



Uso de sistemas bioactivos en la formación de apatita en la superficie de aleaciones base cobalto

D.A. CORTÉS, A. MEDINA, J.C. ESCOBEDO, S. ESCOBEDO, M.A. LÓPEZ

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN-Unidad Saltillo

Se utilizó un método biomimético con el fin de bioactivar la superficie de dos aleaciones base cobalto. Después de tratarse química y térmicamente, los sustratos se colocaron sobre wollastonita o biovidrio dentro de una solución fisiológica por 21 días. Se utilizaron dos soluciones, una con una concentración cercana a la del plasma sanguíneo humano (SBF) y otra con una concentración 1.5 veces la de la anterior (1.5SBF). Además de sumergir los sustratos por 21 días en SBF o 1.5SBF, se trataron algunas muestras por 7 días en SBF con material bioactivo + 14 días en 1.5SBF (método de re-inmersión). Se realizaron también pruebas sin la presencia de material bioactivo.

Se formó una capa de apatita de características similares a las de la fase mineral del hueso en la superficie de las muestras tratadas con wollastonita y biovidrio en todos los casos. Las capas cerámicas de morfología más similar a la observada en los sistemas bioactivos existentes se obtuvieron utilizando el proceso de re-inmersión en presencia de wollastonita. No se presentó la formación de apatita en la superficie de las muestras tratadas sin material bioactivo, a excepción de los casos en los que se utilizó el método de re-inmersión.

Palabras clave: Aleaciones base cobalto, Wollastonita, Biovidrio, Bioactividad, Métodos biomiméticos

Use of bioactive systems in the bonelike apatite formation on cobalt base alloys

To promote a bioactive surface on cobalt base alloys a biomimetic method was used. The metallic substrates were alkali- and heat-treated. The treated substrates were immersed in simulated body fluid for 21 days in presence of wollastonite ceramics or bioactive glass. Two different simulated body fluids were used, one with an ion concentration close to human blood plasma (SBF) and other with a concentration of 1.5 times of that of the SBF (1.5SBF). Some tests were performed by soaking the samples for 7 days in SBF with bioactive material, followed by an immersion in 1.5SBF (re-immersion method). Tests with no bioactive material were also performed in all the cases.

A bonelike apatite layer was formed on the substrates treated with wollastonite and bioactive glass. The morphology more similar to that of the existing bioactive systems was obtained by using the re-immersion method with wollastonite. No apatite layer was formed on the substrates treated with no bioactive material, apart from the cases when the re-immersion method was used.

Keywords: Cobalt base alloys, Wollastonite, Bioactive glass, Bioactivity, Biomimetic methods.

1. INTRODUCCIÓN

Las aleaciones base cobalto constituyen uno de los materiales metálicos más importantes en la fabricación de prótesis para el reemplazo de cadera. En las operaciones quirúrgicas estos materiales se fijan generalmente al hueso mediante cementación usando polimetil-metacrilato (PMMA). Con lo anterior se obtiene una fijación mecánica entre el implante y el hueso, la cual no es adecuada en pacientes jóvenes y activos (< 50 años) donde se requiere una fijación de mayor estabilidad y duración [1]. Por otra parte, los sistemas bioactivos, tales como el Bioglass® [2], el vitrocerámico A-W [3] y la pseudo-wollastonita [4], se enlazan químicamente al hueso mediante una capa de apatita de características similares a las de la apatita ósea que se forma en la superficie de estos materiales en contacto con soluciones fisiológicas simuladas. Sin embargo, estos sistemas bioactivos presentan propiedades mecánicas pobres y no pueden utilizarse en aplicaciones donde el hueso está sometido a altos esfuerzos.

Con el fin de promover una mayor osteointegración se han realizado ciertas modificaciones en la superficie de materiales

metálicos. Estas modificaciones incluyen procesos de recubrimiento con materiales bioactivos tales como hidroxiapatita (HA) y biovidrio. El resultado es una combinación de las buenas propiedades mecánicas del metal y las propiedades bioactivas de los cerámicos. De esta manera se obtiene una unión química entre el implante y el hueso. Una de las técnicas de recubrimiento utilizadas clínicamente es la depositación por plasma. Sin embargo, esta técnica presenta varios problemas como la no uniformidad del espesor de la capa depositada y la obtención de capas de diferente estructura y composición a las de la fase mineral del hueso [5].

