



AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL E SUA INFLUÊNCIA NA BIOATIVIDADE *in vitro* EM VIDROS BIOATIVOS

Vitória Tsuyaco Tsuzuki Hosoda (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Victoria Hellen de Souza Gonzaga, Francielle Sato (Orientadora), Mariana Sversut Gibin (Coorientadora). E-mail: fsato@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra / Física

Palavras-chave: Vidro bioativo; Rugosidade da superfície; Bioatividade.

RESUMO

Neste trabalho foram produzidos vidros bioativos do sistema Boro-Cálcio-Sódio com e sem a adição de Nb_2O_5 . As superfícies dos vidros foram tratadas com lixas de três granulometrias diferentes: 600G, 1500G e 2500G, e as amostras submetidas ao teste bioatividade *in vitro*, pela imersão em SBF (*Simulated Body Fluid*), durante 0,7; 2; 5 e 7 dias, com o objetivo de avaliar a influência da rugosidade superficial na bioatividade. Paralelamente, foi avaliado a contribuição do Nb_2O_5 no sistema vítreo, sendo adicionado 5 e 10% em massa. Para análise da rugosidade, antes da imersão, foi utilizada a microscopia de força atômica. Nos períodos pós imersão foram avaliados a variação de pH da solução de imersão, bem como, a variação das massas e características espectrais por espectroscopia Raman das amostras. Os resultados mostraram que o grau de rugosidade utilizado não influenciou na bioatividade dos vidros. Em função da adição de Nb_2O_5 a amostra com 5% foi a que apresentou mais indicativos de formação de camada apatítica, ou seja, exibe uma melhora na bioatividade.

INTRODUÇÃO

O grupo de biomateriais descritos como vidros bioativos têm sido desenvolvidos a fim estabelecer interações benéficas com tecidos biológicos, como ossos e tecidos moles, sendo assim devem ser biocompatíveis e atóxicos. As propriedades bioativas desses vidros geralmente envolvem a capacidade de formar uma ligação química com os tecidos vivos. Para averiguar tal capacidade, é realizado testes de bioatividade *in vitro*, dessa forma o vidro bioativo entra em contato com o meio de imersão, tais como soluções tamponadas ou simulador de fluido corporal (SBF), ocorrem trocas iônicas entre o meio e o vidro, estimulando a formação de uma camada apatítica sobre sua superfície. Essa camada é um indicativo de que o material é capaz de promover a adesão das células e consequentemente, a regeneração do tecido ósseo ao redor do implante, sem causar efeitos adversos como inflamações, sendo esse um parâmetro para avaliação da bioatividade de um biomaterial KOKUBO *et al.*, 2006). Nos ensaios de



bioatividade *in vitro*, o grau de rugosidade superficial de um biomaterial pode ser um parâmetro significativo na formação da camada apatítica, e assim na interação com o tecido ósseo. A rugosidade refere-se à textura da superfície de um material, incluindo irregularidades, sulcos, elevações e outras características microscópicas que podem afetar como as células e os tecidos interagem com o material (KARGOZAR *et al.*, 2019). Ademais, há a busca por novas composições de vidros bioativos, visando melhorar a interação entre dispositivos médicos e os sistemas biológicos nos quais são implantados.

Os vidros bioativos de borato são altamente reativos em SBF, promovendo tempos mais curtos para o início da camada apatítica, porém devido à alta solubilidade suas aplicações, geralmente, restringem-se à forma de pó. Desta forma, a adição de Pentóxido de Nióbio (Nb_2O_5) poderia promover reforço mecânico ao vidro de borato. Cabe ressaltar, que a adição de Nb_2O_5 não causa toxicidade ao biomaterial. Estes dois importantes pontos de estudos na área de biomateriais: rugosidade superficial e composição, motivou o desenvolvimento deste projeto, para avaliar suas influências sobre a resposta de bioatividade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Por meio do método de fusão e resfriamento foram produzidas as composições vítreas $60B_2O_3-(19-x)CaO-(19-x)Na_2O-2P_2O_5-2xNb_2O_5$, com $x = 0; 2,5$ e 5 , nominadas 0Nb, 5Nb e 10Nb e o *Bioglass®* (45S5): $45SiO_2-24,5CaO-24,5Na_2O-6P_2O_5$. Em seguida as amostras foram cortadas em discos e suas superfícies foram submetidas a um tratamento de polimento com lixas de diferentes granulometrias: 600G, 1500G e 2500G. Os grupos experimentais são descritos pela concentração Nb_2O_5 seguido da granulometria da lixa: 0Nb600G, 0Nb1500G, 0Nb2500G; 5Nb600G, 5Nb1500G, 5Nb2500G; 10Nb600G, 10Nb1500G, 10Nb2500G; e 45S5600G, 45S51500G e 45S52500G.

Para o ensaio de bioatividade *in vitro*, discos de cada grupo experimental foram fracionados em 4 pedaços iguais, e cada fragmento foi condicionado em tubo plásticos com 6,6 ml de SBF, mantida a $36,5^{\circ}C$ durante 16 horas (0,7 dias) e 2, 5 e 7 dias. Após cada período de imersão foram coletados os dados de pH das soluções e as massas de cada amostra aferidas antes e após as imersões. O SBF foi preparado de acordo com o protocolo estabelecido por Kokubo e Takadama (KOKUBO *et al.*, 2006).

