

## **Producción y caracterización de cuerpos porosos de hidroxiapatita sintética**

## **Production and characterization of porous bodies of synthetic hydroxyapatite**

*Jazmín González, Diana Marcela Escobar, Claudia Patricia Ossa\**

Grupo de Biomateriales, Universidad de Antioquia, A. A. 1226, Medellín, Colombia.

(Recibido el 10 de junio de 2007. Aceptado el 9 de Noviembre de 2007 )

### **Resumen**

El proceso *gel-casting se* ha usado para preparar materiales cerámicos y metálicos haciendo posible obtener formas con microestructura y propiedades mecánicas controladas. La hidroxiapatita (HA) es un cerámico bioactivo, debido a su capacidad de enlazarse directamente al tejido óseo, sin embargo, presenta muy baja resistencia mecánica. En este trabajo se prepararon espumas de hidroxiapatita usando el proceso *gel-casting* con porcentajes de sólidos de 40 y 50%. Las espumas obtenidas se caracterizaron usando Difracción de Rayos X (XRD), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y ensayos mecánicos de compresión. Los resultados mostraron que las espumas obtenidas presentan poros abiertos e interconectados con un tamaño alrededor de 100  $\mu\text{m}$ . Las pruebas mecánicas mostraron que a mayor porcentaje de sólidos se incrementa la resistencia a la compresión. Se demuestra que este es un proceso con alto potencial para la fabricación de cuerpos porosos, útiles en cirugía reconstructiva.

----- *Palabras clave:* hidroxiapatita, cuerpo poroso, espuma, bioce-rámico, implante.

### **Abstract**

The *gel-casting* process has been used for the preparation of ceramic and metallic materials making it possible to obtain shapes with controlled microstructure and mechanical properties. Hydroxyapatite (HA) is a bioactive ceramic, due to its capacity to form chemical bonds with the bone tissue but,

---

\* Autor de correspondencia: teléfono: + 57 + 4 + 219 55 65, correo electrónico: cpossa@udea.edu.co (C. P. O. Ossa)

it has low mechanical resistance. In this work HA foams were prepared using gel-casting, with two solid percentages, 40 and 50%. The obtained foams were characterized by X Ray Diffraction (XRD), Scanning Electronic Microscopy (SEM) and compression tests. Results show that the foams have open and interconnected pores with sizes close to 100  $\mu\text{m}$ . Mechanical tests indicate that the compressive strength increases by increasing solid percentage. The high potential of this process is demonstrated for the fabrication of porous bodies to be used in reconstructive surgery.

----- *Keywords:* hydroxyapatite, porous body, foam, bioceramic, implant.

## Introducción

En las últimas décadas se ha incrementado el uso de biomateriales en cirugía reconstructiva, creciendo su utilización de una manera exponencial con la meta de que la esperanza de vida aumente de forma considerable. La utilización progresiva de los materiales de fosfato de calcio como implantes óseos, ha llevado a demostrar el alto potencial como sustituto óseo de la hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  en ortopedia y cirugía maxilofacial [1]. La hidroxiapatita (HA) porosa ha demostrado clínica y experimentalmente propiedades osteoconductoras [2], por lo que su uso ha de tener una respuesta biológica del hueso muy favorable. Sin embargo, su comportamiento mecánico no es satisfactorio, debido a su alta fragilidad por ser de naturaleza cerámica.

En este sentido, una alternativa es la fabricación de espumas de HA por la técnica *gel-casting*. Este proceso consiste en la polimerización de una solución acuosa de polvo cerámico con monómeros orgánicos para formar una espuma, obteniéndose cuerpos con porosidad abierta e interconectada que posibilitan el crecimiento celular y la vascularización en su interior al momento de ser implantados, mejorando así la osteointegración del material, [3]. Además, debido a la adición de los polímeros se forma una red tridimensional, que confiere al material mayor resistencia mecánica que la de aquellos fabricados sólo de cerámica, ampliando así las posibilidades para sitios de implantación. Algunos investigadores han evaluado la biocompatibilidad de las espumas de HA, Sepúlveda y colaboradores [4] produjeron espumas de HA por el método del *gel-casting* y evaluaron su toxicidad, mostrando que el proceso de fabricación no compromete la pureza original del grado biomédico de la HA. Sepúlveda *et al* [5] evaluaron *in vivo* las espumas de HA y demostraron su biocompatibilidad en conejos, y su alto potencial como auxiliares en reconstrucción y sustitución de tejidos óseos dañados. En este trabajo, se fabricaron y caracterizaron espumas de HA producidas por la técnica *gel-casting*, que combinan buenas propiedades mecánicas y la bioactividad de la HA, para ser usadas en implantes óseos.

