

OTIMIZAÇÃO NA PREPARAÇÃO DE RECOBRIMENTOS DE HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

Denny Nakagawa¹, Rômulo Bustamante², Johnny Vilcarromero Lopez³

¹ Mestrando em Bioengenharia pela UNIVAP-Universidade do Vale do Paraíba, Rua Afonso César de Siqueira, 287 apto 103, Vila Jaci - 12243-710 - São José dos Campos-SP e-mail : nakagawa@directnet.com.br

² Colaboradores do projeto, Laboratório de Biomateriais e Biodispositivos – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP, Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, 12244-000 – São José dos Campos – SP.

³ Professor Orientador, Laboratório de Biomateriais e Biodispositivos – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP, Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, 12244-000 – São José dos Campos – SP email : jvlopez@univap.br

Palavras-chave: Biomateriais, recobrimentos, biocompatibilidade.

Área do Conhecimento: Bioengenharia

Resumo- O estudo de recobrimentos sobre implantes tem aumentando recentemente a sua atenção devido a grande versatilidade e boa biocompatibilidade que estas oferecem. Neste trabalho estamos apresentando o resultado da preparação de recobrimentos de fosfato de cálcio na forma de filmes finos, utilizando a técnica de deposição *rf-magnetron sputtering*, sobre diferentes substratos. A preparação de filmes finos por esta técnica possui diferentes parâmetros de deposição, tais como potência de radiofrequência, temperatura do substrato, pressão total na câmara de deposição. Dependendo do conjunto de parâmetros utilizados podem-se obter amostras com diferentes conteúdos de Ca e P, como também diferentes tipos de estruturas que variam de poli-cristalinas até amorfas. Amostras de fosfato de cálcio com razão de Ca/P de 1.7 (próximo da hidroxiapatita) foram preparadas sobre substratos de Silício e Titânio a fim de ser estudar a sua estrutura, morfologia e posteriormente a sua biocompatibilidade.

Introdução

Fixadores de todos os tipos tais como os de *Ilizarov*, fixadores internos, pinos, placas e hastes das mais variadas ligas metálicas e muitas outras peças compõem uma gama de novos materiais que apresentam melhores condições de atuação nas patologias traumato-ortopédicas, permitindo remodelamento, alongamento, correção de fraturas e deformidades ósseas se comparadas aos processos mais conhecidos de imobilização com talas e gesso [01]. Entretanto, DEJONG, 2001, afirma que infecções nestes locais por onde temos a interface do material metálico e os tecidos do corpo humano, principalmente nos que têm contato com o meio externo, são complicações comuns [02]. Após a instalação de implantes endósseos, existem três possíveis respostas que podem ocorrer nos tecidos do hospedeiro. Primeiro, um processo inflamatório agudo ou crônico que pode resultar na perda precoce do implante. Segundo, uma encapsulação por tecido conjuntivo fibroso,

resultando em falha da ancoragem óssea. Terceiro, a resposta mais positiva, a formação de um tecido ósseo vivo em torno do implante, de forma previsível e duradoura, estabelecendo um contato mecânico que resulta na ancoragem do implante, denominada osteointegração [03].

Para que se tenha uma resposta mais positiva em relação ao implante, já se utilizam implantes na qual a subestrutura de titânio ou liga de titânio é recoberta por uma fina camada de fosfato de cálcio cerâmico ou hidroxiapatita, que são aplicados por uma técnica de spray de plasma. O fosfato tricálcio e a hidroxiapatita conferem ao implante uma superfície bioativa, que promove o crescimento ósseo, induzindo a uma união direta entre o implante e o tecido ósseo. Este fenômeno denomina-se biointegração [04].

Neste estudo, variamos um conjunto de parâmetros de deposição, utilizados na técnica de *rf-magnetron sputtering*, para obtermos uma interface de recobrimento em substratos diversos na característica de uma cerâmica bioativa, mais próxima possível da estrutura e razão molar da

hidroxiapatita que é de 1,67 para a hidroxiapatita pura.

Materiais e Métodos

Neste estudo foi definido por se utilizar recobrimentos de hidroxiapatita, preparados utilizando a técnica de *rf-magnetron sputtering*, pois esta técnica garante uma melhora na força de adesão entre substrato, em especial a hidroxiapatita, e recobrimento, com alta cristalinidade e alto poder de resistência às soluções de fluídos corpóreos, se comparados às técnicas de recobrimento por deposição pulsada a laser, *ion sputtering*, e outras [05].

