

RESEÑA

DESARROLLO Y CARACTERIZACION DE CEMENTOS OSEOS MACROPOROSOS DE FOSFATO DE CALCIO

M.C. Amisel Almirall La Serna, Investigador Agregado.

Centro de Biomateriales, Universidad de la Habana, Avenida Universidad entre Calles G y Ronda, El Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba.

3 de mayo del 2006.

TRABAJO PRESENTADO EN OPCION AL TITULO DE DOCTORA EN CIENCIAS TECNICAS.

Actualmente, uno de los principales problemas médicos es el incremento del número de pacientes afectados por diversas patologías óseas, como puede ser la pérdida de masa ósea causada por enfermedades, tratamientos quirúrgicos o accidentes. Asimismo, en la población adulta de más de 60 años, cuyo número ha crecido considerablemente con el aumento de la expectativa de vida, se plantean nuevos retos sanitarios ante enfermedades frecuentes en estas edades, como es el caso de la osteoporosis. Si bien estas patologías no son en su mayoría fatales, sí pueden llegar a afectar severamente la calidad de vida de los pacientes al causar cuadros de dolor crónico, incapacidad física o problemas estéticos.

En general, el tejido óseo tiene la capacidad de regenerarse para restablecer la continuidad de una zona dañada y satisfacer las funciones de soporte específicas de dicha zona. Sin embargo, no siempre el organismo es capaz de realizar este proceso satisfactoriamente; por ejemplo, cuando se presenta un defecto muy grande o la regeneración tarda largos periodos de tiempo. En otras ocasiones sucede que se hace necesario sustituir el tejido dañado para no perder completamente la funcionalidad en el sitio.

Una de las soluciones a estos problemas es el uso de sustitutos óseos, siendo el tejido óseo extraído del propio paciente el sustituto considerado ideal, y el más comúnmente utilizado. Pero debido a que sólo se dispone de una cantidad muy reducida de tejido y a las complicaciones que implica una segunda intervención quirúrgica, es cada vez más frecuente el empleo de diversos materiales sintéticos. Además, el uso de estos materiales es menos costoso y reduce la morbilidad con respecto al tratamiento convencional (autoinjertos o aloinjertos). Por este motivo, se presta cada vez más atención a la investigación y desarrollo de nuevos materiales capaces de estimular la regeneración ósea y en especial, a las técnicas de ingeniería de tejido óseo. También existe un gran interés en el desarrollo de técnicas de aplicación por mínimo acceso que faciliten la rápida recuperación del paciente y reduzcan aún más los costos quirúrgicos.

Entre los materiales para regeneración ósea, la utilización de fosfatos de calcio en la reparación de defectos óseos y entre ellos, los cementos de fosfato de calcio (CFC), está ampliamente reconocida debido a la excelente biocompatibilidad y bioactividad que presentan estos materiales. Los CFC están compuestos por dos fases, una sólida y otra líquida, que una vez mezcladas forman una pasta que puede adaptarse a la forma del defecto óseo y que fragua en condiciones fisiológicas en pocos minutos, produciendo un fosfato de calcio de composición química y estructura similar a la fase mineral del hueso. Además, los CFC también ofrecen otras ventajas: son parcialmente biodegradables y algunos son inyectables, facilitando su aplicación por técnicas quirúrgicas poco invasivas.

Una de las tendencias actuales en la preparación de materiales de fosfato de calcio para implantes óseos es la incorporación de macroporosidad, tanto en los CFC como en el desarrollo de soportes para la ingeniería de tejido óseo. Esta macroporosidad debe facilitar la degradación del material a mayor velocidad (más similar a la velocidad de regeneración ósea), permitir la rápida colonización por células óseas y la vascularización a través del implante, lo que favorece el crecimiento del nuevo tejido óseo en la zona dañada. De manera general, se considera que para conseguir que el nuevo tejido crezca a través del implante se necesita la presencia de poros del orden de 100 a 400 μm ; aunque también, se han sugerido valores de hasta 1 000 μm .

