



CARACTERIZACIÓN DE HIDROXIAPATITA A PARTIR DE MATERIALES SINTÉTICOS CON APLICACIONES ÓSEAS

Karen Cantero^a, Joel Gutiérrez^a, Claudia Nuño^a, M.T. Fuentes^b.

^aUniversidad Tecnológica Fidel Velázquez, México., monsekio@outlook.com, joy_osnaya19@hotmail.com

^bCentro de Investigación e Innovación Tecnológica -IPN, mayte_fr@yahoo.com.mx

RESUMEN

Un biomaterial es aquel material que ha sido diseñado para actuar con sistemas biológicos con el fin de reemplazar un tejido, órgano o función del cuerpo. Los biomateriales se dividen según su origen: biológicos (tejidos blandos y duros), sintéticos (poliméricos, cerámicos y compositos) y según su respuesta biológica. El hueso como tejido está constituido, en parte, por sustancia inorgánica (fosfato cálcico cristalizado, hidroxiapatita). Esta última es la que obtuvo sintéticamente con una morfología que nos ayude a recubrir mayor superficie, a menor coste y mayor asequibilidad. La hidroxiapatita es un biocristal, que pertenece a la familia de las apatitas, con gran importancia actual, debida a su excelente biocompatibilidad. Está formada por sales calcio, fósforo e hidrógeno. Su fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

En el presente estudio se caracterizó la síntesis química de hidroxiapatita (HA); y de manera específica, del efecto de diferentes rutas de síntesis en las características estructurales, morfología y tamaño de partícula. Esta caracterización se llevó a cabo empleando las técnicas de difracción de Rayos X (DRX), espectroscopia infrarroja (IR) y microscopía electrónica de barrido (MEB).

El tamaño de la cristalita fue calculado mediante la ecuación de Scherrer tomando el ancho medio (FWHM) las reflexiones (002), (300) y (222), Espectroscopia de rayos infrarrojos (FTIR) (medición de tamaño), Espectrómetro Bruker Equinox 55 rango 4000 a 400 cm^{-1} , la morfología de las partículas obtenidas tienen formas irregulares con tamaños en el orden nanométrico, con estos tamaños pueden ser empleados en sustitutos óseos, sin embargo en el presente estudio solo se obtuvo la caracterización del material base.

1. INTRODUCCIÓN

La hidroxiapatita puede ser sintetizada de diversas formas, siendo el método más frecuente el de precipitación, con el que se obtienen cantidades apreciables del material de forma económica y fácilmente reproducible. Sin embargo, se deben controlar el pH, la temperatura de reacción, el tiempo de la reacción, la atmósfera de tratamiento y la relación Ca/P de los reactivos, para impedir la aparición de otras fases como los orto fosfatos,

Se ha reportado que dichas partículas de HAp en escala nanométrica pueden ser sintéticamente estables en fluidos biológicos y que las geometrías esféricas evitan procesos inflamatorios así como una mejor integración ósea.

La estructura y la composición química de las apatitas pueden presentar numerosas sustituciones incluyendo cationes metálicos tales como K^+ , Na^+ , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} entre otros en la posición del Ca^{2+} y complejos aniónicos como AsO_4^{3-} , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} o SiO_4^{4-} reemplazando al PO_4^{3-} en la red cristalina.

Dependiendo del método de síntesis (síntesis en fase sólida, por vía de sol-gel, por procesos hidrotérmicos, con irradiación de microondas, o fusión de precursores sólidos a altas temperaturas, etc.) utilizado para la elaboración de HAp sintética se generaran distintos tipos de vacancias y tamaño de cristal.

En el sistema del fosfato de calcio la HAp es un excelente material bioactivo conveniente para el prótesis duro del tejido fino.

En el presente trabajo se elaboraron varias muestras a partir de distintas síntesis para diferir en los resultados finales y comprobar cual nos ayudará a conseguir una vía más económica y rápida en su elaboración y posterior aplicación en cirugías del cuerpo humano.