Por otra parte, se ha reportado que el requerimiento esencial para que un material se enlace directamente al hueso es la formación de una capa de apatita sobre su superficie [2]. Investigaciones recientes [6-9] han demostrado la formación de esta capa de apatita sobre la superficie de aleaciones base titanio, tantalio, alúmina y polímeros biodegradables mediante procesos biomiméticos. En estos procesos el sustrato, previamente tratado, se sumerge en una solución simuladora de

los fluidos del cuerpo (SBF) con concentración iónica cercana a la del plasma sanguíneo humano. Este trabajo consistió en evaluar el efecto de dos sistemas bioactivos (wollastonita y biovidrio), sobre la morfología de la capa de apatita formada mediante el proceso biomimético en la superficie de aleaciones base cobalto biocompatibles. Se estudió, además, el efecto del método de inmersión de los sustratos en soluciones fisiológicas simuladas, del tratamiento térmico y del contenido de carbono de la aleación.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Obtención de las aleaciones

Se obtuvieron dos aleaciones base cobalto con diferente contenido de carbono mediante la técnica de fusión y colada por moldeo. La colada del metal se realizó a 1600°C en un molde precalentado a 950°C. Las aleaciones obtenidas se sometieron a un tratamiento térmico de disolución de carburos a 1220°C durante 75 minutos. Ambas aleaciones se caracterizaron químicamente mediante espectroscopía de emisión por chispa y combustión directa con detección infrarroja para carbono. La evaluación mecánica se realizó mediante ensayos de tracción de acuerdo a lo establecido en la norma ASTM E-8.

2.2 Preparación del biovidrio

Se preparó una mezcla de óxidos grado reactivo de 45%e.p. de SiO₂, 24.5%e.p. de Na₂O, 24.5% e.p. de CaO y 6%e.p. de P₂O₅. El objetivo consistió en la obtención de un vidrio de composición muy cercana a la del Bioglass® 45S5 [2]. La fusión se realizó en un crisol de zirconia-alúmina a 1360°C. El material coló sobre una placa de acero inoxidable colocada sobre hielo. El vidrio fue molido y tamizado. Se realizó análisis químico mediante métodos de vía húmeda y un análisis de tamaño de partícula mediante difracción láser.

2.3 Caracterización de la wollastonita

La wollastonita utilizada (Minerales Gosa, S.A.) se caracterizó químicamente mediante vía húmeda. Se realizaron además análisis de tamaño de partícula mediante difracción láser.

2.4 Preparación de soluciones SBF y 1.5SBF

Se utilizaron dos diferentes soluciones simuladoras de los fluidos del cuerpo. La primera corresponde a la solución conocida como SBF K-9 [10], la cual presenta una concentración iónica inorgánica cercana a la del plasma sanguíneo, tal como se observa en la Tabla I. La segunda solución, identificada como 1.5SBF, es básicamente la SBF K-9 modificada con una composición 1.5 veces la de la SBF. Las soluciones SBF y 1.5SBF se prepararon por disolución de los siguientes reactivos en agua desionizada: NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂HPO₄·4H₂O, MgCl₂·6H₂O, CaCl₂·2H₂O y Na₂SO₄, de acuerdo al procedimiento descrito por Kokubo [10]. El pH de la solución se ajustó a 7.25 con tris-hidroximetil-aminometano y HCl 1N a 36.5°C.

TABLA I. CONCENTRACIÓN IÓNICA DE SBF, 1.5SBF Y PLASMA SANGUÍNEO.

	Concentración (mM/dm ³)							
	Na ⁺	K ⁺	Mg ⁺²	Ca ⁺²	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ⁻²	SO ₄ ⁻²
SBF	142	5.0	1.5	2.5	147.8	4.20	1.0	0.50
1.5SBF	213	7.5	2.3	3.8	223.0	6.30	1.5	0.80
Plasma sanguíneo	142	25.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0	0.50

2.5 Preparación del sustrato

Las muestras metálicas se cortaron para obtener cilindros de 1.27cm de diámetro y 1cm de altura. La superficie del sustrato fue desbastada y pulida con lijas de carburo de silicio números 120, 320, 500 y 800.

2.6 Tratamiento químico

Las muestras se sumergieron en 50ml de una solución alcalina de NaOH 5M a 60°C durante 24hr. Posteriormente se lavaron con agua desionizada y se sometieron a una etapa de secado a 40°C durante 24hr.

2.7 Tratamiento térmico

Después del tratamiento químico, algunas muestras previamente seleccionadas, se trataron térmicamente a 600°C durante 1hr.

