

Control de la velocidad de degradación de materiales compuestos para aplicaciones biomédicas

S. SÁNCHEZ, M. NAVARRO, C. APARICIO, M. P. GINEBRA, J. A. PLANELL
Centre de Referència de Enginyeria Biomèdica de Catalunya (CREBEC),
Divisió de Biomaterials i Biomecànica,
Universitat Politècnica de Catalunya
Dept. Ciència de Materials e Ingeniería Metalúrgica.

Resumen

En este trabajo se ha utilizado la técnica del dipping, para practicar varios tipos de recubrimientos de ácido poliláctico sobre un nuevo material compuesto totalmente biodegradable formado por PLA + vidrio de fosfato; siendo ambos materiales biodegradables, y por tanto, también el compuesto.

El principio de funcionamiento que presenta este tipo de técnica es actuando como barrera física entre los fluidos biológicos y el material compuesto, protegiéndolo frente a la degradación y prolongando en el tiempo las propiedades mecánicas. El control de la velocidad de degradación se ha llevado a cabo variando el grosor y el número de capas.

Mediante diversas técnicas de análisis, como los ensayos a flexión o la microscopía electrónica, se han determinado las propiedades mecánicas durante las 4 semanas que ha durado el análisis, así como los cambios morfológicos del compuesto y de la capa o capas protectoras.

Los resultados mostraron cambios significativos en la morfología de los materiales después de 4 semanas de inmersión en fluido fisiológico simulado (SBF). El recubrimiento de menor espesor obtuvo los mejores resultados.

Palabras clave: PLA, compuesto biodegradable, dipping, vidrio de fosfato de calcio.

Abstract

In this project a dipping technique has been used to perform polylactic acid (PLA) coatings on a new totally biodegradable composite material. This material consists of a PLA matrix reinforced with phosphate glass particles, being both phases biodegradable.

The aim of these coatings is to act as a barrier between the biological fluids and the composite material, protecting it from degradation and preserving its mechanical properties with time. In order to control the composite degradation rate, different thickness and number of layers were used. An *in vitro* test was carried out to evaluate the effect of the different coatings in the composite degradation. The materials behaviour was studied in terms of their weight loss, mechanical properties and morphology. The results showed relevant changes in the composite morphology after 4 weeks of degradation and the less viscous coating resulted to be the most adequate.

Keywords: PLA, biodegradable composite, dipping, calcium phosphate glass

Introducción

En la última década se está estudiando ampliamente el campo de nuevos materiales para aplicaciones ortopédicas, específicamente en la consoli-

dación de fracturas óseas, ya sea por trauma o por intervenciones quirúrgicas.

Entre los dispositivos de fijación internos más utilizados actualmente se encuentran los clavos intramedulares y las placas de osteosíntesis. Por otro lado, entre los materiales más empleados para este tipo de aplicaciones se encuentran los metales, como el acero inoxidable o el Ti 6Al 4V; y algunos polímeros [1-3].

Sin embargo, las placas hechas de metal, utilizadas para fijar fracturas, presentan algunos incon-

Correspondencia:

M. P. Ginebra
Av. Diagonal 647
08028 Barcelona
E-mail: maria.pau.ginebra@upc.es

venientes relevantes, como el apantallamiento de viscosidad y el número de capas, como factores más significativos, debería ser posible regular la velocidad de degradación.

Para recubrir el compuesto se ha utilizado el método del *dipping*, que consiste en recubrir la totalidad del material con ácido poliláctico, el mismo material del que está hecha la matriz del compuesto disuelto en cloroformo, evitando problemas de compatibilidad o mala adherencia, al ser biodegradable y químicamente igual a la matriz.

El método del *dipping* fue utilizado por Mamidwar *et al.* [11] para rellenar cavidades óseas mediante pequeñas esferas de material compuesto recubierto. El método utilizado está basado en él, pero se han llevado a cabo las oportunas modificaciones para adaptarlo a las geometrías y propiedades físico-químicas específicas de nuestro compuesto y su aplicación como placas de osteosíntesis.

