



## Recubrimientos bioactivos de base hidroxiapatita sobre titanio y sus aleaciones para aplicaciones biomédicas

**ENTIDAD EJECUTORA PRINCIPAL:** Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana (UH)

**Entidades ejecutoras participantes:** Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana. Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas (CENIM, CSIC), España. Universidad Carlos III de Madrid, España. Universidad de Al-Azhar, El Cairo, Egipto. Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid (ICMM, CSIC), España. Universidad Federal de Río de Janeiro (UFRJ), Brasil

**AUTORES:** Eduardo Peón Avés,<sup>1</sup> Juan Carlos Galván Sierra,<sup>2</sup> Antonia Jiménez Morales,<sup>3</sup> Amir A. El Hadad,<sup>4</sup> Violeta Barranco,<sup>5</sup> Gloria Dulce de Almeida Soares<sup>6</sup>

**Filiación:** <sup>1</sup>Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana, Cuba. <sup>2</sup>Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas, CENIM, España. <sup>3</sup>Universidad Carlos III, Madrid, España. <sup>4</sup>Universidad del Cairo, Egipto. <sup>5</sup>Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid, ICMM, España. <sup>6</sup>Universidad Federal de Río de Janeiro, UFRJ, Brasil

### RESUMEN

#### Palabras clave

recubrimientos bioactivos; hidroxiapatita; titanio; aplicaciones biomédicas

Las soluciones que la medicina moderna brinda ante las enfermedades óseas han propiciado que las ciencias contemporáneas dediquen cada vez más esfuerzos al desarrollo de biomateriales que mejoraren la capacidad funcional del individuo y su calidad de vida. Uno de los puntos críticos que se requiere superar es conseguir la fijación satisfactoria entre implante y tejido óseo. Sobre esta base, el objetivo del trabajo consistió en el desarrollo de una tecnología novedosa para obtener recubrimientos cerámicos de hidroxiapatita sobre titanio (Ti) y su aleación Ti6Al4V, utilizada en cirugía osteoarticular, combinando el método de sol-gel con una cristalización por tratamiento térmico a presión reducida, a bajas temperaturas. Los resultados del trabajo demostraron que con estos métodos se obtienen recubrimientos uniformes de hidroxiapatita con características texturales de porosidad controlada, mejor adherencia y efecto protector al fenómeno de la corrosión, propiedades requeridas para su uso en implantes óseos. Además, los ensayos de citocompatibilidad *in vitro* demostraron que los materiales obtenidos no son citotóxicos. Por otra parte, la obtención de piezas de titanio poroso recubiertas con hidroxiapatita, garantiza el equilibrio biomecánico y biofuncional, así como la obtención de la porosidad de tamaño adecuado ( $\geq 100 \mu\text{m}$ , 40-50 %vol) de tipo interconectada, permitirá el crecimiento del hueso hacia el interior del implante y el transporte del fluido fisiológico. Sobre la base de los resultados de caracterización químico-física, la morfología, la adherencia y la impedancia de los sistemas obtenidos, los recubrimientos de hidroxiapatita, además de sus propiedades de biocompatibilidad, sirven como capa protectora al fenómeno de la corrosión haciendo promisorio el sistema para posibles aplicaciones biomédicas como prótesis ortopédicas.

Durante las últimas décadas, los materiales sintéticos se desarrollaron al nivel que se utilizan actualmente en el remplazo y restauración de tejidos dañados. En ortopedia, el uso de implantes metálicos ha mejorado significativamente la calidad de vida de los pacientes, aunque, a pesar de las innovaciones en los materiales utilizados, su promedio de vida útil sigue siendo de 10 a 20 años. Uno de los puntos críticos que se requiere superar es conseguir la fijación satisfactoria entre implante y el tejido. En los últimos años, los mayores esfuerzos están encaminados hacia la búsqueda de una solución a dicho problema, y son prometedores los resultados alcanzados con distintos tipos de recubrimientos de hidroxiapatita (HAp), específicamente el desarrollo de recubrimientos mediante técnicas de tipo sol-gel.

