

# Obtención de fibras policristalinas de $\beta$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ para su empleo como material de relleno en procesos de reparación ósea

J. FRANCO-VÁZQUEZ, A. SOUTO-SERANTE, P. REY-RODRÍGUEZ, F. GUITIÁN-RIVERA

Instituto de Cerámica de Galicia. Av. Maestro Mateo s/n.  
15706 Santiago de Compostela. A Coruña

El  $\beta$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  ( $\beta$ -TCP) es un fosfato cálcico ampliamente empleado como material de relleno por la cirugía ortopédica restauradora en procesos de curación ósea, debido a su capacidad osteoconductora y alta tasa de biorreabsorción. Se emplea con distintas formas, tales como granulados, piezas compactas, piezas porosas, etc, dependiendo de la patología y el tipo de defecto óseo a tratar.

Como alternativa a las formas ya existentes en el mercado, en el presente trabajo se obtuvieron fibras policristalinas de  $\beta$ -TCP por extrusión de masas plásticas preparadas a partir de polvo de  $\beta$ -TCP y metilcelulosa (MC) en agua. Se estudió la reología de las pastas y su comportamiento frente al esfuerzo y a la temperatura. Las fibras presentan distintos grosores, y características, que se obtienen variando el diámetro de las boquillas, la composición y la reología de las pastas. Los diámetros obtenidos van desde 350  $\mu\text{m}$  a 150  $\mu\text{m}$ .

Finalmente se obtuvieron composites bifásicos  $\beta$ -TCP-Hidroxiapatito con microestructura controlada, utilizando las fibras de  $\beta$ -TCP como fase dispersa.

*Palabras clave:*  $\beta$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  ( $\beta$ -TCP),  $(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , HA), Fibras policristalinas, Composites, Material de relleno óseo.

**Obtaining of  $\beta$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  polycrystalline fibers for its employment as a filler in bone replacement material.**

$\beta$ -TCP is a calcium phosphate ceramic widely employed by orthopaedic restorative surgery as a filler material in bone healing processes, due to its great osteoconductive capacity and great resorption rates. This material is available in several forms such as powders, dense and porous blocks, etc, depending on the pathology and the osseous defect to be treated. As an alternative to the  $\beta$ -TCP forms already available in the market, this work describes how to produce polycrystalline fibres by extruding plastic mixtures prepared with  $\beta$ -TCP powders, methyl cellulose (MC) and water. The rheology of the mixtures was studied versus time and frequency. The obtained fibres have different sizes and characteristics upon to the composition and rheology of the mixtures. The obtained diameters are between 150  $\mu\text{m}$  and 350  $\mu\text{m}$ .

Finally, it has been prepared biphasic composites  $\beta$ -TCP/Hydroxylapatite (HA) with controlled microstructure, by employing the obtained fibres.

*Keywords:*  $\beta$ -TCP, HA, polycrystalline fibres, bone replacement material, composites.

## 1. INTRODUCCIÓN

En el año 2001 se realizaron en Estados Unidos y en Europa alrededor de un millón de intervenciones quirúrgicas en las que se utilizaron injertos para la reparación de defectos óseos (1, 2). De todos los materiales empleados para la reparación de estos defectos, las cerámicas de fosfatos cálcicos presentan un gran interés, y son ampliamente utilizadas, debido a su similitud con la fase mineral del hueso, su biocompatibilidad, su disponibilidad ilimitada y a estar libres de la transmisión de enfermedades (3-7). De entre las cerámicas de fosfatos cálcicos el fosfato tricálcico,  $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\beta$ -TCP) destaca por su carácter biorreabsorbible y osteoconductor (8-12), por lo que encuentra cada vez más aplicaciones médicas.

Hoy en día existen gran variedad de presentaciones comerciales de  $\beta$ -TCP para su empleo en procesos de reparación ósea, tales como granulados, pastas inyectables, bloques porosos, etc (11-14). Entre las últimamente aparecidas, son de particular interés las fibras policristalinas de  $\beta$ -TCP y los materiales bifásicos  $\beta$ -TCP-Hidroxiapatito, (BCPs), con microestructura controlada.

