

Titanio poroso para implantes óseos

C. Oldani¹ y R. López Padilla²

¹ Departamento de Materiales - FCEfyN - Universidad Nacional de Córdoba,
Av. Vélez Sársfield 1611, Córdoba, Argentina

² Departamento de Metalurgia – Universidad Tecnológica Nacional – FRC
Maestro M. López esq. Cruz Roja Argentina, Córdoba, Argentina

Resumen— Se estudió la fabricación por técnicas pulvimetalúrgicas, de estructuras porosas de titanio de bajo módulo de elasticidad mezclando polvos de hidruro de titanio con partículas espaciadoras de carbonato ácido de amonio y posterior compactación y sinterización. Se evaluó el efecto del porcentaje y tamaño de las partículas espaciadoras, la presión de compactación y la temperatura de sinterización. Se obtuvieron compactos de titanio con porosidad abierta entre 30% y 72% y tamaño de poro promedio entre 200 y 300 micrones compatible con el requerido para obtener vascularización y crecimiento interno de las células óseas. Los ensayos de compresión dieron módulos de elasticidad entre 0,6 y 9,62 GPa y límite de fluencia entre 15 y 250 MPa, valores semejantes a los de los huesos. Se evaluó además la citotoxicidad del material obtenido, los que presentan buena viabilidad celular. El método estudiado podría ser apropiado para obtener estructuras porosas de titanio adecuadas para su utilización en la fabricación de implantes de sustitución de tejidos duros.

Palabras clave— Titanio, Porosidad, Caracterización, Sinterizado, Citotoxicidad.

I. INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, el acero inoxidable y las aleaciones base cobalto se utilizan en el campo biomédico para sustituciones de tejidos duros que han fallado. Sin embargo el módulo de elasticidad de estos materiales (de 200 a 240 GPa) es mucho mayor que el del hueso (de 10 a 30 GPa), lo que provoca el fenómeno conocido como stress-shielding (retracción ósea debido a la falta de carga sobre el hueso), que conduce al aflojamiento del implante con el tiempo y obliga a su retiro y reemplazo por uno nuevo con los riesgos que implica una nueva cirugía. El titanio y sus aleaciones, además de presentar excelente resistencia a la corrosión y biocompatibilidad, tienen módulos elásticos menores en comparación a los materiales metálicos mencionados, lo que disminuye el problema de stress shielding. Sin embargo, el módulo del titanio puro (110 GPa) es todavía elevado y por lo tanto es deseable desarrollar estructuras de titanio porosas que posean módulos de elasticidad similares a los del hueso y que además, al imitar su arquitectura porosa, mejoren su oseointegración al favorecer el crecimiento de células óseas y vascularización dentro de los espacios porosos, redistribuyendo la tensión en el tejido óseo adyacente, minimizando

el efecto de retracción y prolongando el tiempo de vida de la prótesis.

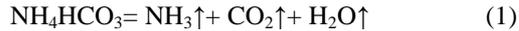
En la literatura existen antecedentes sobre la fabricación de compactos de titanio porosos mediante procesos pulvimetalúrgicos utilizando partículas espaciadoras, partiendo de polvos de titanio puro esféricos [1-3] o angulares [4-8]. Sin embargo, no se encontró ninguno a partir de hidruro de titanio.

En el presente trabajo se informa sobre los resultados alcanzados en experiencias a nivel de laboratorio para la obtención de estructuras porosas de titanio de bajo módulo de elasticidad, obtenidas mediante pulvimetalurgia utilizando polvos de hidruro de titanio y carbonato ácido de amonio. Para determinar si el material obtenido es biocompatible, se efectuó un test biológico de citotoxicidad, consistente en la valoración y cuantificación de la viabilidad de la proliferación celular en un medio de cultivo adecuado, siguiendo los protocolos de la norma ISO 10993 [9].