As amostras antes e após imersão em SBF foram medidas por Espectroscopia Raman (μ -Raman) utilizando um microscópio Raman confocal da Bruker (Senterra I), com excitação em 532nm com 20mW, sendo cada espectro uma média de 3 medidas, e cada medida de 30 varreduras, 5s de integração e resolução $1cm^{-1}$, num intervalo espectral de 1800 a $4 cm^{-1}$. Foram obtidas imagens topográficas das amostras 0Nb600G, 0Nb1500G e 0Nb2500G, numa área de $30 \times 30 \mu m^2$, antes de imersão em SBF, por Microscopia de Força Atômica (AFM) utilizando um microscópio equipado com cantilever da Shimadzu (SPM-9700). Ambos os equipamentos são pertencentes ao COMCAP-UEM.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a imagem topográfica em 3D da superfície do vidro 0Nb, sem imersão, para os diferentes tratamentos obtidos por AFM. Nota-se que a utilização de diferentes polimentos ((a) 0Nb600G, (b) 0Nb1500G e (c) 0Nb2500G) provocou diferentes alterações nas superfícies das amostras. Além disso, foi possível obter o perfil topográfico para cada tratamento, sendo de 0,80, 0,72 e 0,50 μm para 0Nb600G, 0Nb1500G e 0Nb2500G, respectivamente. A superfície tratada com a lixa de 2500G possui menor rugosidade, conforme o esperado.

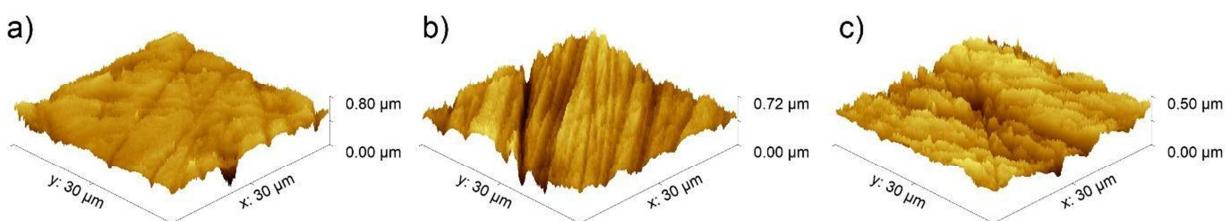


Figura 1 - Imagem topográfica em 3D da superfície do vidro (a) 0Nb600G, (b) 0Nb1500G e (c) 0Nb2500G.

Os espectros Raman foram coletados antes e após imersão em SBF. Antes da imersão em SBF, as bandas Raman em 1450, 1104, 769 e 522 cm^{-1} podem ser associadas a unidades de BO_3 e BO_4 , que correspondem a unidades básicas dos vidros de borato (0Nb), e suas conformações em superestruturas. As bandas em 1002 e 949 cm^{-1} foram atribuídas as ligações P-O (YADAV *et al.*, 2015). Dopando os vidros borato com Nb_2O_5 (5Nb e 10Nb) destaca-se o surgimento da banda associada as ligações Nb-O-P-Nb-O em 860 cm^{-1} (SIRLETO *et al.*, 2009). Para o vidro silicato 45S5 as bandas centradas em 992, 869 e 632 cm^{-1} são vibrações de ligações de Si-O-Si e em 952 cm^{-1} dos estiramentos simétricos de PO_4 (BELLUCI *et al.* 2011).

Após a imersão, observa-se o estreitamento da banda em $\sim 960 \text{ cm}^{-1}$, referente ao modo de vibração $\nu_1 \text{PO}_4^{3-}$, que é um indicativo de formação e cristalização da camada apatítica. Essa banda é mais evidente na amostra 45S5, vidro bioativo padrão para este estudo, e observada nas amostras 0Nb e 5Nb. Outra banda que indica a formação da camada é a banda em 1081 cm^{-1} , associada ao carbonato, característica do fosfato de cálcio amorfo. Já na amostra 10Nb não foi possível observar a presença destas bandas. Os diferentes graus de rugosidade nas superfícies das amostras não influenciaram na formação da camada apatítica neste estudo.

A perda de massa e o potencial hidrogeniônico em função do tempo de imersão, para cada composição dos vidros bioativos, mostrou maior variação até 2 dias de imersão, para os vidros borato comparado ao 45S5, e ambos tendem a um regime estacionário após este período. Entretanto com a adição de Nb_2O_5 , a amostra 10Nb apresentou um comportamento mais linear, enquanto as demais amostras tendem a ser exponencial. Com relação a rugosidade, não foram



observadas diferenças estatisticamente significativas em função do tempo de imersão.

CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos, pôde-se confirmar a bioatividade dos vidros produzidos pela tendência de formação de camada apatítica, com exceção do vidro bioativo com maior quantidade de nióbio. Ainda, os tratamentos realizados provocaram mudanças na superfície da amostra, mas não o suficiente para influenciar na bioatividade, visto a baixa variação comparando os dados de diferentes tratamentos superficiais em relação aos dados de pH e perda de massa.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, COMCAP, Fundação Araucária, UEM e ao GEOPT-UEM.

REFERÊNCIAS

- KOKUBO, T. e TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials**, v.27, p. 2907-2915, set/jan. 2006.
- KARGOZAR, S. et al. Functionalization and Surface Modifications of Bioactive Glasses (BGs): Tailoring of the Biological Response Working on the Outermost Surface Layer. **Materials**, v.12, p. 3696, out/nov. 2019.
- YADAV, A. K. e SINGH. P. A review of the structures of oxides glasses by Raman spectroscopy. **RSC advances**, v. 5, p. 67583-67609, jul. 2015.
- SIRLETO et al. Raman gain in niobium-phosphate glasses. **Applied Physics Letters**, v. 94, p. 031105, nov/dez. 2009.
- BELLUCCI, D. et al. In situ Raman spectroscopy investigation of bioactive glass reactivity: Simulated body fluid solution vs TRIS-buffered solution. **Materials characterization**, v. 62, p. 1021-1028, mai/jul. 2011.