

EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD *IN VITRO* DE COMPÓSITOS TITANATO DE POTASIO/VIDRIO SILICATO BIOACTIVO

A. Villalpando-Reyna^{*}, D. A. Cortés-Hernández, A. V. Gorokhovskiy, J. C. Escobedo-Bocardo, J. M. Almanza-Robles.

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, CINVESTAV- Unidad Saltillo, MÉXICO.

^{*} angel.villalpando@cinvestav.edu.mx (autor de contacto)

Desde el descubrimiento de Bioglass®, una gran cantidad de materiales cerámicos han sido investigados con fines bioactivos. En este ámbito es bien conocida la habilidad que exhiben los materiales cerámicos bioactivos para unirse al tejido óseo a través de la formación de una capa de apatita cristalina, al ponerlos en contacto con fluidos fisiológicos simulados o reales. En el área de materiales bioactivos, los materiales compósitos presentan un área muy atractiva para promover propiedades funcionales diferentes a los materiales de partida.

Con el propósito de obtener compósitos vitrocerámicos con alta bioactividad y baja degradación, se mezclaron fibras cortas de titanato de potasio con vidrio bioactivo (en cantidades de 30, 50 y 70% en peso titanato de potasio). Posteriormente, las mezclas fueron prensadas y sinterizadas a 1000°C. Después de la sinterización, las muestras obtenidas fueron sumergidas en fluidos fisiológicos simulados (FFS) a un pH de partida de 7.4 y una temperatura de 37°C por 21 días. Los cambios en el pH, la liberación de iones en las soluciones FFS y la pérdida en peso presentados por las muestras y sus FFS correspondientes fueron evaluados a diferentes tiempos de inmersión. Los cambios estructurales y en composición generados durante la reacción ocurrida entre la superficie del compósito y el FFS fueron caracterizados usando microscopía electrónica de barrido (MEB) y difracción de rayos X (DRX).

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo se demostró la formación de una capa densa y homogénea de apatita cristalina sobre la superficie de todos los compósitos obtenidos, dicha capa presentó una composición química similar a la de la apatita ósea. Los resultados obtenidos indican que los compósitos conformados a partir de titanato de potasio y vidrio silicato bioactivo son materiales altamente potenciales para la regeneración de tejido óseo.

Tópico 4: Materiales Cerámicos

Palabras claves: Cerámicos, Bioactividad, Titanato de Potasio, Vidrio Silicato.

1. INTRODUCCIÓN

A partir de 1970 hasta la actualidad, los materiales cerámicos bioactivos han sido utilizados para la regeneración o remplazo total de tejido óseo dañado. La aplicación de tales materiales, promueve la unión entre la prótesis y el tejido circundante a partir de la formación de una capa de apatita similar a la ósea, generando una continuidad fisicoquímica, reduciendo así el rechazo del tejido al material implantado [1].

Los materiales más estudiados en el área de biocerámicos incluyen: diferentes tipos de vidrios bioactivos principalmente: vidrios silicatos [2], fosfatos [3] y boratos [4], así como vitrocerámicos apatita-wollastonita [5], y cerámicos biodegradables como el caso del fosfato tricalcico TCP [6], etc. Sin embargo, es posible identificar diferentes áreas de investigación aún vigentes, tales como el

desarrollo de nuevos materiales bioactivos propuestos para aplicaciones en sitios de reemplazo de alto impacto. Estos materiales cerámicos propuestos presentan fases de reforzamiento de materiales bioinertes.

Los vidrios bioactivos, en particular los vidrios base sílice, presentan una alta bioactividad y por ende son materiales potenciales para diversas aplicaciones de reemplazo óseo. En la actualidad estos vidrios son ampliamente utilizados para la elaboración de recubrimientos de piezas metálicas bioinertes como aleaciones Co-Cr-Mo o Ti6Al4V. Estos vidrios solo han sido empleados como recubrimientos o implantes densos en aplicaciones donde el hueso está sometido a bajos esfuerzos debido a sus bajas propiedades mecánicas. Estudios previos han generado piezas cerámicas a partir de mezclas de vidrio bioactivo bioglass 45S5 y fases reforzantes, tales como: titania [7], circonita [8] y acero [9]. Sin embargo, las propiedades obtenidas a partir de la adición de fase titanato (calcio o potasio) no han sido reportadas en la literatura.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1 Obtención de fibras de hexatitanato de potasio

