

#

Crecimiento en fluido fisiológico simulado de hidroxiapatita sobre películas de PMMA-sílice-CaO

Varela-Caselis Jenaro L., Reyes-Cervantes Eric, Rubio-Rosas Efraín *
Centro Universitario de Vinculación, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Prolongación de la 24 Sur y Av. San Claudio, Col. San Manuel
Ciudad Universitaria, C. P. 72570, Puebla, Puebla, México.
(Recibido: 11 de abril de 2011; Aceptado: 6 de agosto de 2011)

Utilizando un fluido fisiológico simulado, se depositó hidroxiapatita sobre acero inoxidable 316L recubierto con una película híbrida PMMA-sílice-CaO sintetizada por el método sol-gel. Los sustratos recubiertos estuvieron inmersos en fluido fisiológico simulado por periodos de 10, 15, 20, 25 y 30 días y la hidroxiapatita depositada se caracterizó por Microscopia Electrónica de Barrido (SEM), Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) y Difracción de Rayos X (XRD). Por FTIR se mostró la presencia de grupos funcionales característicos de la hidroxiapatita. El análisis de SEM reveló que el material está conformado por estructuras esféricas con un tamaño del orden de 3 a 20 μm , compuestas a su vez por estructuras laminares y que el tiempo de inmersión contribuye a la formación de estructuras laminares mucho más grandes y por XRD se confirmó la presencia de la fase hidroxiapatita sobre el sustrato. El recubrimiento sintetizado tiene las características potenciales para ser usado como biomaterial.

Palabras clave: Hidroxiapatita; Fluido fisiológico simulado; Método biomimético; Recubrimientos híbridos

By simulated body fluid was grown hydroxyapatite on stainless steel 316L coated with PMMA-silica hybrid coating doped with calcium methoxide synthesized by sol-gel process. The coated substrates were immersed in simulated body fluid (SBF) solutions for periods of 10, 15, 20, 25 and 30 days and the apatite deposited on the substrates was characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and X-ray Diffraction (XRD). FTIR showed the presence of functional groups characteristic of hydroxyapatite. SEM analysis revealed that the material is formed for spherical structures with a size of the order of 3 to 20 μm composed of plate-like, curled fragments and the immersion time contributes to the formation of a much larger laminar structure. XRD analysis confirmed the presence of hydroxyapatite phase on the coating hybrid. The synthesized coating has the potential features to be used as a biomaterial.

Keywords: Hydroxyapatite; Simulated body fluid; Biomimetic method; Hybrid coatings

1. Introducción

La causa más común de falla de un implante ortopédico o dental es la incompatibilidad de la pieza. Los metales son los materiales más comúnmente usados debido a sus propiedades mecánicas [1-3], sin embargo, la mayoría no son capaces de crear una unión natural con el hueso mineralizado por lo tanto, una manera de mejorar la compatibilidad es recubriendo el implante metálico con hidroxiapatita (Hap). Entre los diversos métodos de recubrimientos cerámicos [4-6], el más popular es la atomización por plasma, sin embargo, está limitado por desventajas intrínsecas ya que el proceso toma lugar a altas temperaturas por lo que está limitado a fases estables térmicamente como la Hap, y la incorporación de factores que estimulen el saneamiento del hueso es imposible. Por otra parte, la deposición de recubrimientos en fluidos fisiológicos simulados (SBF) ofrece la más prometedora alternativa sobre los métodos existentes. El método biomimético consiste en sintetizar recubrimientos de apatita mediante la inmersión de sustratos pretratados químicamente tales como vidrios, metales y polímeros en SBFs [7-9] a temperatura y pH fisiológico. El método

biomimético tiene cuatro ventajas principales: (i) es un proceso a baja temperatura aplicable a cualquier sustrato sensible al calor incluyendo polímeros [10]; (ii) forma cristales de apatita parecidos al hueso teniendo alta bioactividad y buenas características de resorción [11]; (iii) es igualmente depositado sobre o dentro de geometrías complejas y porosas [12]; y (iv) pueden incorporarse factores que estimulen el crecimiento del hueso.