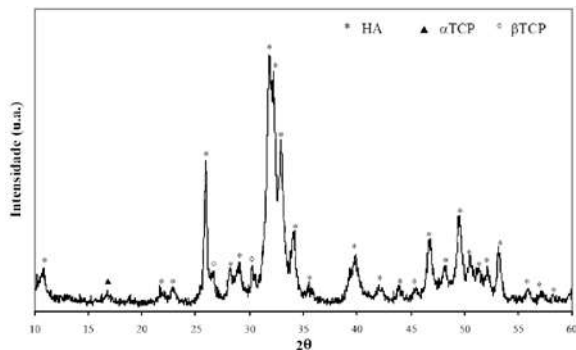
## Materiales y métodos

Para la fabricación de las espumas se utilizó polvo de hidroxiapatita comercial marca Strem Chemicals, con un tamaño de partícula promedio de 8,6  $\mu\text{m}$  y un área superficial específica de 65,42  $\text{m}^2/\text{g}$ . Las espumas de hidroxiapatita fueron producidas usando la técnica *gel-casting* [4, 5], con dos porcentajes de sólidos: 40 y 50%. Para la preparación de la suspensión se mezcló el polvo de hidroxiapatita comercial con agua destilada, adicionando como monómeros orgánicos bisacrilamida y acrilamida, para estabilizar la suspensión se utilizó ácido acrílico como dispersante. La mezcla se realizó en un recipiente de plástico para evitar la contaminación de la hidroxiapatita resultante y permaneció bajo agitación manual continua. Se logró una mejor homogenización usando un molino de bolas de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  durante 30 minutos y posteriormente se hizo una desaireación utilizando un vibrador mecánico. Luego, para la generación de la espuma se utilizó Tergitol como agente espumante, también bajo continua agitación manual. Se utilizó tetrametilendiamina (TEMED) como catalizador y persulfato de amonio como agente iniciador encargado de la polimerización *in-situ* de los monómeros. Este paso se realizó en cámara de vacío, con agitación vigorosa. Posteriormente, se realizó el vaciado en moldes, los cuales se llevaron nuevamente a la cámara de vacío a una presión de 381 mm Hg (50,8 kPa). Pasados diez minutos, los moldes se sacaron de la cámara de vacío y se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 20 horas. Luego se llevaron a una estufa de secado durante 10 horas a 100 °C y se calcinaron a 1250 °C por un período de dos horas.

Las espumas obtenidas se caracterizaron por Difracción de Rayos X (XRD) para determinar las fases presentes en un difractómetro marca Siemens D 501; Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) para analizar la morfología de la espuma y los poros obtenidos, utilizando un microscopio electrónico de barrido marca JEOL JSM-590LV. Finalmente se realizaron ensayos de compresión a muestras de 16 mm de diámetro y 6 mm de espesor usando una máquina universal de ensayos marca Shimadzu AG.250KNG, a una velocidad de 0,05 cm/min.

## Resultados y discusión

En la figura 1 se presenta el difractograma de Rayos X de la hidroxiapatita comercial utilizada.

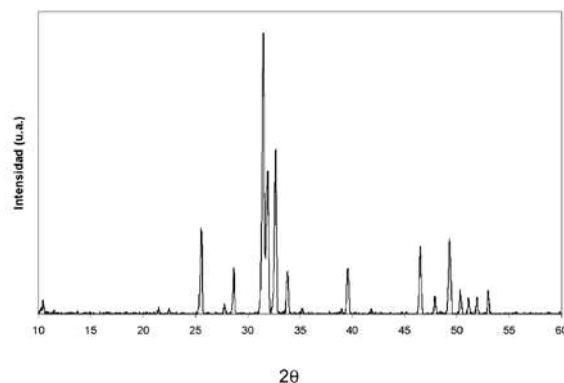


**Figura 1** Difractograma del polvo de HA comercial

En la figura 1 se observan los picos principales característicos de la hidroxiapatita, localizados en  $2\theta = 32, 32,5$  y  $33$  correspondientes a los planos (211), (112) y (300) respectivamente, acompañados de algunos picos secundarios de menor intensidad ubicados en  $2\theta = 26, 46,5$  y  $49$  correspondientes a los planos (002), (222) y (213) respectivamente, y algunos otros de menor intensidad que corroboran la existencia de hidroxiapatita ubicados a  $2\theta = 34$  y  $39,5$  para los planos (202) y (310) respectivamente. Se observa también la presencia de fosfato tricálcico tipo beta ( $\beta$ TCP) caracterizado por un pico en  $2\theta = 30,5$  correspondiente al plano (210), que es el pico principal de esta fase, acompañado por un pico de menor intensidad a  $2\theta = 27$ . Se caracteriza entonces este polvo comercial como hidroxiapatita con una pequeña cantidad de fosfato tricálcico.

