

ANÁLISE DO TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE BIOMIMÉTICO EM SUPORTES POROSOS DE TITÂNIO SINTERIZADO PELA TECNOLOGIA DMLS

J. S. Bastos¹, A. Jardini², A. L. R. Rangel¹, A. P. R. A. Claro¹

¹UNESP - Univ. Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá, Guaratinguetá, São Paulo

²Unicamp – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo
e-mail: keca78@yahoo.com.br

Resumo: Nos últimos anos, implantes metálicos foram empregados para substituição de partes do corpo humano resultando no estudo de novos materiais para essas aplicações. A proposta desse estudo é avaliar a superfície de suportes de titânio porosos após tratamento de superfície para incorporação de medicamentos. Os suportes foram processados empregando a técnica de sinterização direta de metal a laser (DMLS) e sinterizados em forno a vácuo por 24 horas. As amostras foram imersas em solução formada por NaOH (5M) a 60°C por 24 horas e lavadas em água destilada. Em seguida, foram imersas em solução formada por SBF (Fluido Corporal Simulado) e alendronato de sódio durante 5 dias para a incorporação do medicamento. As superfícies dos suportes foram avaliadas após cada etapa empregando MEV, difração de raios-X e ângulo de contato. Os resultados sugerem que o tratamento empregado para a incorporação do medicamento pode ser empregado para a obtenção de uma camada uniforme de apatita e alendronato de sódio.

Palavras-chave: tratamento de superfície, suportes de regeneração óssea, titânio.

Abstract: *Over the last few years, metallic implants have been used for replacing parts of the human body resulting in the study of the new materials for these applications. The purpose of this study was to evaluate in vitro porous titanium scaffolds after surface treatment with drug incorporation. Scaffolds were made by using DMLS (Direct Melting Laser Sintering) technique and sintered in vacuum furnace for 24 hours at 900 °C. Samples were immersed in 5 M NaOH solution for 24 h at 60 °C and washed with distilled water. Then, they were immersed in solution formed by SBF solution and sodium alendronate for 5 days for drug incorporation. The scaffolds surfaces were evaluated after each step by scanning electron microscopy (SEM), contact angle and XDR. The results suggest that the method utilized for drug incorporation can be applied to obtain deposition of uniform coatings of crystalline hydroxyapatite and sodium alendronate.*

Keywords: *surface treatment, scaffolds, titanium/*

Introdução

Titânio e suas ligas são empregados na fabricação de materiais para aplicações biomédicas como próteses e implantes devido às suas excelentes propriedades mecânicas quando comparado a outros materiais metálicos como aço inoxidável e cobalto-cromo. Também é comum o emprego de titânio na fabricação de suportes de regeneração óssea porosos buscando minimizar o efeito associado a diferença de valores entre o módulo de elasticidade do osso e metal (*mismatch*) em locais com baixa sollicitação mecânica [1-2].

Outra característica desses materiais é sua camada de óxido que lhe confere excelente resistência à corrosão e biocompatibilidade. Entretanto estes materiais são bioinertes, ou seja, quando inseridos no meio biológico não apresentam interação química. Técnicas de modificação de superfície, como aspersão por plasma spray, métodos sol-gel, deposição eletroquímica e eletroforese, pode ser empregados para alterar essa resposta. Dentre os métodos existentes, o recobrimento biomimético é uma técnica que apresenta diversas vantagens como: baixo custo, capacidade de recobrimento em superfícies porosas e com a geometria complexa [3].

A partir do exposto, baseado em estudos anteriores [4] o presente trabalho buscou avaliar a superfície de suportes de regeneração óssea de titânio obtido a partir da técnica de sinterização a laser após a incorporação de medicamento empregando tratamento de superfície biomimético.

Materiais e métodos

A fabricação dos suportes porosos de titânio foi produzida pelo equipamento de Sinterização Direta de Metais por Laser (M270, EOS), no Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Biofabricação (Biofabris), Unicamp, o qual permitiu a produção dos suportes a partir do titânio em pó.

Para efetuar a avaliação entre os suportes porosos de titânio quanto suas propriedades as amostras foram divididas em cinco grupos:

Grupo 1 (G1) – Suporte (produzido DMLS);

Grupo 2 (G2) – Suporte (DMLS) e tratamento Térmico;

Grupo 3 (G3) – Suporte (DMLS) e tratamento Térmico e imersão aquosa de NaOH;

Grupo 4 (G4) – Suporte (DMLS) e tratamento Térmico e imersão aquosa de NaOH e SBF 5x;

Grupo 5 (G5) – Suporte (DMLS) e tratamento Térmico e imersão aquosa de NaOH, SBF 5x e alendronato de sódio.

Para os grupos G2, G3, G4 e G5, os suportes porosos foram levados ao forno tubular a vácuo por 12h a 1000°C com taxa de aquecimento de 10°C/min. O resfriamento amostras foi realizado dentro do forno.

O tratamento de superfície biomimético dos suportes foi realizado baseado na literatura do titânio puro [3].

