Caracterização físico-química de 12 biomateriais utilizados como enxertos ósseos na Implantodontia

Physical and chemical characterizations of 12 biomaterials used as bone grafts in Implantology

*Márcio Baltazar Conz**
*Camila Neves Campos***
*Sabrina Delapícula Serrão****
*Glória Almeida Soares*****
*Guaracilei Maciel Vidigal Jr******

RESUMO

A necessidade de reconstruções ósseas nas áreas médico-odontológicas proporcionou um avanço no estudo dos biomateriais. As características físico-químicas dos biomateriais desenvolvidos influenciam nos fenômenos biológicos que ocorrem no processo regenerativo. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi apresentar os resultados da caracterização físico-química de 12 biomateriais utilizados como enxertos ósseos na Implantodontia. A caracterização físico-química englobou análise granulométrica, microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios X (DRX), determinação da área superficial específica e cristalinidade das amostras. O resultado demonstrou que todas as amostras inorgânicas eram constituídas de hidroxiapatita, com diferentes faixas granulométricas, área de superfície variando de 0,18 a 81,4 m2/g e cristalinidade variando de baixa a alta, demonstrando que apesar da semelhança de suas composições, os biomateriais analisados apresentaram diferenças de parâmetros físico-químicos.

Unitermos - Enxerto ósseo; Propriedades físico-químicas; Biomateriais.

ABSTRACT

The need for bone reconstruction in the medical and dental field provided a breakthrough in the study of biomaterials. The physicochemical characteristics of biomaterials are developed directly targeting the biological phenomena occurring in the regenerative process. Therefore, the objective of this study was to present the results of physical-chemical characterization of twelve biomaterials used in Implantology. Physicochemical characterization was carried out by using electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), surface area (BET) measurement and crystallinity of samples. The result reported that all inorganic samples were constituted of hydroxyapatite, with different grain size bands, area of surface varying from 0.18 to 81.4 g/m2 with a low to high crystallinity, demonstrating that although presenting similar compositions, the analyzed biomaterials presents differences on their physicochemical parameters.

Key Words - *Bone grafts; Physical chemical properties, Biomaterials.*

* *Professor do curso de Mestrado em Implantologia Oral – Unigranrio – RJ.*
** *Mestranda em Implantologia Oral – Unigranrio – RJ.*
*** *Mestre em Implantologia Oral – Unigranrio – RJ.*
**** *Doutora em Engenharia e professora – Coppe/UFRJ.*
***** *Coordenador do curso de Mestrado em Implantologia Oral – Unigranrio – RJ.*

Introdução

A necessidade de reconstruções dos tecidos ósseos perdidos levou ao aprimoramento técnico[1-3] e ao avanço do estudo de biomateriais que pudessem substituir ou otimizar os procedimentos de enxertia[4-5]. Os enxertos ósseos podem ser obtidos de diferentes origens: autógeno (do mesmo indivíduo), alógeno (de indivíduos da mesma espécie), xenógenos (de espécies diferentes) ou aloplástico (sintético)[6].

O osso autógeno é considerado o biomaterial padrão ouro nas reconstruções ósseas por possuir propriedades osteogênicas, osteocondutoras e osteoindutoras, preenchendo todas as propriedades biológicas e físico-químicas ideais[7]. Porém, apresentam algumas desvantagens como trauma para o paciente, morbidade no leito doador, além de complicações como infecções, hematomas e parestesias[8].

Os enxertos alógenos representam uma opção alternativa ao osso autógeno, mas possuem limitações como alto custo, possibilidade de transmissibilidade viral e desencadear reações imunológicas[9]. Os enxertos xenógenos possuem características físico-químicas similares ao osso humano e recebem tratamentos adequados na tentativa de evitar respostas imunológicas ou inflamatórias adversas[10]. Além disto, apresenta padrões de reabsorção e degradação bastante lentos, onde se observa a ocorrência de neoformação óssea ao redor de suas partículas[11]. A hidroxiapatita bovina tem como exemplo o Bio-Oss, biomaterial que dispõe de vasta literatura científica ao longo dos anos[12-16].