Por otra parte, en la literatura se ha reportado la deposición de apatitas sobre recubrimientos híbridos PMMA-sílice producidos por sol-gel [13-14]. En los recubrimientos híbridos se combinan una estructura inorgánica y otra orgánica a escala nanométrica (esto es prácticamente a escala molecular), por lo que presentan una combinación de las buenas propiedades que aportan la estructura inorgánica y la estructura orgánica, además los recubrimientos híbridos contienen grupos OH⁻ sobre la superficie los cuales pueden actuar como sitios activos para iniciar un proceso de nucleación y mejorar la adhesión de la hidroxiapatita.

La aplicación de recubrimientos híbridos PMMA-sílice producidos por sol-gel a un implante metálico permite que sea biocompatible y capaz de ser funcionalizado con

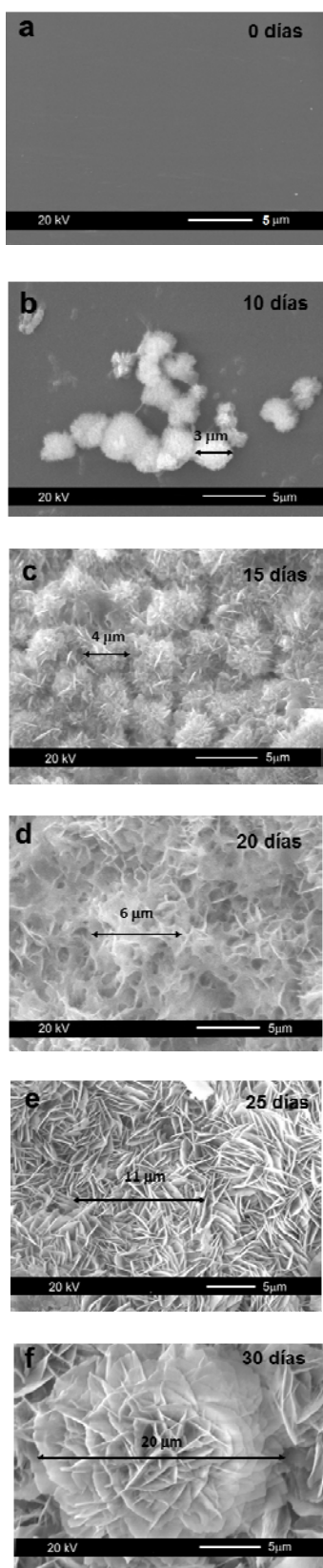


Figura 1. Apatitas depositadas sobre recubrimientos híbridos a diferentes tiempos de inmersión: (a) Recubrimiento híbrido sobre acero inoxidable 316L antes de la prueba, (b-f) Apatitas a 10,15, 20, 25 y 30 días de inmersión en SBF.

partículas bioactivas para estimular la nucleación y crecimiento de una capa de hidroxiapatita cuando es embebido en SBF [15-16], así el recubrimiento puede enlazarse al hueso viejo mediante la formación de hidroxiapatita (Hap). La adición de partículas bioactivas y la disolución y reprecipitación de compuestos inorgánicos de la familia de las apatitas, ha sido estudiada [17-19] como un intento para proporcionar al metal básico una formación y adhesión parecida al hueso.

El objetivo de este trabajo fue sintetizar en un fluido fisiológico simulado, hidroxiapatita sobre acero inoxidable 316L recubierto con un material híbrido PMMA-sílice-metóxido de calcio y caracterizarlo por SEM, FTIR y XRD.

2. Procedimiento experimental

2.1. Materiales

Para la síntesis del material híbrido se utilizó tetraetil ortosilicato $\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_4$ (TEOS al 99%) como precursor del componente inorgánico, 3-(Trimetoxisililpropil metacrilato) (TMSPM) como agente de acoplamiento, etanol (ETOH) como solvente, agua destilada (H_2O), ácido clorhídrico (HCl) como catalizador, metilmetacrilato (MMA) como precursor del componente orgánico, peróxido de benzoilo (BPO) como iniciador y metóxido de calcio (CaO) como material bioactivo. Como sustratos, se utilizaron cupones de acero inoxidable 316 con dimensiones de 2 x 1 X 0.3 cm.

