

Estudo da citotoxicidade de filmes DLC (Diamond Like Carbon) para aplicações biomédicas: Revisão

Wachesk, C. C.¹, Silva, N. S.²

1 Laboratório de Biologia Molecular e Tecidual/Universidade do Vale do Paraíba, Av. Shishima Hifumi, 2911. CEP: 12.211-300. São José dos Campos – SP – Brasil

e-mail: cris_cw@hotmail.com, nsoares@univap.br

Resumo-

Resumo: Superfícies de materiais biológicos desempenham um papel importante na resposta do ambiente biológico artificial para dispositivos médicos, tais como implantes. Na literatura recente, vários autores têm demonstrado que o tratamento de superfícies de ligas metálicas é a chave para aplicações biomédicas, pois controla a citotoxicidade aguda causada por eles. O tratamento de superfície, tais como a deposição de filmes finos inertes, evita a corrosão e liberação de íons metálicos presentes nas ligas. A combinação de baixo atrito, resistência ao desgaste, alta dureza, biocompatibilidade e inércia química torna o carbono diamante (DLC), um filme adequado para uma série de aplicações que vão desde o revestimento de stents, válvulas cardíacas, próteses ortopédicas e na indústria biomédica. O objetivo desse trabalho de revisão foi identificar pesquisas nacionais e internacionais que discutem citotoxicidade de filmes de DLC com nanopartículas de TiO₂, com baixo atrito para aplicações biomédicas.

Palavras-chave: DLC (Diamond Like Carbon), Cultura de células e aplicações biomédicas.

Área do Conhecimento: Engenharia Biomédica

Introdução

Superfícies de materiais biológicos desempenham um papel importante na resposta do ambiente biológico para dispositivos médicos, tais como implantes (LIU et al 2005, WACHESK et al 2010)

Reúne propriedades físicas e químicas, tais como, elevada dureza mecânica, estabilidade química, transparência no visível, baixa fricção e elevada resistência ao desgaste (ROBERTSON, 2002; TRAVA-AIROLDI et al., 2007, CHAPIRO 1995). Por esse motivo, tem sido estudado extensivamente como um revestimento tribológico assim descrito em artigos de revisão (GRILL, 1997; DONNET, 1998; GANGOPADHYAY et al., 1998; GRILL, 1999; HOLMBERG et al., 2000) e está estabelecido também em diversas aplicações industriais (LETTINGTON et al., 1997; HOLMBERG et al., 2000; BAKER et al., 2007; TRAVA-AIROLDI et al., 2007b; MARCIANO et al. 2008).

Os filmes diamantados resistentes ao desgaste são utilizados como revestimentos de várias ferramentas de cortes e acabamento de metais e ligas não-ferrosas, para materiais

compósitos inorgânicos a base de carbonetos, nitretos, boretos, etc WOODIN et al 1991, YOSHIKAVA 1991.

Com os biomateriais é possível confeccionar implantes os quais são dispositivos que precisam ser colocados em contato direto com o interior do corpo. Visando auxiliar no cumprimento de determinadas funções, total ou parcialmente perdidas, na maioria dos sistemas do corpo humano. (BOSHI 1996). Os biomateriais metálicos são o grupo dominante de materiais para uso em implantes que sofrem altos carregamentos de tensão (BIEHL 2010)

Segundo LEMONS 1996 Biocompatibilidade é definida como “a habilidade de um material cumprir, com uma resposta apropriada, uma aplicação específica”

Ultimamente, várias pesquisas estão sendo conduzidas na área de aplicação dos materiais avançados em próteses artificiais, em particular na articulação de quadril com o objetivo de minimizar as complicações biomecânicas, especificamente o desgaste excessivo e os processos de corrosão dos materiais implantados (WANG et al 1995),

De entre os estudos bioquímicos necessários ao desenvolvimento de novos fármacos, os

testes de citotoxicidade são de importância primordial. Hoje em dia, a utilização de culturas celulares em placas multiposos é uma prática corrente para a avaliação de novos compostos com potencialidade farmacológica, uma vez que permite a manipulação de várias amostras simultaneamente, além de ser um procedimento econômico e que permite uma certa automatização (FRESHNEY, 1994). O termo citotoxicidade significa causar efeitos tóxicos (morte, alterações na permeabilidade da membrana celular, inibição enzimática, entre outros) em nível celular. Um material tóxico é definido como um material que libera um elemento ou composto químico em quantidade suficiente para matar células, tanto direto quanto indiretamente, através da inibição de caminhos metabólica-chave. (BIOMATERIALS 1996)