2. TEORÍA

La hidroxiapatita es un biocristal perteneciente a la familia de las apatitas de gran importancia actual debido a su excelente biocompatibilidad. Está formada por sales calcio, fosfatos e hidróxidos. Su fórmula es $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. La podemos encontrar en el cuerpo humano (fig. 1) en dientes y huesos; en naturaleza, las apatitas las podemos encontrar como rocas sedimentarias y metamórficas. Presenta una estructura hexagonal, con el grupo espacial P63/m. Las apatitas sintéticas presentan una resistencia mecánica pobre.

El mineral apatita ($Ca_{10}(PO_4)_6 X_2$ donde X puede ser F-,OH- o Cl-), es el fosfato de calcio natural más abundante en la superficie terrestre y la principal fuente de fósforo por lo que es de gran importancia en distintos campos de investigación así como en la industria.

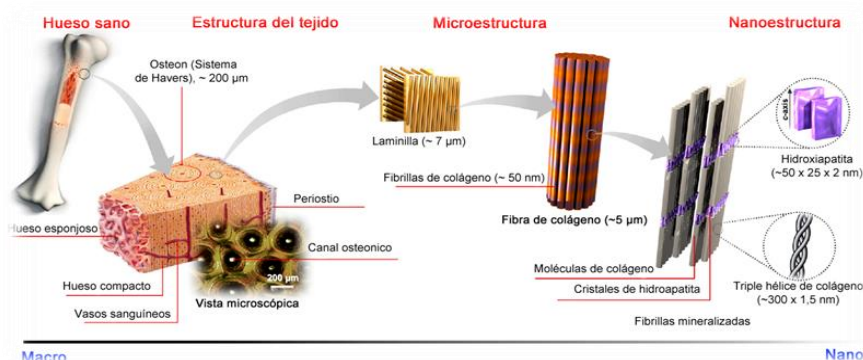


Figura 1. Visualización de la HAP a diferentes escalas

La HAP de diferentes orígenes (bovina, porcina, sintética, coralina, etc.) no se puede utilizar en todo tipo de restauración, ni en las diferentes edades, ya que cambia la respuesta fisiológica ante la dinámica de respuesta en los diferentes sujetos.

Composición química

La composición de la HAp depende del tipo de síntesis con la que se obtenga. Esta sustancia contiene aproximadamente 1% de la proteína del colágeno y 4% de aminoácidos (como hidroxipolina, glicina y ácido glutámico), el calcio abarca un 35% de la matriz.

ELEMENTO	MUESTRA 650°C		MUESTRA 1050°C	
	%PESO DESPUÉS	%PESO ATÓMICO	%PESO DESPUÉS	%PESO ATÓMICO
O	56.95	75.10	27.22	68.27
P	14.52	9.89	9.36	11.97
CA	28.53	15.02	19.97	19.77

Tabla 1. La mayoría de resultados en síntesis citadas muestran este tipo de porcentajes en composición química de las muestras.

Estructura cristalina: Hexagonal, Con el grupo espacial P63/m

CELDA	A=3.6 Å	B=9.36 Å	C=6.86 Å
-------	---------	----------	----------

Tabla 2. Se muestran los grados y tamaños de la celda unitaria de la HAP.

En la tabla 1 se exhibe el modelo de Pauling. Mostrándose las propiedades de la estructura cristalina, mediante el software.

Propiedades físicas y químicas

Los fosfatos de Ca tienen gran resistencia a la compresión. Es indicada para rellenos (fig. 2) óseos debido a que son muy frágiles a la flexión, torsión, tensión y cizallamiento.

