

ESTUDIO DE LA BIOACTIVIDAD DE IMPLANTES DENTALES DE TITANIO C.P. G4 TRATADOS SUPERFICIALMENTE

Lemos, Adriana ⁽¹⁾, Gatti, María Florencia ⁽¹⁾, Ekkert, Tatiana ⁽¹⁾
Kang, Kyung Won ⁽¹⁾, Llorente, Carlos ^(1,2) y Bilmes, Pablo ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Laboratorio de Investigaciones de Metalurgia Física “Ing. Gregorio Cusminsky” (LIMF), Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata, Calle 1 y 47, La Plata (1900).

⁽²⁾ Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires – CICPBA.

adriana.barboza@ing.unlp.edu.ar

Palabras claves: Blastinizado, APQ, Tratamiento alcalino, SBF.

1. INTRODUCCIÓN

Hoy día está bien reconocido que la superficie del biomaterial implantable juega un papel determinante en la interacción con el medio biológico. Así, en gran medida la eficacia de los implantes artificiales se establece principalmente por sus características superficiales, tales como morfología de la superficie y estructura, composición química, rugosidad, hidrofiliidad, etc.; dado que estas propiedades influyen en la adsorción de las biomoléculas que intervienen en la adhesión de las células deseables para el proceso de osteointegración [1]. Por todo lo anterior, los nuevos diseños de implantes dentales de titanio se están direccionando a aplicar tratamientos y/o recubrimientos para transformar sus superficies bioinertes en bioactivas e hidrofílicas, lo cual permite acelerar y mejorar sustancialmente en los inmediatos estadíos post implantación y la secuencia de eventos biológicos que aseguran una rápida y duradera osteointegración. Entre los clásicos tratamientos superficiales del titanio que promueven la osteointegración se destacan el blastinizado, el anodizado por plasma químico y el tratamiento alcalino en NaOH.

En el tratamiento de blastinizado se utilizan pequeñas partículas abrasivas propulsadas por una corriente de gas que impactan sobre la superficie de la muestra. La magnitud de la modificación superficial depende de los parámetros de proceso: tamaño, composición y forma de la partícula, presión y tiempo de blastinizado [2]. En general, en el blastinizado de los implantes de titanio, se utilizan partículas de óxido de titanio (TiO₂), sílice (SiO₂) y alúmina (Al₂O₃) de distintos tamaños y formas [3-5]. El mayor inconveniente que genera el blastinizado con este tipo de partículas es que una gran cantidad de las mismas permanecen adheridas a la superficie luego del tratamiento y limpieza del implante. Algunos estudios han demostrado que la liberación de estas partículas no biocompatibles provocan una reacción adversa en el huésped [6-7]. Por esta razón, se han empezado a utilizar partículas biocompatibles, que contienen calcio y fósforo, que no comprometen la interacción del implante con el tejido [7]

Por otro lado, el tratamiento de anodizado por plasma químico (APQ), también conocido como proceso MAO (*micro-arc oxidation*), genera un recubrimiento biocerámico. Este proceso se basa en la ruptura dieléctrica de una capa de óxido aislante en la superficie de un ánodo metálico en contacto con un baño electrolítico acuoso que contiene elementos modificadores como por ejemplo calcio y fósforo. Estudios previos muestran que el Ca y P presente en el baño electrolítico, puede cristalizar en fosfato de calcio o incluso formar directamente una apatita superficial (bioactiva) [8-9]. Otra ventaja que presenta este proceso es que los revestimientos producidos por APQ tienen naturaleza porosa que puede mejorar el anclaje de los implantes al hueso [10]. Algunos autores mencionan que es difícil que las superficies tratadas solamente con APQ puedan proporcionar la suficiente bioactividad dentro de las primeras etapas de implantación [11-12]. El tratamiento alcalino sobre titanio y sus aleaciones induce la formación de un hidrogel de titanato de sodio amorfo, con una

morfología de nanoesponja en la superficie del titanio, que favorece notablemente la bioactividad del implante [13-15].