Sobre la base de lo expuesto, nuestro objetivo consistió en realizar investigaciones de un método novedoso que posibilitara el diseño futuro de una tecnología para la obtención de recubrimientos continuos y homogéneos de HAp, de interés en cirugía osteoarticular. Específicamente, preparar derivados de HAp mediante procesos de síntesis sol-gel y cristalizados por tratamiento térmico a presión reducida, sobre superficies de titanio (Ti) o su aleación Ti6Al4V. Así mismo, determinar la adherencia del sistema metal-recubrimiento de HAp y su comportamiento frente a la corrosión en disoluciones de simulación de los fluidos biológicos, y estimar la citotoxicidad y adhesión de osteoblastos.<sup>[1]</sup>

Lo novedoso del trabajo estriba en que, con la combinación de la metodología sol-gel y la cristalización posterior de la capa con tratamiento térmico a presión reducida, se obtienen recubrimientos uniformes con características texturales controladas. Esto le conferirle al sistema mayor rugosidad y mejores propiedades protectoras frente al fenómeno de la corrosión. Además, se estudió el procedimiento de recubrimiento propuesto sobre sustrato de Ti poroso. Se destaca la importancia en la aplicación del tratamiento térmico a presión reducida y bajas temperaturas, ya que no solo implica ahorro energético, sino que se evitarían posibles transformaciones de fases en la aleación de titanio que provocan pérdida de la adherencia del recubrimiento y el fracaso como material de implante.<sup>[1]</sup>

## **Obtención del gel de hidroxiapatita y determinación de las condiciones de tratamiento térmico**

Dado que la aleación Ti6Al4V experimenta transformaciones de fase aproximadamente a los 470 °C, se requiere que cualquier tratamiento térmico esté por debajo de esta temperatura pero que garantice la completa cristalización de la HAp.<sup>[1,2]</sup> En la literatura consultada se encuentran escasos reportes

en el estudio de la HAp por técnicas termoanalíticas, dado que su termogravimetría muestra diferentes etapas solapadas, lo que dificulta la interpretación de la transformación. Los resultados de análisis térmico a velocidad controlada indican con claridad las diferentes etapas por las que transcurre la termólisis, por lo que se plantea que el tratamiento térmico óptimo para la obtención de recubrimientos de HAp es de 450 °C por 5 h a presión reducida.<sup>[1,10]</sup>

## **Valoración de los recubrimientos de hidroxiapatita obtenidos sobre la aleación Ti6Al4V**

La composición y morfología de los recubrimientos se caracterizó por técnicas de espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos X (DRX) y microscopía electrónica de barrido (MEB) con análisis de energía dispersiva de rayos X (EDX), cuyos resultados mostraron que las capas correspondían a la HAp cristalina con un grado de cristalinidad del 89,5 %.<sup>[1-4]</sup>