O termo "linha celular" tem sido assim utilizado para descrever as células que proliferam continuamente por indução química e/ou outra. O aparecimento da criopreservação foi outro dos grandes avanços verificados na tecnologia das culturas celulares, que veio permitir a recuperação das células armazenadas (DREXLER et al., 2000). Para ser aprovado num teste de citotoxicidade *in vitro*, um material não deve causar a morte das células nem afetar suas funções celulares. (MALMONGE 1999)

Este trabalho tem como objetivo estudar o DLC em termos de propriedades mecânicas e resistência à corrosão na aplicação como implante ortopédico. Para isso será realizada uma revisão bibliográfica sobre os aspectos gerais do DLC com ênfase na sua aplicação biomédica.

Metodologia

Trata-se de um estudo exploratório, com abordagem descritiva mediante uma revisão bibliográfica sistemática realizado no mês de setembro de 2009 à agosto de 2010 em bancos de dados tais como: Portal Capes, Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências de Saúde (LILACS), *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO), MEDLINE e *Science Direct*. Utilizou-se os termos «cytotoxicity of DLC films», TiO₂ nanoparticles, cell line L929, culture of cells biomaterials e (Diamond Like Carbon - DLC). Foram selecionados 31 artigos e a cronologia de publicação de periódicos nacionais e internacionais sobre citotoxicidade de filmes de DLC, nanopartículas de TiO₂, células de linhagem L929, cultura de células, biomateriais e (Diamond Like Carbon - DLC). Os artigos em português e inglês foram selecionados por acessibilidade, estudos realizados *in vitro*, utilizando a linhagem celular L929 considerando os estudos que

abordavam o estudo do DLC em termos de propriedades mecânicas e resistência à corrosão na aplicação biomédica. Foram incluídos estudos na língua inglesa, sendo seleção ampliada por meio de outras fontes, como referências citadas nos artigos obtidos. Os resultados da busca foram elaborados de forma descritiva e tabelados.

Resultados

Em geral, a análise da biocompatibilidade de um material é realizada por meio de dois ensaios: "in vitro" e "in vivo". Os resultados dos ensaios "in vitro" são primordialmente necessários para viabilizar a utilização de um novo material no processo de caracterização biológica. O segundo passo, os ensaios "in vivo", somente poderão ser realizados após um resultado favorável destes ensaios.

Procedendo-se a análise das obras selecionadas, 13 (42%), referem-se especificamente sobre Diamond Like Carbon - DLC, 9 (29%) referem-se a biomateriais, 7 (22%) (DLC) Diamond Like Carbon e citotoxicidade, e 2 (07%) cultura de células, conforme tabela 1 abaixo.

Tabela 1: Caracterização do acervo de revisão, segundo o autor, título e ano.

AUTOR	TITULO	ANO
Wachesk, et al.	Cytotoxicity Analysis of Diamond-Like Carbon Films Containing TiO ₂ Nanoparticles	2010
Malmonge	Avaliação da citotoxicidade de hidrogéis de polihema: um estudo <i>in vitro</i>	1999
Butter	Lettington AH. Diamond-like carbon for biomedical applications (Review)	1995
Parker, et al	The biocompatibility of low temperature diamond-like carbon films: a transmission electronic microscopy, scanning electron microscopy and cytotoxicity study	1994
Williams	Diamond-like carbons and other thin films	1993
Davidson	Proc. 5th Int Conf Surface Modification Technologies	1992
Woodin, et al	Application of Diamond Films and Related Materials	1991

Discussão

Este trabalho de revisão bibliográfica constatou que vários estudos têm sido realizados para investigar o potencial do revestimento de DLC para aplicações biomédicas. (EVANS 1991, VLADIMIROV 1999), revestimentos foram testados em várias formas de análise de tensões, resistência à adesão (especialmente em superfícies convexas, ou seja, cabeça femoral), e estabelecer sua biocompatibilidade para uso aplicações biomédica. (PARKER 1994). Todos os estudos mostraram que o DLC não causou efeitos adversos em culturas de células. (DAVIDSON 1992, BUTTER 1995). A aplicação do DLC é um grande avanço na superfície tratamento de biomateriais.