As amostras foram imersas em uma solução aquosa de NaOH a 10 Mol/L em um banho termostatzado a 60°C por 24 horas. Em seguida foram lavadas com água deionizada e colocadas na estufa a 40°C por 24 horas. Após a secagem foram submetidas ao forno à temperatura de 300°C por 1 hora. Ao serem retiradas do forno foram colocadas no tubo de Falcon e imersas em 30ml de SBF5x e submetidas à mesa agitadora programada em 200rpm, 36,5°C por 24 horas. Novamente, secas em estufa a 40°C por 24 horas e posteriormente mergulhadas em 30 ml de alendronato de sódio em SBF5x (4g/litro), agitadas a 40 rpm, 36,5°C por 5 dias. E novamente secas em estufa a 40°C por 24 horas.

A superfície das amostras forma avaliadas após cada etapa empregando análise por difração de raios-X (Difratômetro Empyrean, Panalytical), microscopia eletrônica de varredura (XL 30 – FEG) e ângulo de contato (Kruss, DAS 100E).

Resultados

Na Figura 1 é possível observar os espectros obtidos após a análise de difração de raios X. Em todas as amostras avaliadas se observou os picos característicos do Ti CP, ainda que a intensidade de tais picos esteja diminuída no último grupo. Este fato pode ser explicado pela incorporação bem sucedida do alendronato de sódio, pois o filme formado pelo medicamento cobre a superfície, diminuindo os picos do substrato e revelando seus próprios picos identificadores, também destacados na Figura 1. Não foi possível observar a formação da apatita após a realização do tratamento de superfície biomimético, porém, após a imersão em SBF e medicamento picos característicos de fósforo foram observados.

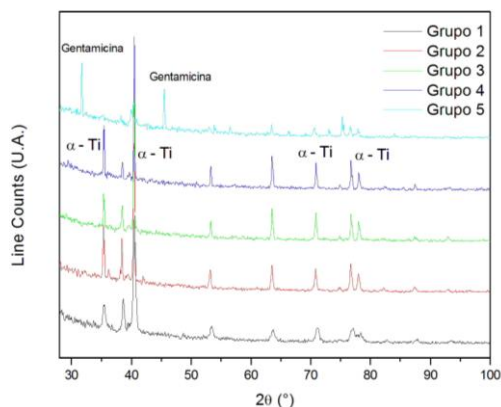


Figura 1 – Espectros obtidos após a análise por difração de raios-X

A morfologia dos poros das amostras avaliadas pode ser visualizada na Figura 2. O tamanho dos poros foi em média de 300 a 500nm.

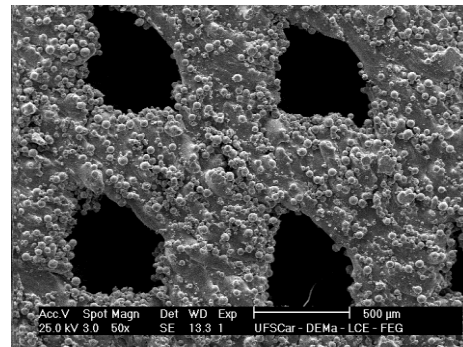
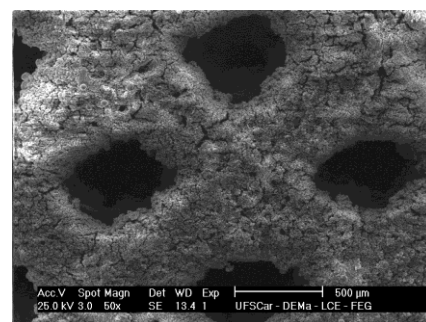


Figura 2 - Detalhe da morfologia dos poros das amostras avaliadas nesse estudo.

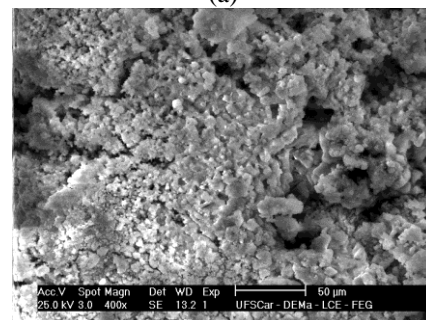
Após a realização do tratamento de superfície biomimético em solução SBF 5X se observou a formação da apatita conforme pode ser observada na Figura 3.

Após a imersão por cinco dias em solução formada por SBF 5X e alendronato de sódio se observa a formação de uma camada homogênea recobrendo toda a superfície com a presença de fósforo em toda a amostra (Figura 4). Existe uma levada afinidade com os compostos Ca a incorporação da droga dentro da estrutura CaP leva a rearranjos dimensionais[5].

A alteração na superfície levou a modificação do ângulo de contato, conforme a Tabela 1. Para as amostras do grupo controle se observou o comportamento hidrofóbico (Figura 5) sendo que o comportamento superhidrofílico foi verificado para todos os outros grupos com ângulo de contato equivalente a zero.



(a)



(b)

Figura 3 – (a) Superfície do suporte após imersão em SBF 5x (3dias); (b) detalhe da formação da apatita.