2.8 Inmersión en soluciones fisiológicas simuladas

Los sustratos se colocaron sobre 1.5gr de material bioactivo (wollastonita o biovidrio) y se sumergieron en 50ml de la solución simuladora seleccionada (SBF o 1.5SBF) a 37°C durante 21 días. Se realizaron también ensayos sin la presencia de material bioactivo. Otro procedimiento utilizado fue el identificado como método de re-inmersión, el cual consistió en sumergir los sustratos por 7 días en SBF con la presencia de material bioactivo + 14 días en 1.5SBF (figura 1). En este último método se realizaron también ensayos sin la presencia de material bioactivo. En todos los casos se renovó la solución fisiológica simulada correspondiente cada 7 días.

2.9 Caracterización de la interfase

Después del periodo de inmersión, las muestras se lavaron con agua desionizada y se dejaron secar a temperatura ambiente. La superficie de los sustratos fue caracterizada mediante MEB, EDX y DRX. Se calculó la relación Ca/P en base a los resultados del análisis EDX en todos los casos. Además de realizar análisis EDX en la superficie de todos los

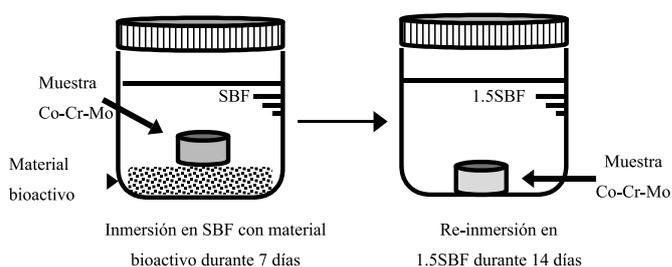


Figura 1. Diagrama esquemático del proceso de re-inmersión.

sustratos tratados, se analizó periódicamente hidroxiapatita grado reactivo (Sigma-Aldrich) obteniendo una relación Ca/P de 1.65 ± 0.05 .

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

La Tabla II presenta la composición química de las aleaciones obtenidas. Puede observarse que todos los elementos de aleación se encuentran dentro de lo especificado por la norma ASTM F-75 para aleaciones base cobalto biocompatibles. La Tabla III muestra los resultados del ensayo de tracción. Se observa que de las dos aleaciones, solo la correspondiente a la aleación 2 (con 0.193% de C) cumple satisfactoriamente con lo establecido por la norma. La aleación 1 (0.163% de C) presenta una carga de rotura menor a la requerida.

Tabla II. Composición química de las aleaciones obtenidas.

	Composición química (% en peso)							
	Co	Cr	Fe	Mn	Mo	Ni	Si	C
Aleación 1	64.56	28.06	0.40	0.453	5.20	0.40	0.78	0.163
Aleación 2	64.55	28.12	0.366	0.354	5.34	0.361	0.754	0.193
ASTM F-75	bal	27-30	0.75	1.0	5-7	1.0	1.0	0.35

Tabla III. Resultados del ensayo de tracción.

	Carga de rotura (MPa)	Límite elástico (MPa)	Elongación (%)
Aleación 1 (0.163% C)	521.5 ± 14.8	468 ± 9.89	9.1 ± 0.56
Aleación 2 (0.193% C)	694.5 ± 16.26	497 ± 1.41	17.5 ± 2.75
ASTM F75	655*	450*	8*

* Valores mínimos.

La Tabla IV presenta el análisis químico del vidrio obtenido por fusión de óxidos. Puede observarse que su composición difiere ligeramente de la del Bioglass® 45S5. Sin embargo, esta composición está dentro del rango especificado para los vidrios bioactivos, es decir, para los vidrios que forman un enlace químico con el hueso [2]. La Tabla V presenta la composición de la wollastonita utilizada. Los tamaños promedio de las partículas de biovidrio y wollastonita fueron 15 y 11 μm, respectivamente.

Tabla IV. Composición química del biovidrio obtenido.

	Composición química (% en peso)			
	SiO ₂	CaO	Na ₂ O	P ₂ O ₅
Biovidrio	43.86	23.99	26.01	6.12
Bioglas® 45S5	45	24.5	24.5	6

Tabla V. Composición química de la wollastonita utilizada.