(WILLIAMS 1993)

Resistência a fadiga é uma necessidade importante para implantes, mas o carregamento crítico é diferente para os vários tipos de implantes e aplicações. As propriedades mecânicas necessárias para implantes também variam e dependem da forma do implante e a aplicação (METALS 1980)

Do ponto de vista de resistência mecânica, em decorrência das distintas solicitações de um implante ósseo, até o momento não conseguiu-se desenvolver um material que supere ou ao menos se iguale às ligas metálicas de grau cirúrgico (RIGO 1999)

Segundo METALS 1980 Um grande número de metais e ligas têm provado serem satisfatórios como material para implante, durante muitos anos de aplicação cirúrgica. Eles são especificados como materiais para implantes pelas normas da Sociedade Americana para Testes e Materiais (ASTM) e as da Organização Internacional para Normatização (ISO) e por outras normas nacionais. Esses materiais possuem resistência a corrosão e são bem aceitos pelos tecidos do corpo (biocompatível), ou seja, satisfazem dois requerimentos básicos para implantes. Essas duas propriedades são, geralmente, relacionadas porque quanto menos substâncias o material liberar, melhor será a aceitação do material pelo tecido.

Conclusão

Atualmente, a maioria dos pesquisadores chegaram a conclusão de que o método promissor de obtenção de filmes “diamond like carbon” resistentes ao desgaste e com propriedades adequadas às exigências de vários ramos da

indústria e também na área médica para a fabricação de próteses ortopédicas é o método de deposição física de vapor (PVD). A liga de titânio recoberta com carbono tipo diamante, também conhecido como DLC, do inglês Diamond-Like Carbon, material biocompatível possui propriedades como alta dureza, baixo atrito, resistência ao desgaste e à corrosão. “A liga de titânio é a melhor liga biocompatível”, No entanto, para ser utilizada em articulações, ela tem de passar por um tratamento de superfície, para resistir ao desgaste.

Referências

- BOSHI, A.O. O que é necessário para que um material possa ser considerado um biomaterial? Encontro Nacional de Biomateriais, 2., 1993, São Paulo. Resumos... São Paulo: IPEN-CNEN/SP, 1996.
- BIEHL, V.; BREME, J. Metallic biomaterials. Alemanha: Univ Saarland. Disponível em: <http://www.webofscience.com/CIW.cgi?Pb2M56XBYCAAADTwPA4_CB428228_Pb2M5... Acesso em 28. julho 2010.
- BIOMATERIALS Science – An introduction to materials in medicine. San Diego: Academic Press, Inc, 1996. p. 1-41.
- BUTTER RS, Lettington AH. Diamond-like carbon for biomedical applications (Review). J Chem Vapour Depo 1995;3:182–192.
- CHAPIRO, A. Radiation chemistry in the field of biomaterials. Revista Radiation Physics Chemistry, Britain, V. 46, n. 2, p. 159-160, 1995.
- DAVIDSON JA, Mishra AK. Proc. 5th Int Conf Surface Modifi-cation Technologies. In: Sudarshan TD, Braza J, editors. Inst. Of Metals, London; 1992.
- DONNET, C. Recent progress on the tribology of doped diamond-like and carbon alloy coatings: a review. Surface and Coatings Technology, v. 100-101, p. 180-186, Mar. 1998.
- DREXLER, H. G., Matsuo, A. Y. e MacLeod, R. A., Continuous Hematopoietic Cell Lines As Model Systems for Leukemia-Lymphoma Research, Leuk. Res., vol. 24, n.º 11 (2000), pp. 881-911
- EVANS AC, Franks J, Revell PJ. Diamond-like carbon applied to bioengineering materials. Med Dev Tech 1991;26–29