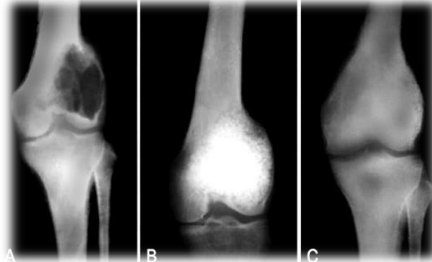


Figura 2. Relleno en hueso con HAp

La hidroxiapatita es un compuesto cristalino (integrado por tres moléculas de fosfato de calcio y por una molécula de hidróxido de calcio) proveniente de la apatita. Este fosfato cristaliza en el sistema hexagonal, y su carácter iónico la convierte en una cerámica dura, con un punto de fusión mayor a 1500 °C. La relación ideal Ca/P es 10:6 y sus propiedades mecánicas varían de acuerdo con el proceso de manufactura.

La estructura osteoconductiva que permite ser invadida por el tejido conectivo proveniente del hueso circundante, su uso es frecuente en el desarrollo de materiales biomédicos para la implantación de prótesis e injertos óseos.

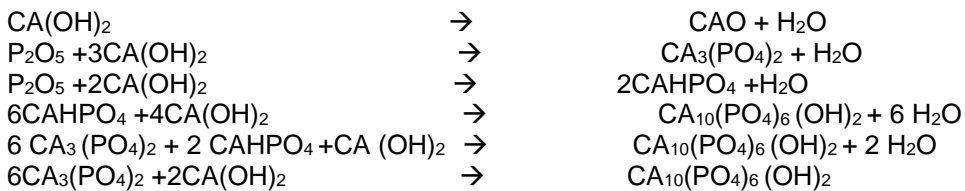


Tabla 3. Formulas y procesos químicos típicos en síntesis de HAp

Aplicación tecnológica.

La aplicación de las nanopartículas de hidroxiapatita, al ser un elemento natural del diente, su alta integración con el esmalte dental y sus características nano, remineraliza la superficie de la dentina y reduce progresivamente el número de túbulos permeables. Se integran y restauran la densidad mineral de la superficie del esmalte desmineralizado, proporcionando una superficie más lisa y brillante y, en consecuencia, unos dientes más blancos.

Las nanopartículas de hidroxiapatita resultan muy eficaces en el tratamiento de la hipersensibilidad y el blanqueamiento dental.

La HAP es un cristal biocompatible que ha incursionado en la biomedicina como restaurador, se utiliza en ortopedia, odontología (fig. 3) y en oftalmología. En ortopedia ha dado excelentes resultados la hidroxiapatita bovina, porcina, y humana.

La HAP coralina es útil en oftalmología. También da buenos resultados en prótesis oculares con movimientos conjugados.



Figura 3. Implante de HAp

Se debe tomar en cuenta la extensión de la reparación, ya que en huesos como la cabeza del fémur da mejores resultados en la reparación con metales como el acero o el titanio.

MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN

- Difracción de rayos X (Esta técnica de caracterización que se va utilizar ayudara a observar la estructura cristalina que se obtenga de la síntesis, ya que se debe de obtener una forma cristalina hexagonal). El tamaño de la cristalita ah sido, en trabajos ajenos a éste escrito, calculado mediante la ecuación de Scherrer tomando el ancho medio (FWHM) las reflexiones (002), (300) y (222).
- Espectroscopia de rayos infrarrojos (FTIR). Esta técnica nos brindara información de los grupos funcionales presentes en el compuesto.
- Espectrómetro Bruker Equinox 55 rango 4000 a 400 cm^{-1}
- Microanálisis ED. Para determinar los elementos contenidos en los materiales.
- Microscopia electrónica de barrido (SEM). Esta técnica nos brindara el tamaño de los poros en la hidroxiapatita.
Morfología de las partículas: microscopio de barrido Cambrige- Leica 440
- Microscopía electrónica de transmisión (MET)

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

Matraz Erlenmeyer
Vidrios de reloj
Espátula
Bolsas Zip
Crisoles de porcelana
Piseta con agua destilada
Vasos de precipitados
Pipetas desechables

Equipo

Estufa
Mufla
Cuba ultrasónica
Balanza analítica

Reactivos

P_2O_5
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
NaOH
 H_3PO_4



Obtención 1

Se lleva a cabo a partir de soluciones de nitrato de calcio y ácido fosfórico, ajustando el pH entre 8.5-9, con una relación Ca/P de 3 a 1. Muestra una ventaja hacia el método convencional gracias a la sonicación.

