G. Chouzouri, M. Xanthos, *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 23. 1 (2007) 19-36.
- [19] A. Larrañaga, P. Aldazabal, F. J. Martin, J. R. Sarasua, *Polymer degradation and stability*, 110 (2014) 121-128.
- [20] N. B. Barroca, “Scaffolds à base de polímeros piezoelétricos para regeneração óssea” Diss. Mestrado. Universidade de Aveiro (2008).