

## PLATAFORMAS DE HIDROXIAPATITA PARA INGENIERÍA DE TEJIDOS FABRICADAS POR LA TÉCNICA DE GEL-CASTING COMBINADA CON INFILTRACIÓN DE ESPUMAS POLIMÉRICAS

Jazmín González Ocampo<sup>1 Φ\*</sup>, Luis Miguel Acosta Ochoa<sup>2</sup>, Diana Marcela Escobar Sierra<sup>3 Φ</sup>  
Claudia Patricia Ossa Orozco<sup>3 Φ</sup>

1: Estudiante de Maestría en Ingeniería, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia

2: Estudiante de Bioingeniería, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia

3: Docente de Bioingeniería, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia

<sup>Φ</sup> Grupo de Investigación en Biomateriales y Biomecánica

\*Contacto: jazpcn@gmail.com

### RESUMEN

La hidroxiapatita es un cerámico que permite la fijación bioactiva, la invasión de células y de nutrientes que promueven la regeneración de los tejidos. En este trabajo se prepararon plataformas tridimensionales de hidroxiapatita usando la técnica de gel-casting combinada con infiltración de espumas poliméricas, con un porcentaje de sólidos del 40% y tres monómeros diferentes. Las plataformas se caracterizaron examinando la morfología de la superficie y el tamaño de poros por microscopía electrónica de barrido (SEM), se determinó la porosidad e interconectividad usando ensayos de inmersión y también fueron realizados ensayos de compresión.

Los resultados muestran que las plataformas obtenidas presentan porosidad abierta e interconectada, con un tamaño de poro aproximado de 300  $\mu\text{m}$  y una resistencia mecánica baja, de 0.1 MPa, en comparación con la del hueso trabecular humano.

**Palabras Clave:** *Gel-casting, Hidroxiapatita, Infiltración de espumas, Scaffold*

### ABSTRACT

Hydroxyapatite is a ceramic enabling of fixing bioactive, cells invasion and nutrients, which promote tissue regeneration. In these work, dimensional hydroxyapatite stage using gel-casting technique combined with infiltration of polymer foams, with a percent solids of 40% and three different monomers were prepared. The stages surface morphology and the pore size were characterized by scanning electron microscopy (SEM), porosity and interconnectivity was determined by immersion tests and mechanical compression tests were performed.

The results obtained show that the stages have opened and interconnected porosity with a pore size of approximately 300 microns and low mechanical strength of 0.1 MPa as compared with that of human trabecular bone.

**Keywords:** *Gel-casting, Hydroxyapatite, Polymer sponge methods, Scaffold*

## **1 INTRODUCCIÓN**

La hidroxiapatita (HA) ha sido ampliamente utilizada en campos como la ortopedia y la odontología, debido a que posee alta biocompatibilidad con el cuerpo humano y elevada osteointegración; es por ello que recientes estudios se han enfocado en desarrollar cuerpos porosos de hidroxiapatita que provean una plataforma tridimensional (scaffolds) para el crecimiento celular [1]. Estas plataformas pueden ser fabricadas por diferentes técnicas, entre las que sobresalen la técnica de gel-casting, que permite obtener piezas de buenas propiedades mecánicas, de alta complejidad y alta permeabilidad [2,3]; y la técnica de infiltración de espumas poliméricas que ofrece una porosidad uniformemente distribuida [4,5].

El objetivo de este trabajo fue fabricar plataformas tridimensionales combinando las dos técnicas (gel-casting e infiltración de espumas), utilizando tres monómeros diferentes y 40% de sólidos, para lograr las propiedades requeridas en Ingeniería de Tejidos (IT), como son las propiedades mecánicas, la morfología y tamaño de poro, porcentaje de porosidad e interconectividad.

## **2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 Fabricación de las plataformas tridimensionales**

Para la fabricación de las plataformas se utilizó polvo de hidroxiapatita comercial marca Strem Chemicals en un porcentaje de sólidos del 40%, el cual tenía un tamaño de partícula promedio de 12.9  $\mu\text{m}$ ; se utilizaron como monómeros funcionales metacrilamida, acrilamida y N-metilolacrilamida.