La mayoría de las técnicas utilizadas para introducir porosidad en materiales de fosfatos de calcio tienen como inconveniente el uso de temperaturas elevadas, lo que produce un material poco reabsorbible, del tipo cerámico y que carece de las ventajas de un CFC. Por otra parte, cuando se emplea un CFC como material de partida, el proceso de introducción de porosidad suele requerir su fraguado antes de su implantación, perdiendo la capacidad de inyectarse y de fraguar *in situ*. Otro de los inconvenientes de los métodos propuestos para introducir porosidad en los CFC es la poca interconexión entre poros que se consigue.

Por este motivo, el objetivo general de este trabajo fue el desarrollo de nuevos métodos para la obtención de materiales óseos macroporosos de fosfato de calcio y su caracterización físico química. Para ello, se planteó como hipótesis la posibilidad de obtener estos materiales porosos a partir de un cemento de fosfato de calcio mediante la adición de diferentes agentes porogénicos. Teniendo en cuenta que se puede necesitar el uso de implantes óseos para tratamientos clínicos muy disímiles se proponen tres métodos para desarrollar materiales de dos tipos: sustratos para ingeniería de tejido óseo y CFC inyectables que fraguen *in situ* manteniendo la porosidad.

El primer método propuesto consiste en el espumado de un cemento de fosfato tricálcico (α -TCP) con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y su posterior hidrólisis para obtener un sustrato macroporoso de hidroxiapatita deficiente en calcio para ingeniería de tejido óseo. El segundo método para introducir porosidad se basa en la adición a la fase líquida del cemento de diferentes surfactantes aprobados como aditivos farmacéuticos (Pluronic F68 o Tween 80). Por último, en el tercer método, se utilizó una espuma de albumen como agente porogénico.

La caracterización de los materiales obtenidos se realizó mediante los tiempos de cohesión, de fraguado inicial y la inyectabilidad de los cementos y la composición química, morfología, microestructura y porosidad del material fraguado, así como sus propiedades mecánicas (resistencia a la compresión y a la compresión diametral). Para ello, se emplearon técnicas como las microscopías electrónicas de barrido (SEM) y barrido ambiental (ESEM), la difracción de rayos X (DRX), la espectroscopia infrarroja (IR) y la porosimetría de mercurio. La influencia de las variables de preparación en las propiedades de estos materiales, se estudió en varios diseños de experimentos. También, se realizó un estudio preliminar del comportamiento celular del material obtenido con espuma de albumen.

Todos los métodos propuestos permitieron obtener materiales macroporosos con poros de tamaño adecuado para la colonización celular. Además, el grado de porosidad y el tamaño de poro pueden ser ajustados en función de las variables de preparación para cumplir con los requisitos específicos de diferentes aplicaciones. Las propiedades mecánicas de los materiales obtenidos son superiores o iguales a los reportados para otros materiales de similar naturaleza química y porosidad.

Al utilizar H_2O_2 para espumar el cemento de α -TCP se obtuvo un sustrato macroporoso con porosidad de hasta 66 %, con poros entre 100 y 600 μm y con excelente interconectividad. Estos sustratos combinan la presencia de una macroporosidad muy interconectada con la microporosidad intrínseca de los CPC, se pueden obtener en formas tan complejas como lo requiera el sitio de implante y presentan las condiciones adecuadas para ser empleados en ingeniería de tejidos. Por otra parte, con el método propuesto se evita el empleo de temperaturas elevadas durante el proceso de obtención, lo que permite mantener las propiedades de biodegradabilidad del CFC a partir del cual se obtiene el material.

La utilización de surfactantes y de la espuma biocompatible de albumen como agentes porogénicos permitió obtener fosfatos de calcio macroporosos e inyectables en forma de cemento, que fraguan *in situ* y presentan todas las ventajas que ofrece el uso de los CFC inyectables en las diferentes aplicaciones médicas. En el caso de la adición de surfactantes se alcanzó una porosidad total de hasta el 70 % y se observaron poros de tamaño entre 50 y 700 μm . Debe destacarse que al utilizar el surfactante Tween 80 se obtiene un cemento con 61 % de porosidad y una resistencia a la compresión de 5 MPa, muy superior a la reportada para materiales de similar porosidad. Por su parte, el uso de la espuma de albumen produjo valores de porosidad cercanos al 70 % y poros con tamaños de entre 100 y 400 μm . Resulta de especial interés que en algunas formulaciones se reportó una inyectabilidad superior al 80 %, e incluso hasta del 93 %, lo que se puede considerar como inyectabilidad total, a la vez que se mantiene una porosidad interconectada después de inyectada la muestra. Además, los estudios celulares *in vitro* realizados para el cemento con albumen, mostraron que su adición no resulta citotóxica para los osteoblastos ni afecta la adhesión celular al material e incrementa significativamente la proliferación celular, lo que indica una respuesta celular positiva.