El empleo de fibras policristalinas permite rellenar un defecto óseo de manera que se favorezca el crecimiento del hueso, sin necesidad de emplear un material denso, previamente conformado. Los materiales bifásicos de estructura controlada basan su efectividad en la diferencia de solubilidades entre el  $\beta$ -TCP y el HA, mucho menor en

este último. Un material bifásico, fabricado con una matriz de HA y una fase dispersa de  $\beta$ -TCP, desarrollará porosidad "in situ", una vez implantado, producida por la disolución selectiva del  $\beta$ -TCP en el medio fisiológico. Diseñando la cantidad, forma y dimensiones de las partículas de  $\beta$ -TCP disperso, puede controlarse la forma y tamaño de los poros formados tras la implantación y su velocidad de producción.

En el presente trabajo se estudia un procedimiento para la obtención de fibras policristalinas de  $\beta$ -TCP partiendo del material en polvo, y en algún caso a partir de geles precursores de  $\beta$ -TCP con una relación Ca/P = 1,5. Las fibras se obtienen siguiendo un proceso de extrusión mediante el cual se puede variar el diámetro y la relación de aspecto final de las fibras, y pueden ser empleadas como material de relleno de defectos óseos, o como fase dispersa en BCPs.

## 2. EXPERIMENTAL

### 2.1. Preparación de las pastas.

El  $\beta$ -TCP fue obtenido por precipitación masiva de un gel precursor de fosfato cálcico con estequiometría Ca/P=1,5. Los reactivos empleados para la obtención del gel fueron  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (CAS [13477-34-4], Panreac),  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (CAS [7664-38-2], Panreac) y disoluciones concentradas de amoníaco (CAS [1336-21-6], Panreac). Se prepararon  $2000\text{cm}^3$  de una disolución 1,00M de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  y de otra 0,67M de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ambas ajustadas a pH 10 con amoníaco concentrado. Las disoluciones se mezclaron rápidamente en un recipiente, y se mantuvieron con agitación continua por espacio de 10 minutos. Concluida la agitación el precipitado se filtró a vacío, se secó a  $110^\circ\text{C}$  y se trató térmicamente a  $800^\circ\text{C}$  durante una hora. El producto obtenido se desagregó en un molino de ágata con lo que se obtuvo un tamaño medio de partícula de  $0,5\mu\text{m}$ . El análisis por DRX de este material demuestra que la única fase cristalina presente es  $\beta$ -TCP (figura 1), con lo que se cumple la Norma ASTM F 1088-87 para el empleo de  $\beta$ -TCP en aplicaciones quirúrgicas.

Se prepararon suspensiones de  $\beta$ -TCP en agua con diferentes contenidos en sólidos, a las que se le añadieron cantidades variables de Metil Celulosa (MC) (CAS[9004-67-5], Sigma Aldrich). Para facilitar el mezclado y mejorar

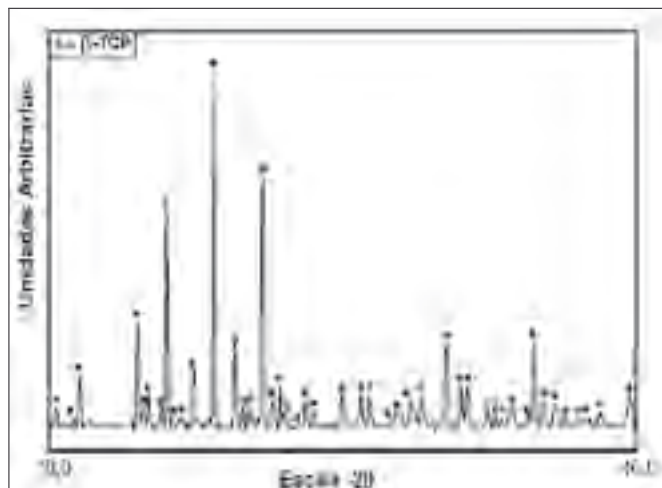


Fig. 1- Difractograma del  $\beta$ -TCP empleado para la preparación de pastas.

las propiedades reológicas de la suspensión se añadieron pequeñas cantidades de Reotán-L (Dispersantes Lamberti S.L.) como agente dispersante. La adición de MC y del dispersante se realiza mientras se mantiene la agitación. En la tabla I se muestran las distintas composiciones de las pastas.