El difractograma típico de las espumas de HA obtenidas se muestra en la figura 2. Se observan los picos característicos de la hidroxiapatita, con picos principales de mayor intensidad en  $2\theta = 31,5$  correspondiente al plano (211), acompañado por dos de menor intensidad en  $2\theta = 32$  y  $32,5$  correspondientes a los planos (112) y (300) respectivamente y algunos picos secundarios ubicados en  $2\theta = 25,5, 2\theta = 46,5$  y  $2\theta = 49$  correspondientes a los planos (002), (222) y (213). También al igual

que en la muestra comercial utilizada, se muestran algunos picos de menor intensidad en  $2\theta = 28,5$  (210),  $2\theta = 33,5$  (202) y  $2\theta = 39,5$  (310), todos correspondientes a los picos característicos de una hidroxiapatita pura y bastante cristalina. No se evidencia la presencia de ningún pico correspondiente a los fosfatos tricálcicos, lo que indica que ocurrió una transformación de fase de éstos hacia la hidroxiapatita durante la calcinación de las espumas, generando una estructura de una única fase, lo que difiere del polvo comercial utilizado.



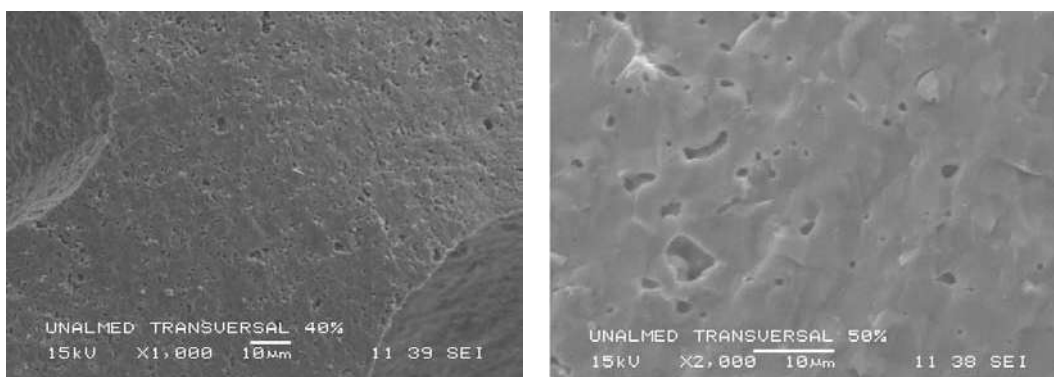
**Figura 2** Difractograma típico de las espumas de HA obtenidas

Los difractogramas para las espumas con 40 y 50% de HA presentaron los mismos picos, mostrando la estructura cristalina de la HA.

En las figuras 3 a 5 se presenta la morfología de las espumas de HA obtenidas. En la Figura 3 se observa la superficie de las espumas con 40 y 50 % de sólidos de HA. Puede notarse la estructura porosa de las espumas.

En la figura 4, se observan poros totalmente abiertos e interconectados en el interior del material; hecho que se presenta en ambas espumas con 40 y 50 % de sólidos. Los poros tienen tamaños, entre 120 y 350  $\mu\text{m}$ , y no necesariamente tienen forma esférica.