Para la obtención de las fibras cortas de titanatos de potasio se elaboró un baño de sales fundidas a partir de una mezcla de nitrato de potasio (KNO_3) e hidróxido de potasio (KOH) tratados térmicamente a 500°C con una velocidad de calentamiento de 10°C por minuto en un recipiente de acero inoxidable. Consecutivamente, se adicionaron dentro de la cámara microesferas de titania (TiO_2) con una relación en peso de $\text{KNO}_3:\text{KOH}:\text{TiO}_2$ de 8:1:1 con la finalidad de obtener la reacción entre el potasio libre en el baño de sales y el óxido de titanio, manteniéndolos en reacción durante 60 minutos. Posteriormente, el fundido de sales resultante se templó en una placa de acero. El producto sintetizado fue molido y lavado consecutivamente en una parrilla de agitación a 85°C en periodos de 15 a 30 minutos hasta obtener una relación K/Ti de ~ 5 analizado mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y espectroscopia por dispersión de energía (EDS). Al obtener el valor en composición química, fue sinterizado el polititanato a 1100°C para obtener la fase de hexatitanato requerida ($\text{K}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$).

2.2 Fusión de los vidrios bioactivos

Para la obtención de los vidrios silicatos bioactivos se seleccionó la composición reportada por Hench et al. en el sistema $[\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{Na}_2\text{O}-\text{SiO}_2]$ [1]. Con este propósito se realizaron mezclas de materias primas, incluyendo óxidos tales como óxido de silicio, carbonatos (calcio y sodio), así como fosfato de amonio. En la mezcla de materias primas se realizaron cálculos con la finalidad de obtener una composición nominal en % e.p. en el fundido de 45 SiO_2 , 24.5 CaO , 24.5 Na_2O y 6 P_2O_5 . Las materias primas se mezclaron manualmente y fueron fundidas a 1400°C en un crisol de platino en un ciclo de calentamiento de 5h. Consecutivamente, el fundido se templo en una placa de acero inoxidable hasta temperatura ambiente. El vidrio posteriormente fue triturado y molido hasta obtener partículas de $\sim 325\ \mu\text{m}$.

2.3 Obtención de los compósitos bioactivos

Para la evaluación de los compósitos se realizaron diferentes mezclas de hexatitanato-vidrio bioactivo en relaciones de 30-70, 50-50 y 70-30 en % en peso. A partir de las mezclas, se conformaron pastillas de $\sim 1\ \text{g}$ y $1\ \text{cm}$ de diámetro utilizando presión uniaxial de 10 MPa por un minuto. Los pellets se sinterizaron a temperaturas de 1000°C durante 60 min a una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

2.4 Evaluación de la bioactividad *in vitro*

Las pastillas sinterizadas, se sometieron a pruebas de bioactividad *in vitro* por medio de la inmersión de muestras en 200 ml en FFS por diferentes periodos de tiempo (7, 14 y 21 días). Durante el periodo de inmersión se sometieron las muestras a condiciones fisiológicas (pH= 7.4 y 37°C). El FFS utilizado posee una concentración iónica inorgánica similar a la del plasma sanguíneo humano y corresponde a la solución identificada como (FFS-K9) propuesta por Kokubo et al [10], ver Tabla 1. La estructura y la composición de fases de los compósitos se caracterizaron por MEB, EDS y difracción de rayos X (DRX). Se realizaron también análisis de las soluciones FFS remanentes mediante espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP).

Tabla 1. Concentración iónica del fluido fisiológico simulado (FFS) y del plasma sanguíneo humano.

	Concentración iónica (mM)							
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
Plasma sanguíneo humano	142.0	5.0	2.5	1.5	103.0	27.0	1.0	0.5
FFS	142.0	5.0	2.5	1.5	147.8	4.2	1.0	0.5

3. RESULTADOS

3.1 Sinterización

Las fases obtenidas después de la sinterización de las mezclas de titanato de potasio y vidrio silicato bioactivo se muestran en los patrones de DRX de la Figura 1. Se observa una alta tendencia a la cristalización del material vítreo en un silicato de sodio y calcio (Na₆Ca₃Si₆O₁₈), este fenómeno de desvitrificación se presentó principalmente en la mezcla con 30-70 de hexatitanato-vidrio. Además de este fenómeno, se observó una marcada transformación de titanato de potasio en titanato de calcio, posiblemente favorecida por la formación de vidrio líquido rico en Ca durante la sinterización. Las mezclas sinterizadas de 50-50 y 70-30 (hexatitanato-vidrio) no muestran esta tendencia, debido a que la proporción de vidrio disminuye, además en el análisis de difracción no difractan los picos correspondientes al silicato. Sin embargo, empiezan a intensificarse los picos de hexatitanato de potasio sobre la superficie. En el presente análisis por DRX todas las muestras analizadas mostraron los picos de titanato de calcio con una intensidad significativa lo que indica la alta interacción que existe entre el titanato de potasio y el vidrio líquido rico en Ca y P. Este fenómeno de transformación de fase disminuye al aumentar en proporción de fibras de titanato de potasio.

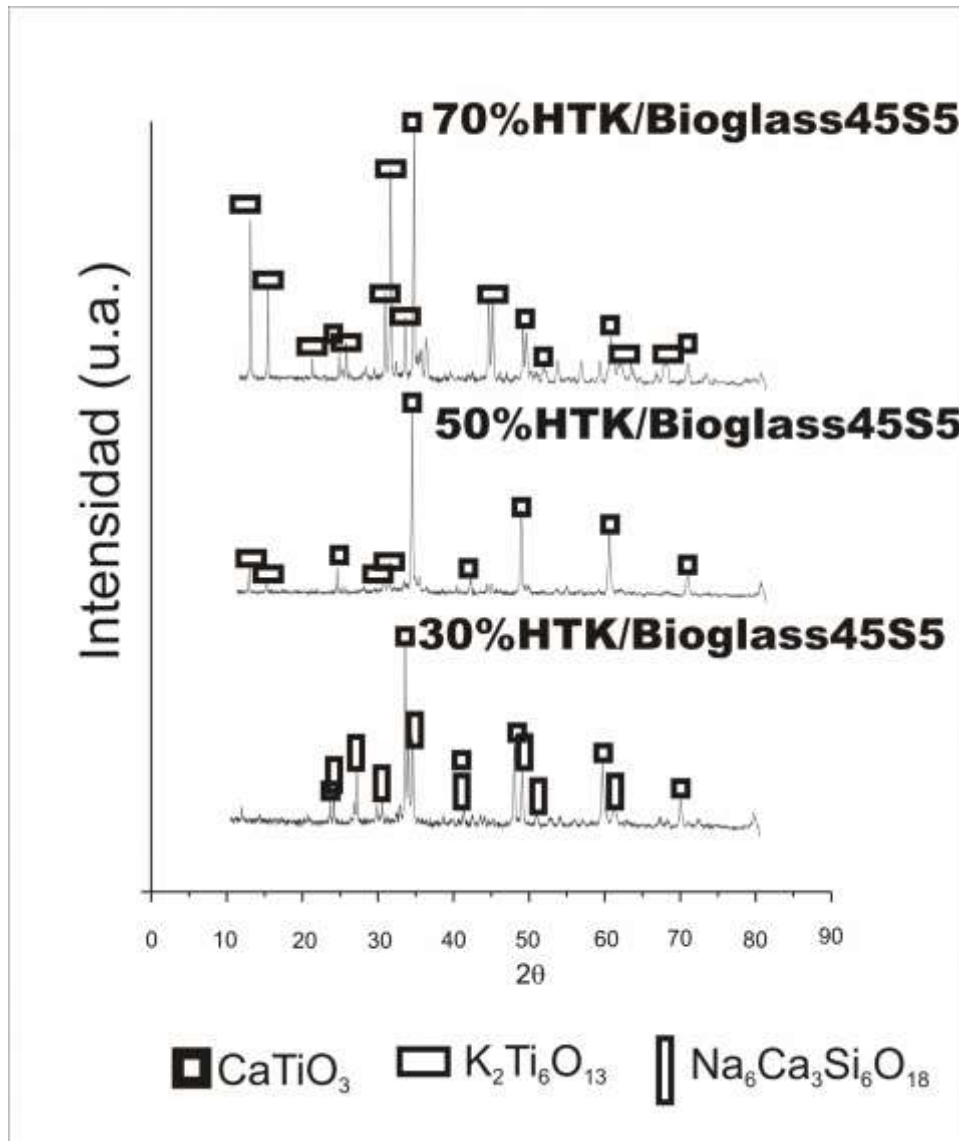


Figura 1. DRX de las muestras con 30-70, 50-50 y 70-30 % en peso de titanato de potasio-vidrio, sinterizadas a 1000°C.

3.2 Evaluación de la bioactividad de los compósitos sinterizados

Durante el análisis de la bioactividad de los compósitos se realizó un muestreo de las soluciones remanentes a diferentes periodos de inmersión para análisis de ICP. Fue posible corroborar la existencia de una reacción química entre el FFS y los compósitos sinterizados, ya que se identificó una disminución en la concentración de fosforo y un aumento en la concentración de iones calcio en las FFS remanentes en función del tiempo de inmersión. Este comportamiento es similar al presentado por los sistemas bioactivos existentes. El fenómeno de liberación de iones Ca y disminución de iones P en las muestras sumergidas ocurrió más intensamente entre los 15 y 21 días de inmersión. La Figura 2 muestra el cambio en la concentración iónica en las soluciones remanentes, correspondientes a las pruebas de bioactividad realizadas a los vitrocerámicos con 50-50% en peso de hexatitanato de potasio-vidrio.

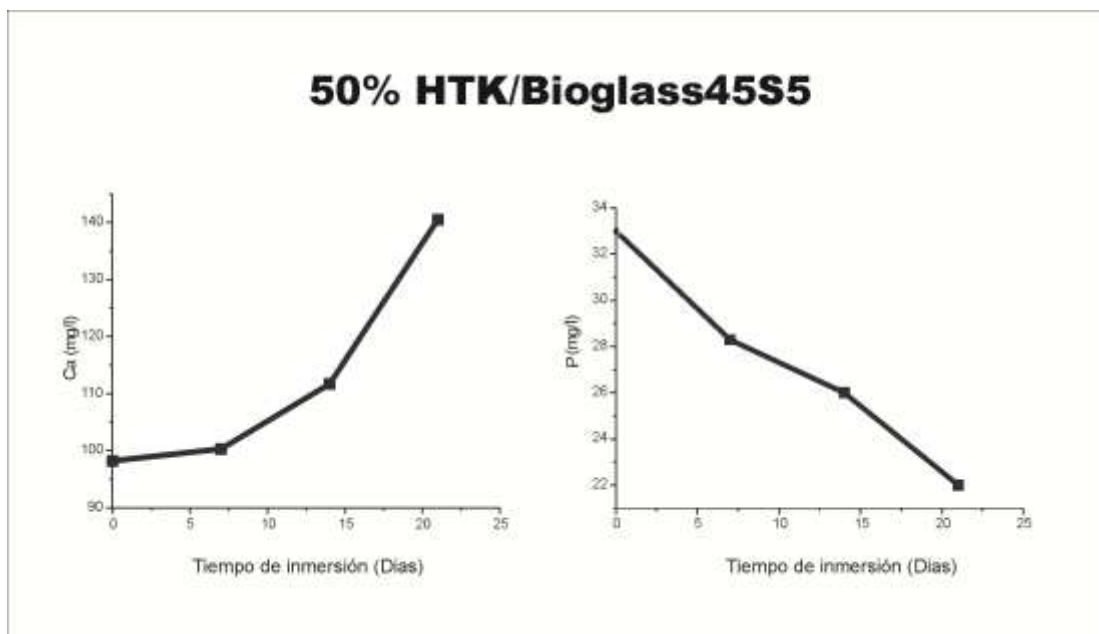


Figura 2. Concentración de calcio y fosforo en las FFS remanentes en función del tiempo de inmersión de las muestras con 50-50% en peso de fibras de titanato de potasio-vidrio bioactivo.

Estudios de MEB y EDS realizados a las probetas sometidas a pruebas *in vitro* en FFS después de 21 días de inmersión mostraron la formación de una capa continua de un compuesto rico en Ca y P en toda la superficie de las muestras evaluadas (Figura 3). Los análisis EDS de la superficie de los aglomerados formados proporcionaron valores de la relación atómica Ca/P cercanos a 1.67. La morfología de las capas formadas fue un apilamiento de partículas esféricas muy similar a la observada en los materiales bioactivos existentes.

Posteriormente, probetas obtenidas después de la inmersión en FFS por 21 días se seccionaron transversalmente para evaluar el espesor de los recubrimientos formados. El espesor de la capa rica en Ca y P fue significativo (~100µm). Las muestras seccionadas no mostraron una interfase bien definida, aunque se observó una cierta degradación superficial del material. Se demostró que este fenómeno está íntimamente ligado al contenido de fases cristalinas, mismas que sirven como sitios preferenciales para la formación de cristales ricos en Ca y P. Las fases cristalinas, ya sean de titanato de calcio o de titanato de potasio no presentan ningún efecto negativo en la bioactividad de los vitrocerámicos obtenidos. La Figura 4 se presenta la sección transversal de la probeta con 50% e. p. de fibras de titanato de potasio después de 21 días de inmersión en FFS.