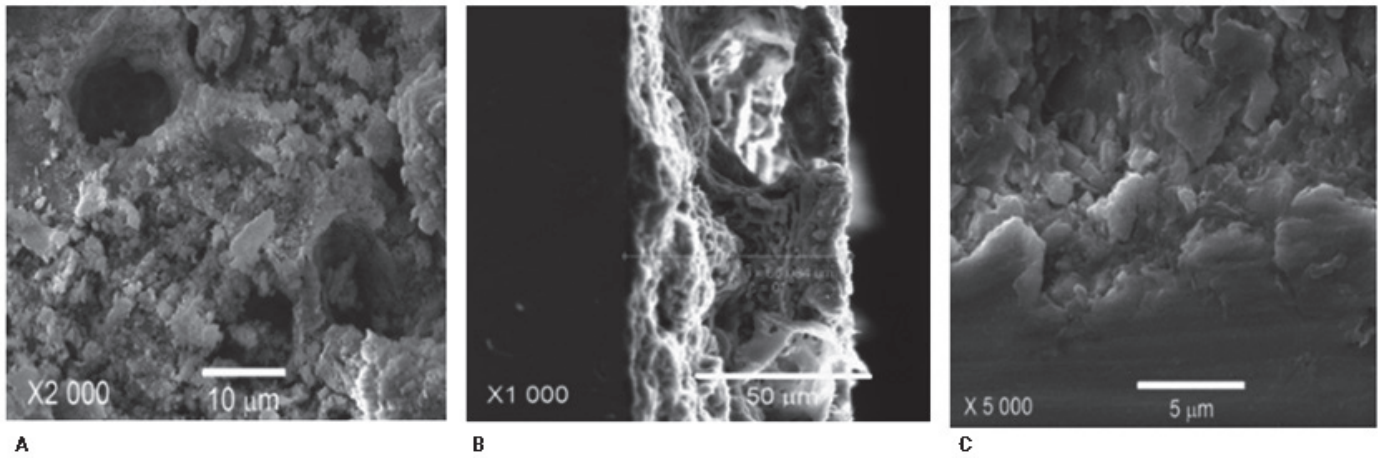
Los resultados MEB del recubrimiento mostraron la formación de cristales en forma de ramilletes, estructura típica de las apatitas. Además se aprecia que la capa es de morfología homogénea, porosa (poros de 5 a 10 µm), sin grietas ni discontinuidad en la superficie del sustrato metálico (figura 1A), con un grosor de aproximadamente 66 µm en toda la capa (figura 1B). Tal morfología es una ventaja para la circulación del fluido fisiológico. En la figura 1C) se muestra una micrografía detallada del corte metalográfico y la interfaz metal-recubrimiento. Lo observado sugiere que las capas de HAp se adhieren firmemente al sustrato a través de un proceso mecánico que favorece la interacción química del TiO<sub>2</sub> superficial con la HAp.<sup>[1-3,5,6]</sup>

## **Adherencia o fuerza de cohesión**

Los valores obtenidos para la resistencia a la tracción o adhesión, fueron de 29 ±4 MPa, que concuerdan con lo reportado por la norma ASTM F 1044-99. Standard Test Method for Shear Testing of Calcium Phosphate Coatings and Metallic Coatings. Si se considera la sencillez del método de recubrimiento empleado y la apreciable adherencia interfacial de las capas apatíticas obtenidas, se puede plantear que ello brinda un enfoque prometedor en la modificación de superficies de implantes carga-esfuerzo dirigidas a aplicaciones ortopédicas.<sup>[1-4,7]</sup>

## **Ruptura por corrosión**

Los estudios de corrosión se realizaron siguiendo la norma ASTM G-78, y no resultó significativa la corrosión. La espectroscopia de impedancia electroquímica se aplicó en la



**Fig. 1.** Microscopía electrónica de barrido de los recubrimientos: A) superficie, B) corte metalográfico y C) detalle del corte.

evaluación de propiedades de protección contra la corrosión del sistema recubrimiento HAp/Ti6Al4V. Este estudio demostró un incremento de la estabilidad a la corrosión durante los 15 días de la inmersión en una solución agresiva como es el fluido biológico simulado, debido a la naturaleza protectora de las capas de HAp sobre la aleación de Ti6Al4V y a su función como barrera.<sup>[1,6,8-10]</sup>

### Citotoxicidad y adhesión de osteoblastos

El ensayo de citotoxicidad realizado de acuerdo con la ISO 10993-5:1999 (Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity) mostró que los recubrimientos de HAp sobre Ti6Al4V no afectan la viabilidad de las células evaluadas, con lo que quedó demostrada su citocompatibilidad.<sup>[1]</sup> Se muestran en la figura 2 las micrografías de las células de preosteoblastos de fémur, sembradas sobre la aleación de Ti6Al4V recubierta por sol-gel. Aparentemente, todas las capas de HAp presentan una buena biocompatibilidad porque las células vivas de osteoblastos se adhieren (se observan filopodios y pseudópodos) y se propagan sobre todo el recubrimiento, dado por la biocompatibilidad de la HAp, la