Inicialmente se mezclaron el agua destilada, el monómero funcional, la bisacrilamida (entrecruzante), el alcohol polivinílico (aglutinante) y el ácido metacrílico (dispersante) durante 3 minutos en un agitador magnético Velp Scientifica AREX, hasta obtener homogeneidad en la muestra. Luego se procedió a mezclar esta solución con el polvo de HA en un agitador mecánico Kika Labortechnik RW. Después se llevó a la cámara de vacío para eliminar las burbujas existentes, allí se adicionó el catalizador y el iniciador y se continuó la homogenización durante 5 minutos más. Seguidamente se procedió a infiltrar las espumas de poliuretano dentro de la suspensión y se dejaron en la cámara durante 30 minutos.

Por último se realizó el tratamiento térmico que inició con un secado a temperatura ambiente durante 24 horas, luego se secaron en una estufa marca Binder modelo 53 ED, a 70°C durante 15 horas, para proporcionar cierto grado de resistencia mecánica para la manipulación; y finalmente las muestras secas se sinterizaron a 1200°C por 3 horas.

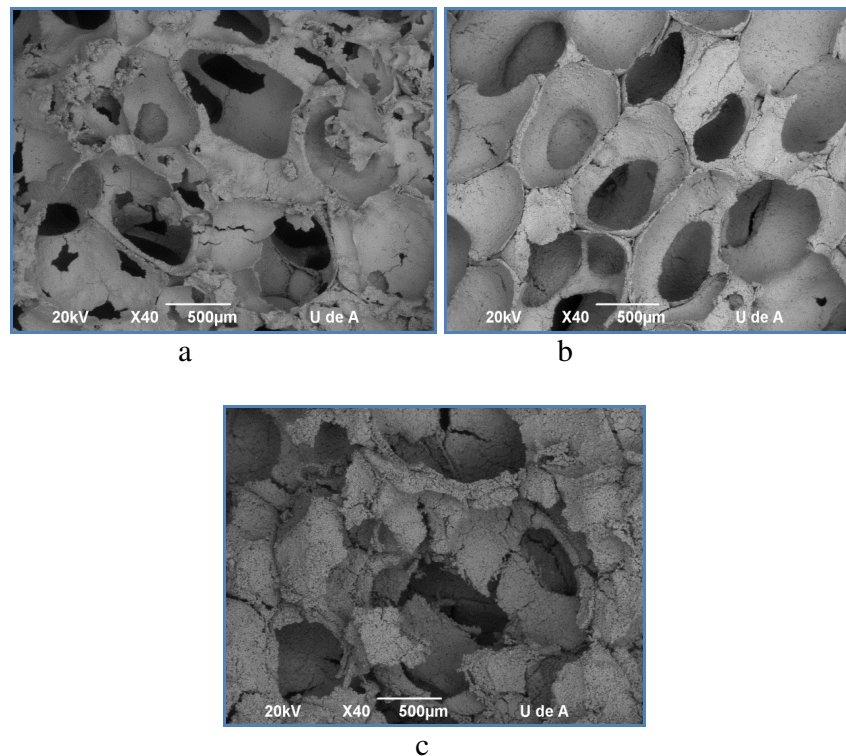
### **2.2 Caracterización de las plataformas tridimensionales**

Para la caracterización morfológica de las plataformas se utilizó Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) usando un microscopio electrónico marca JEOL modelo JSM-6490LV. La resistencia a la compresión se determinó bajo la norma ASTM C1424-04, en una máquina universal de ensayos marca Shimadzu Autograph, modelo AG-250 kNG, con una celda de carga

tipo SFL-250 kNAG clase 1, y a una velocidad de 0.05 mm/min, haciendo cada ensayo por duplicado. Las pruebas de porosidad e interconectividad se realizaron siguiendo el procedimiento reportado por Liu et al [6] y según la norma NTC 4321-3, con dos réplicas para cada tipo de muestra.

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las micrografías de las plataformas con los tres tipos de monómeros evaluados y 40% de HA se pueden observar en la figura 1.



**Figura 1.** Micrografías a 40X de las plataformas tridimensionales de HA: (a) metacrilamida, (b) acrilamida, (c) n-metilolacrilamida.

En las micrografías de SEM se observan poros abiertos e interconectados en el interior del material; el tamaño de los poros está entre 100 y 600  $\mu\text{m}$ , además poseen una geometría irregular. También se observa que hay poros internos de menor tamaño, con valores entre 50 y 100  $\mu\text{m}$ , lo cual sugiere una microporosidad interna, que para valores superiores al 10% de porosidad en los materiales cerámicos, indica interconectividad [5]. Además en la figura 1c se observa que la superficie de las plataformas es rugosa, lo cual favorece la adhesión celular e induce a la formación del nuevo hueso [6,7].