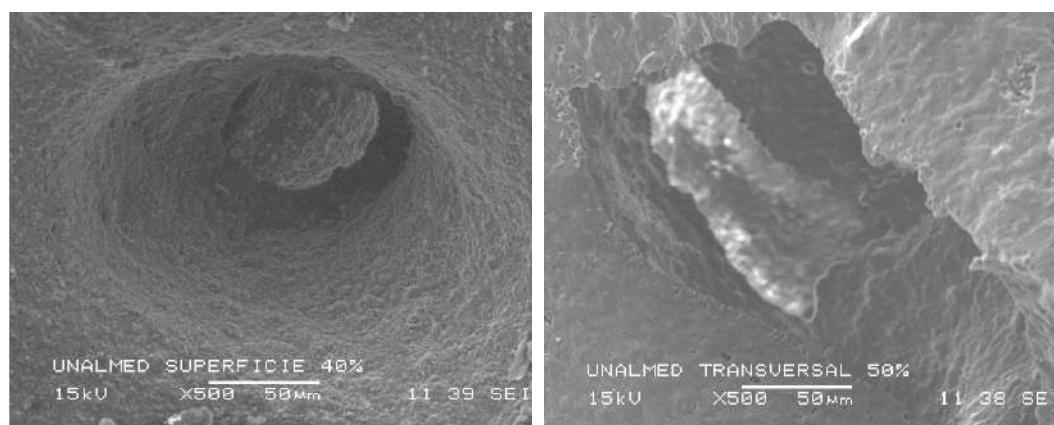
La superficie de los poros puede verse en la figura 5, los poros tienen paredes de superficie rugosa. En la figura 5a se muestra un poro semiabierto del borde de la espuma, totalmente esférico, con un tamaño aproximado de 350  $\mu\text{m}$ .



a)

b)

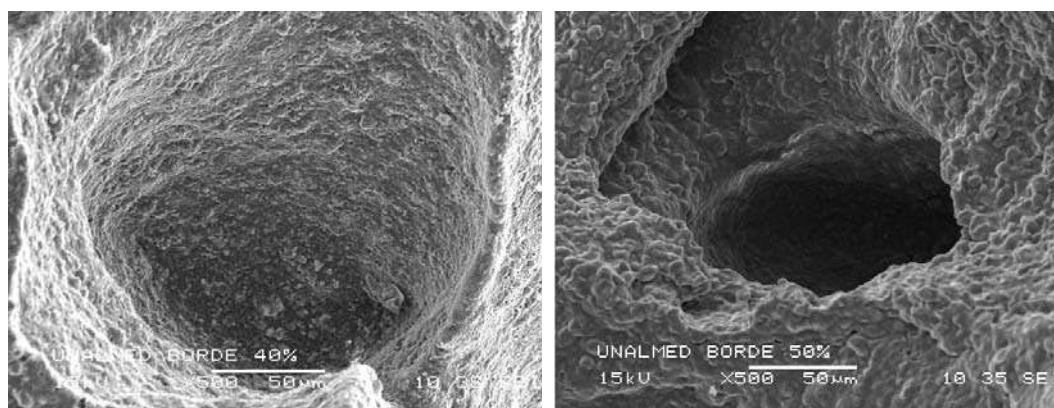
**Figura 3** Superficie de las espumas de HA: a) 40 % de sólidos, b) 50 % de sólidos



a)

b)

**Figura 4** Micrografía del interior de la espuma a 500 X: a) 40 % de sólidos, b) 50 % de sólidos



a)

b)

**Figura 5** Micrografía de poros en la espuma a 500X: a) 40 % de sólidos, b) 50 % de sólidos

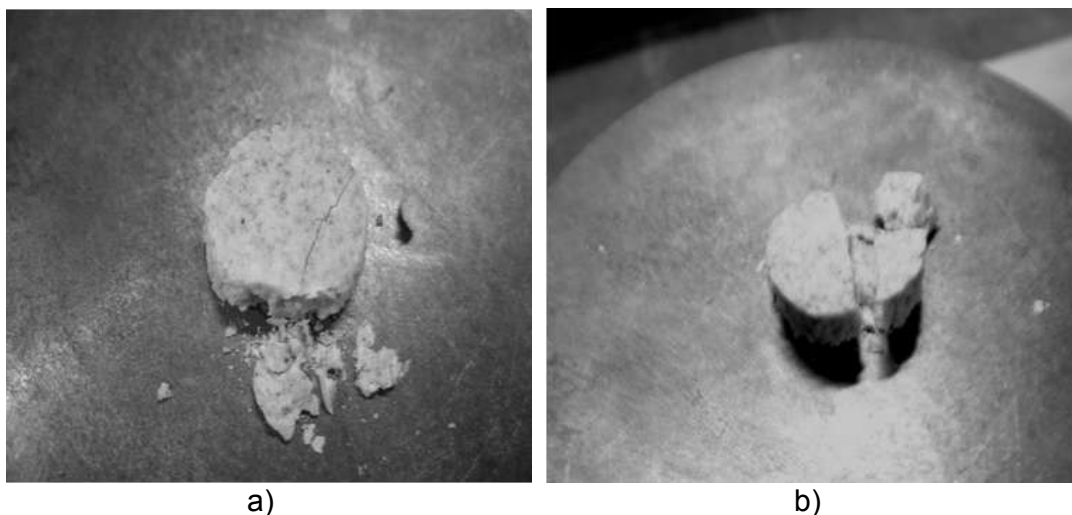
Como otros autores han reportado [5], la estructura de las espumas se asemeja a la del hueso trabecular. En la reparación de tejidos se requiere una red porosa abierta y la disposición en 3D de las celdas para la vascularización y la buena integración del implante [6]. Estas características morfológicas fueron observadas en las espumas obtenidas (figuras 3 a 5), donde se nota un cuerpo constituido por una red de poros interconectados y con textura rugosa.

Según lo reportado en la literatura, el tamaño de poro es importante para la integración del implante con el tejido, tal que: los poros menores de 10  $\mu\text{m}$  evitan el ingreso de células, mientras que poros entre 10 y 50  $\mu\text{m}$  permiten la penetración del tejido fibrovascular, los poros entre 50 y 150  $\mu\text{m}$  permiten la penetración ósea y los poros mayores de 150  $\mu\text{m}$  permiten la penetración y la formación ósea. Además, se ha encontrado que la penetración de tejido óseo sólo es posible si los poros

se encuentran interconectados [7]. Según esto, el tamaño de poro óptimo para la osteoconducción debe estar entre 150 y 500  $\mu\text{m}$  [6]. Los poros presentes en las espumas fabricadas en este proyecto tienen tamaño entre 120 y 350  $\mu\text{m}$ , colocando las espumas obtenidas en el rango necesario para materiales con potencial osteoconductor.

En las espumas de HA obtenidas, se encontraron poros semiabiertos, sin embargo, este hecho no inhibe el buen desempeño del material, pues se debe tener en cuenta que las espumas deben presentar alto porcentaje de porosidad y no necesariamente todos los poros deben estar interconectados, ya que aún los poros ciegos contribuyen al aumento de la rugosidad de la superficie, lo que beneficia los procesos de adhesión celular [8].

En la figura 6 se muestran las probetas de las espumas de HA con 40 y 50% de sólidos, luego de ser fracturadas en ensayos de compresión.



**Figura 6** Probetas de espuma de HA sometidas a ensayo de compresión: a) 40 % de sólidos, b) 50 % de sólidos

El tipo de ensayo realizado a estos materiales fue el de compresión, ya que con esta prueba la probeta experimenta tanto esfuerzos compresivos en dirección paralela a la aplicación de la carga, como una mayor cantidad de esfuerzos de tracción en dirección perpendicular a la misma, es

así como la probeta falla, porque las tensiones superan la resistencia del material. Para la muestra con 50% de sólidos la resistencia mecánica fue de 3,2 MPa en promedio y para la espuma con 40% el valor fue de 0,9 MPa en promedio. La prueba de compresión mostró que para las probetas

con mayor cantidad de sólidos, la carga necesaria para llevarlas a la fractura fue mayor que la carga necesaria para la fractura en las probetas con menor cantidad de sólidos. La resistencia mecánica obtenida en las espumas fabricadas, es del mismo orden de magnitud de las reportadas en la literatura, donde se especifican valores diversos según las características de la espuma analizada. Sepúlveda y colaboradores [4] reportan una resistencia a la compresión entre 4,4 y 4,7 MPa para espumas con 80% de porosidad, en ensayos de compresión realizados sobre muestras de 11 mm de diámetro y 13 mm de altura, a una velocidad de 0,05 cm/min. En los ensayos realizados por Ramay *et al* [6] sobre espumas de HA a una velocidad de 0,04 cm/min, se encontró que para cuerpos con 70% de porosidad y 50% de HA la resistencia era de 5 MPa. Los resultados anteriores sugieren que el proceso realizado para la obtención de espumas en esta investigación, es bastante adecuado.

Es sabido que para tener una mejor densidad de las espumas y mejores propiedades mecánicas se requiere de alto porcentaje de sólidos, pero si la concentración de HA en la suspensión es demasiado alta se presenta mayor viscosidad haciendo difícil la mezcla y la generación de espuma [6]. Por otro lado, si el porcentaje de sólidos es bajo, habrá baja viscosidad, lo que dará lugar a espumas inestables, muy débiles y con mayor susceptibilidad a agrietarse durante el secado [4]. Cuando el porcentaje de sólidos es alto, se hace más fácil la fabricación de formas complejas [9]. Igualmente a mayor porcentaje de sólidos, se aumenta la resistencia mecánica de las espumas, hecho que fue corroborado con los ensayos de compresión realizados.

El porcentaje de sólidos influye en la porosidad y resistencia mecánica, propiedades indispensables para los implantes óseos, es por esto que debe haber un compromiso entre la bioactividad y la resistencia mecánica de las espumas. El porcentaje de porosidad depende de la cantidad de hidroxiapatita presente en la suspensión, cuando el porcentaje de sólidos es alto la porosidad disminuye y viceversa. Es de esperarse que para las espumas con 50% de sólidos la porosidad sea más baja que aquellas con 40% de sólidos; esto se debe a que en una sus-

pensión con menor concentración de sólidos la formación de espuma se logra más fácilmente y por consiguiente la porosidad resultante será mayor. Un alto porcentaje de porosidad favorece la regeneración de los tejidos ya que a mayor porosidad hay mayor área superficial y por tanto mayor adhesión celular [6].

## Conclusiones

Las espumas de hidroxiapatita fabricadas usando la técnica *gel-casting* con 40 y 50% de sólidos, presentaron como única fase la hidroxiapatita. Su estructura se asemeja a la del hueso trabecular con poros en tamaños mayores de 100  $\mu\text{m}$  e interconectados. Estas características muestran las espumas como material con potencial para usos en el campo biomédico, en especial cirugías reconstructivas.

Las espumas de HA con 40% de sólidos presentaron una resistencia mecánica en promedio de 0,9 MPa y las de 50% de HA de 3,2 MPa. Las muestras con 50% de sólidos mostraron una resistencia mecánica del mismo orden de las reportadas en la literatura.

La producción de espumas de hidroxiapatita fue exitosa, según los análisis preliminares realizados. Se espera en síntesis posteriores obtener espumas con morfologías similares y más resistentes mecánicamente.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Comité para el Desarrollo de la Investigación -CODI- la financiación del proyecto y a los estudiantes Carolina Gómez, Wilton Ospina y Marco Quintana por su valiosa colaboración.

## Referencias bibliográficas

1. C. García, C. Paucar, J. Gaviria. "Estudio de algunos parámetros que determinan la síntesis de hidroxiapatita por la ruta de precipitación". *Revista Dyna*. Vol. 148. 2006. pp. 9-15.
2. G. Ramírez, I. Escobar, A. Echavarría, J. Cardona, A. Giraldo, C. Riaño. "Características osteoconductoras de la HA sintética y la derivada de corales marinos

- injertados en conejos”. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 2. 1999. pp. 97–107.
3. A. Lax-Perez, L. Meseguer-Olmo, V. Vicente-Ortega, M. Alcara-Baños, M. Ros-Nicolas, M. Clavel-Nolla-San, P. Sepúlveda, C. Meseguer Ortiz. “Respuesta ósea al implante de espuma de hidroxiapatita (HA-02), Estudio experimental en conejos”. *Revista Ortopedia y Traumatología*. Vol. 49. 2005. pp. 293-300.
  4. P. Sepúlveda, J. G. P. Binner, S. O. Rogero, O. Z. Higa, J. C. Bressiani. “Production of porous hydroxyapatite by the gel-casting of foams and cytotoxic evaluation”. *Journal of Biomedical Materials Research*. Vol. 50. 2000. pp. 27-34.
  5. P. Sepúlveda, A. Bressiani, J. Bressiani, L. Meseguer, B. König Jr. “In vivo evaluation of hydroxyapatite foams”. *Materials Research*. Vol. 5. 2002. pp. 253-256.
  6. H. Ramay, M. Zhang. “Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of gel-casting and polymer sponge methods”. *Biomaterials*. Vol. 24. 2003. pp. 3293-3302.
  7. M. Sinha, D. Basu, B. Sen. “Porous hidroxyapatite ceramic and its clinical applications” *Interceramic* Vol. 49. 2000. pp. 102-105
  8. A. Lax, V. Ortega, L. Meseguer, M. Alcaraz, P. Sepúlveda, M. Clavel. “Implante óseo de la espuma de hidroxiapatita-09 Estudio experimental en conejos” *Revista Española de Patología*. Vol. 38. 2005. pp. 14-20.
  9. S. Dhara, R. Kamboj, M. Pradhan, P. Bhargava. “Shape forming of ceramics via gel-casting of aqueous particulate slurries”. *Bull Materials Science*. Vol. 25. 2002. pp. 565-568.