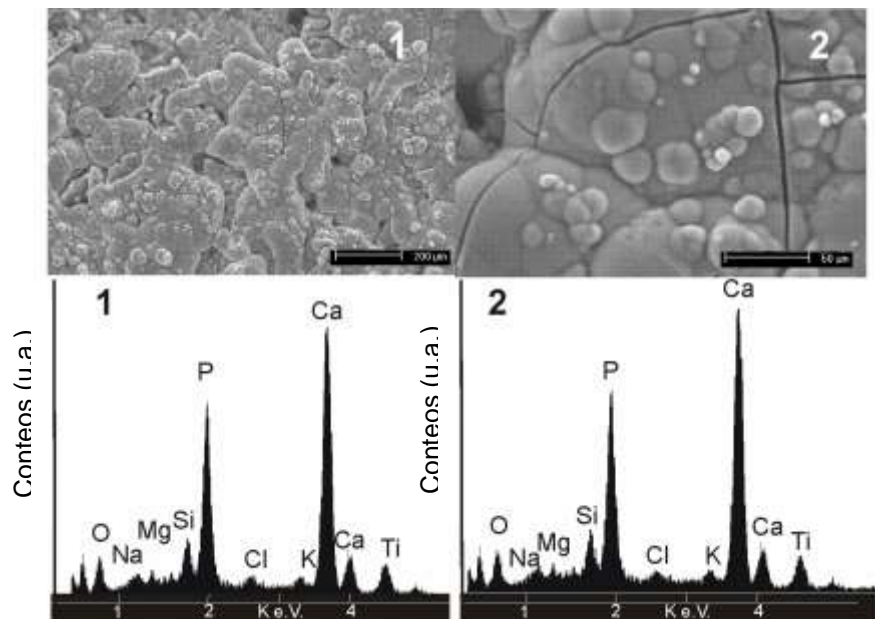


Figura 3. Imágenes de MEB y espectros EDS de la superficie del compuesto vitrocerámico obtenido con la adición de 30 % en peso de fibras cortas de titanato de potasio.

Para la identificación de la fase rica en Ca y P formada sobre la superficie de las probetas después de la inmersión en FFS, se realizaron análisis de (DRX). En la Figura 5, se muestran los patrones obtenidos de las probetas después de 21 días de inmersión en FFS. El compuesto rico en Ca y P formado fue identificado como hidroxiapatita (HA) en todos los casos, lo que indica que estos materiales son altamente bioactivos. Las muestras presentan un crecimiento de HA homogéneo sobre toda la superficie no importando la adición de titanato de potasio, este fenómeno puede ser debido que existe la formación de una mezcla de grupos Ti-OH y Si-OH sobre la superficie, los que, de acuerdo a la literatura, son sitios preferenciales para la nucleación y crecimiento de la fase apatita [11].