El presente trabajo se centró en el estudio del comportamiento bioactivo de muestras de titanio cp blastinizado con partículas de fosfato de calcio, anodizado por plasma químico (APQ) con previo blastinizado con partículas de fosfato de calcio, y ambas condiciones sometidas a un posterior tratamiento alcalino de NaOH.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizó como material de estudio Ti c.p. ASTM Grado 4 (0.0039% N, 0.0112% C, 0.11% Fe, 0.24% O, 0.00% H, Ti bal.). Las muestras, se sometieron a un tratamiento de blastinizado durante 2 minutos con partículas angulares de fosfato de calcio a 6 Bar de presión. A continuación, dichas muestras fueron anodizadas por medio de un plasma químico en una solución electrolítica a base de fosfato de calcio anhidro (CaHPO_4) y acetato de calcio ($\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$). El tratamiento alcalino se realizó en una solución acuosa 10 M de hidróxido de sodio durante un tiempo de 24 hs a una temperatura de 60 °C.

La respuesta biológica se evaluó a partir de la norma ISO-FIS 23317:2012 (E) [16]. Las muestras fueron sumergidas en SBF a 37 °C con un pH 7,4 durante 7 días. La morfología y composición superficial de las muestras, se evaluó con microscopia electrónica de barrido (MEB) y espectrometría dispersiva en energías (EDS). Esto fue realizado en un microscopio electrónico ambiental FEI Quanta 200 y un espectrómetro dispersivo en energías EDAX Apollo 40 (EDS) adosado al SEM. Se realizaron medidas de ángulo de contacto a temperatura ambiente empleando agua como líquido de prueba. Se utilizó un goniómetro ramé-hart Model 500 (rame-hart instrument co., USA). El enlace químico y composición se evaluó a partir de espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (ATR-FTIR). La caracterización de las fases presentes, se realizó mediante difracción de rayos X de bajo ángulo (FXRD), empleando radiación Cu-K α , filtro de Ni. El barrido fue realizado entre 20 y 70° con paso de 0.02° y 1 seg/paso.

Tabla 1: Nomenclatura de las muestras utilizadas en este trabajo para los diferentes tratamientos.

MUESTRAS	TRATAMIENTOS SUPERFICIALES
B7	Tratamiento de blastinizado e inmersión en SBF por 7 días
BAPQ7	Tratamiento de blastinizado, anodizado por plasma químico (APQ) e inmersión en SBF por 7 días.
BNa7	Tratamiento de blastinizado, tratamiento alcalino, e inmersión en SBF por 7 días
BAPQNa7	Tratamiento de blastinizado, anodizado por plasma químico (APQ), tratamiento alcalino e inmersión en SBF por 7 días.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se pueden observar imágenes obtenidas mediante MEB de la topografía superficial de las muestras “B”, “BAPQ”, “BNa” y “BAPQNa”, previo a su inmersión en SBF; como también sus respectivos espectros EDS. La muestra “B” presenta una severa modificación en su topografía superficial [7], con presencia en su superficie de partículas de fosfato de calcio remanentes de dicho tratamiento [17] (Figura 1a). La muestra “BAPQ” exhibe una capa porosa enriquecida en calcio y fósforo, provenientes del blastinizado y del electrolito utilizado en el anodizado por plasma químico; los espectros EDS confirman la presencia de estos elementos. El tratamiento alcalino genera un hidrogel de titanato de sodio en la superficie del óxido de titanio; con fisuras que recorren toda la superficie (Figuras 1c y 1d). Estas fisuras resultan de la contracción de la capa de titanato de sodio formado sobre la superficie, debido a la deshidratación durante el secado.