	Composición química (% en peso)						
	SiO ₂	CaO	Fe ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	Na ₂ O	MgO	K ₂ O
wollastonita	49.06	47.70	0.26	0.47	0.26	2.06	0.25

Originalmente se consideró la posibilidad de que la cantidad de carburos presentes en la superficie de la aleación, la cual es proporcional al contenido de carbono en la misma, podría tener efecto sobre la formación de apatita en la superficie metálica. Sin embargo, al caracterizar la superficie de las muestras después de la inmersión en las soluciones fisiológicas simuladas, no se observó influencia del contenido de carbono. En la figura 2 se presenta la superficie de una muestra tratada químicamente después de la inmersión en SBF durante 21 días

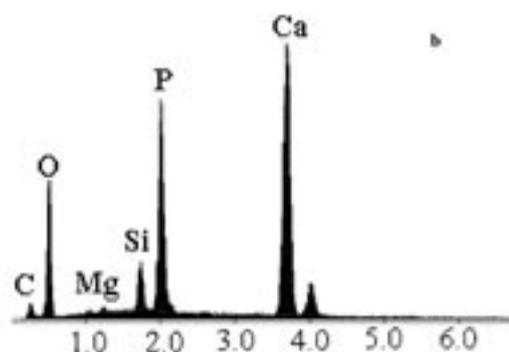
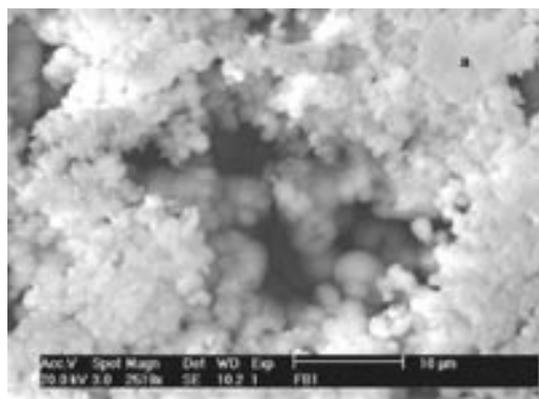


Figura 2. Muestra tratada químicamente después de 21 días de inmersión en SBF en presencia de wollastonita, a) MEB y b) Espectro EDX.

en presencia de wollastonita. Una capa homogénea cubre completamente la superficie del sustrato. De acuerdo al espectro EDX la capa está constituida por Ca, P, O, además de Si. La capa cerámica presenta una relación Ca/P de 1.8. La relación Ca/P para la hidroxiapatita (HA) es de 1.67 y la correspondiente a la apatita ósea es de 1.2 a 1.5. La figura 3 muestra la imagen de MEB de la muestra tratada químicamente y térmicamente después de la inmersión en SBF con wollastonita durante 21 días. Puede observarse una capa de menor espesor que la formada en la muestra sin tratamiento térmico (figura. 2). Lo anterior puede asumirse en base a lo observado en el espectro EDX que indica que los picos de la aleación son aún detectados. Esto puede deberse a que, tal como se encuentra reportado en la literatura, el tratamiento térmico que sigue al tratamiento alcalino de aleaciones base cobalto conduce a la formación de un óxido complejo que inhibe la formación de apatita en la superficie [11]. La relación Ca/P de la capa formada en esta muestra tratada térmicamente fue de 1.9. Las capas formadas en la superficie de las muestras tratadas en 1.5SBF con wollastonita presentaron una morfología similar y una relación Ca/P ligeramente más alta. La presencia de Si en el espectro EDX (figuras 2b y 3b), puede deberse a que, tal como lo establece la literatura [3-4], este elemento juega un papel muy importante en el mecanismo de formación de apatita en la superficie de sistemas bioactivos. Además, en el estudio en torno al recubrimiento biomimético de diversos sustratos [12] se ha demostrado que el silicio proveniente del sistema bioactivo, en este caso wollastonita, se adsorbe en la superficie del sustrato a recubrir y actúa como sitio preferencial de nucleación de apatita en contacto con soluciones fisiológicas simuladas.

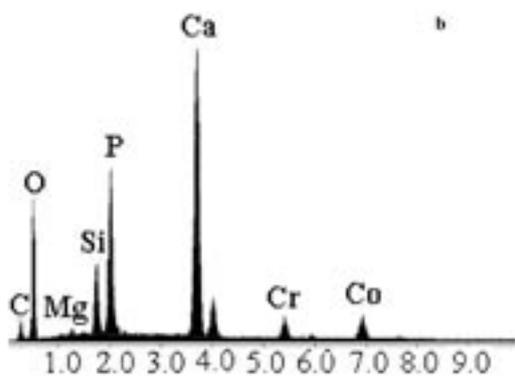
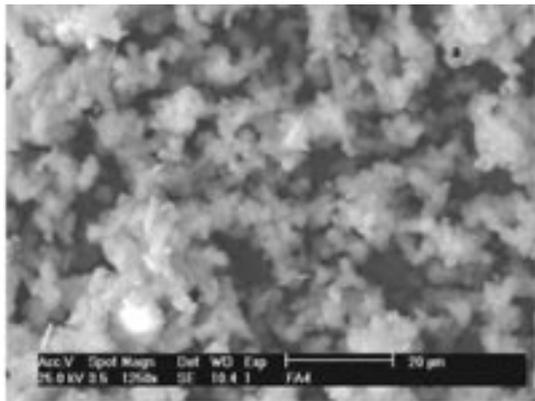