La estructura de las plataformas es similar a la del hueso trabecular, que se caracteriza por su porosidad e interconectividad [8], parámetros requeridos en ingeniería de tejidos para la vascularización y la buena integración del implante, tal como lo plantea Ramay et al (2003) [7]. Estas características morfológicas fueron observadas en las plataformas tridimensionales

obtenidas, donde se nota una estructura constituida por una red de poros interconectados y con textura rugosa.

Los poros presentes en las plataformas fabricadas en este proyecto tienen tamaño entre 50 y 600  $\mu\text{m}$ , colocándolas en el rango necesario para materiales con potencial osteoconductor, como lo define Cunningham et al (2010) [9].

Los resultados de la medición de porosidad, interconectividad y resistencia mecánica son mostrados en la tabla 1.

**Tabla 1.** Porosidad, interconectividad y resistencia mecánica de las plataformas con los tres tipos de monómeros y 40% de HA

<b>Monómero</b>	<b>Porosidad (%)</b>	<b>Interconectividad (%)</b>	<b>Resistencia a la compresión (MPa)</b>
<b>Metacrilamida</b>	89.2 $\pm$ 0.4	61.1 $\pm$ 2.8	0.09 $\pm$ 0.031
<b>Acrilamida</b>	88.8 $\pm$ 0.8	55.8 $\pm$ 1.4	0.11 $\pm$ 0.004
<b>N-metiloacrilamida</b>	84.9 $\pm$ 0.5	79.2 $\pm$ 2.9	0.05 $\pm$ 0.014

Se realizó un análisis de varianza ANOVA, encontrándose un  $p > 0.05$  para el tipo de monómero, por lo que se infiere que este factor no tiene un efecto estadísticamente significativo en la porosidad, interconectividad y resistencia a la compresión de las plataformas.

Según los resultados observados en la tabla 1, la porosidad es del mismo orden de magnitud y con valores muy cercanos entre sí, encontrándose todos en un rango entre 84.9 y 89.2%; esto se debe a que en esta técnica la porosidad es dada por la espuma de poliuretano que es usada como plantilla para la fabricación de las plataformas [7], y todas fueron producidas con el mismo tipo de espuma, las mínimas variaciones que se presentan son debidas a los pequeños cambios internos de la espuma; que aunque fue la misma en todos los casos, es de tipo comercial y puede no tener un patrón estricto en su porosidad y presentar defectos en su estructura. Según la literatura, la porosidad del hueso trabecular está entre el 30 y 90% [8] y los valores de porosidad conseguidos en todas las plataformas tridimensionales están dentro de este rango.

No hay una variación notable de la interconectividad con respecto al tipo de monómero lo que indica que esta propiedad parece sólo estar influenciada por la espuma utilizada como plantilla, la cual fue impregnada por la suspensión cerámica y posiblemente en algunos casos sus paredes se sostengan firmes dentro de la estructura o también podría suceder que el espacio ocupado por el polímero permanezca como un defecto interno luego del tratamiento térmico, y la pared que separa los poros por ser tan delgada se rompa resultando en una estructura más interconectada [7]. Para el hueso trabecular la porosidad interconectada está entre el 50 y 90% [10]; en este caso las plataformas fabricadas por esta técnica también son aptas para ingeniería de tejidos desde el punto de vista de la interconectividad.

Con respecto a la resistencia mecánica, es probable que se incremente su valor si se aumenta el porcentaje de sólidos, ya que en esta técnica, una capa delgada de pasta cerámica recubre la superficie de la espuma y después de quemarla se obtiene una réplica positiva de la esponja, pero el espacio ocupado por el polímero permanece como un defecto interno y la capa cerámica forma

paredes muy delgadas entre los poros, lo que resulta en una estructura de baja resistencia mecánica [7], no obstante, al aumentar la cantidad de sólidos podría incrementarse el grosor de la pared y en consecuencia la resistencia de las plataformas. Lo cual demostró Ramay et al (2003) [7] al encontrar que las plataformas con altas concentraciones de HA o porcentaje de sólidos, tenían paredes de los poros más gruesas y densas, y en consecuencia con menos defectos lo que aumentó la resistencia mecánica.