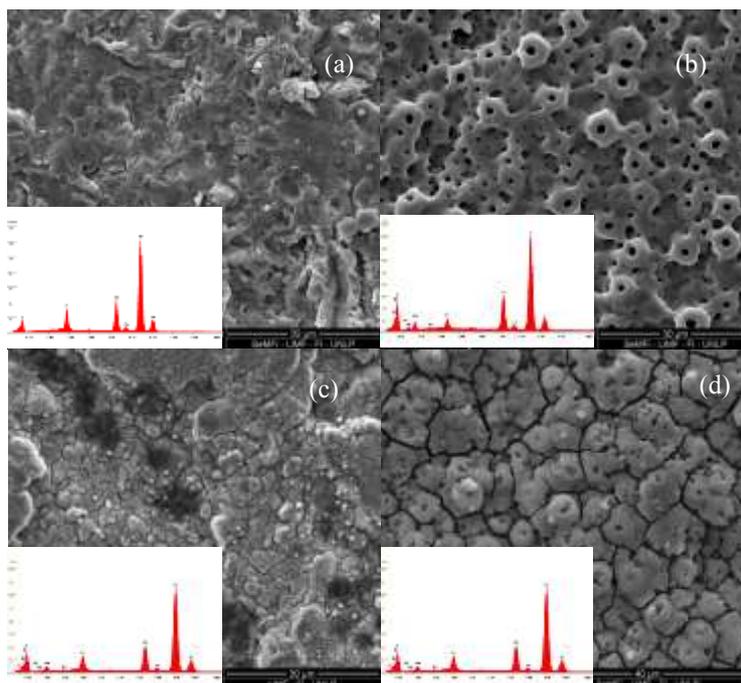


Figura 1: Imágenes SEM de las muestras tratadas superficialmente. (a) Muestra B, (b) Muestra BAPQ, (c) Muestra BNa y (d) Muestra BAPQNa.

Las características superficiales tales como rugosidad, composición química, hidrofiliidad, etc; juegan un papel importante en la interacción entre el dispositivo médico y el medio biológico a corto y a largo plazo [18]. El ángulo de contacto pone en evidencia el comportamiento hidrofílico o hidrofóbico de una superficie. Por tanto la hidrofiliidad de una superficie es uno de los factores que determina la biocompatibilidad de un biomaterial y es directamente dependiente de la energía superficial. Si la superficie de estudio presenta un ángulo de contacto $\phi < 90^\circ$, esta se considera hidrofílica; en cambio sí el ángulo de contacto formado por la gota de agua y la superficie es mayor a 90° , la superficie se considera hidrofóbica; y si el ángulo de contacto ϕ es menor a 20° estaríamos en presencia de una superficie superhidrofílica [19]. En la Figura 2 se presentan las medidas de ángulo de contacto estático, la muestra “B” (Figura 2a) exhibe un ángulo de contacto de $80,1^\circ$ resultando en una superficie con una moderada hidrofiliidad [20]. La muestra “BAPQ” (Figura 2c) presenta un ángulo de contacto de $114,7^\circ$, resultando en una superficie hidrofóbica [20]. Las muestras “BNa” y “BAPQNa” presentan ángulos de contacto de $19,1^\circ$ y $17,1^\circ$, respectivamente, resultando en superficies muy hidrofílicas.

Tabla 2. Ángulo de contacto de las muestras tratadas superficialmente.

Muestra	Angulo de contacto ($^\circ$)
B	80
BAPQ	114,7
BNa	19,1
BAPQNa	17,1

En la Figura 3 se muestran la morfología superficial de las muestras B7, BAPQ7, BNa7 y BAPQNa7 obtenidas después de la inmersión en SBF durante 7 días; Las muestras “B7” y “BAPQ7” (Figuras 3a y 3b) no mostraron cambios en la morfología superficial luego de la inmersión en SBF. En las muestras “BNa7” y “BAPQNa7” (Figuras 3c y 3d), se evidencia la

presencia de precipitados esféricos formando una red porosa con partículas tipo agujas distribuidas homogéneamente con fisuración en toda la superficie. [21].

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos a partir de los espectros EDS, correspondiente a las muestras “BNa7” y “BAPQNa7”. Estos análisis indican que el precipitado obtenido después de la inmersión en SBF está compuesto por Ca y P.