Figura 3. Muestra con tratamiento químico y térmico, tratada con wollastonita en SBF por 21 días, a) MEB y b) Espectro EDX.

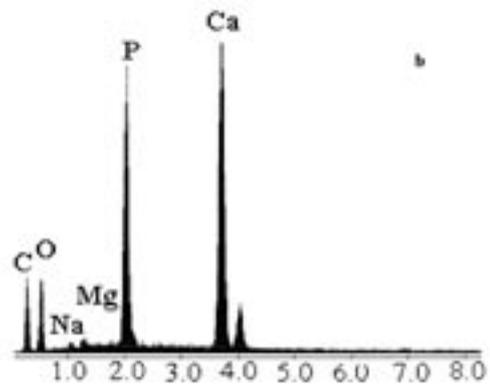
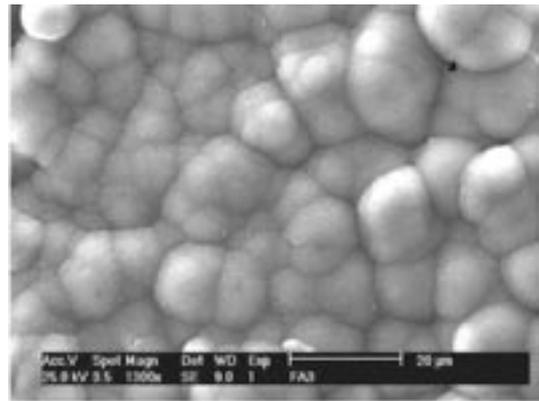


Figura 4. Muestra con tratamiento químico tratada mediante el proceso de re-inmersión en presencia de wollastonita, a) MEB y b) Espectro EDX.

La figura 4 presenta una imagen de MEB de la muestra sin tratamiento térmico después de la inmersión en SBF con wollastonita durante 7 días y en 1.5SBF por 14 días (método de re-inmersión). Puede observarse que una capa densa y homogénea, de morfología muy similar a la obtenida en los sistemas bioactivos existentes, cubre la superficie de la muestra. Puede observarse además que los aglomerados cerámicos son de mayor tamaño a los formados en los casos anteriores (figuras 2 y 3). La capa cerámica presenta una relación Ca/P de 1.49, la cual está dentro del rango de la relación de la fase mineral del hueso (1.2-1.5). En el espectro EDX correspondiente (figura 4b) no se detecta la presencia de Si. Esto puede deberse a que la capa formada, debido a su espesor y densidad, ha cubierto totalmente la superficie.

Las capas cerámicas observadas en la superficie de las muestras tratadas con biovidrio exhibieron un comportamiento similar, aunque generalmente el tamaño de los aglomerados es mayor en las muestras tratadas con wollastonita. La figura 5 presenta la imagen de MEB de la muestra con tratamiento químico después de la inmersión en SBF durante 21 días en presencia de biovidrio. Se observa una capa cerámica homogénea en la superficie metálica en la que se detecta la presencia de Ca, P, O y Si. La capa formada presenta una relación Ca/P de 1.6.

La figura 6 presenta la imagen de la superficie de la muestra con tratamiento químico y térmico, tratada en SBF durante 21 días en presencia de biovidrio. Puede observarse que una capa cerámica cubre la superficie metálica, el espectro EDX detectó la presencia de Ca, P, O y Si. La capa formada presenta una relación Ca/P de 1.65 la cual es muy cercana a la de la HA (1.67).