2.2. Síntesis del recubrimiento híbrido (MMA-Si₂O-CaO)

En un matraz se mezclaron 3 ml de TEOS, 2 ml de CaO, 2 ml de TMSPM, 5 ml de ETOH, 3 ml de agua destilada y 2 gotas de HCl. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 24 horas. Posteriormente se adicionaron 10 ml de MMA y 0.05 gramos BPO y se agitó por una hora. Obteniendo una solución transparente y homogénea la cual se depositó por el método de inmersión sobre los cupones de acero inoxidable 316. Los cupones recubiertos se curaron a una temperatura de 70°C durante 24 horas.

El fluido fisiológico simulado se preparó disolviendo NaCl (3.13 g), K_2HPO_4 (0.0587 g) y CaCl_2 (0.0624 g) en 250 ml de agua destilada. La solución se ajustó a pH=7.4 con tris-Hidroximetil Aminometano (CH_2OH)₃ CNH_2) y ácido clorhídrico 1M a 37 °C. Los sustratos recubiertos estuvieron inmersos en soluciones de SBF por periodos de 10,15, 20, 25 y 30 días, después se retiraron y enjuagaron con agua destilada para secarse a 60 °C por 5 minutos. La caracterización de los sustratos se hizo con un Microscopio Electrónico de Barrido (JEOL modelo JSM-5900-LV equipado con una sonda de energía de rayos X Oxford). Los análisis de difracción de rayos X se hizo en un difractómetro Siemens D5000, bajo 30 KeV, en el rango de 20° a 70° en la escala 2θ. Para los análisis de FTIR, se usó un espectrofotómetro Bruker modelo VERTEX 70, operado en un intervalo de 500 a 4000 cm^{-1} .

3. Resultados y discusión

La figura 1a muestra una imagen de SEM de la superficie del recubrimiento híbrido, antes de la prueba, la cual presenta una superficie plana y uniforme.

También la figura 1(b-f) muestra imágenes de SEM de las superficies de los sustratos a 10, 15, 20, 25 y 30 días de inmersión en el SBF y muestra que el material está formado por agregados conformados por estructuras esféricas con un tamaño de 3 μm (10 días) a 20 μm (30 días) compuestos por fragmentos laminares. Después de 10 días de inmersión (figura 1b), la superficie está parcialmente cubierta con agregados del orden de 3 μm de diámetro y después de 15 días de inmersión en la figura 1c se observa que la superficie está completamente cubierta por los aglomerados con diámetros promedio de 4 μm , incrementándose el tamaño de los aglomerados hasta 20 μm a los 30 días. Las imágenes de SEM de la figura 1, muestran claramente diferencias morfológicas en la estructura laminar de las apatitas.

La condición relativa al tiempo de inmersión, contribuye a la conformación de una estructura laminar mucho más grande (figuras 1d-f). Las estructuras laminares a los 30 días de inmersión fueron significativamente más grandes en comparación con los tiempos de inmersión más cortos. El análisis químico elemental (EDX) en la figura 3 muestra que las apatitas contienen principalmente Ca y P.

La figura 3 muestra los espectros de FTIR de los sustratos a diferentes tiempos de inmersión en SBF y de la hidroxiapatita pura. Las bandas de absorción a 1700 y 1635 cm^{-1} se relacionan con los modos de tensión de los enlaces C=O y C=C y la vibración a 1079 cm^{-1} corresponde a los enlaces Si-O de los recubrimientos híbridos. La amplia banda alrededor de 3400 cm^{-1} corresponden a los enlaces OH, las bandas a 1049, 960, 570 y 473 cm^{-1} son vibraciones características de los grupos PO_4^{3-} , también se observan vibraciones para CO_3^{2-} a 1472 cm^{-1} . Es claro que el material crecido a diferentes tiempos de inmersión exhibe espectros de FTIR muy similares al de la Hap pura lo que confirma la síntesis de apatitas sobre los sustratos recubiertos con el híbrido.

En la figura 4a se muestra el difractograma de XRD del acero inoxidable 316L, y la figura 4b corresponde al difractograma de la apatita crecida a los 30 días de inmersión donde se observan máximos de difracción a 43.6°, 44.2° y 50.7° los cuales corresponden al sustrato de acero inoxidable. En el difractograma de la hidroxiapatita pura (4c) se pueden observar picos máximos de difracción a 25.9°, 31.8°, 32.9°, 34°, 39.9°, 46.8°, 48°, 49.5°, 52°, 53°, 64° y 65° en la escala 2 θ . En el difractograma correspondiente a la apatita crecida a los 30 días de inmersión (4b), se observa que estos picos de difracción tienen correspondencia con el estándar de hidroxiapatita JCPDS 9-0432, lo que corrobora la presencia de la fase hidroxiapatita sobre el recubrimiento híbrido.

Los resultados obtenidos por las técnicas de caracterización, confirman el crecimiento de hidroxiapatita

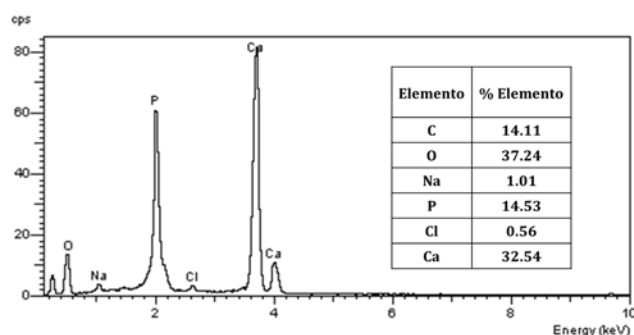


Figura 2. Análisis químico elemental de la muestra a 30 días.

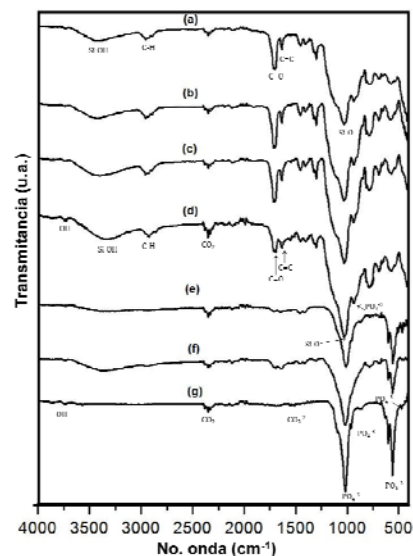


Figura 3. Espectros de FTIR: (a) Recubrimiento híbrido (PMMA-SiO₂-CaO) antes de la prueba, (b-f) Recubrimientos híbridos a 10, 15, 20, 25, 30 días de inmersión, (g) Hidroxiapatita pura.

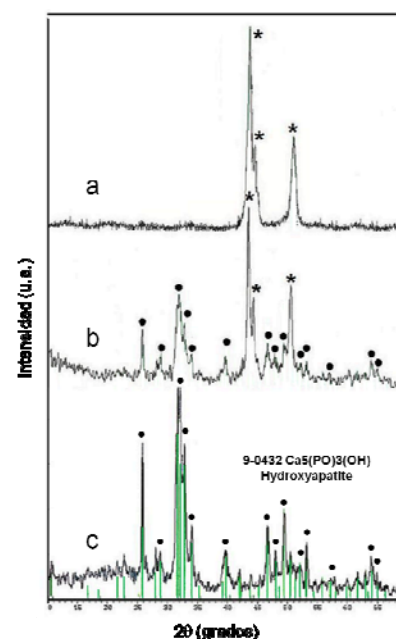


Figura 4. Espectro de DRX: (a) Acero inoxidable 316L, (b) Apatita crecida a 30 días de inmersión y (c) Hidroxiapatita pura.

#

sobre el recubrimiento híbrido, una posible explicación de este proceso se debe a la presencia de los grupos OH^- que se encuentran presentes en el recubrimiento híbrido, como lo detectó el análisis de FTIR. Los grupos OH^- tienen una carga negativa, que puede ser capaz de atraer iones calcio, los que a su vez atraerían a un grupo fosfato llegando a formar centros de nucleación y crecimiento de fosfatos de calcio, además, si esta nucleación se lleva a cabo en concentración de iones calcio y fosfato semejantes a las que presenta el plasma humano, se llevará a cabo el crecimiento de fosfato de calcio en la fase cristalina hidroxiapatita.

De acuerdo a reportes publicados, un recubrimiento que exitosamente mejora la osteointegración de implantes metálicos necesita ser lo suficientemente grueso y cristalizado para estimular el proceso de saneamiento del hueso [19]. El recubrimiento sintetizado mediante este trabajo cumple con las características señaladas para ser usado potencialmente como biomaterial.

4. Conclusión

Es posible la síntesis de recubrimientos de hidroxiapatita sobre sustratos de acero inoxidable 316L recubiertos con híbridos PMMA-sílice utilizando un fluido fisiológico simulado.

El presente trabajo es una opción potencial para llevar a cabo el recubrimiento de acero inoxidable 316L, a través de un proceso sencillo a temperatura ambiente.

El recubrimiento biomimético sintetizado en este trabajo tiene las características potenciales para ser aplicado sobre implantes ortopédicos con el fin de mejorar el saneamiento y crecimiento interno del hueso, lo que podría llevar a una rápida y estable osteointegración de la prótesis.

Referencias

[1]. K. S. Katti, Colloids Surf. B, Biointerfaces, **39** 133 (2004).

- [2]. D. C. Hansen, The Electrochemical Society, Interface, **2** 31 (2008).
- [3]. J. V. Lobato, N. S. Hussain, C. M. Botelho, A. C. Mauricio, J. M. Lobato, M. A. Lopes, A. Afonso, N. Ali and J. D. Santos, Thin Solid Films, **515** 279 (2006).
- [4]. M. Manso-Silván, M. Langlet, C. Jiménez, M. Fernández and J. M. Martínez-Duart, J. Eur. Ceram. Soc., **23**, 243 (2003).
- [5]. Y. Wang, Z. Jiang, Z. Yao and H. Tang, Surf. Coat. Technol., **204**, 1685 (2010).
- [6]. C. Wang, Z. Chen, L. Guan, Z. Liu, P. Wang, S. Zheng and X. Liao, Surf. Coat. Technol., **130**, 39 (2000).
- [7]. E. Boanini and A. Bigi, Thin Solid Films, **497**, 53 (2006).
- [8]. A. Bigi, E. Boanini, S. Panzavolta, and N. Roveri, Biomacromolecules, **1**, 752 (2000).
- [9]. L. J. Zhanga, H. G. Liua, X. S. Fenga, D. J. Qiana, L. Zhanga, X. L. Yub, Q. L. Fengc, Thin Solid Films, **458**, 287 (2004).
- [10]. C. Du, P. Klasens, R. E. de Haan, J. Bezemer, F. Z. Cui, K. de Groot, and P. Layrolle, J. Biomed. Mater. Res., **59**, 535 (2002).
- [11]. S. Leeuwenburgh, P. Layrolle, F. Barrere, J. Schoonman, C. A. van Blitterswijk, and K. de Groot, J. Biomed. Mater. Res., **56**, 208 (2001).
- [12]. P. Layrolle, C. Van der Valk, R. Dalmeijer, C. A. van Blitterswijk, and K. de Groot, Key Engineering Materials, Bioceramics, **13**, 391 (2001).
- [13]. D. A. López, N. C. Rosero-Navarro, J. Ballarre, A. Durán, M. Aparicio and S. Ceré, Surf. Coat. Technol., **202**, 2194 (2008).
- [14]. J. Ballare, D. L. López, N. C. Rosero, A. Durán, M. Aparicio and S. M. Ceré, Surf. Coat. Technol., **203**, 80 (2008).
- [15]. O. Peitl, E. D. Zanutto and L. L. Hench, J. Non-Cryst. Solids, **292**, 115 (2001).
- [16]. J. Gallardo, P. Galliano and A. Duran, J. Sol-Gel Sci. Technol., **21**, 65 (2001).
- [17]. M. Mozafari, F. Moztarzadeh and M. Tahriri, J. Non-Cryst. Solids, **356**, 1470 (2010).
- [18]. W. Weng, S. Zhang, K. Cheng, H. Qu, P. Du, G. Shen, J. Yuan and G. Han, Surf. Coat. Technol., **67**, 292 (2003).
- [19]. Y. Hoshikawa, E. Yasuda, T. Onoki, M. Akao and Y. Tanabe, Surf. Coat. Technol., **203**, 52 (2008).