La resistencia a la compresión exhibida por estas plataformas tridimensionales es muy baja comparada con la del hueso trabecular humano que está entre 2 y 12 MPa [1,8], hecho que podría atribuirse a dos factores, el primero es que posiblemente la polimerización fue muy rápida y no se alcanzó a infiltrar por completo la espuma causando mayor número de defectos en la estructura, el segundo es que probablemente el tipo de espuma usado generó mayores defectos internos en las paredes de los poros durante el proceso de pirólisis.

Sin embargo, basta con que las plataformas alcancen propiedades mecánicas suficientes para permitir su manipulación y el crecimiento celular, ya que las células al invadir la estructura mejoran dichas propiedades, reportándose que después de 3 meses de ser implantada una plataforma tridimensional de HA, la resistencia a la compresión alcanza valores entre 2 y 20 MPa [11].

#### **4 CONCLUSIONES**

Los cuerpos porosos obtenidos poseen macroporos y microporos interconectados al interior, hecho que se corroboró con los resultados de porosidad e interconectividad que mostraron una similitud con los valores reportados por la literatura para el hueso trabecular.

Para la técnica usada en este trabajo, se demostró estadísticamente que el tipo de monómero no tuvo un efecto significativo en la porosidad e interconectividad de las plataformas, ya que estas propiedades son directamente afectadas es por el tipo de espuma usada como plantilla.

La resistencia mecánica de las muestras es muy baja comparada con la del hueso trabecular humano, posiblemente debido a que por la cantidad de sólidos usados no se generaron paredes más densas y en consecuencia las estructuras de las plataformas colapsaron ante un esfuerzo de compresión muy bajo.

#### **5 AGRADECIMIENTOS**

Los autores de este trabajo agradecen al Comité para el desarrollo de la investigación de la Universidad de Antioquia por haber financiado el desarrollo del proyecto “Síntesis y caracterización de cuerpos porosos de hidroxiapatita obtenidos por diferentes técnicas de producción” convocatoria Mediana cuantía 2009 y a la empresa Colorquímica S.A. por la donación de los monómeros funcionales usados en el proyecto.

## **6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Black, J., Hastings, G., “Handbook of Biomaterials Properties, ” Londres, Chapman & Hall, 1998.
2. Sepulveda, P., Binner, J.G., Rogero, S.O., Higa, O.Z., Bressiani, J.C., “Production of porous hydroxyapatite by the gel-casting of foams and cytotoxic evaluation,” *Journal of biomedical materials research*, Vol. 50, No. 1, pp. 27–34, 2000.
3. Chen, G., Ushida, T. and Tateishi, T., “Development of biodegradable porous scaffolds for tissue engineering,” *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 17, No. 1–2, pp. 63–69, 2001.
4. Saiz, E., Gremillard, L., Menendez, G., Miranda, P., Gryn, K., Tomsia, P., “Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds,” *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 27, No. 3, pp. 546–550, 2007.
5. Teixeira, S., Rodriguez, M., Pena, P., De Aza, H., Ferraz, P., Monteiro, F. J., “Physical characterization of hydroxyapatite porous scaffolds for tissue engineering,” *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 29, No. 5, pp. 1510–1514, 2009.
6. Liu, J. and Miao, X., “Porous alumina ceramics prepared by slurry infiltration of expanded polystyrene beads,” *Journal of Materials Science*, Vol. 40, No. 23, pp. 6145–6150, 2005.
7. Ramay, H.R. and Zhang, M., “Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods,” *Biomaterials*, Vol. 24, No. 19, pp. 3293–3302, 2003.
8. Montufar, E.B., “Espumas inyectables de hidroxiapatita obtenidas por el método de espumado de la fase líquida de un cemento de fosfato tricálcico alfa,” *Universidad Politécnica de Cataluña*, 2010.
9. Cunningham, E., Dunne, N., Walker, G., Maggs, C., Wilcox, R., Buchanan, F., “Hydroxyapatite bone substitutes developed via replication of natural marine sponges,” *Journal of materials science. Materials in medicine*, Vol. 21, No. 8, pp. 2255–61, 2010.
10. Navarro, M.E., “Desarrollo y Caracterización de Materiales Biodegradables para Regeneración Ósea,” *Universidad Politécnica de Cataluña*, 2005.
11. Tripathi, G. and Basu, B., “A porous hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering: Physico-mechanical and biological evaluations,” *Ceramics International*, Vol. 38, No. 1, pp. 341–349, 2012.