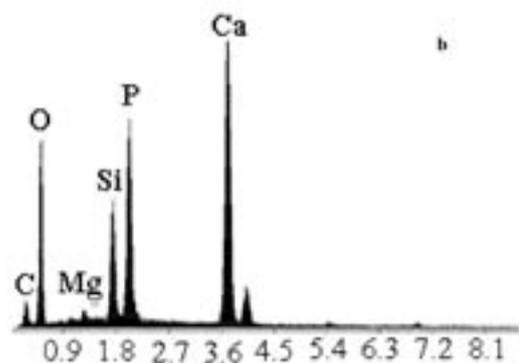
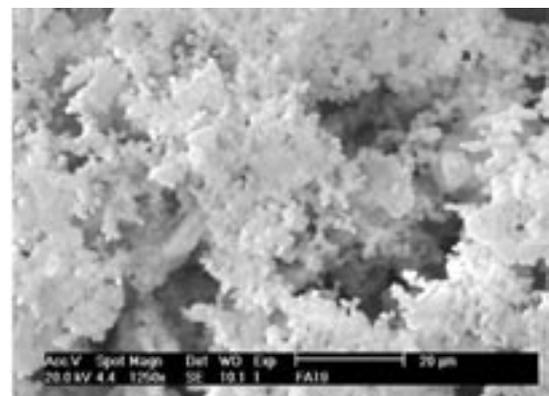


Figura 5. Muestra con tratamiento químico después de la inmersión en SBF durante 21 días en presencia de biovidrio. a) MEB y b) Espectro EDX

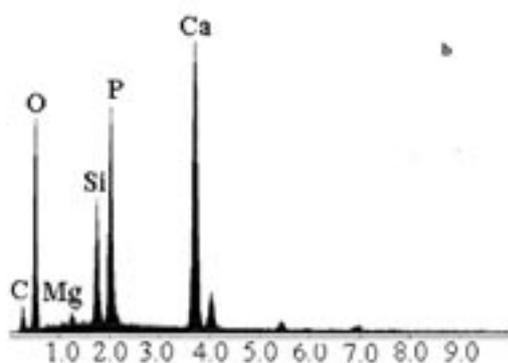
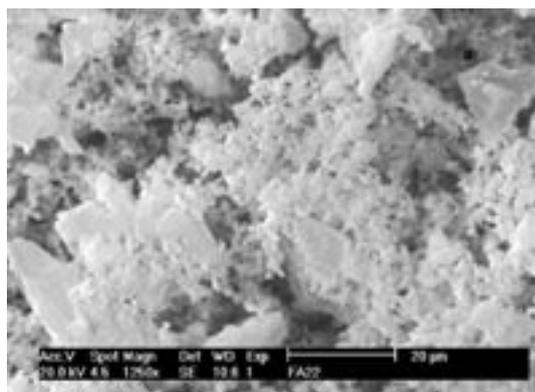


Figura 6. Muestra con tratamiento químico y térmico, tratada con biovidrio en SBF por 21 días, a) MEB y b) Espectro EDX.

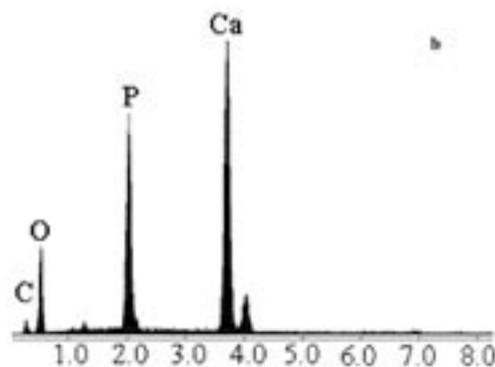
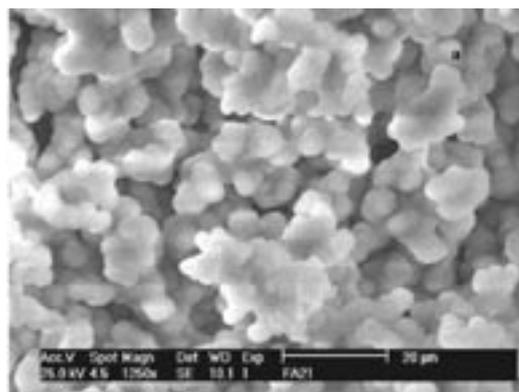


Figura 7. Muestra con tratamiento químico, tratada mediante el proceso de re-inmersión en presencia de biovidrio, a) MEB y b) Espectro EDX.

La figura 7 presenta la superficie la muestra sin tratamiento térmico, tratada con biovidrio bajo el proceso de re-inmersión. Se observa una capa homogénea sobre la superficie con una relación Ca/P de 1.45, la cual se encuentra dentro del rango de la fase mineral del hueso (1.2-1.5) y muy cercana a la relación de la capa de la muestra correspondiente tratada con wollastonita (fig. 4). Sin embargo, los aglomerados en la muestra tratada con wollastonita y el proceso de re-inmersión son de mayor tamaño al de los aglomerados cerámicos formados sobre las muestras tratadas con biovidrio.