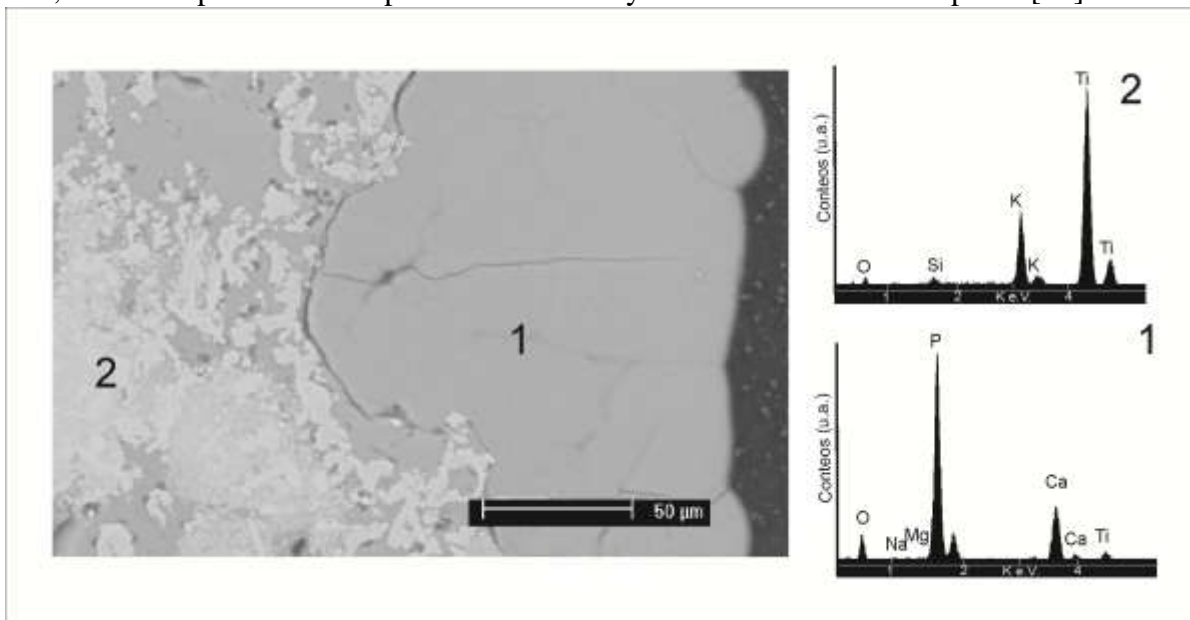


Figura 4. Imagen transversal y espectros de EDS del compuesto vitrocerámico obtenido con la adición de 50 % en peso de fibras cortas de titanato de potasio.