Os biomateriais sintéticos, como os fosfatos de cálcio, podem apresentar propriedades físico-químicas controladas, sendo uma alternativa aos enxertos de outras origens[9]. Podem ser encontrados na natureza (nos corais) ou sintetizados por métodos de precipitação utilizando reagentes químicos[17]. Estes materiais devem garantir a formação de ligações estáveis com o osso neoformado com o passar do tempo[18]. As hidroxiapatitas (HA), o fosfato tricálcico e os biovidros são exemplos desta classe de materiais. A hidroxiapatita representa o componente inorgânico do tecido calcificado do corpo humano representando entre 30 e 70% da massa de ossos e dentes, respectivamente. A parte inorgânica do tecido ósseo consiste em uma fase amorfa e uma fase cristalina; a primeira sendo fosfato tricálcico, enquanto a última, hidroxiapatita. A fase amorfa predomina em ossos novos e é parcialmente transformada em fase cristalina com a idade[19]. A fórmula da hidroxiapatita estequiométrica é $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, com a razão molar Ca/P de 1:1,67[20]. Podem ser reabsorvíveis ou não reabsorvíveis, dependendo do grau de dissolução. O fato de existir semelhança dos cristais com a apatita óssea mineral permite crescimento e contato quando implantado no tecido ósseo[21]. Os fosfatos tricálcicos apresentam estrutura semelhante a HA e propriedades osteocondutoras, possuindo capacidade de ser reabsorvido por dissolução química[22].

As características físico-químicas como: tamanho das partículas, porosidade, cristalinidade e composição química, afetam o comportamento *in vivo* dos biomateriais[23-26]. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi apresentar as características físico-químicas de 12 biomateriais utilizados em enxertia óssea na Implantodontia.

Material

Foi realizada a caracterização físico-química de 12 biomateriais particulados, utilizados em enxertia óssea na Implantodontia. Os biomateriais estão descritos na Tabela 1.

Métodos

As seguintes propriedades foram analisadas: cristalinidade, porosidade, tamanho e morfologia das partículas, área de superfície e composição química.

- Tamanho de partículas – foi realizada a análise granulométrica, através do uso de peneiras com passagem de: 75, 125, 250, 350, 420, 600, 1.000 μm na rede da peneira (Telastem peneiras para análises Ltda).
- Morfologia das partículas – as amostras foram submetidas à microscopia eletrônica de varredura (Zeiss, modelo DSM 940 A). Foi utilizado aumento de 50 x.
- Área de superfície – foi utilizado o método de cálculo da área superficial específica pelo sorptômetro BET, através da absorção de nitrogênio em 77 K.
- Análise da composição química – foi utilizada difração de raios X através do difractômetro de raio X (DR-X Miniflex, Rigaku, Toquio, Jactam), operado em 30 Kv, 15 mA e radiação CuKα.

***TABELA 1** - BIOMATERIAIS E A CLASSIFICAÇÃO QUANTO À ORIGEM*

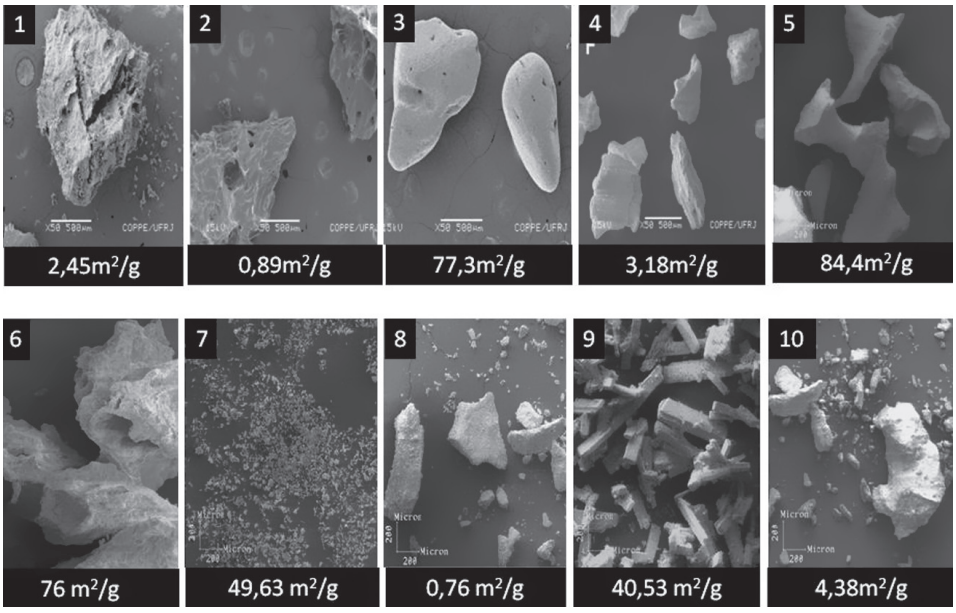
Biomateriais	Xenógenos	Aloplásticos	Alógeno
1) Genox composto	X		
2) Genox orgânico	X		
3) Genox inorgânico cortical	X		
4) Genox inorgânico medular	X		
5) Bio-oss	X		
6) Alobone poros		X	
7) Pro HA absorvível	X		
8) GenPhos absorvível		X	
9) Osteogen		X	
10) Pro HA não absorvível		X	
11) GenPhos não absorvível		X	
12) DFDBA Pacific Coast			X