En todos los casos se utilizó para el amasado un motor de velocidad variable (750W, Bosch) al que se acopló un utensilio amasador de acero inoxidable. El amasado se realizó en recipientes de acero inoxidable. Las pastas preparadas se envolvieron en Parafilm® para evitar la pérdida de agua por evaporación.

El estudio reológico de las pastas obtenidas se realizó empleando un viscosímetro de cono-placa provisto de control de temperatura (AR2000 Rheometer, TA). En todos los casos se ha estudiado la variación de la viscosidad de las pastas frente a la frecuencia y frente a la temperatura.

Adicionalmente se preparó una pasta similar a las descritas utilizando directamente el gel de fosfato cálcico recién precipitado, en lugar de  $\beta$ -TCP cristalino.

### 2.2. Extrusión de las fibras.

Para la extrusión de las fibras se empleó una extrusora de pistón, accionada manualmente, a la que se acoplaron boquillas con diámetros de  $200\mu\text{m}$ ,  $300\mu\text{m}$  y  $400\mu\text{m}$ . La pasta se introduce en la extrusora convenientemente desaireada por amasado en vacío.



Fig. 2- Extrusión de una fibra continua por una boquilla de  $200\mu\text{m}$  de diámetro.

Tras la extrusión, las fibras se secaron en una estufa a 37°C durante 24h. El resultado del proceso de extrusión es un hilo largo (ver figura 2) que se trocea convenientemente antes de la etapa de calcinación.

### 2.3 Sinterización de las fibras.

La sinterización se llevó a cabo a 1100°C durante 2 horas. La subida de la temperatura se realizó en dos etapas: una subida lenta hasta 625°C con una rampa de 1°C/min, para la eliminación de la MC, seguida de una segunda etapa con velocidades de calentamiento de 5°C/min hasta alcanzar 1100°C. La rampa de bajada fue de 10°C/min.

### 2.4. Caracterización de las fibras.

La densidad aparente de las fibras se midió con un equipo de densidad aparente (Geopyc, Micromeritics) y el tamaño de poro por porosimetría de mercurio (Autopore, Micromeritics). Las fibras obtenidas se examinaron con una lupa binocular (Olympus) asociada a un sistema de fotografía digital (Optiphot, Nikon). La microestructura de las fibras se examinó por microscopía electrónica de barrido (SEM, Jeol JSM 6400).

### 2.5. Fabricación de composites.

Con las fibras obtenidas se han obtenido BCPs con hidroxiapatito como matriz. Los composites se conformaron por prensado isostático en frío (Prensa isostática ABB) de mezclas HA/ $\beta$ -TCP 50:50 y 60:40. Para garantizar un buen mezclado entre el polvo de HA y las fibras se ha preparado una suspensión de los sólidos en alcohol isopropílico y se ha mantenido en el interior de un recipiente de Teflón®, en una mezcladora Túrbula por espacio de 24 h. La mezcla de fosfatos se separa por filtrado a vacío, y se seca a 37°C durante 24h. Para facilitar el prensado se utilizó un 3% de agua, tras lo cual la mezcla se introdujo en moldes flexibles de caucho silicona. Tras el desaireado se realizó el prensado a 100 MPa durante 20 minutos. La pieza obtenida se secó a 37°C durante 24h y se procesó térmicamente a 1100°C con un ciclo de 7 horas de frío a frío.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Obtención de fibras.

Se ha estudiado el comportamiento de pastas con distinta relación MC/Agua realizando una serie de medidas de viscosidad frente a la frecuencia y la temperatura. En la figura 3 se muestra cómo varía la viscosidad de las pastas frente a la relación MC/Agua. De acuerdo con lo observado, la viscosidad varía exponencialmente con el contenido en MC de las pastas.