- FRESHNEY, R. I., Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 3ª edição, (1994), John Wiley & Sons, Inc., New York
- GANGOPADHYAY, A. Mechanical and tribological properties of amorphous carbon films. Tribology Letters, v.5, n. 1, p. 25-39, May 1998.
- GRILL, A. Diamond-like carbon: state of the art. Diamond and Related Materials, v.8, p. 428-434, Mar. 1999.
- GRILL, A. Tribology of diamondlike carbon and related materials: an updated review. Surface and Coatings Technology, v. 94-95, p. 507-513, Oct. 1997.
- HOLMBERG, K.; RONKAINEN, H.; MATTHEWS, A. Tribology of thin coatings. Ceramics International, v. 26, n. 7, p.787-795, Aug. 2000.
- LEMONS, J. E. Ceramics: past, present, and future. Revista Bone, [s.l.], V. 19, n. 1, p. 121S-122S, 1996.
- LETTINGTON, A.H. Applications of diamond-like carbon thin films. Carbon, v. 36, n.5-6, p. 555-560, Dec. 1997.
- LIU et al., Biomaterials 26 (2005) 6143.
- MALMONGE, S. N. Avaliação da citotoxicidade de hidrogéis de poliHEMA: um estudo in vitro. Revista Brasileira de Engenharia Biomédica, Rio de Janeiro, V. 15, n. 1-2, p. 49-54, 1999
- MARCIANO, F.R.; BONETTI, L.F.; PESSOA, R.S.; MARCUZZO, J.S.; MASSI, M.; SANTOS, L.V.; TRAVA-AIROLDI, V.J. The improvement DLC films lifetime with silver nanoparticles for space devices. Diamond and Related Materials, 2008, In press.
- METALS Handbook. v. 11, 9. ed. Metals Park Ohio: American Society for Metals (ASM), 1980, p. 670-694.
- PARKER TL, Parker KL, Mccoll IR, Grant DM, Wood JV. The biocompatibility of low temperature diamond-like carbon films: a transmission electronic microscopy, scanning electron microscopy and citotoxicity study. Diamond Rel Mater 1994;3:1120–1123.
- RIGO, E. C. S. et al. Implantes recobertos com hidroxiapatita. Revista Brasileira de Engenharia Biomédica, Rio de Janeiro, V. 15, n. 1-2, p. 21-29, 1999.
- ROBERTSON, J. Diamond-like amorphous carbon. Materials Science and Engineering R, v. 37, p. 129-281, May 2002.
- TRAVA-AIROLDI, V.J.; BONETTI, L.F.; CAPOTE, G.; SANTOS, L.V.; CORAT, E.J. A comparison of DLC film properties obtained by r.f. PACVD, IBAD, and enhanced pulsed-DC PACVD. Surface and Coatings Technology, v. 202, n. 3, p. 549- 554, Dec. 2007a.
- TRAVA-AIROLDI, V.J.; SANTOS, L.V.; BONETTI, L.F.; CAPOTE, G.; RADY, P.A.; CORAT, E.J. Tribological and mechanical properties of DLC film obtained on metal surface by enhanced and low-cost pulsed-DC discharge. International Journal of Surface Science and Engineering, v. 1, n. 4, p. 417 427, Dec. 2007b.
- VLADIMIROV AB, Trakhtenberg IS, Korshunov LG, Makarov AV, Yakovleva SG. The effect of the substrate surface relief on wear resistance of the "tool steel-dlc" system. In: Vincenzini P, editor. Advances in science and technology. 9th Cimetec-World forum on New Materials, Faenza; 1999. p 389–396
- WACHESK CC; MARCIANO FR., MANGOLIN, JF.LIMA-OLIVEIRA, DA. Et al. Cytotoxicity Analysis of Diamond-Like Carbon Films Containing TiO₂ Nanoparticles. Congresso Internacional de Microscopia, Rio de Janeiro-RJ, setembro 2010
- WANG,A.,ESSNER,A.,STARK,C. and DUMBLETON,J.H. Biomaterials, 17,9 (1995) 866-871
- WILLIAMS D. Diamond-like carbons and other thin films. Med Dev Tech 1993;8–13.
- WOODIN, R.L., BIGELOW, L.K., AND CANN, G.L. in :Application of Diamond Films and Related Materials, eds. TZENG,Y., YOSHIKAWA, M.and FELDMAN, A. (Elsevier Science Publishers, Amsterdam). Mater.Sci.Monogr. 73 (1991) 439
- YOSHIKAWA,M. Diamond Films Technol.,1 (1991) 1