II. EXPERIMENTAL

Para obtener los compactos de titanio se utilizó hidruro de titanio en polvo (proveedor Sigma Aldrich) con una pureza del 98%, de tamaño de partícula menor a 43 μm . Como partículas separadoras se utilizó carbonato ácido de amonio puro en polvo (proveedor Anedra), tamizado a fin de obtener dos fracciones granulométricas, una entre 250 y 350 μm y la otra entre 350 y 500 μm (que llamaremos 250 y 500 μm , respectivamente). La mezcla de los polvos se llevó a cabo en un mezclador de vidrio tipo Y. Se utilizaron diferentes proporciones y granulometrías de carbonato ácido de amonio para obtener distintas porosidades. La compactación uniaxial se efectuó en una matriz cilíndrica de acero de 8,3 mm de diámetro a presiones de 300 y 500 MPa. Los compactos en verde fueron sometidos a un calentamiento a una velocidad de 7° C por minuto, en vacío de 10⁻⁵ mm de Hg. La primera etapa de calentamiento se realizó a 200° C durante una hora para eliminar el carbonato de amonio por descomposición de acuerdo a la reacción (1), dejando el compacto de hidruro de titanio poroso. La segunda etapa, consistió en mantener la muestra una hora a 500° C para descomponer el hidruro de titanio y transformarlo en titanio metálico eliminando el hidrógeno y la última a 1100 o

1300° C durante dos horas para producir la sinterización de los polvos de titanio.



A fin de obtener compactos porosos sinterizados con distintas características, en la fabricación de los compactos en verde se modificaron el porcentaje de partículas espaciadoras (carbonato ácido de amonio) (Tabla 1), el tamaño de las partículas espaciadoras (250 y 500 μm) y la presión de compactación (300 y 500 MPa), y en la sinterización se utilizaron dos temperaturas diferentes; 1100° y 1300° C. En un grupo de compactos se modificó la porosidad agregando diferentes proporciones de espaciador (Tabla 1), manteniendo constantes la presión de compactación en 300 MPa, la temperatura de sinterización en 1300° C y la granulometría de las partículas espaciadoras en 250 μm . En otro grupo se mantuvo la porosidad en 50% y se modificaron la presión de compactación, temperatura de sinterización y granulometría de las partículas espaciadoras, entre los valores anteriormente expuestos.

Tabla 1. Masas de TiH_2 y NH_4HCO_3 requeridas para obtener muestras con porosidades de 30% a 72% [10]

Porosidad (%)	Masa TiH_2 (g)	Masa NH_4HCO_3 (g)
0	2.35	0
30	1.53	0.28
50	1.17	0.40
61	0.94	0.48
72	0.52	0.62

Los compactos sinterizados fueron caracterizados por microscopía óptica y electrónica para determinar porosidad y tamaño de poros y mediante ensayos de compresión para medir la tensión de fluencia y módulo de elasticidad.

El potencial efecto citotóxico de las muestras fue evaluado mediante ensayo de citotoxicidad indirecto según Norma ISO 10993-5. Para ello se preparó un extracto de cada muestra incubando las piezas en medio de cultivo DMEM (Dulbecco's modified eagle medium) por 72 hs a 37 °C con una relación de 0,1 g de material/mL de medio (Norma ISO 10993-12). A continuación se tomó el sobrenadante de las muestras para obtener los extractos y se prepararon 4 diluciones: 25, 50, 75 y 100% para cada extracto. Como control negativo (CN) se preparó un extracto de PEHD (Polietileno alta densidad) de 30 micrones en una relación 3 cm^2 del material/mL de medio de cultivo y como control positivo (CP) una solución de fenol al 0,2 %. Se sembraron las células Vero (línea celular cedidas por CIQUIBIC-CONICET-Dpto. de Química Biológica – Fac. de Ciencias Químicas - UNC) con una densidad de 10.000 células/pocillo en placas multiwell. Se mantuvieron con el medio de cultivo suple-

mentado con 10% de suero fetal bovino (PAA, Pasching, Austria), 4 mM de L-Glutamina (Gibco, Invitrogen, Auckland, NZ), 4 mM de Piruvato de Sodio (Sigma, St Louis, USA) y 10.000 unidades/mL de penicilina-10.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de estreptomicina a 37 °C en atmosfera húmeda con 5% de CO_2 durante 24 hs para llegar a confluencia. Se extrajo el medio de cultivo y se adicionaron en los distintos pocillos las diluciones del extracto de cada muestra y los controles negativo y positivo por triplicado. Transcurridas 24 hs se cuantificó la viabilidad celular mediante ensayo de MTT (Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide), este es un método colorimétrico que permite valorar la viabilidad y cuantificar la proliferación celular. A todas las muestras ensayadas se le agregó MTT a una concentración final de 1 mg/mL en buffer fosfato salino y se incubaron durante 2 hs. Las muestras se leyeron en un lector de microplacas (Multiskan Spectrum, Thermo Scientific) a 595 nm. Los valores de densidad óptica (DO) medidos en los pocillos correlacionan con la viabilidad y proliferación celular.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Metalografía