Substratos de titânio puro comerciais, dos resíduos de peças utilizadas na indústria aeronáutica da Embraer, placas de silício, os quais foram recortados em formato de placas quadradas de 10mm e espessura de 1mm. Estes foram utilizados nas diferentes caracterizações realizadas sobre estes recobrimentos, estudos de morfologia, estrutura e posteriormente a sua biocompatibilidade.

O procedimento de limpeza das peças inicia-se com uma pré lavagem com detergente neutro para remoção das gorduras e resíduos mais grossos que possam ter vindo com as peças em seu manuseio; são depositadas em um agitador ultra-sônico à temperatura de 45°C em acetona (CH_3COCH_3) $M=58,08$ g/mol, por 10 minutos, e em seguida mais 10 minutos em agitador ultra-sônico à temperatura de 45°C em etanol absoluto ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) $M=46,07$ g/mol. Repete-se a limpeza das peças em acetona e etanol absoluto.

A câmara de deposição da Kurt J. Lesker é mantida antes do procedimento de *sputtering* em uma pressão base em pré vácuo menor a 1.0×10^{-6} mbar. Uma análise dos gases residuais presentes na atmosfera é realizada utilizando um quadrupolo ou RGA (*residual gás analyzer*) da *Acquad modelo ECU 9313* que analisa os elementos presentes, normalmente elementos presentes no ar, tais como água, nitrogênio, e vapor de óleo da bomba mecânica, indicando a presença de aproximadamente 60 % de água na atmosfera da câmara.

Após o análise do pré-vácuo, procede-se a introduzir o gás argônio como gás de arraste e para a geração do plasma utilizado para o bombardeamento do alvo. Neste trabalho foram utilizados alvos de hidroxiapatita (HA), que consiste numa bolacha de 3 polegadas de HA prensado a 20 toneladas e sinterizado em 700 °C. Existem diferentes parâmetros de preparação macroscópicos que podem ser controlados no sistema de *rf-magnetron sputtering*, assim temos, a pressão total na câmara de deposição, a

temperatura do substrato, a potência de radiofrequência utilizada para gerar o plasma, etc.

A pressão de trabalho ou pressão total na câmara de deposição é controlada por dois dispositivos da Edwards: um *Active Gauge Controller* e um controlador de fluxo *Model 1501 Controller*; que trabalham o primeiro com um pirani e o segundo com uma membrana capacitiva, obtendo desta forma com o segundo a pressão absoluta na câmara. O sistema gerador de radiofrequência trabalha em 13.56 Mhz, e pode variar a potência de 0 até 600 W, é um sistema da Advance Energy modelo rfx-600, que tem acoplado um sistema automático de caçador de impedância que otimiza ao máximo a entrada da potência utilizada. No controle de temperatura do substrato foi utilizado um sistema da Neocera Inc, que permite o controle da temperatura que varia da temperatura ambiente até 800 °C com uma precisão em torno de 1 °C.

Na preparação dos recobrimentos de HA foram fixados os seguintes parâmetros de deposição: i) 300 W de potência de radiofrequência, ii) 50 °C temperatura dos substratos utilizados, iii) pressão total na câmara de deposição em 8×10^{-3} mbar. iv) tempo de deposição de 90 min.

As medidas de Microscopia Eletrônica de Varredura foram realizadas com uma energia de 20 KV em varias magnificações num equipamento da Joel modelo 5310. Neste mesmo equipamento foram obtidas medidas de espectroscopia de dispersão eletrônica (EDS) a fim de obter a composição dos filmes. A estrutura dos filmes foi estudada utilizando espectroscopia de transmissão no infravermelho na faixa de 400 até 4000 cm^{-1} num equipamento da Perkin Elmer e espectroscopia Raman na faixa de 200 até 2100 cm^{-1} , com 5 scan de 30 segundos cada num equipamento da Renishaw.

Resultados e discussões

Existem diversos métodos de recobrimentos em metais como o titânio e suas ligas, métodos tais como íon sputtering, plasma spray, sol-gel, eletrólise e biomiméticos; cada um com suas características próprias e, portanto com suas vantagens e desvantagens [06], que ainda não foram testadas e comprovadas sua eficácia, porém, em se tratando de biomateriais, temos que ter a consciência de que o sucesso deste no corpo depende do conhecimento detalhado de fatores tais como as propriedades do material, design e biocompatibilidade do material usado, assim como outros fatores não exatamente controlados pelos cientistas.