Las muestras tratadas sin material bioactivo no presentaron la formación de una capa cerámica después de la inmersión en SBF o 1.5SBF durante 21 días. Sin embargo, cuando se utilizó el proceso de re-inmersión sin sistema bioactivo presente (7 días en SBF sin material bioactivo + 14 días en 1.5SBF) si se observó la formación de una capa cerámica delgada (figura 8), detectándose aún los picos correspondientes a los elementos aleantes. La relación Ca/P de la capa formada sobre la muestra tratada sin material bioactivo y mediante el proceso de re-inmersión fue de 1.26.

De manera general, todas las muestras tratadas con wollastonita y biovidrio formaron una capa cerámica sobre su superficie independientemente del procedimiento de inmersión, del contenido de carbono, de la aplicación del tratamiento térmico y de la concentración de la solución fisiológica simulada.

La figura 9 presenta los patrones de DRX correspondientes a las muestras sin tratamiento térmico, tratadas bajo el proceso de re-inmersión con wollastonita (figura 9a) y biovidrio (figura 9b). Se encontró que en ambas muestras la capa de cerámica observada mediante MEB corresponde a hidroxiapatita. La

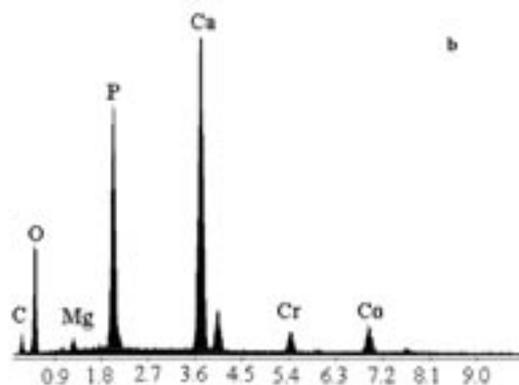
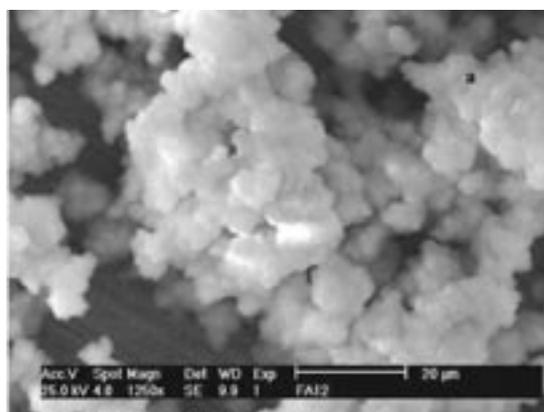


Figura 8. Muestra tratada química y térmicamente utilizando el proceso de re-inmersión sin material bioactivo, a) MEB, b) EDX.

intensidad de los picos correspondientes a la hidroxiapatita es mayor en la muestra tratada con wollastonita que en la tratada con biovidrio. Lo anterior puede indicar que los cristales de hidroxiapatita son de mayor tamaño en la superficie de la muestra tratada con wollastonita.

Los resultados obtenidos indican que es posible bioactivar la superficie de aleaciones base cobalto biocompatibles mediante procesos biomiméticos que incluyan materiales bioactivos como wollastonita o biovidrio. Durante el proceso biomimético utilizado en este trabajo el material bioactivo favorece la nucleación y crecimiento de la apatita sobre el sustrato metálico debido a que proporciona iones Ca^{++} los cuales sobresaturan la solución fisiológica con respecto a la apatita, además de que algunos iones de silicio son liberados tanto de la wollastonita como del biovidrio ocasionado que algunos de ellos sean adsorbidos sobre la superficie metálica creando sitios efectivos para la nucleación.

Comparando los materiales bioactivos utilizados, el uso de wollastonita conduce a recubrimientos de morfología más parecida a la obtenida en la superficie de los sistemas bioactivos existentes. Sin embargo, la presencia de biovidrio durante el proceso biomimético favorece la formación de recubrimientos con relaciones Ca/P muy cercanas a la de la hidroxiapatita. Por otra parte, mediante el uso de la wollastonita se obtuvieron capas cerámicas con relaciones Ca/P mayores a 1.67, a excepción de la capa formada sobre la muestra tratada por el proceso de re-inmersión y wollastonita, muestra que presentó aglomerados grandes y densos y una relación Ca/P dentro del rango de la relación de la apatita ósea.