Se preparó una mezcla de 20g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en 100ml de H_2O destilada con H_3PO_4 en 56ml de H_2O destilada. Se mantiene cuidado en la relación 3/1

Se filtró la solución en bomba de vacío y se lavó la muestra antes del tratamiento térmico en la estufa a 85°C durante 24h y en la mufla a 200°C por 10h.

- En la síntesis 1 se agita mecánicamente con calor

Se añade NaOH para cuidar un pH de 8~9

- En la síntesis 2 se emplea asistencia ultrasónica por 1h

Se añade NH_4OH para cuidar un pH de 8~9

Obtención 2

Se lleva a cabo mediante la técnica de coprecipitación a partir de dos soluciones 0.5M de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y 0.5M de P_2O_5 en agua destilada, manteniendo la temperatura constante a $80 \pm 2^\circ\text{C}$, agitación continua y manteniendo el pH de la solución entre 8 y 9 mediante la adición de una solución de NH_4OH . Los polvos obtenidos se filtran, lavados y secados a 85°C por 24 hrs. En esta ruta, la agitación se lleva a cabo mecánicamente a 400 rpm para una primera síntesis y agitación ultrasónica para una segunda síntesis. En lo que respecta a la cristalización hidrotérmica: El proceso se llevó a cabo en un horno mufla a 175°C por 15 horas.

Para el caso de la síntesis de sol-gel los precursores de Ca y P fueron disueltos en una solución de agua-etanol en una proporción de uno a uno en volumen, se agitó mecánicamente durante 20 hrs a una temperatura de 80°C y atmósfera inerte. El gel obtenido se calcina a 650°C durante 4 hrs. En cada una de las síntesis mantener relación estequiométrica de $\text{Ca}/\text{P} = 1.67 \text{ mol}$.

- En la síntesis 1 se agita mecánicamente con calor

Se añade NaOH para cuidar un pH de 8~9

- En la síntesis 2 se emplea asistencia ultrasónica por 1h

Se añade NH_4OH para cuidar un pH de 8~9

Finalmente las muestras se muelen en un mortero ágata y se colocan en un vial para su posterior caracterización.

MÉTODOS DE EMPLEADOS PARA CARACTERIZAR LAS MUESTRAS DE POLVO.

- Difracción de rayos X
- Espectroscopia infrarroja (IR)
- Microscopia electrónica de barrido (MEB).

3. CONCLUSIONES

Hasta el momento se obtuvieron polvos blancos en las síntesis por precipitación, las síntesis por sol-gel obtuvieron un tono grisáceo, se piensa que se quemó la muestra.

Las diferentes morfologías pueden atribuirse a los diversos fenómenos involucrados durante las diferentes etapas en las rutas de síntesis. Después de realizar la caracterización mediante la técnica de difracción de rayos X, los resultados mostrados confirman la síntesis de hidroxiapatita (HA). Los resultados presentados muestran las difracciones correspondientes a planos cristalográficos de la estructura hexagonal, formando como resultado una mezcla de fases de los compuestos Ca, PO₄ y (OH)₂. El método de síntesis resulto ser un proceso novedoso y poco económico en comparación a otros tipos de síntesis.

Cada muestra a caracterizada a tardado 2 horas en el difractor de rayos x. Los resultados muestran que el tratamiento fue insuficiente para lograr una transformación total tanto del hidróxido de calcio como del óxido, se cree que la temperatura no fue suficientemente alta y que el tiempo de combustión o el tiempo de sonicación no fue suficiente en el caso de las muestras que se trataron con ultrasonido.