- Percentual de fase cristalina – verificada através da metodologia[27], utilizando a fórmula Xc =1- (V112/300/ I300) X 100, onde: Xc é o índice de cristalinidade da amostra, V112/300 corresponde ao vale existente no espectro de raios X entre os planos (112 e 300) e I300 corresponde ao valor da intensidade do plano 300.

Resultados

O tamanho das partículas indicado pelos fabricantes e os resultados da análise são mostrados na Tabela 2.

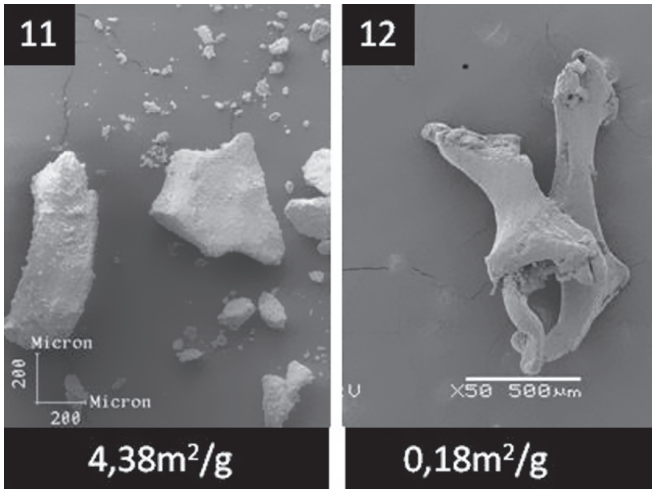
Conforme os dados da Tabela 2, a análise dos grânulos encontrou uma discrepância grande entre os biomateriais com o tamanho das partículas variando entre < 75μm a 1.000 μm, havendo discordâncias entre as informações dos fabricantes e os resultados encontrados. As Figuras 1 e 2 apresentam as micrografias dos 12 biomateriais de enxerto em um aumento de 50 x e a área de superfície das amostras, a numeração adotada na Tabela 1 foi utilizada para identificação dos biomateriais. Os valores da área superficial específica variaram entre 0,18% a 84,4%. O biomaterial GenPhos absorvível apresentou partículas de tamanhos entre 75 e 125 μm e com área



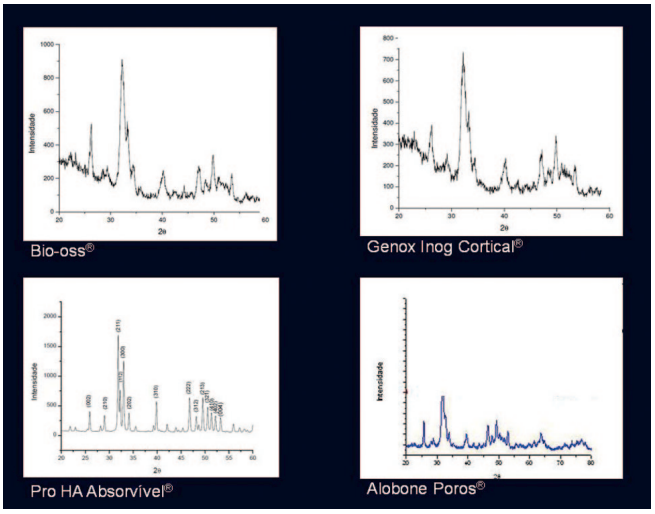
Figuras 1
Micrografia e área de superfície específica de dez dos 12 biomateriais analisados.