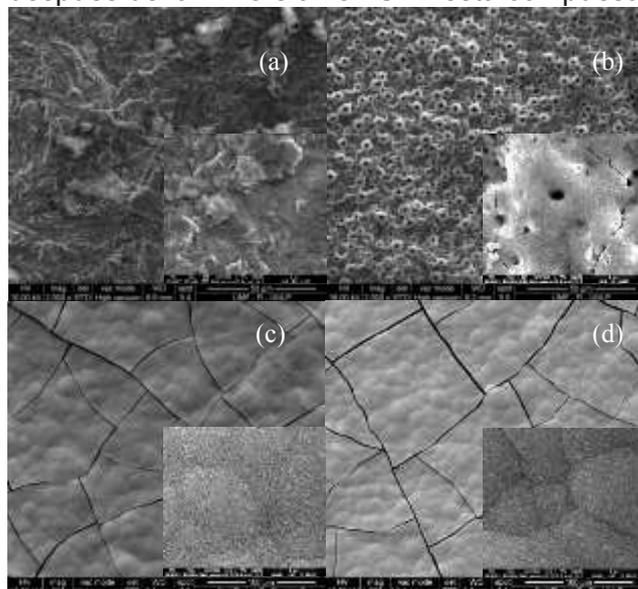


Figura 3: Imágenes SEM de las muestras ensayas en SBF, (a) Muestra B7, (b) Muestra BAPQ7, (c) Muestra BNa7, (d) Muestra BAPQNa7.

Tabla 3. Relación Ca/P después de la inmersión en SBF durante 7 días, en las muestras BNa7 y BAPQNa7.

Muestra	Ca (at%)	P (at%)	Ca/P
BNa7	22,49	15,31	1,47
BAPQNa7	24,50	15,92	1,54

En la Figuras 4 se presentan los espectros FTIR correspondientes a las muestras “BNa7” (rojo) y “BAPQNa7” (azul). Ambas presentan dos bandas anchas centradas; a 1423 y 1011 cm^{-1} en la muestra BNa7 y a 1423 y 1008 cm^{-1} en la BAPQNa7. También los espectros de estas muestras presentan una segunda banda de mayor intensidad, la cual está asociada a la contribución de grupos fosfatos con diferentes geometrías y entornos.

Asimismo, en estas dos muestras se presenta una banda muy intensa a 1008 cm^{-1} y un hombro a 960 cm^{-1} asignables a grupos fosfatos de hidroxiapatita [22]. Las señales a 1093, 1008 y 960 cm^{-1} , indicaría la presencia de la misma en la superficie de la muestra.

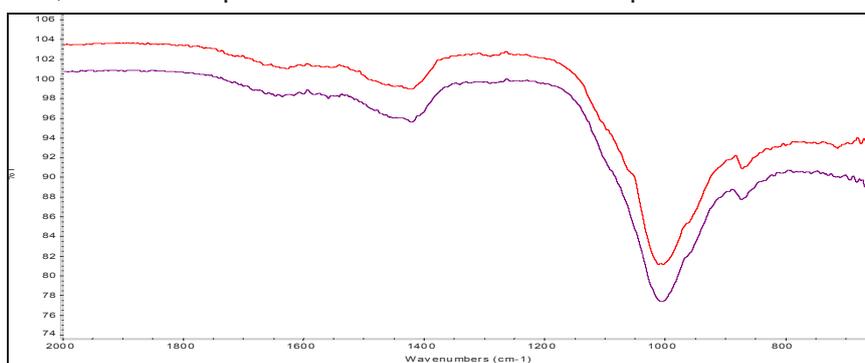


Figura 4. Espectros ATR-FTIR de BNa7 (rojo) y BAPQNa7 (violeta) en la región 2000 – 650 cm^{-1}

Por otro lado, a partir de medidas de difracción de rayos X de bajo ángulo se verificó la presencia de hidroxiapatita en las dos muestras bajo estudio “BNa7” y “BAPQNa7”. En la Figura 6 se observan los picos de difracción correspondientes a la fase de hidroxiapatita en ambas muestras “BNa” y “BAPQNa7”; además se presentan los picos característicos del Titanio y del Rutilo (TiO_2) propios del material de estudio.