4. CONCLUSIONES

El proceso biomimético aplicado en aleaciones base cobalto en presencia de wollastonita o biovidrio conduce a la formación de apatita en la superficie de estas aleaciones. La morfología más parecida a la obtenida en la superficie de los sistemas bioactivos existentes se logró mediante el método de re-inmersión en presencia de wollastonita. Mientras que, las relaciones Ca/P más cercanas a la de la hidroxiapatita se obtuvieron mediante el uso de biovidrio.

REFERENCIAS

1. L. Sun. "Materials fundamentals and clinical performance of plasma sprayed hydroxyapatite coatings: a review". *J. Biomed. Mater. Res.* **58** 570-592 (2001).
2. L. Hench. "Bioceramics: From concept to clinic". *J. Am. Ceram. Soc.* **74** [7] 1487-1510 (1991).
3. T. Kokubo. "Surface chemistry of bioactive glass-ceramics". *J. Non-Cryst. Solids* **120** 138-151 (1990).

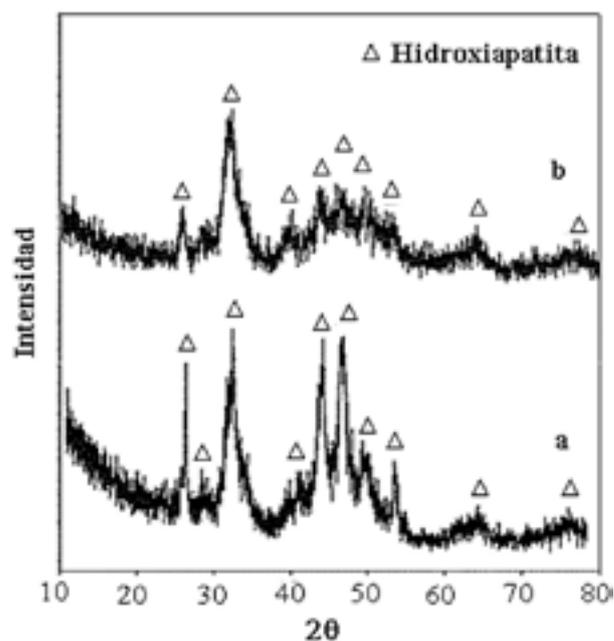


Figura 9. Patrones de DRX de las muestras tratadas con el método de re-inmersión: 7 días en SBF con material bioactivo + 14 días en 1.5SBF, a) en presencia de wollastonita, b) en presencia de biovidrio.

4. P. N. De Aza, F. Guitian, S. De Aza. "Bioactivity of wollastonite: *in vitro* evaluation". *Scripta Met. Mater.* **31** [8] 1001-1005 (1994).
5. K. De Groot. "Calcium phosphate coatings: alternatives to plasma spray". *Bioceramics* vol. 11, editado por R.Z LeGeros, World Scientific Publishing, New York, 41-43 (1998).
6. H. M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo, T. Nakamura. "Apatite-forming ability of alkali-treated Ti metal in body environment". *J. Ceram. Soc. Jpn.* **105** [2] 111-116 (1997).
7. T. Miyazaki, H. M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo, T. Nakamura. "Bonelike apatite formation on the surface of chemically treated tantalum substrates: effect of heat treatment". *Bioceramics* vol. 10, editado por L. Sedel y C. Rey, Francia, (1997).
8. D. Shi, G. Jjiang, X. Wen. "*In vitro* bioactive behavior of hydroxylapatite-coated porous Al_2O_3 ". *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)* **53** 457-466 (2000).
9. C. Du, P. Klasens, R. E. Haan, J. Bezener, F. Z. Ci, K. De Groot, P. Layrolle. "Biomimetic calcium phosphate coating on polyactive® 1000/70/30". *J. Biomed. Mater. Res.* **59** 535-546 (2002).
10. T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka. "Solutions able to reproduce *in vivo* surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W". *J. Biomed. Mater. Res.* **24** 721-734 (1990).
11. F. Miyaji, H. M. Kim, T. Kokubo, T. Kitsugi, T. Nakamura. "Bioactive titanium alloys prepared by chemical surface modification". *Bioceramics* vol. 8, editado por L. Wilson, L. Hench, D. Greenspan, Elsevier Science Ltd, 323-329 (1998).
12. Y. Abe, R. Kokubo. "Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilizing a biological process". *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1** 233-238 (1990).

Recibido: 23.01.04

Aceptado: 23.03.04