TABELA 2 - *FAIXA GRANULOMÉTRICA OBTIDA E A INFORMADA PELOS FABRICANTES*

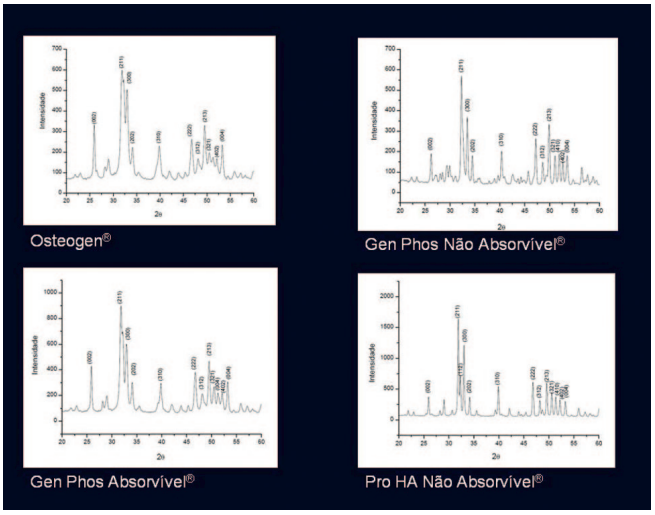
Biomateriais	Granulometria real µm	Granulometria fabricante µm
1) Genox composto	< 125 > 1.000	250 – 1.000
2) Genox orgânico	125 – 1.000	250 – 1.000
3) Genox inorgânico cortical	< 125 - 600	250 – 1.000
4) Genox inorgânico medular	< 150-600	250 – 1.000
5) Bio-Oss	250- > 600	250 – 1.000
6) Alobone poros	250 – 1.000	250 – 1.000
7) GenPhos absorvível	< 75 - 125	250 – 1.000
8) GenPhos não absorvível	250 - > 600	500 – 1.000
9) Osteogen	< 75 - 420	300 - 400
10) Pro HA absorvível	< 75 - 600	250 - 450
11) Pro HA não absorvível	< 75 - 600	250 - 450
12) DFDBA Pacific Coast	125 - 600	250 - 710



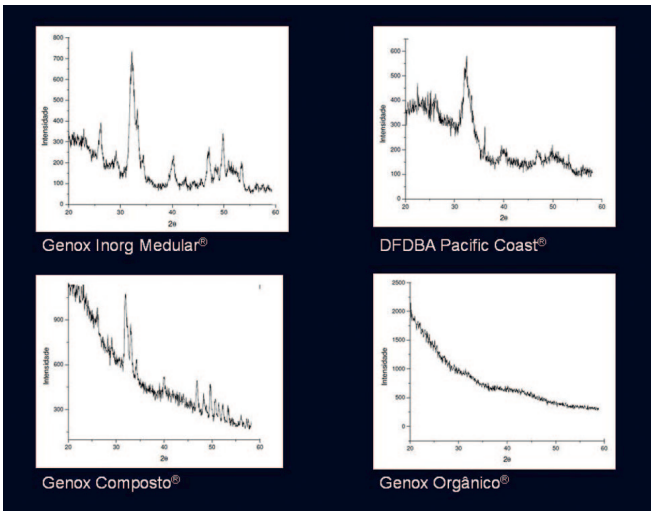
Figuras 2
Micrografia (aumento 50 X) e área de superfície de dois dos 12 biomateriais analisados.



Figuras 3
Diafratograma dos seguintes biomateriais: Bio-Oss, Genox Inorgânico cortical, Pro HA absorvível e Alobone poros.



Figuras 4
Diafratograma dos seguintes biomateriais: Osteogen, GenPhos não absorvível, GenPhos Absorvível e Pro HA não absorvível.



Figuras 5
Difratograma dos seguites biomateriais: Genox inorgânico medular, DFDBA Pacific coast, Genox composto, Genox orgânico.

de superfície específica alta (49,63 m2/g), o que indica um material com tendência de reabsorção elevada. Em contrapartida a amostra de Bio-Oss apresentou partículas entre 250 e 600 μm com área de superfície mais alta dentre as amostras (84,4 m2/g), o que provavelmente indica a presença de uma porosidade alta.

As Figuras 3 a 5 apresentam os difratogramas dos 12 biomateriais analisados. Com base no JCPDS-ICDD cartão 9-432, a presença dos picos principais referentes à hidroxiapatita pura sintética foi identificada nos seguintes biomateriais: Genox inorgânico cortical, Genox inorgânico medular, Bio-Oss, Alobone poros, Pro HA absorvível, Osteogen, Pro HA não absorvível, GenPhos absorvível, GenPhos não absorvível, Genox composto e o DFDBA Pacific Coast. O DFDBA Pacific Coast apresentou picos nos espectros referentes à fase inorgânica, embora seja comercializado como osso humano desmineralizado. O Genox orgânico não apresentou picos no espectro analisado por se tratar de material amorfo constituído de matriz orgânica com ausência da fase mineral.

Os percentuais de fase cristalina dos biomateriais, calculados com base nos dados obtidos nos difratogramas, são apresentados na Tabela 3. Os materiais foram distribuídos em três classes de acordo com os seguintes parâmetros para a classificação da cristalinidade: baixa, para valores menores que 20%; média, valores 20 a 60%; alta, valores maiores que 60%.

Os biomateriais altamente cristalinos, com tendência de serem pouco reabsorvíveis[25]: Genox inorgânico cortical, Genox inorgânico medular, GenPhos não absorvível, Pro HA

TABELA 3 - *ÍNDICE APROXIMADO DE CRISTALINIDADE DOS BIOMATERIAIS ANALISADOS*

Biomaterial	Cristalinidade %	Classificação
1) Genox composto	20 a 35	Média
2) Genox orgânico	-	-
3) Genox inorgânico cortical	> 70	Alta
4)Genox inorgânico medular	> 70	Alta
5) Bio-Oss	20 a 35	Média
6) Alobone poros	38	Média
7) GenPhos absorvível	57,4	Média
8) GenPhos não absorvível	89,1	Alta
9) Osteogen	20 a 35	Média
10) Pro HA absorvível	92,3	Alta
11) Pro HA não absorvível	92,3	Alta
12) DFDBA Pacific Coast	< 5	Baixa

Um biomaterial cristalino possui uma organização atômica bem definida, ao contrário de um material amorfo, que apresenta morfologia irregular[10]. Estruturas cristalinas são mais resistentes à alteração e à reabsorção em longo prazo e, por outro lado, os materiais que apresentam baixa cristalinidade são mais susceptíveis à decomposição em outras fases cristalinas[17]. A cristalinidade é uma propriedade que altera o índice de dissolução do biomaterial e é dependente da temperatura de sinterização[17].

absorvível e Pro HA não absorvível. O Osteogen, hidroxiapatita possui cristalinidade entre 20 a 35%. O Genox orgânico e o DFDBA Pacific Coast apresentaram baixa cristalinidade por se tratarem de materiais desmineralizados, apresentando assim uma tendência a reabsorção maior quando comparados aos demais biomateriais analisados. Embora os biomateriais Pro HA absorvível e Pro HA não absorvível sejam comercializados para finalidades diferentes, no que diz respeito a capacidade de ser reabsorvido, eles apresentam as mesmas características, se tratando, portanto, do mesmo biomaterial.

Discussão

O comportamento do material de enxerto particulado depende, em parte, do tamanho das partículas e da sua distribuição granulométrica. A área da superfície disponível para reagir com células e fluido biológico[9] é diretamente proporcional ao cubo do tamanho da partícula do biomaterial. Uma variação estreita no tamanho das partículas é crucial para a promoção da diferenciação celular através do material de enxerto, permitindo assim uma vascularização adequada[28]. A grande variação no tamanho entre as partículas tende a não deixar espaço residual, obstruindo a passagem de células e vasos, dificultando a reparação. Já, se existe pouca variação entre as partículas, a reabsorção será maior com a diminuição do tamanho delas; isto é, com o aumento da área superficial específica. Se materiais de composição química idêntica forem considerados, o material com partículas maiores permanecerá mais tempo no local implantado[10]. O tamanho das partículas, sua forma e a aspereza da superfície também podem afetar a adesão e a proliferação celular sobre o material[9].