Es necesario destacar que de la comparación de ambos espectros no se encuentran diferencias de las fases presentes en las superficies de las muestras ensayadas.

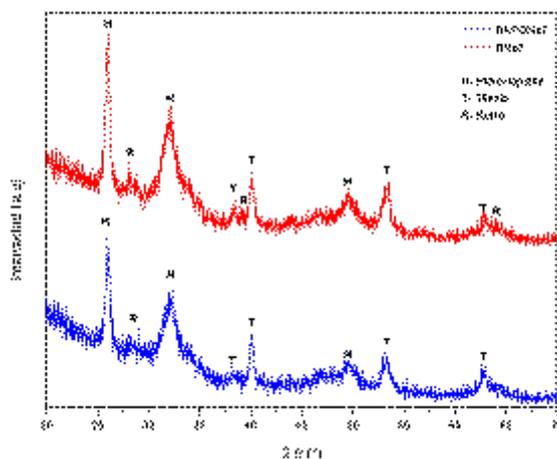


Figura 6. Difractogramas de las muestras “BNa7” y “BAPQNa7”.

5. CONCLUSIONES

El tratamiento alcalino en NaOH aplicado a las muestras de Ti Gr4 con diferentes condiciones superficiales generó variaciones en las superficies de tipo química y topográfica. Se produjeron disminuciones en los ángulos de contacto generando superficies superhidrofílicas, lo cual se considera promisorio, ya que es conocido que esta característica facilita la osteointegración entre el biomaterial y el medio biológico en los primeros estadios post-implantación. Del análisis de los resultados obtenidos de Difracción de Rayos X, FTIR y SEM; se concluye que el tratamiento en solución alcalina de NaOH genera superficies bioactivas, ya que acelera la formación de apatitas en las superficies de las muestras blastinizadas y blastinizadas con anodizado por plasma químico, cuando ellas son inmersas en SBF durante 7 días.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] G. BALASUNDARAM, T.J. WEBSTER, J. “A perspective on nanophase materials for orthopedic implant applications”. *Journal of Materials Chemistry*, v.16, n.16, pp. 3737–3745, Jul. 2006.
- [2] REIDENBACH F., “ASM Handbook Volumen 5”, ASM International Handbook Committee, 1996.
- [3] LE GUÉHENNEC L., SOUEIDAN A., LAYROLLE P. AND AMOURIQ Y., “Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration”, *Dental Materials*, v. 23, n. 7, pp. 844–854, Jul. 2007.
- [4] WENNERBERG A., ALBREKTSSON T., “Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review”, *Clinical Oral Implants Research*, v. 20, n. 4, pp. 172-184, Sep.2009.
- [5] ARVIDSSON A., SATER B.A., WENNERBERG A. “The role of functional parameters for topographical characterization of bone-anchored implants”, *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, v.8, n.2, pp.70-76, Jul. 2006.

- [6] CHOI C.R., YU H.S., KIM C.H., LEE J.H., OH C.H., KIM H.W. AND LEE H.H., “Bone Cell Responses of Titanium Blasted with bioactive glass particles”, *Journal of Biomaterials Applications*, v. 25,n.2, pp. 99–117, Aug. 2010
- [7] LEMOS, A., CERLIANI A., KANG,K., ECHARRI,J., LLORENTE,C., BILMES, P., SCARANO, N., BORASI,L., “Caracterización superficial y transversal de implantes dentales de titanio blastinizados y anodizados por plasma químico”. In: *Actas del XI Congreso Iberoamericano de Ingeniería Mecánica CIBIM 2013*, pp. 1108-1117, La Plata, Nov. 2013
- [8] WEI D Q, ZHOU Y, JIA D.C., WANG Y. M. “Effect of heat treatment on the structure and in vitro bio-activity of microarc oxidized (MAO) titania coatings containing Ca and P ions”, *Surface and Coatings Tech-nology*, v. 201, n.21, pp. 8723–8729, Aug. 2007.
- [9] LI L H, KIM H W, LEE S H, KONG Y M, KIM H E. “Biocompatibility of titanium implants modified by microarc oxidation and hydroxyapatite coating”, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v.73, n. 1, pp. 48-54, Apr. 2005.
- [10] PAITAL S R, DAHOTRE N B. “Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies”, *Materials Science and Engineering R: Reports*, v. 66, n. 1–3, pp. 1–70, Aug. 2009.
- [11] ISHIZAWA H, OGINO M. “Formation and characterization of anodic titanium oxide films containing Ca and P”, *Journal of Biomedical Materials Research*, v.29, n.1, pp. 65-72, Jan 1995.
- [12] WEI D Q, ZHOU Y, WANG Y B, MENG Q C, JIA D C. “Structure and apatite formation of microarc oxidized TiO₂-based films before and after alkali-treatment by various alkali concentrations”, *Surface and Coatings Technology*, v. 202, n. 20, pp. 5012–5019, Jul. 2008.
- [13] JONÁSOVÁ L , MÜLLER FA , HELEBRANT A , STRNAD J , GREIL P. “Hydroxyapatite formation on alkali-treated titanium with different content of Na⁺ in the surface layer”, *Biomaterials*, v. 23, n.15, pp. 3095–3101, Aug. 2002.
- [14] NISHIGUCHI S., FUJIBAYASHI S., H.M. KIM, KOKUBO T., NAKAMURA T. “Biology of alkali- and heat-treated titanium implants”, *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*, v.67, n.11, pp. 26–35, Oct. 2003.
- [15] KIM S., JEONG Y., CHOE H., W BRANTLEY.A. “Morphology change of HA films on highly ordered nanotubular Ti–Nb–Hf alloys as a function of electrochemical deposition cycle”. *Surfaces and Coating Technology*, v. 259, Part B, pp. 281–289, Nov. 2014.
- [16] *Implants for surgery - In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials, ISO 23317:2012.*
- [17] HAN Y., HONG S.H., XU K.W. “Structure and in vitro bioactivity of titania-based films by micro-arc oxidation”, *Surface and Coatings Technology*, v. 168, n. 2–3, 22, pp. 249–258, May 2003.
- [18] GITTENS R.A., SCHEIDELER L., RUPP F., HYZY S.L., GEIS-GERSTORFER J., SCHWARTZ Z., BOYAN B.D. “A review on the wettability of dental implant surfaces II: Biological and clinical aspects”, *Acta Biomaterialia* , v. 10, pp. 2907–2918, Apr. 2014.
- [19] VOGLER E.A. “Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces”, *Advances in Colloid and Interface Science*, v.74, n.1-3, pp. 69–117, Feb. 1998.
- [20] RUPP F, GITTENS R.A, SCHEIDELER L, MARMUR A., BOYAN B.D., SCHWART Z., GEIS-GERSTORFER J. “A review on the wettability of dental implant surfaces I: Theoretical and experimental aspects”, *Acta Biomaterialia*, v.10, n.7, pp. 2894–2906, Jul. 2014.
- [21] ZHANGA P., ZHANG Z., LI W., ZHUA M. “Effect of Ti-OH groups on microstructure and bioactivity of TiO₂ coating prepared by micro-arc oxidation”, *Applied Surface Science*, v.268, pp.381–386, March 2013.
- [22] SROKA-BARTNICKA A., BORKOWSKI L., GINALSKA G., ŚLÓARCZYK A., KAZARIAN S.G. “Structural transformation of synthetic hydroxyapatite under simulated in vivo conditions studied with ATR-FTIR spectroscopic imaging”, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v.171, pp.151-161, Aug. 2016.