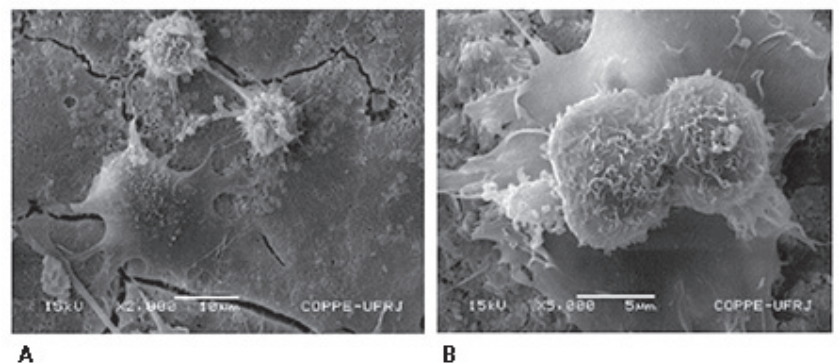
rugosidad y la porosidad de la superficie que le brinda sitios para el anclaje y crecimiento a las células.<sup>[1,8-10]</sup>

### Recubrimiento de una prótesis comercial

A partir de los resultados obtenidos, un vástago femoral de implante de cadera comercial fue recubierto con el procedimiento detallado en esta investigación. Se observó un recubrimiento uniforme y, en términos cualitativos, con la misma adhesión al sustrato metálico que para las muestras de Ti6Al4V, lo que indica el éxito del recubrimiento de HAp por el método sol-gel.<sup>[1,4]</sup>

### Recubrimiento de titanio poroso

Muestras porosas de Ti grado IV fueron obtenidas por la técnica de *space-holder*, y se consiguió un adecuado balance entre rigidez y fuerza mecánica. Posteriormente, se depositaron capas de HAp mediante la metodología descrita antes en este trabajo. Los análisis de FTIR y DRX demostraron la cristalinidad de fase y la homogeneidad en la composición química correspondiente a la HAp. El recubrimiento obtenido fue poroso, sin evidencias de agrietamiento. Los poros están interco-



**Fig. 2.** Microscopía electrónica de barrido: las células cultivadas sobre la aleación de Ti6Al4V recubiertas por HAp.

nectados en una red ininterrumpida, recubiertos por HAp. La satisfactoria cristalinidad y adherencia entre el recubrimiento y el sustrato sugieren su conveniencia para aplicaciones de carga-esfuerzo.<sup>[12]</sup>

En conclusión, se desarrolló una metodología que garantiza la obtención de recubrimientos de HAp cristalina. El empleo de la técnica de análisis térmico a velocidad controlada demostró que la temperatura óptima de tratamiento térmico para la cristalización completa de la HAp es de 450 °C, durante 5 h a presión reducida. A partir de todos los resultados analizados y discutidos se plantea que, al combinar el método sol-gel y la cristalización por tratamiento térmico a presión reducida (bajas temperaturas de tratamiento térmico), se obtienen recubrimientos uniformes con características texturales controladas, además de evitarse posibles transformaciones de fase en el titanio o Ti6Al4V con la consecuente pérdida de la adherencia del recubrimiento. El recubrimiento de HAp sobre el sustrato metálico confiere al implante adecuadas propiedades de biocompatibilidad expresada en la adherencia de las células vivas de osteoblastos y su propagación sobre todo el recubrimiento. Este resultado hace promisorio el sistema recubrimiento hidroxiapatita/sustrato metálico para posibles aplicaciones biomédicas, como las prótesis ortopédicas.

Los resultados presentados son de gran novedad e importancia en el área de la ciencia de los materiales. Han sido publicados 10 artículos en revistas internacionales, 8 de ellos de la Web of Science y un capítulo de libro. Ninguno de los artículos o resultados de investigación que sustentan esta propuesta ha servido de argumento a propuestas de Premio Nacional de la Academia de Cuba en años anteriores.