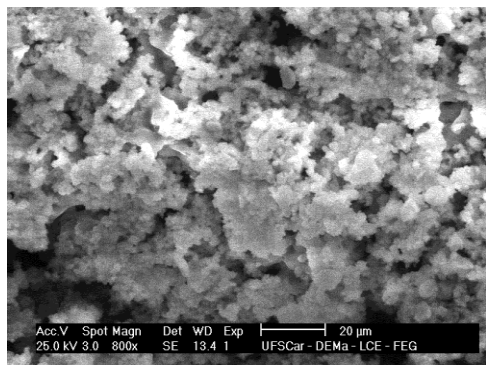


Figura 4 – Aspecto da superfície da amostra após imersão em SBF 5x e alendronato de sódio.

Tabela 1 – Ângulo de contato

Grupos	Valores dos ângulos de Contato
G1	118°
G2	0°
G3	0°
G4	0°
G5	0°

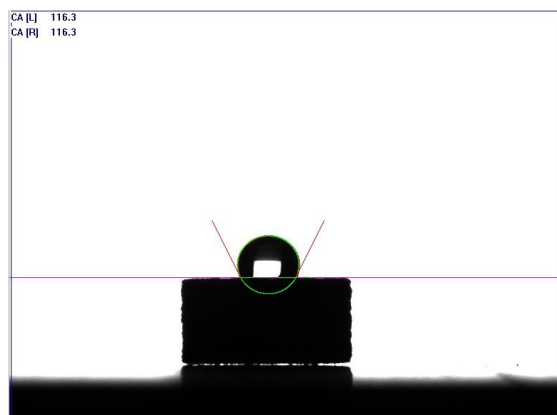


Figura 5 – Aspecto da gota obtida após medida do ângulo de contato na amostra do Grupo 1.

Discussão

O presente trabalho avaliou a superfícies de suportes de regeneração óssea após tratamento de superfície biomimético associado à incorporação de medicamentos. A realização do tratamento de superfície biomimético com imersão em SBF5x levou à formação de apatita em toda a superfície. Resultado similar foi verificado na literatura para amostras densas de Ti CP [6-7].

A imersão das amostras em solução formada por SBF5x e alendronato de sódio possibilitou a incorporação e imobilização do medicamento conforme pode ser observado na análise por difração de raios-X.

Com a medida de ângulo de contato foi possível verificar que todos os tratamentos de superfície alteraram a hidrofobicidade do material se verificando a presença

de comportamento superhidrofílico em todos os casos, ideal para o crescimento celular [8].

Dessa forma se verifica o potencial da associação dos tratamentos de superfície aos suportes de regeneração óssea. Superfícies hidrofílicas e com medicamentos incorporados podem acelerar o processo de regeneração óssea.

Conclusão

A partir da realização deste trabalho se verificou que é possível associar o tratamento de superfície biomimético usando incorporação de medicamentos a suportes de regeneração óssea confeccionados em Ti CP.

Com isso se estima que é possível aumentar a osseointegração sendo que estudos in vivo estão sendo realizados buscando avaliar esta proposta.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao auxílio financeiro do CNPq 301170/2013-4.

Referências

- [1] Sargeant TD, Oppenheimer SM, Dunand DC and Stupp SI. Titanium foam-bioactive nanofiber hybrids for bone regeneration. *Journal Tissue Eng Regen Med.* 2008 Dec; 2(8):455-62.
- [2] Ryan G, Pandit A, Apatsidis DP. Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications. *Biomaterials.* 2006 May; 27(13):2651-70.
- [3] Escada ALA, Jr Rodrigues D, Machado JPB, Alves Claro APR. Surface Characterization of Ti-7.5Mo alloy modified by biomimetic method. *Surface and Coatings Technology.* 2010 October: 383-387.
- [4] Alves Claro APR, Oliveira JAG, Escada ALA, Carvalho LMF, Quirino Louzada MJ, Alves Rezende MCR. Histological Analysis of the Osseointegration of Ti-30Ta Dental Implants After Surface Treatment. *Characterization and Development of Biosystems and Biomaterials. Advanced Structured Materials Volume 29,* 2013, pp 175-181.
- [5] Carvalho LMF. Avaliação de implantes dentários de liga experimental Ti-30Ta após tratamento de superfície biomimético e imobilização com bisfosfato. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá. 2013. 69p. Dissertação (mestrado).
- [6] Jonášová L, Müller FA, Helebrant A, Strnad J, Greil P. Biomimetic apatite formation on chemically treated titanium. *Biomaterials* 25 (2004) 1187–1194.
- [7] Yousefpour M, Afshara A, Chen J, Xingdong Z. Bioactive layer formation on alkaline-acid treated titanium insimulated body fluid. Department of Material

Science and Engineering, Sharif University of Technology, Tehran, Iran; National Engineering Research Center in Biomaterials, Sichuan University, Chengdu, ChinaMaterials& Design 28 (2007) 2154–2159.

[8] Capellato P, Escada ALA, Popat KC, Claro AP. Interaction between mesenchymal stem cells and Ti-30Ta alloy after surface treatment. *J Biomed Mater Res A*. 2014 Jul;102(7):2147-56.