En la Figura 1 se muestran micrografías ópticas de compactos sinterizados en los que se emplearon partículas espaciadoras de 250 μm . Se observa en todos la presencia de poros grandes de 200–300 μm de diámetro. En la bibliografía [12] se informa que tamaños de poros de 100 a 500 μm son adecuados para el crecimiento interno de células óseas [14]. En las micrografías obtenidas por microscopía electrónica (Figura 2), se observa una estructura de poros grandes altamente rugosa y cavernosa, adecuada para la oseointegración y vascularización. También se observan microporos de menos de 10 μm de diámetro producidos durante la sinterización incompleta de las partículas de titanio.

Propiedades Mecánicas

Las propiedades mecánicas de los compactos porosos de titanio fueron estudiadas mediante ensayos de compresión.

En las curvas puede observarse el comportamiento típico de los materiales metálicos porosos que presentan una deformación elástica inicial, seguida de una gran deformación plástica con suave incremento de la tensión, en la cual los poros son comprimidos y distorsionados y una etapa de densificación donde la tensión se incrementa rápidamente, lo que indica un cambio de comportamiento del material desde un estado poroso a uno compacto.

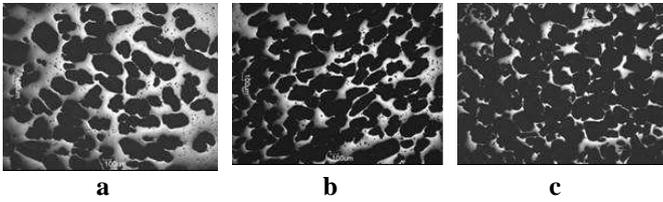


Figura 1: Micrografías ópticas de compactos de 50%, 61% y 72% de porosidad (40X)

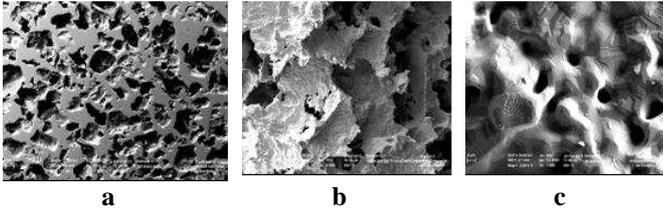


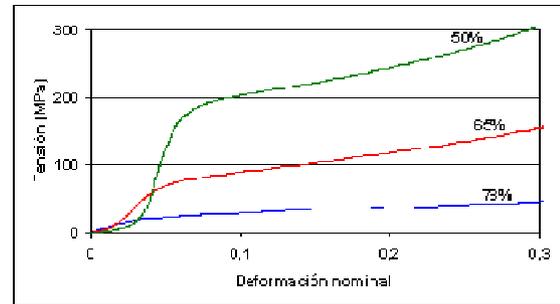
Figura 2: Micrografías SEM de titanio con 72% de porosidad (a) 40X, (b) 100X, (c) 2200X

En la Tabla 2 se da un resumen de los valores de tensión de fluencia ($\sigma_{0,2}$) y módulo de elasticidad (E) de compactos porosos, que se obtuvieron al modificar la porosidad y para su comparación se incluyen los valores informados para huesos humanos. Los datos fueron obtenidos como promedio de tres ensayos cada uno, manteniendo constantes la presión de compactación en 300 MPa, la temperatura de sinterización en 1300° C y la granulometría de las partículas espaciadoras en 250 μm .