En la figura 4A se compara el comportamiento de tres pastas (P1, P3, P6) frente a la temperatura y frente a la frecuencia. Puede observarse cómo el calentamiento de las mismas produce al principio un descenso en la viscosidad, hasta alcanzar un valor mínimo a una temperatura dada (entre 45 y 55°C, según los casos). Por encima de esta temperatura comienza la gelificación de la pasta, llegando a incrementarse el valor de la viscosidad 2 y 3 órdenes de magnitud en un intervalo de unas decenas de grados. En

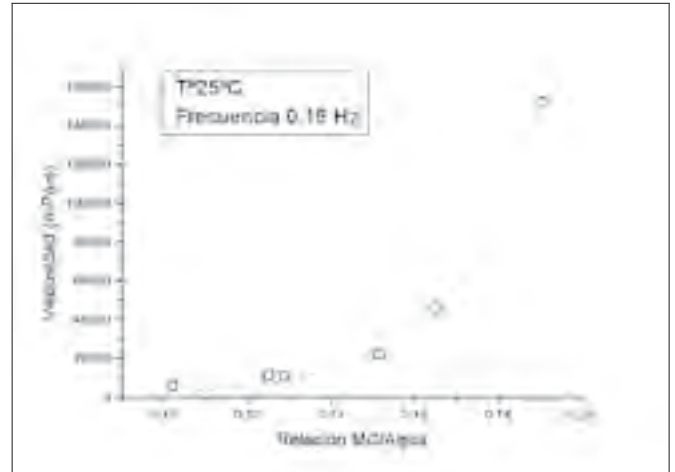


Fig. 3- Variación de la viscosidad para pastas con diferente relación MC/Agua, preparadas a partir de  $\beta$ -TCP en polvo.

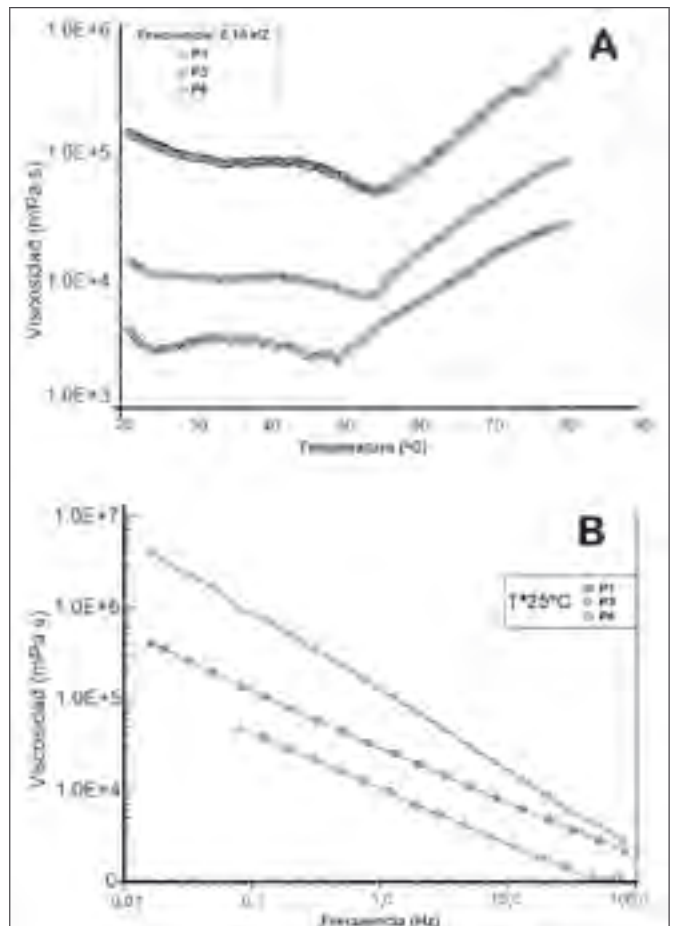


Fig. 4- Variación de la viscosidad para tres pastas con diferentes relaciones MC/Agua preparadas a partir de  $\beta$ -TCP en polvo. A) Frente a la temperatura. B) frente a la frecuencia.

la tabla II se recogen las viscosidades a 25°C de las pastas P1 a P6. A temperaturas superiores a las marcadas por este valor mínimo de viscosidad es imposible extrudir las fibras, puesto que las pastas gelifican en el interior de la extrusora. Por otra parte se observa claramente que la viscosidad

disminuye con el incremento de la frecuencia en las pastas, lo que facilita el proceso de extrusión.