A porosidade aumenta a área de superfície específica e melhora a conexão mecânica entre o biomaterial e o osso, promovendo melhor estabilidade mecânica na interface[29]. Dimensões adequadas de poros favorecem o entrelaçamento do tecido com o biomaterial. Poros com diâmetro 100 μm são necessários para a migração e o transporte celular; entretanto, poros maiores que 300 μm permitem o desenvolvimento de um sistema de capilares, favorecendo a neoformação óssea[30]. Sendo assim, a quantidade do osso formado é diretamente proporcional ao tamanho dos poros[27]. Os poros também aumentam a área de superfície do material, porém, quanto maior a porosidade mais rápida será a dissolução do enxerto[29]. A interconectividade dos poros também é de suma importância, já que vai permitir que os fluidos e as células se difundam no interior das partículas, fazendo com que haja uma facilitação no processo de formação óssea[5].

Um biomaterial cristalino possui uma organização atômica bem definida, ao contrário de um material amorfo, que apresenta morfologia irregular[10]. Estruturas cristalinas são mais resistentes à alteração e à reabsorção em longo prazo e, por outro lado, os materiais que apresentam baixa cristalinidade são mais susceptíveis à decomposição em outras fases cristalinas[17]. A cristalinidade é uma propriedade que altera o índice de dissolução do biomaterial e é dependente da temperatura de sinterização[17]. O uso de altas temperaturas (acima de 1.000°C) por um período de no mínimo seis horas, seguido de um resfriamento lento, durante o processo de síntese resulta na mais perfeita forma do cristal e com isso menor o grau de degradação[23].

Conclusão

Após a caracterização das propriedades físico-químicas dos 12 biomateriais utilizados em procedimentos de enxertia óssea, podemos concluir que os mesmos apresentam diferenças nas seguintes características: morfologia e tamanho das partículas, cristalinidade, área de superfície e porosi-

dade. Assim, devemos estar cientes que estas diferenças irão influenciar no comportamento biológico *in vivo* dos biomateriais após sua utilização.

Estudos devem ser direcionados para que estas características se provem eficazes na vida clínica, trazendo um enorme benefício para o mercado e a Odontologia nacional.