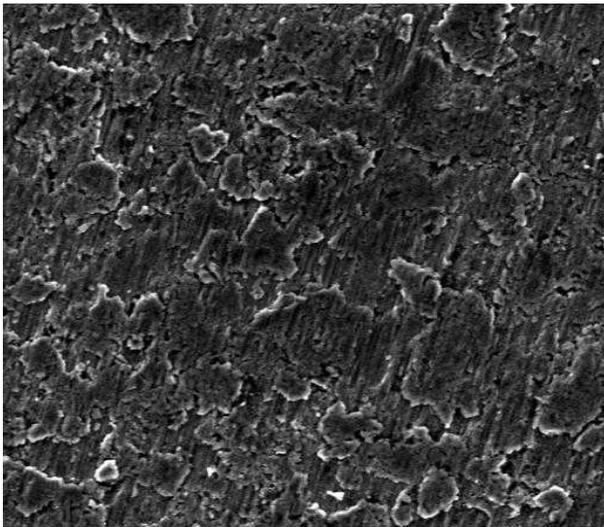


Figura 01: Foto obtida com Microscopia eletrônica de varredura de substrato de Titânio sem recobrimentos (padrão), magnificação: 1000 x

As apatitas biológicas diferem da composição da HA pura nos tamanhos de cristais, morfologia e estequiometria, portanto no processo de recobrimento das finas camadas de filme, temos que nos assegurar da proximidade da estrutura formada sobre o substrato se aproxime ao máximo da estrutura já conhecida em termos de bioatividade que tem a hidroxiapatita e fosfato de cálcio.

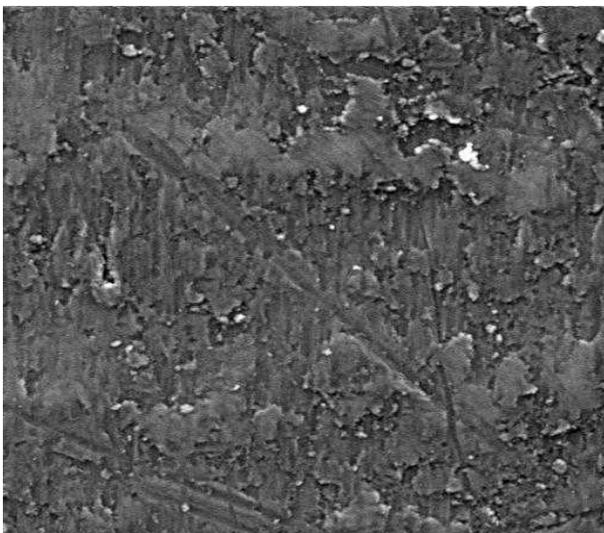


Figura 02: Foto obtida com Microscopia eletrônica de varredura de substrato Titânio recoberta com filme fino de hidroxiapatita, magnificação: 1000 x

Para a melhor caracterização da morfologia do recobrimento por *rf magnetron sputtering* lançamos mão da microscopia eletrônica de varredura (SEM) figuras 01 e 02. Através de microscopia eletrônica de varredura podemos observar a atenuação das rugosidades

e preenchimento destas por fina camada de fosfato de cálcio figura 02 se comparada com a figura 01 onde somente se observa a morfologia de uma placa de titânio sem recobrimento utilizado como padrão de referencia

A composição dos filmes foi determinante na avaliação da qualidade do recobrimento obtido. A melhor relação entre Ca/P foi de 1,7 próxima da hidroxiapatita desejada, foi obtida com um alvo prensado em 20 toneladas e sinterizado a 700 °C. Foram realizados vários testes com outros tipos de alvos (somente prensados ou sinterizados em outras temperaturas), mas a relação Ca/P estava fora dos limites desejados, ultrapassando valores de 2.

No que se refere ao estudo da estrutura dos filmes finos de hidroxiapatita realizamos estudos de espectroscopia de transmissão no infravermelho e Raman como observados nas figuras 03 e 04. Os espectros Raman e transmissão no infravermelho estão nos mostrando que os filmes finos obtidos por esta técnica tem uma estrutura próxima da hidroxiapatita, também percebemos que existe pouca contribuição de outras fases morfológicas que podem coexistir na amostra. Entretanto mais estudos de difração de raios-X são necessários a fim de clarificar isto. A fase cristalina e estrutural do alvo de HA ainda esta em estudo. Este também é um ponto importante que nos permitira conhecer melhor os precursores na formação do filme fino de fosfato de cálcio.