Este tipo de comportamiento en pastas con metilcelulosa ha sido estudiado extensamente por Sarkar y otros (15-16), que determinaron que a temperatura ambiente, y recién amasadas, las pastas tienen un comportamiento adhesivo, con viscosidades relativamente altas. A medida que se eleva la temperatura, la viscosidad disminuye claramente, debido al cambio de comportamiento de la pasta de adhesivo a cohesivo, hasta una viscosidad mínima, a una temperatura dada. A temperaturas mayores, el progresivo entrecruzamiento de las cadenas de metilcelulosa, debido a su polimerización, incrementa la viscosidad de la pasta rápidamente hasta su gelificación completa. Por lo tanto se ha elegido la temperatura de 40°C como la más adecuada para la extrusión de las distintas pastas.



Fig. 5- Fotografía de las fibras obtenidas a partir de la pasta P2 por una boquilla de 300  $\mu$ m después de ser troceadas en seco y tratadas térmicamente.

TABLA I. COMPOSICIÓN DE LAS PASTAS PREPARADAS.

PASTA	%MC	%Agua	% $\beta$ -TCP en polvo.
P1	5	33	62
P2	4	32	64
P3	4	21	75
P4	3,5	21,5	75
P5	2,5	19,4	78,1
P6	2	19,6	78,4

TABLA II. VISCOSIDAD DE LAS PASTAS.

Pasta	% $\beta$ -TCP	MC/Agua	MC/ $\beta$ -TCP	Visc 25°C (mPa.s)
P1	62	0,152	0,081	1,87E+04
P2	64	0,125	0,063	9,62E+03
P3	75	0,190	0,053	1,52E+05
P4	75	0,163	0,047	4,17E+04
P5	78,1	0,129	0,032	1,06E+04
P6	78,4	0,102	0,026	3,55E+03

MC/Agua= 0,02) se extrudieron con dificultad y presentan como es lógico unas contracciones de secado y cocción extraordinariamente altas, del orden del 50% o superiores. En la figura 6A se observa la superficie de una fibra procesada a partir de gel. El crecimiento de grano es considerable, así como una baja porosidad (figura 6C). En la figura 6(B,D) se observa el aspecto de una fibra obtenida a partir de la extrusión de la pasta P6 a través de una boquilla de 200  $\mu$ m, así como la ampliación de su superficie, en la que se puede observar la microestructura característica de las cerámicas de TCP. El diámetro de la fibra ya procesada térmicamente es de 160 $\mu$ m, debido a la suma de contracciones de secado y cocción. Las fibras extrudidas a partir de las diferentes pastas ensayadas presentan porosidades comprendidas entre el 17% y el 30%, con un tamaño de poro entre 0,5  $\mu$ m y 2  $\mu$ m. (Tabla III).

TABLA III. PROPIEDADES DE LAS FIBRAS OBTENIDAS:  $\diamond$

Pasta	%Contrac.	%Porosidad	D. aparente (g/cm <sup>3</sup> )	Diámetro fibra obtenido ( $\mu$ m) ( $\pm 1 \mu$ m)		
				Boquilla 200	Boquilla 300	Boquilla 400
P1	17,5	30,1	2,11	165	247	330
P2	17,4	28,8	2,15	166	248	330
P3	14,3	18,9	2,45	171	257	341
P4	14,3	18,2	2,47	171	257	343
P5	13,2	16,9	2,51	173	260	346
P6	13,1	16,6	2,52	174	260	348
G	48,1	6,2	2,85	110	-	-

Se ha conseguido extrudir fibras continuas a partir de todas las pastas estudiadas (Tabla 1). Dichas fibras, una vez secas pueden mantenerse como "ovillos" o se trocean en segmentos de longitudes variables.

La figura 5 muestra fibras gruesas obtenidas a partir de la pasta P3, extrudida por una boquilla de 300  $\mu$ m de diámetro. Como puede apreciarse las fibras se han cortado con longitudes entre 1mm y 5mm.

Las fibras obtenidas por extrusión de masas preparadas con gel de fosfato cálcico sin calcinar (15% de sólidos,

### 3.2. Fabricación de composites.

Como uso alternativo de las fibras obtenidas se han preparado composites BCPs, empleando HA como matriz y fibras de  $\beta$ -TCP como fase dispersa. En este trabajo se presentan los resultados preliminares obtenidos en la fabricación de este tipo de materiales. En la figura 7 se muestra el aspecto exterior un composite sinterizado a 1100°C (7A), así como un corte transversal pulido del mismo (7B). La zona oscura se corresponde con la fase de

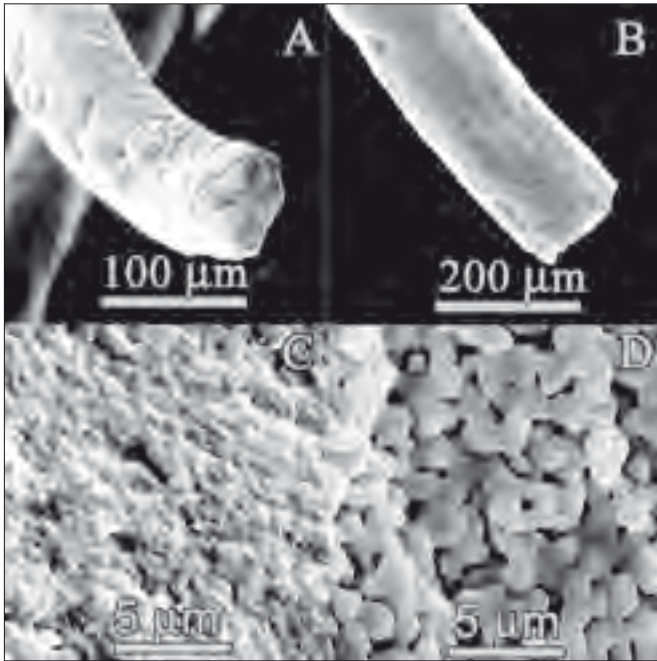


Fig. 6- A) Fibra preparada directamente a partir de gel con boquilla de 200 µm. B) Fibra preparada a partir de polvo (pasta P6, boquilla 200 µm). C) superficie de fractura fibra gel. D) Superficie de fractura fibra polvo.



Fig. 7- Composite HA/β-TCP (60%/40%). A) fotografía del composite. B) corte transversal pulido. fibra polvo.

HA, de color azul pálido, mientras que las fibras de β-TCP aparecen con color blanco. A partir de estos composites pueden mecanizarse piezas con geometrías sencillas, para su posterior implantación.

#### 4. CONCLUSIONES

Se han obtenido fibras policristalinas de β-TCP con diámetros finales entre 150 y 350µm por extrusión de masas plásticas β-TCP-agua, con cantidades variables de metilcelulosa, para su uso en el relleno de defectos óseos. Las fibras presentan microporosidad superficial, necesaria para facilitar el anclaje de proteínas y de las células encargadas de llevar a cabo la osteogénesis (17-18).

Asimismo, se han preparado materiales compuestos densos (BCPs), con HA como matriz y fibras cortas de β-TCP como fase dispersa. Ambas fases presentan solubilidades muy diferentes en el medio fisiológico: la fase soluble (β-TCP) se dispone en forma de fibras que, una vez disueltas, formarán canales del diámetro adecuado (19-20) para su colonización por las células responsables de la osteogénesis, mientras que el HA proporciona un esqueleto bioactivo que permanece hasta que se completa el proceso de regeneración ósea.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por el Plan Nacional de Materiales (CYCYT) y por el PGIDT de la Xunta de Galicia.

#### BIBLIOGRAFÍA

- 1- M. J. Hall, and M. F. Owings, 2000 National Hospital Discharge Survey. Advance data from Vital and Health Statistics. Vol. 329.2002, Hyattsville, Maryland: National Center for Health Statistics.
- 2- "Orthopaedic: Key Market & Emerging Technologies", Clin Rep, PJB Publications, Ltd, London (2002).
- 3- D. Stubbs, M. Deakin, P. Chapman-Sheath, J. Bruce, W. Debes, R. M. Gillies, W.R. Walsh, In vivo evaluation of resorbable bone graft substitutes in a rabbit tibial defect model, *Biomaterials* 25, 5037-5044 (2004)
- 4- R. Schnettler, J.P. Stahl, V. Alt, T. Pavlidis, E. Dingledein, S. Wenish, Calcium Phosphate-Based Bone Substitutes, *Eur J Trau ma.* 30, 219-29 (2004)
- 5- C. Zhang, J. Wang, H. Feng, B. Lu, Z. Song, X. Zhang, Replacement of segmental bone defects using porous bioceramic cylinders: a biomechanical and X-ray diffraction study, *J. Biomed. Mat Res.* 54, 3, 407-411 (2001)
- 6- S.B.T. Bolder, N. Verdonshot, B. W. Schreurs, P. Buma, Acetabular defect reconstruction with impacted morsellized bone grafts or TCP/HA particles. A study on the mechanical stability of cemented cups in an artificial acetabulum model, *Biomaterials* 23, 3, 659-666 (2002)
- 7- C. Schopper, F. Ziya-Ghazvini, W. Goriwoda, D. Moser, F. Wanschitz, E. Spassova, G. Lagogiannis, A. Auterith, R. Ewers, HA/TCP compounding of a porous CaP biomaterial improves bone formation and scaffold degradation-A long-term histological study, *J. Biomed. Mat. Res., Part B: App. Biomat.* 74B, 1, 458-467 (2005)
- 8- M. Saito, H. Shimizu, M. Beppu, M. Takagi, The role of b-tricalcium phosphate in vascularized periosteum, *J Orthop Sci.* 5, 275-282 (2000)
- 9- K. Ohsawa, M. Neo, H. Matsuoka, H. Akiyama, H. Ito, H. Kohno, T. Nakamura, The expression of bone matrix protein mRNAs around beta-TCP particles implanted into bone, *J Biomed Mater Res.* 52, 460-466 (2000)
- 10- K. Kurashina, H. Kurita, Q. Wu, A. Ohtsuka, H. Kobayashi, Ectopic osteogenesis with biphasic ceramics of hydroxyapatite and tricalcium phosphate in rabbits. *Biomaterials*, 23, 2, 407-12 (2002)
- 11- P. N. De Aza, A. H. De Aza, S. De Aza, Crystalline Bioceramics, *Bol. Soc. Esp. Ceram. V.*, 44, 2, 89-94 (2005)
- 12- K. A. AHing, Bioceramic. Bone graft substitutes: Influence of porosity and chemistry, *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* 2, 3, 184-189 (2005)
- 13- D. J. Griffon, Evaluation of osteoproduktive biomaterials: Allograft, bone inducing agent, bioactive glass, and ceramics, Academic Dissertation, September 2002. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Clinical Veterinary Sciences, Division of Surgery (ISBN 952-10-0628-5), 18-25.

- 14- J. Franco Vázquez, A. Souto Serantes, F. Guitián Rivera, Procedimiento de obtención de polvos finos de beta-fosfato tricálcico o sus mezclas a partir de precursores amorfos, Solicitud patente española número P200501993.
- 15- N. Sarkar, Gremiger, G. K.Jr., Methylcellulose Polymers as Multifunctional Processing Aids in Ceramics, Ceramic Bulletin 62, 11, 1280-1288 (1983)
- 16- N. Sarkar, L. C. Walker, Hydration-dehydration properties of methyl cellulose and hydroxypropyl methyl cellulose, Carbohydrate Polymers 27, 3, 177-185 (1995)
- 17- V. Karageorgiou, D. Kaplan, Porosity of 3D biomaterial scaffolds an osteogenesis, Biomaterials 26, 5474-5491 (2005)
- 18- M. Tirrell, E. Kokkoli, M. Biesalski, The role of surface science in bioengineered materials, Surface Science 500, 61-83 (2002)
19. J.J. Klawitter y S. F. Hulbert, Application of porous ceramics for the attachment of load bearing internal orthopedic applications, Journal of Biomedical Materials Research (symposium) 2, 161-229 (1971)
20. S.J. Simske, R.A. Ayers, and T.A. Bateman, Porous Materials for bone engineering, in Porous Materials for Tissue Engineering. Liu and V. Dixit, Editors. 1997: Transtech, Enfield, NH. 151-182..

Recibido: 24.01.06

Aceptado: 23.05.06