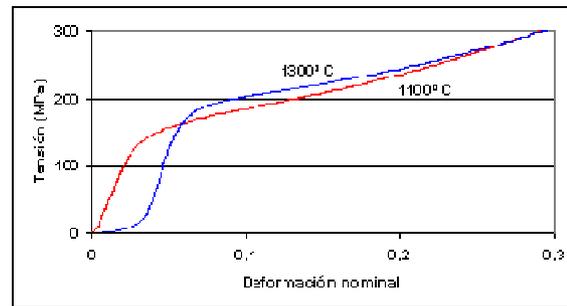
Tabla 2. Comparación entre las propiedades mecánicas de compactos de titanio poroso y el hueso humano

Material	Porosidad (%)	$\sigma_{0,2}$ (MPa)	E (GPa)	Ref.
Compactos de titanio	30	225	13,2	Este trabajo
	50	110	6,8	
	61	45	2,4	
	72	15	0,6	
Hueso cortical	5-10	104-224	10-30	[12]
Hueso trabecular	30-95	0,1-35	0,01- 3,5	[13]

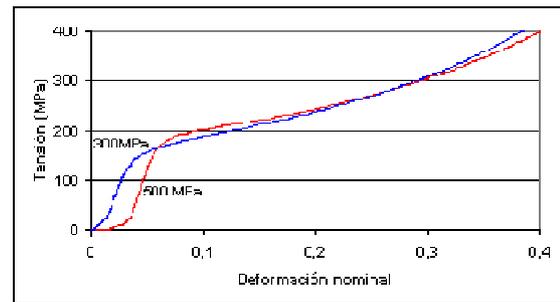
Se puede observar que los valores de módulo de elasticidad entre 0,60 y 13,2 GPa correspondientes a las muestras de titanio poroso obtenidas a partir de hidruro de titanio, se encuentran dentro del rango de los informados para los huesos humanos. Los compactos con 50% de porosidad muestran tensión de fluencia y módulo de elasticidad similares a los del hueso cortical [12]. En tanto, los valores de límite de fluencia y módulo de elasticidad del titanio con 72% de porosidad se asemejan a los que presentan los huesos trabeculares (esponjosos) [13].



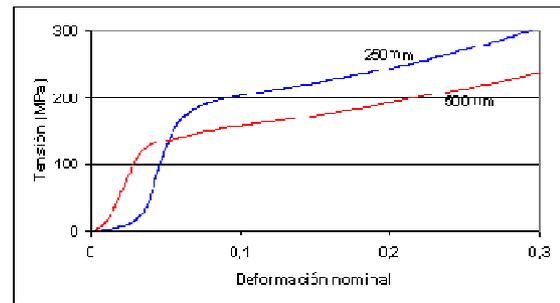
a



b



c



d

Figura 3: Influencia de la: a-porosidad, b-temperatura de sinterización, c-presión de compactación y d-granulometría de las partículas espaciadoras, sobre las propiedades mecánicas del Ti poroso

En la Figura 3, se muestran las curvas tensión vs deformación resultantes de ensayos de compresión de compactos de titanio poroso que fueron obtenidas modificando las distintas variables estudiadas en las muestras comparadas y donde se han mantenido fijas e iguales el resto de las variables. Se observa que la variable que más influye sobre el

límite de fluencia y módulo de elasticidad es la porosidad. Por ejemplo, 110 MPa y 6,8GPa para 50% de porosidad frente a 15 MPa y 0,60 GPa, para compactos de 72% de porosidad, valores aproximadamente 10 veces menores de límite de fluencia y módulo de elasticidad. Las curvas obtenidas al modificar la temperatura de sinterización, presión de compactación y granulometría de las partículas espaciadoras muestran que estas variables afectan de forma mucho menos significativa que la porosidad los valores medidos de tensión de fluencia y módulo de elasticidad.

Evaluación de la citotoxicidad

En la Figura 5 se muestra el porcentaje de viabilidad de las células expuestas a los diferentes extractos para una muestra con 30 % de porosidad. Como puede observarse en todos los casos las células mostraron una viabilidad semejante a la obtenida para el control negativo. El control positivo presentó un porcentaje de células vivas menor al 20% como era de esperar. La Norma ISO 10993 estipula que un material será citotóxico cuando la viabilidad de células expuestas a dicho material sea menor al 70%.