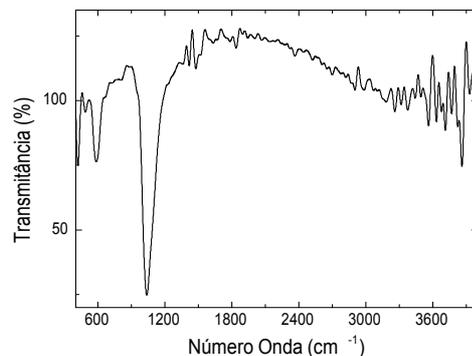


Figura 03: Espectro de transmissão no Infravermelho de uma amostra de silício recoberta com um filme fino de hidroxiapatita.

A biocompatibilidade envolve a aceitação do implante artificial pelos tecidos adjacentes e pelo corpo como um todo, não irritando as estruturas próximas, não provocando uma resposta inflamatória acima do normal, não incitando reações alérgicas ou imunológicas e não gerando estímulo de células neoplásicas [07].

Entretanto, cabe ressaltar a necessidade de estudos subseqüentes para que se possa bem

caracterizar o material e a técnica de recobrimento em questão como um biomaterial, portanto este se torna em mais uma porta aberta para os posteriores estudos de biocompatibilidade, para facilitar e melhorar a qualidade de vida e recuperação mais rápida em acidentes e procedimentos ortopédicos cirúrgicos em seres humanos.

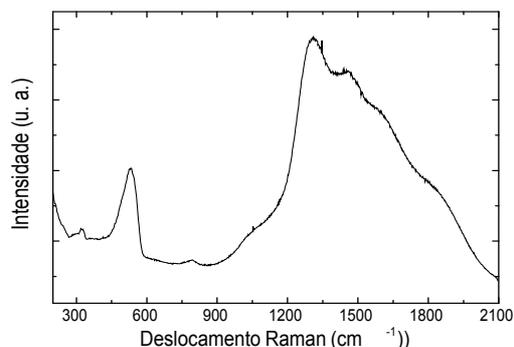


Figura 04. Espectro Raman de uma amostra de silício recoberta com um filme fino de hidroxiapatita

Conclusão

Neste trabalho conseguimos obter recobrimentos de filmes finos de hidroxiapatita utilizando a técnica de *rf-magnetron sputtering*.

As melhores amostras foram obtidas utilizando como alvo, pó de hidroxiapatita prensada a 20 toneladas e sinterizada a 700 °C.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Dra. Eliana Cristina da Silva Rigo do Laboratório de Biocerâmicas da UFSCAR, pelo fornecimento do pó de hidroxiapatita. Ao Dr. Alfeu Saraiva e Gilver Silva no auxílio no preparo dos alvos de hidroxiapatita. A Maria Lucia no INPE pelas medidas de microscopia eletrônica de varredura e EDS. Os autores querem agradecer também a Fapesp e a Univap pelo financiamento e suporte da pesquisa.

Referências

01.MOTA,W.S. Atuação fisioterápica em pacientes submetidos a alongamento ósseo de membro inferior pelo método de ilizarov. Revista Físio&Terapia.Rio de Janeiro,AnoIV, n.23,p.20-22,2000.

02.DEJONG,E.S et al.Antimicrobial efficacy of external fixator pins coated with a lipid stabilized hydroxyapatite/Chlorhexidine complex to prevent pin tract infection in a goat model.Rev.The journal

of Trauma Injury,Infection,and Critical Care,v.50,p.1008-1014,2001.

03.KRAUSER, J.T. Hidroxiapatite-coated dental implants. Biologic rationale and surgical technique. Dent. Clin. North Am., 33(4): 879-891, 1989.

04.MEFFERT, R.M.; LAUGER, B. & FRITZ, M.E. Dental implants: A review. J. Periodontol., 63(1): 859-870, 1992.

05.DING,S.J.Properties and immersion behavior of magnetron-sputtered multi-layered hydroxyapatite/titanium composite coatings.Rev.Biomaterials,Taiwan,v.24,p.4233-4238,2003.

06.RIGO,E.C.S.Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita.Ver.Brasileira de Engenharia Biomédica,v.15,n.1-2.p.21-29,jan/ago.1999.

07.BRONZINO,J.D.The Biomedical Engineering Handbook.2.ed.Florida:CRC Press,Springer & IEEE Press,2000