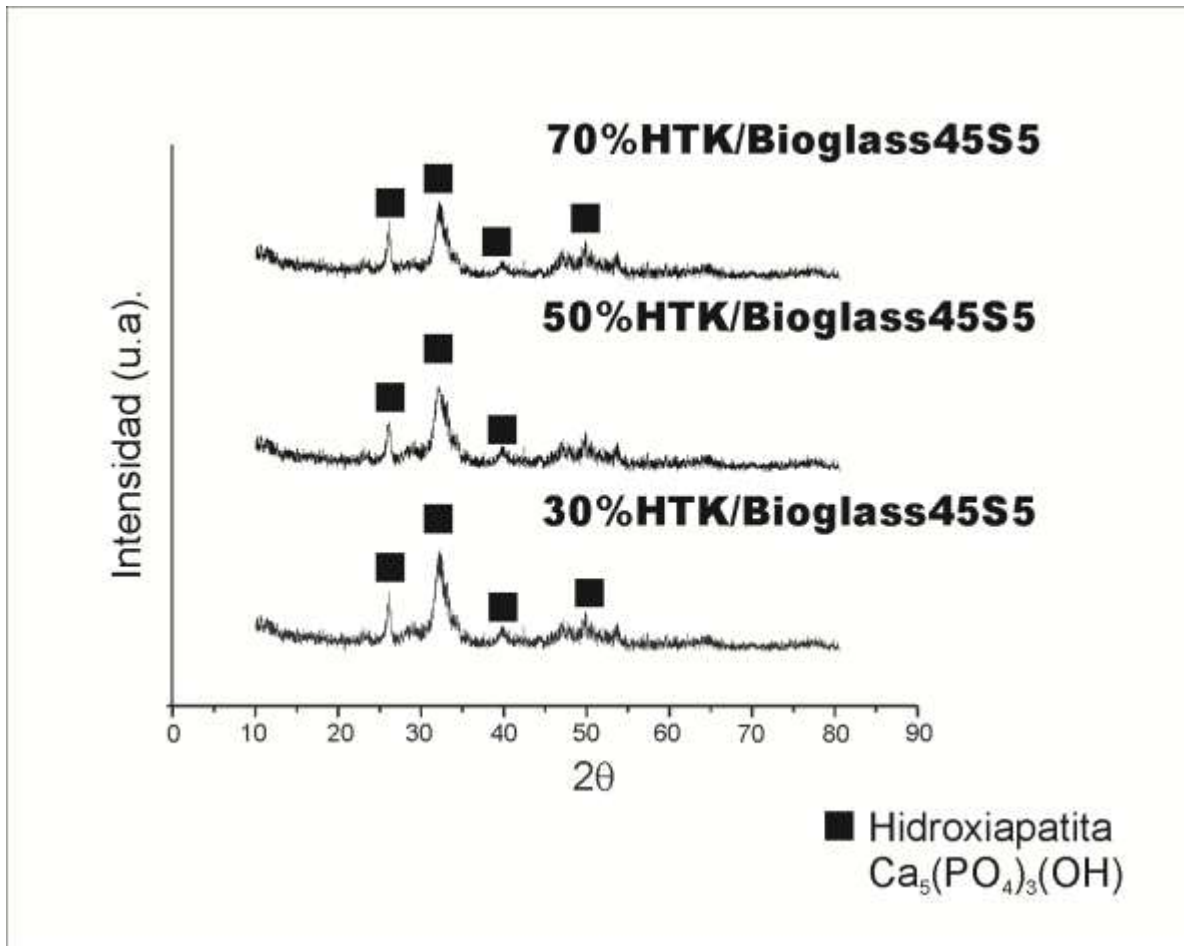


Figura 5. DRX de las muestras después de los ensayos de bioactividad in vitro en FFS.

4. CONCLUSIONES

- Es posible consolidar aglomerados de vidrio del tipo del bioglass con adiciones de fibras de titanato de potasio para obtener materiales altamente bioactivos.
- Durante la sinterización a 1000°C se genera un producto de reacción identificado como titanato de calcio y se mantiene el titanato de potasio con adiciones igual o mayores al 50% e. p de éste.
- La estabilidad de los compósitos se incrementa al aumentar el contenido de titanato de potasio reduciendo la degradación del material vítreo.
- En la interfase existen zonas ricas en Ti y Si, mismas que favorecen la nucleación de capas gruesas de apatitas sobre la superficie de los vitrocerámicos obtenidos.
- Dada su alta bioactividad y estabilidad química, estos vitrocerámicos son potencialmente atractivos para la reconstrucción de tejido óseo.

5. REFERENCIAS

- [1] **D. W. Hutmacher, J. T. Schantz, Ch. X. F. Lam, K. Ch. Tan, T. Ch. Lim**, “State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from biomaterials perspective”, *J. Tissue Eng. Regen. M.*, (2007), 1, 245-260.
- [2] **Q. Z. Chen, I. D. Thompson and A. R. Boccaccini** “45S5 Bioglass-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering” *Biomaterials* 27 (2006), 2414-2425.
- [3] **I. Ahmed, A. J. Parsons, C. D. Rudd, S. N. Nazhat, J. C. Knowles** “ Comparison of phosphate-based glasses in the range $50\text{P}_2\text{O}_5-(50-x)\text{CaO}-x\text{Na}_2\text{O}$ prepared using different precursors” *Eur. J. Glass Sci. Technol. A*, (2008), 49 (2), 63–72
- [4] **Steven B. Jung* & Delbert E. Day** “Conversion kinetics of silicate, borosilicate and borate bioactive glasses to hydroxyapatite” *Phys. Chem. Glasses: Eur. J. Glass Sci. Technol. B*, (2009), 50 (2), 85–88.
- [5] **W. Ortega-Lara, D.A. Cortés-Hernández, S. Best, R. Brooks and A. Hernández-Ramírez** “Antibacterial properties, in vitro bioactivity and cell proliferation of titania–wollastonite composites” *Ceram Int.*, (2010), 36[2], Pages 513-519
- [6] **Hong Cao and Noboru Kuboyama**, “A biodegradable porous composite scaffold of PGA/ β -TCP for bone tissue engineering”, *Bone*, (2010), 46[2], 386-395.
- [7] **H.H. Beherei, K. R. Mohamed, G. T. El-Bassyouni**, “Fabrication and characterization of bioactive glass (45S5)/titania biocomposites”, *Ceram Int.*, (2009), 35, 1991–1997.
- [8] **E. Verne, R. Defilippi, G Carl, C. Vitale Brovarone, P. Appendino**, “Viscous flow sintering of bioactive glass-ceramic composites toughened by zirconia particles” *J. Eur. Ceram. Soc.*, (2003), 23, 675–683.
- [9] **L. L. Hench**, “Bioceramics”, *J. Am. Ceram. Soc.*, (1998), 82(1), 1705-1728.
- [10] **T. Kokumbo, H. Kuchitani and S. Sakka**, “Solution Able to Reproduce in Vivo Surface Structure Changes in bioactive Glass Ceramic A-W”, *J. Biomed. Mater.*, (1990), 24, 721-734
- [11] **Kokubo, T. Matsushita, H. Takadama**, “Titania-based bioactive materials”, *J. Eur. Ceram. Soc.*, (2007), 27, 1553-1558.