Con estos métodos no solo se consigue introducir un elevado porcentaje de porosidad, sino que también, se obtienen formulaciones que alcanzan un compromiso entre variables como resistencia mecánica y proporción de porosidad, interconectividad entre poros e inyectabilidad, para conseguir materiales capaces de cumplir con los requisitos clínicos establecidos para estos materiales. Los métodos de preparación para su aplicación, se caracterizan además, por su sencillez, lo que los hace factibles de ser llevados a la práctica médica.

La tesis doctoral consta de Introducción, Revisión Bibliográfica, Materiales y Métodos, tres capítulos de Resultados, Conclusiones, Recomendaciones, Bibliografía y Anexos. La introducción aporta los antecedentes del tema, el problema científico, los objetivos y la hipótesis. En la Revisión Bibliográfica se describen las principales características del tejido óseo y de los materiales que se emplean en la regeneración ósea; se especifican las propiedades de los materiales de fosfato de calcio empleados en aplicaciones médicas y en especial, de los cementos y se analizan las principales técnicas de introducción de porosidad en estos materiales. En Materiales y Métodos se describen los materiales utilizados, el método de obtención de los CFC y las técnicas de caracterización utilizadas. En cada capítulo de Resultados se evalúa uno de los métodos propuestos (en dependencia de los diferentes agentes porogénicos utilizados) para introducir porosidad, se realiza una descripción previa de las características de cada agente y se estudia la influencia de las diferentes variables de preparación sobre la porosidad y las propiedades de los materiales obtenidos y se describen las principales conclusiones. Los capítulos finales aportan las conclusiones generales y las recomendaciones para continuar la investigación.

El trabajo ha sido desarrollado en 129 páginas y contiene 27 tablas y 30 figuras, cuenta además, con 10 Anexos. En él se reportan 135 referencias bibliográficas, de las cuales, el 81 % son de la última década y más del 60 % corresponde al último lustro. Aparecen también seis citas de páginas Web.

Los resultados de este trabajo han dado lugar a cuatro publicaciones en revistas de alto factor de impacto y se destaca un artículo científico publicado en la revista Biomaterials, que presenta el mayor índice de impacto dentro del perfil temático de los biomateriales. Se han presentado además, en cuatro actividades científicas internacionales del más alto nivel.

Como conclusión final se puede señalar que los métodos propuestos permiten obtener sustratos porosos de fosfato de calcio con una excelente interconectividad y cementos de fosfato de calcio inyectables con un elevado grado de macroporosidad. Así, en el caso de la utilización del peróxido de hidrógeno, se obtiene un sustrato poroso con las propiedades de biodegradabilidad del CFC, al no requerir el uso de temperaturas elevadas. Por otra parte, la utilización de surfactantes y espumas biocompatibles como agentes porogénicos permite obtener fosfatos de calcio macroporosos e inyectables en forma de cemento, que fraguan *in situ* y presentan todas las ventajas que ofrece el uso de los CFC inyectables en las diferentes aplicaciones médicas. Los materiales obtenidos de esta forma pueden servir de soporte para la implantación de células y su cultivo *in vitro* para generar tejido óseo o para ser utilizados como cementos óseos macroporosos e inyectables que permiten la colonización celular *in vivo*.

La novedad y originalidad de esta investigación radica en los métodos propuestos para la preparación de materiales de fosfato de calcio con una elevada porosidad para implantes óseos, biomateriales que tienen un importante papel para mejorar la calidad de vida de pacientes con enfermedades degenerativas como la osteoporosis. El desarrollo de estas técnicas supone un paso de avance en las investigaciones sobre materiales de fosfatos de calcio para la regeneración de tejido óseo al brindar una solución al problema de introducir porosidad en un cemento de fosfato de calcio, sin que hasta el momento se haya reportado ninguna propuesta con similares ventajas en la literatura especializada.