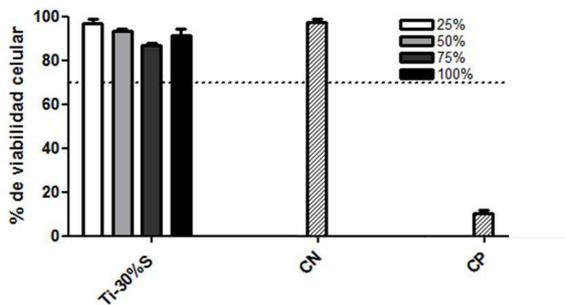


Figura 5: Resultados del ensayo de citotoxicidad

IV. CONCLUSIONES

Es posible obtener, mediante un proceso pulvimetalúrgico, estructuras de titanio porosas adecuadas para su utilización en la fabricación de implantes de sustitución de tejidos duros, a partir de hidruro de titanio mezclado con carbonato ácido de amonio.

En las experiencias realizadas se obtuvieron compactos de titanio con porosidad abierta de 30% a 72% y tamaño de poro promedio entre 200 y 300 micrones compatible con el requerido para obtener vascularización y crecimiento interno de las células óseas. Los ensayos de compresión realizados sobre los compactos sinterizados dieron valores de módulo de elasticidad entre 0,6 y 13,2 GPa y límite de fluencia entre 15 y 225 MPa, semejantes a los de los huesos. La variable que más influye sobre las propiedades mecánicas de los compactos sinterizados es la porosidad.

Los test de citotoxicidad muestran que ninguno de los materiales ensayados tiene un efecto tóxico sobre la línea celular Vero.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren expresar su agradecimiento al MIN-CyT de la Provincia de Córdoba por subsidiar este trabajo (MINCyT – PID2010 N° 1413/2011).

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

REFERENCIAS

1. Dizlek M, Guden M, Turkan U, Tasdermirci A (2009) Processing and compression testing of Ti6Al4V foams for biomedical applications. *J. Mater Sci.* v 44 1512
2. Kotan G, Bor A (2009) Characterization of loose powder sintered porous titanium and Ti6Al4V alloy. *Turkish J. Eng. Env. Sci.* v 33 207
3. Ik-Hyun Oh, Nombra N, Masahashi N, Hanada S (2003) Mechanical properties of porous titanium compacts prepared by powder sintering. *Scripta Materialia* v 49 1197
4. Wenjuan N, Chenguang B, GuiBao Q, Qiang W (2009) Processing and properties of porous titanium using space holder technique. *Materials Science and Engineering A* 506 148
5. Aguilar Maya A, Domizzi G, Hazarabedian A, Luppo M, Minster S, Vigna G (2008) *Anales CONAMET/SAM 2008*, Santiago, Chile
6. Vamsi Krishna B, Bose S, Bandyopadhyay A (2007) Low stiffness porous Ti structures for load-bearing implants. *Acta Biomaterialia* v 3 997
7. Laptev A, Bram M, Buchkremer H, Stöver D (2004) Study of production route for titanium parts combining very high porosity and complex shape. *Powder Metallurgy* v 47 85
8. Wen C, Yamanda Y, Chino K, Mabuchi A (2001) Processing of biocompatible porous Ti and Mg. *Scripta Mater* 45 1147
9. International Organization for Standardization, ISO 10993, (1999) *Biological Evaluation of Medical Devices*.
10. López Padilla R (2013) Desarrollo de estructuras porosas de titanio biocompatible, obtenidas por pulvimetalurgia. Tesis Doctoral, FCEFyN Universidad Nacional de Córdoba
11. Laptev A, Bram M, Buchkremer, H, Stöver H (2005) Application of powder metallurgy for the production of highly porous functional parts with open porosity. *Materials Forum*, v 29 119
12. Lin J, Zhang Y, Ma M (2010) Preparation of porous Ti35Nb alloy and its mechanical properties under monotonic and cyclic loading. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China* v 20 390
13. Dunham C, Takashi S, Dunning J (2005) Mechanical properties of cancellous bone of the distal humerus. *Clinical Biomechanics* v 20 834
14. Jakubowicz J, Adamek G, Dewidar M (2013) Titanium foam made with saccharose as a space holder. *J. Porous Mater*, Publisher online: 02 april 2013