## Referencias bibliográficas

1. E. Peón Recubrimientos bioactivos de base hidroxiapatita sobre Ti6Al4V para aplicaciones biomédicas. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Químicas. *Centro de Biomateriales*. Universidad de La Habana. 2013.
2. E. Peón, A. Jiménez-Morales, E. Fernández-Escalante, M.C. García-Alonso, M.L. Escudero y J.C. Galván. Recubrimientos de Hidroxiapatita Preparados Mediante un Proceso Sol-Gel. *Revista de Metalúrgica de Madrid* 2005, 137: 479-482.
3. E. Peón, M. Soares Sader, Fabíola de A. Rodrigues Jerônimo, Lúcia Ágata de Sena, Juan C. Galván Sierra and Gloria D. de Almeida

- Soares. Comparative Study of the Hydroxyapatite Sol-Gel and Electrophoresis Coating on Titanium Sheets. *Matéria* 2007, 12(1): 156-163.
4. E. Peón Avés, J. C. Galván, I. R. Lima, J. M. Granjeiro, I. N. Bastos, G. D. Soares. Coating of Ti-6Al-4V Alloy with Hydroxyapatite by Using Sol-Gel Method and its Application to Non-Cemented Femoral Stem. *Cerâmica* 2008, 54: 476-479.
5. Eduardo Peón, Gastón Fuentes, Marcia Soares, Juan C. Galván, Julio C. Llópiz, Ivan N. Bastos, Gloria D. Almeida Soares. Hydroxyapatite Coating by Sol-Gel on Ti-6Al-4V Alloy as Drug Carrier. *Journal of Material Science - Materials in Medicine* 2009, 20(2): 543-547.
6. A.A. El hadad, V. Barranco, A. Jiménez-Morales, E. Peón, J.C. Galván, Multifunctional Sol-Gel Derived Thin Film Based on Nanocrystalline Hydroxyapatite Powders; *Journal of Physics* 2010: Conference Series 252, 012007.
7. E. Peón, I. N. Bastos, J. M. Granjeiro, A. A. El hadad, A. Jiménez-Morales, V. Barranco, J.C.G. Sierra, G. D. Soares. Recubrimientos de Hidroxiapatita Nanocristalina-Preparación, Caracterización y Evaluación de la Bioactividad. *IFMBE Proceedings* 2013, 33: 108-111
8. A. A. El hadad, V. Barranco, A. Jiménez-Morales, E. Peón, G. J. Hickman, C. C. Perry and J. C. Galván. Enhancing in vitro biocompatibility and corrosion protection of organic-inorganic hybrid sol-gel films with nanocrystalline hydroxyapatite. *J. Mater. Chem. B* 2014, 2: 3886-3896.
9. Amir A. El Hadad, Eduardo Peón, Federico R. García-Galván, Violeta Barranco, Juan Parra, Antonia Jiménez-Morales and Juan Carlos Galván. *Materials* 2017, 10: 94-119.
10. E. Peón, A. El hadad, F.R. García-Galvan, A. Jiménez-Morales, J.C. Galván. *Controlled Rate Thermal Analysis (CRTA) as new method to control the specific surface in hydroxyapatite thin coatings*. Chapter from the book *Modern Technologies for Creating the Thin-film Systems and Coatings*. Published by InTechOpen. pp 193-212, 2017 (ISBN: 978-953-51-3004-8; 978-953-51-3003-1).
11. C. Domínguez-Trujillo, E. Peón, E. Chicardi, H. Pérez, J. A. Rodríguez-Ortiz, J. J. Pavón, J. García-Couce, J. C. Galván, F. García-Moreno, Y. Torres. *Surface & Coatings Technology* 2018, 333: 158-162.

## AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA

**Eduardo Peón Avés.** *Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: epeon@biomat.uh.cu*