Recebido em: set/2009
Aprovado em: nov/2009

Endereço para correspondência:
Marcio Conz
conz@ig.com.br

Referências bibliográficas

1. Peleg M, Garg AK, Mazor Z. Predictability of simultaneous implant placement in the severely atrophic posterior maxilla: a 9-year longitudinal experience study of 2132 implants placed into 731 human sinus grafts. Int J Oral Maxillofac Implants 2006;21:94-102.
2. Simion M, Trisi P, Piatelli A. Vertical Ridge Augmentation Using Membrane Technique Associated with Osseointegrated Implants. Int J Periodontics Restorative Dent 1994;14:497-511.
3. Manso, MC. Instalação imediata de implantes em condições SA4 [tese]. Campinas: São Leopoldo Mandic; 2008.
4. Tadic D, Beckmann F, Schwarz K, Epple M. A novel method to produce hydroxyapatite objects with interconnecting porosity that avoids sintering.Biomaterials 2003;30:1-6.
5. Jones AC, Arns CH, Hutmacher DW, Milthorpe BK, Sheppard AP. The correlation of pore morphology, interconnectivity and physical properties of 3D ceramic scaffolds with bone ingrowth. Biomaterials 2009;30:1440-51.
6. Garofalo GS. Autogenous, allogenetic and xenogenetic grafts for maxillary sinus elevation: literature review, current status and prospects. Minerva Stomatol 2007;56:373-92.
7. Tadic D, Epple M. A thorough physicochemical characterization of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone. Biomaterials 2004;25:987-94.
8. Khoury F, Khoury C. Mandibular bone block grafts: Diagnosis, instrumentation, harvesting techniques and surgical procedures: Onlay bone grafts and 3D bone reconstructions. In: Khoury F, Antoun H, Missika P. Bone augmentation in Oral Implantology. Chicago: Quintessence Publishing; 2007.p.115-212.
9. Burg KJL, Porter S, Kellam JF. Biomaterial developments for bone tissue engineering. Biomaterials 2000;21:2347-59.
10. Misch CE. Biomateriais utilizados em implantes dentários. In: Misch CE. Implantes dentários contemporâneos. 2ª Ed. São Paulo: Ed. Santos; 2000.p.271-302.
11. Novaes AB. Procedimentos Cirúrgicos em Periodontia e Implantodontia. Artes Médicas 2004;5:89-105.
12. Su-Gwan K, Hak-Kyun K, Sung-Chul L. Combined implantation of particulate dentine, plaster of Paris and a bone xenograft (Bio-Oss) for bone regeneration in rats. J Cranio-Maxillofac Surg 2001;29:282-8.
13. Hammerle CHF, Chiantella GC, Karring T, Lang NP. The effect of a desproteinized bovine bone mineral on bone regeneration around titanium dental implants. Clin Oral Impl Res 1998;9:151-62.
14. Jonh HD, Wenz B. Histmorphometric analysis of natural bone mineral for maxillary sinus augmentation. Int J Oral maxillofac Implants 2004;19:199-207.
15. Norton MR, Odell EW, Thompson ID, Cook RJ. Efficacy of bovine bone mineral for alveolar augmentation: a human histologic study. Clin Oral Impl Res 2003;14:775-83.
16. Meijndert L, Raghoenbar MG, Schupbach P, Meijer HJA, Vissink A. Bone quantity at the implant site after reconstruction of a local defect of the maxillary anterior ridge with chin bone or deproteinised cancellous bovine bone. Int J Oral Maxillofac Surg 2005;34:877-84.
17. Aoki H. Medical application of hydroxyapatite. Tókio: Ishiyaku, Euro Americana; 1994.
18. Lynch SE, Genko R, Marx R. Grafiting materials in repair and restaurations. Tissue engineering application in maxillofacial surgery and periodontics. Quintessence 1999;5:93-112.
19. Brånemark P, Zarb G, Albrektsson T. Tissue-integrated prostheses: Osseointegration in Clinical Dentistry. Chicago-USA: Quintessence Publishing; 1985.
20. Fernandez E, Gil FJ, Ginebra MP. Calcium phosphate bone cement for clinical applications. Part II: Precipitate formation during setting reactions. J. Mater. Sci. Mater. Med 1999;10:169-76.
21. Misch CE, Dietsh F. Bone-grafting materials in implant dentistry. Implant Dent 1993;2:158-67.
22. Willians DF. Definition in biomaterials. Amsterdam Elsevier. Progress in biomedical engineering 1987.cap. 4.
23. Conz MB, Granjeiro JM, Soares GA. Physicochemical characterization of six commercial hydroxyapatites for medical-dental applications as bone graft. J Appl Oral Sci 2005;13(2):136-40.
24. Conz MB. Caracterização in vitro de grânulos de hidroxiapatitas comerciais utilizadas em enxertos ósseos [dissertação]. Rio de Janeiro: Faculdade de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2003.
25. Accorsi-Mendonça T, Conz MB, Barros TC, Sena LA, Soares GA, Granjeiro JM. Physicochemical characterization of two deproteineized bovine xenografts. Braz Oral Res 2008;22(1):5-10.
26. Dalapícula SS. Caracterização físico-química de biomateriais de enxerto ósseo de origem alógena e xenógena [dissertação]. Duque de Caxias: Faculdade de Odontologia, Universidade do Grande Rio Prof. Jose de Souza Herdy; 2007.
27. Landi L. Maxillary sinus floor elevation using a combination of DFDBA and bovine derived porous hydroxyapatite: a preliminary histologic and histomorphometric report. Int. J. Periodont. Res. Dent 2000;20(6):574-83.
28. Ducheyne P, Qiu Q. Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. Biomaterials 1999;20(23-24):2287-303.
29. Karageorgiu V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. Biomaterials 2005;26;5474-91.
30. Werner J, Linner B, Friess W, Greil P. Mechanical properties and in vivo cell compatibility of hydroxyapatite ceramics with graded pore structure. Biomaterials 2002;23:4285-94.