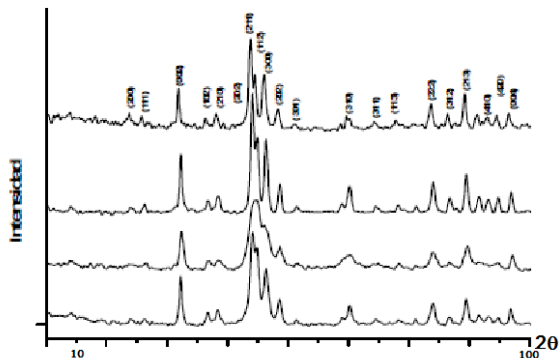


Figura 4. Picos característicos de la HAp

Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido se presentan a continuación.

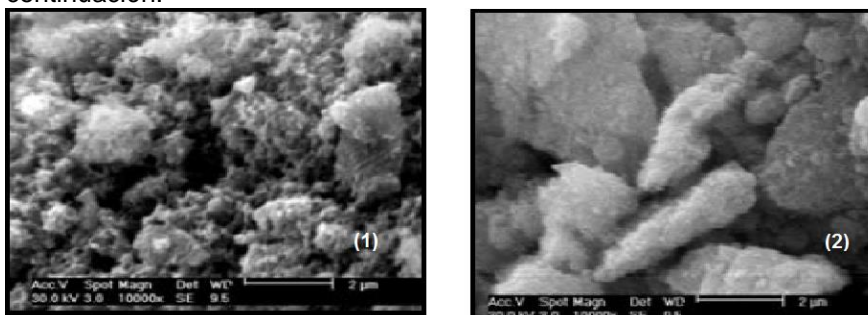


Figura 5 imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido, muestra con poco cuidado térmico (1) y muestra asistida con ultrasonido (2).

Podemos observar que las morfologías difieren gracias a la síntesis que se llevo a cabo (ejemplo: los materiales obtenidos por precipitación con agitación mecánica y precipitación con agitación ultrasónica se constituyen agregados irregulares de partículas o cristales), notándose la diferencia obtenida en los materiales cristalizados hidrotérmicamente y sintetizados por sol-gel.

Los autores expresamos nuestra gratitud a la Maestra en Ciencias Adriana Tejada Cruz y al Ingeniero Carlos Novelo por su valiosa ayuda en el análisis de DRX y TEM, respectivamente.



Bibliografía

1. Oliva, F. (2007). *Modificación de superficies de óxido de titanio con hidroxiapatita e hidroxiapatitas sustituidas. Ponencia presentada en el Congreso Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Córdoba Argentina.*
2. Juan, V. N. (s.f.). SINTESIS DE HIDROXIAPATITA POR COMBUSTION A PARTIR DE CARBONATO DE CALCIO OBTENIDO DE CASCARAS DE HUEVO DE GALLINA. *Revista Colombiana de Materiales* , 97-102.
3. Luis-Ortega, N.-V. (s.f.). *Visualización cristalográfica de la hidroxiapatita*. Recuperado el 05 de febrero de 2015
4. Maria Elena, H. L. *Disco de poco espesor de hidroxiapatita cuba siinterizada como sistema de liberación de fármacos*. Brasil.
5. Martinez-Valencia, E.-P. (diciembre de 2008). *Caracterización estructural y morfológica d la hidroxiapatita nanoestructurada, estudio comparativo de diferentes métodos de síntesis*. Recuperado el 29 de enero de 2015, de Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales.
6. Méndez, J. F. (2011). *V Latin American Congress on Biomedical Engineering*. Habana, Cuba: Springer.
7. Minguez, J. P. (2008). *ESTUDIO NANOMÉTRICO DE BIOCAMPATIBILIDAD Y ADHESIVIDAD CELULAR A BIOMATERIALES UTILIZADOS EN CIRUGÍA ORTOPÉDICA*. USC.
8. Pérez, O. S. (2005). *Implante óseo de la espuma de hidroxiapatita 09 Estudio experimental en conejos*. Recuperado el 28 de diciembre de 2014, de Potología.
9. Rodríguez Merchán, O. A. (2000). *Recambios protésicos de cadera*. Madrid, España: EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA.