

## HIDROXIAPATITA POROSA HAP-200. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

R. Gonzalez; M.C. Melo; A. Perez Reyes; Ana C. Rodriguez  
 Centro Nacional de Investigaciones Científicas - APDO 6880 - C. Habana - Cuba

Recibido em 25/6/92; cópia revisada em 15/2/93

The main physico - chemical characteristics are reported as well as the chemical composition of the porous hydroxyapatite HAP-200 obtained from marine corals, which is an excellent biomaterial for the reconstructive surgery and bone replacement.

Keywords: porous hydroxyapatite; marine corals.

## INTRODUCCIÓN

Las cerámicas de hidroxiapatita y/o fosfatos tricálcicos han encontrado un amplio uso como materiales de implantes en la cirugía reconstructiva y de sustitución del hueso, ya que éstas presentan una gran identidad química y estructural con el tejido óseo<sup>1-5</sup>.

En particular, la conocida como "hidroxiapatita coralina" presenta características excelentes, ya que al ser obtenida por transformación química del esqueleto coralino ( $\text{CaCO}_3$ ), conserva la macroestructura original del coral, con poros uniformes y tridimensionalmente interconectados, lo que además de la composición química, le confiere al material una gran similitud morfológica con el hueso<sup>6-8</sup>.

Las propiedades físicas y químicas del producto (hidroxiapatita) determinan el comportamiento *in vivo* del implante<sup>9-11</sup> y dependen en gran medida de las cualidades de la materia prima (corales) y de los procesos utilizados en su transformación química.

Recientemente se ha obtenido la hidroxiapatita porosa a partir de los corales marinos "porites" de la plataforma insular cubana, conocida como "CORALINA HAP-200"<sup>12</sup>.

Este producto en forma de bloques y granulado con diferentes dimensiones y tamaño de las partículas, ha tenido un gran éxito en los ensayos preclínicos y clínicos como excelente material para la reconstrucción y/o sustitución del tejido óseo, al presentar una alta biocompatibilidad y elevada osteointegración<sup>13</sup>. En el presente trabajo se reportan las principales características físico-químicas de este biomaterial y se comparan con las del hueso.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los corales empleados fueron de la familia Porites cuidadosamente seleccionados, colectados y caracterizados, los cuales después del tratamiento para la eliminación de impurezas mecánicas y materia orgánica, fueron sometidos al proceso de caracterización química y transformación a hidroxiapatita mediante una reacción de intercambio hidrotérmico. Esta reacción se lleva a cabo en un reactor cerrado a presiones que alcanzan al final 10 Mpa y temperatura de 170°C en presencia de una disolución de iones fosfatos<sup>9,14</sup>.

En los productos sólidos de la reacción se analizó el contenido de fósforo por acomplejamiento con molibdato de amonio y posterior análisis colorimétrico en un espectrofotómetro Spekol-11, y el calcio por gravimetría con oxalato.

Las impurezas metálicas fueron determinadas por espectrografía de emisión y absorción atómica.

Los análisis estructurales se llevaron a cabo por espectroscopía IR en un equipo Philips PU-9512 en pastillas de KBr y por difracción de rayos X en un difractorómetro TUR-M62 con monocromador de cuarzo y radiación  $K\alpha$  del Cu.

Las micrografías electrónicas se realizaron en microscopio electrónico JEM-100CXII y en una microsonda electrónica REM100U la que permitió realizar el análisis químico por el método espectral de longitud de onda dispersada (WDS).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Caracterización química

Los análisis químicos, tanto de elementos constituyentes como de minoritarios realizados a HAP-200 muestran que se ha obtenido un material con un alto grado de pureza y una gran conversión a hidroxiapatita [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ], ya que los contenidos de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  corresponden a la relación molar Ca/P de este compuesto (1,67) y la cantidad de  $\text{CO}_3^{2-}$  no excede el 2%. Los elementos minoritarios presentes están por debajo de los límites permisibles si se compara con la composición química del hueso, el esmalte y la dentina (Tabla 1). Sin embargo, la presencia de estos elementos juega un papel muy importante en la formación y crecimiento de los componentes cristalinos del hueso, influyen decisivamente en la activación de reacciones enzimáticas en las células del hueso y a la vez protegen los mecanismos de calcificación y aumentan la mineralización<sup>15-17</sup>.

Esta composición ha sido posible gracias a una adecuada selección de los corales utilizados en las zonas más limpias y puras del archipiélago cubano<sup>18</sup>.

Los espectros de IR (fig. 1) y análisis de fases por difracción de rayos X (fig. 2), permiten comprobar que la nueva fase formada en el producto corresponde a la hidroxiapatita [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ] y la presencia de  $\text{CaCO}_3$  es insignificante, debido al alto grado de transformación alcanzado.

El material inorgánico representa aproximadamente el 65% de la composición total del hueso y se encuentra formado en lo fundamental por fosfato de calcio en una estructura conocida como "apatita biológica". Esta apatita resulta poco cristalina (fig. 2-A) debido a la desviación de la estequiometría por la sustitución isomórfica parcial y/o absorción de iones, fundamentalmente de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) en el cristal. El  $\text{CO}_3^{2-}$  se puede encontrar en dos posiciones principales: en los sitios A sustituyendo a los grupos  $\text{OH}^-$ <sup>19,20</sup> por lo que no aparecen en el espectro IR las bandas en la zona de los 3600-3570 y 640  $\text{cm}^{-1}$  asignadas a la vibración del grupo hidroxilo (fig 1-C) y en los sitios B reemplazando a los iones  $\text{PO}_4^{3-}$ <sup>21</sup>.

**Tabla 1.** Composición química de la parte inorgánica del hueso, el esmalte, la dentina y de la hidroxiapatita HAP-200.

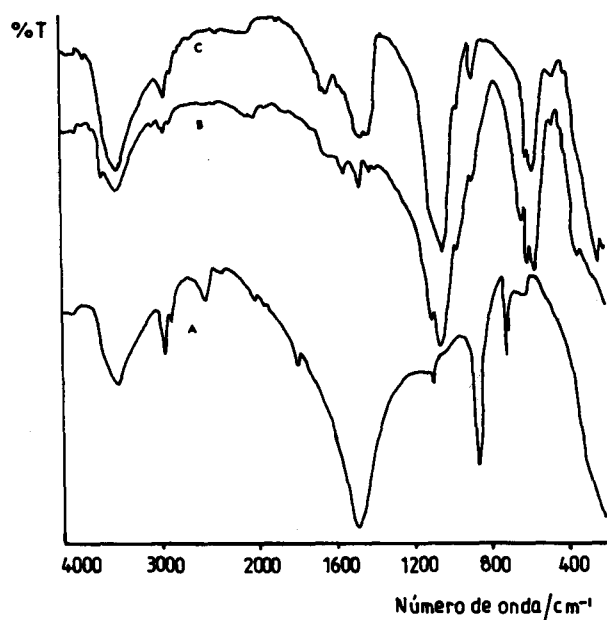
Elemento	Hueso <sup>1</sup>	Esmalte <sup>2</sup>	Dentina <sup>2</sup>	HAP-200	
				% En Peso	
Calcio (Ca)	25.6	36.1	35	39.3	± 0.6
Fósforo (P)	12.3	17.3	17.1	18.7	± 0.4
Magnesio (Mg)	0.39	0.5	1.2	0.14	± 0.05
Carbonato (CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )	4.0	3.0	4.0	<2	
Sodio (Na)	0.6	0.2	0.2	0.12	± 0.05
Potasio (K)	0.3	0.3	0.07	<0.05	
Hierro (Fe)	0.017	0.0025	-	0.0017	± 0.0008
Cobre (Cu)	0.0048	0.01	-	0.0008	± 0.0002
Plomo (Pb)	0.015	0.037	(diente)	0.0027	± 0.001
Manganeso (Mn)	0.0022	D	D	0.0005	± 0.0001
Estaño (Sn)	0.00005	D	D	NE	
Aluminio (Al)	0.0005	D	D	0.001	± 0.0005
Estroncio (Sr)	0.0002	D	D	NE	
Boro (B)	0.014	D	D	NE	
Cloruro (Cl <sup>-</sup> )	0.19	0.3	0.03	NE	
Fluoruro (F <sup>-</sup> )	0.31	0.016	0.017	NE	
Azufre (S)	-	0.1	0.2	NE	
Silicio (Si)	D	0.003	-	0.001	± 0.0005
Níquel (Ni)	D	D	D	0.0002	± 0.00005
Zinc (Zn)	D	0.016	0.018	0.0037	± 0.0007

D - Se detecta por espectrografía de emisión.

NE- No se detecta por espectrografía de emisión y otros métodos.

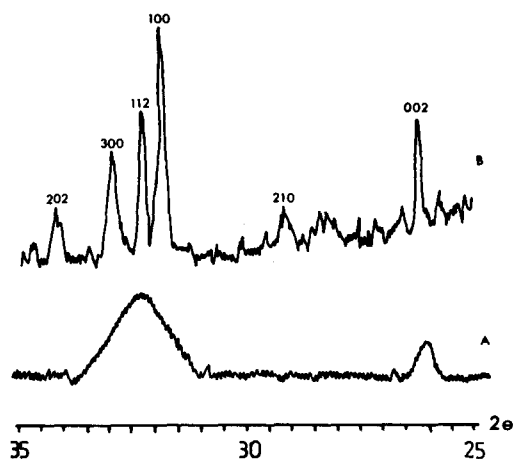
1 - Bichemist's Handbook. Ed Ciril Long. (1961), 717.

2 - Benque E.P. et al., J. de Parodontologie (1986), 5(2), 89.



**Figura 1.** Espectros infrarrojos (IR) de las muestras correspondientes al coral (A), del producto de transformación a hidroxiapatita (B) y del hueso esponjoso humano (C).

Las deformaciones estructurales en la hidroxiapatita tienen una gran importancia en su comportamiento biológico, en particular, la presencia de carbonato está asociada con el aumento de la formación de caries por el efecto de una mayor solubilidad<sup>22,23</sup>, así como una mayor reabsorción cuando se produce un implante de fosfato tricálcico o hidroxiapatita con alto contenido de carbonato<sup>21</sup>.



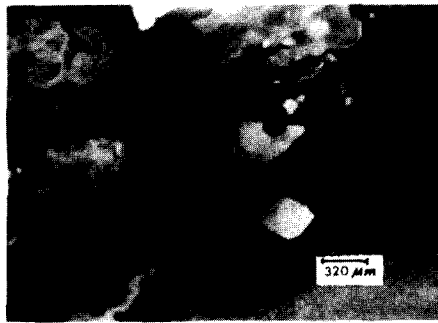
**Figura 2.** Registro por difracción de rayos X en la zona de 25-35° (2θ) del producto de transformación hidrotérmica del coral (B) y del hueso esponjoso humano (A).

La hidroxiapatita HAP-200 posee una elevada cristalinidad en comparación con la "apatita biológica" (fig 2-B) lo que determina la baja reabsorción que presenta cuando el implante es invadido por la neoformación ósea.

#### Micromorfología y distribución de la composición química

Una particularidad importante de HAP-200 está dada por el hecho de que ésta conserva la estructura porosa inicial del coral, con poros uniformes y tridimensionalmente interconectados.

En un análisis más detallado es posible la clasificación de los poros en principales con diámetros distribuidos alrededor de los 200 micras, los cuales se entrecruzan en algunas zonas formando una configuración trabecular típica de los corales

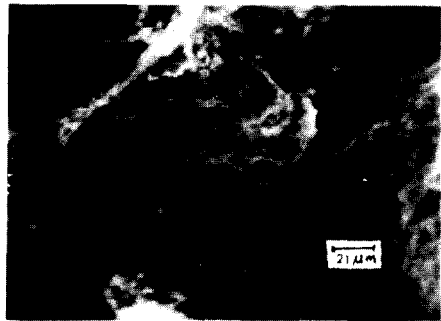
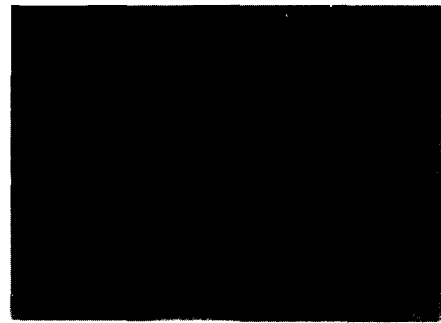


**Figura 3.** Distintos niveles de observación microscópica de la HAP-200: A - Agregado de granos donde se puede apreciar la morfología de las partículas y los poros principales del orden de 200 micras; B - Imagen de un grano; C - Detalle de una partícula donde se observa la configuración trabecular de los poros principales y la microporosidad fina o secundaria sobre las paredes o tabiques que constituyen los granos; D - Microporosidad fina con una distribución de tamaño de poros entre 5 y 30 micras.

de donde proceden (fig. 3-B) con un carácter esponjoso. Las zonas aparentemente macizas que conforman las paredes de los poros están surcadas también por una población de poros secundarios con diámetros entre 5 y 30 micras (fig. 3-C). Las superficies de los granos a pesar de ser irregulares, no presentan bordes filosos o agudos lo cual contribuye a evitar respuestas inflamatorias locales del material una vez implantado.

Estas estructuras totalmente porosas y permeables, similares al material autólogo del hueso son un factor muy importante que ha contribuido al éxito de HAP-200 en la reparación ósea, ya que permite la proliferación penetrante de los tejidos dentro del implante, favoreciendo una adecuada vascularización y en definitiva una perfecta osteointegración en relativamente corto tiempo.

Cuando se logra observar una superficie lo mas próxima posible a un plano, puede intentarse una aproximación a un mapa químico, realizando determinaciones puntuales al interactuar las radiaciones características de los rayos X con la muestra. Así en la fig.4 se presentan tales mapas para la señal



**Figura 4.** Micrografía y composición química de HAP-200; A - Distribución de la señal de rayos X característica del calcio (Ca) dispersada por el campo de observación de la Foto 4B; B - Micrografía de superficie con microporos secundarios; C - Distribución del fósforo (P) según la dispersión de Rx característico de este elemento en la misma superficie.

debida a los átomos de calcio (4-A) y para los átomos de fósforo (4-C). Como puede apreciarse, la distribución de ambos elementos es uniforme en la medida que el propio relieve de la superficie lo permite y la proporción Ca/P es cercana a la de la hidroxiapatita.

Por este método no se observan impurezas metálicas, lo que confirma el alto grado de pureza del material según los análisis químicos (Tabla 1).

#### Características físico-mecánicas

Las principales propiedades físicas y mecánicas de HAP-200 fueron determinadas en materiales en forma de bloques sin tener en cuenta la orientación de los poros (Tabla 2). Los experimentos en animales y experiencias clínicas han demostrado que el tejido penetra en el implante independientemente de la orientación de éste y que la resistencia aumenta considerablemente al quedar invadido por la proliferación del tejido óseo<sup>13,23,24</sup>.

Tabla 2. Principales propiedades físicas y biomecánicas de HAP-200.

Fración hueca	59 ± 5 %
Densidad aparente	1,3 ± 0.24 g/cm <sup>3</sup>
Densidad nominal	3,01 ± 0.08 g/cm <sup>3</sup>
Diámetro medio de poro	194 micras
Resistencia a la compresión	14 ± 1MPa
Deformación relativa	1 - 1,4 %

#### CONCLUSIONES

La hidroxiapatita "CORALINA HAP-200" es un biomaterial de excelentes cualidades para ser empleado en la cirugía reconstructiva y de sustitución ósea, ya que a la estructura morfológica ideal que aporta el esqueleto coralino se suma una alta cristalinidad y pureza química que garantizan el éxito del implante.

#### REFERENCIAS

1. Boretos, J; Eden, M.; "Contemporary biomaterials, material and host response, clinical applications, New Technology and Legal Aspects." Noyes Press, Park Ridge N.Y., (1984).
2. Han, T; Carranza, F.A; Kenney E.B; *J. Western Soc. Period.* (1984), 32, 88.
3. Hulbert, S.F; Young, F.A; Mathews, R.S.; *J. Biomed. Mater. Res.*, (1970), 4, 433.
4. Bowers, G.M. y cols., *J. Period.*, (1986), 57, 286.
5. Griffiths, F.G.; *J. Prosth. Dent.*, (1985), 53, 109.
6. Holmes, R.E.; *Plast. Reconstr. Surg.*, (1979), 63, 626.
7. Kenney, E.B. y cols., *J. Period.*, (1985), 56, 82.
8. Holmes, R.R.; Bucholz, R.W; Mooney, V.; *J. Orthop Res.*, (1987), 5, 114.
9. Klein, CPAT; Driessen, A.A.; de Groot, K.; *Biomaterials*, (1984), 5, 157.
10. Ducheyne, P.; *J. Biomed. Mater. Res.*, (1987), 21, 219.
11. Daculsi, G.; LeGeros, R.Z. et al, *J. Dent. Res.*, (1988), 67, 370.
12. González, R.; Melo, M.C.; "Método de obtención de hidroxiapatita a partir de corales marinos." RPI. No 135/88, ONIITEM, Cuba.
13. Socarrás, E. "Evaluación clínica de hidroxiapatita porosa obtenida a partir de corales marinos." Tesis de Dr. en C. Médicas, CIMEQ, C. Habana, (1990).
14. González, R.; Ledón, E., y col, *Revista CNIC*, (1990), 21, 115.
15. Kuntz, D.; Marie, P.; Miravet, L.; *Enciclopedia Med. Chir.*, Paris, (1981), 14002-104.
16. Rosenthal, H.L.; Cochran, O.A.; *Environmental Res.*, (1972), 5, 182.
17. Rygt, A.; *Bull. Soc. Chem. Biol.*, (1974), 31, 1052.
18. Vasil, N.; Martínez, N.; *Izd. Acad. Nauk*, Sofía, (1980).
19. Vignoles, M.; Bonel, D. et al, *Calcif. Tissue Int.*, (1988), 43, 33.
20. Elliott, J.C.; Holcomb, D.W.; Young, R.A.; *Calcif. Tissue Int.*, (1985), 37, 372.
21. LeGeros, R.Z.; "Ultrastructural properties of human enamel apatite", In: Lazzari E.P. ed., *Handbook of experimental aspects of oral biochemistry*, CRC Press, Florida, (1983), 159.
22. Ingram, G.S.; *Caries Res.*, (1973), 7, 127.
23. Piecuch, J.F. y cols. *J. Biomed Mater Res.*, (1984), 18, 39.
24. Schoenaers, J. H. y cols., *Trans. Soc. Biomater.*, (1985), 8, 110.