Materiales y métodos

Materiales

Como matriz polimérica se usó ácido poliláctico con una relación 95L/5DL (PURAC, Holanda) y una viscosidad intrínseca de 6,15 dl/g. Para el refuerzo se han utilizado partículas de vidrio de fosfato soluble con la composición molar $44.5P_2O_5 - 44.5CaO - 6Na_2O - 5TiO_2$ (vidrio-G5). La elaboración del vidrio se explica con detalle en trabajos anteriores [12]. De manera resumida, se mezclan los reactivos homogéneamente en un crisol de platino y se funden a 1350 °C durante 3 horas. A continuación, la mezcla se vierte y se recuece en una placa metálica precalentada. Finalmente, el vidrio se tritura en un molino planetario de ágata y finalmente las partículas de vidrio se tamizan hasta obtener partículas de tamaño < 80 mm.

Elaboración del material compuesto

El material compuesto se obtuvo por el método de disolución y colada. Primero se prepara una solución al 5% peso/vol, el PLA se disuelve en cloroformo durante 48 horas. Una vez disuelto, las partículas de vidrio se introducen hasta un 50 % en peso y se remueven en la solución de PLA+cloroformo hasta obtener una mezcla homogénea. La mezcla se vierte en un molde forrado con teflón para permitir que el cloroformo se evapore durante 48 horas. Posteriormente, se obtienen finos films de compuesto, los cuales se trocean mediante tijeras. Los trozos resultantes se prensan en una prensa hidráulica a 160 °C, aumentando la presión progresivamente hasta 100 bares. Después del prensado, las placas resultantes de 1 mm de espesor se cortan en probetas rectangulares (50.8 x 12.7 mm) como dicta la norma ASTM D790-95a, utilizando una sierra de cinta.

Obtención del recubrimiento (*dipping*)

Para sumergirlas se utilizó una solución de PLA con cloroformo la cual se elaboró siguiendo el mismo procedimiento usado en la elaboración del material compuesto, es decir, disolviendo la cantidad deseada de PLA en cloroformo. Es necesario que el PLA no adquiera una viscosidad excesiva, la cual sería deseable para la elaboración del material compuesto, pero indeseable para su correcta aplicación y adhesión del recubrimiento. Para este fin se han utilizado unas relaciones PLA/cloroformo mucho más bajas (1,23 y 2,44 % peso/vol).

Para obtener una capa homogénea y sin imperfecciones, se diseñó la probeta con una pestaña, por donde se enhebró un hilo de poliéster (Figura 1), evitando así la sujeción de la misma con las pinzas.

Posteriormente, el uso del hilo también permite mantener en suspensión las probetas durante la eva-

Tabla 1. Series utilizadas.

Número de serie	Codificación	Concentración de la capa (%) [(PLA(g))/(cloroformo(ml))]	Número de capas	Nº de probetas utilizadas*
Serie 1	PV1	1,23	1	16+3
Serie 2	PV3	1,23	3	16+3
Serie 3	MV1	2,44	1	16+3
Serie 4	MV3	2,44	3	16+3
Serie 5	Control	-	0	16+3

* Propiedades mecánicas + pérdida de peso

poración total del cloroformo, así como la aplicación de más capas de recubrimiento, (en aquellas probetas que lo requieran).

Series utilizadas

La tabla 1 nos muestra un resumen de todas las series utilizadas, y otros parámetros, como la concentración o el número de capas.

Tiempos de ensayo: 0 horas, 48 horas, 2 semanas y 4 semanas.

Se han utilizado 4 probetas de cada serie a cada tiempo para poder llevar a cabo el estudio estadístico.

También se han usado 3 probetas de cada tipo exclusivamente para la pérdida de peso.

Degradación

Para el estudio de la degradación de los materiales, las probetas del compuesto (PLA+G5) se han sumergido en *simulated body fluid* (SBF) a 37 °C durante 4 semanas. La solubilidad del material compuesto se ha evaluado mediante ensayos de pérdida

de peso. El área superficial y el peso inicial (P_0) de las tres probetas de cada tipo se han medido y pesado antes de sumergirlas en los recipientes de PE que contienen el SBF. La relación superficie/volumen es de $1\text{cm}^2/10\text{ml}$ y se ha mantenido constante a lo largo de todo el análisis. Cada semana se ha procedido a la renovación del SBF, lavando los recipientes de PE con agua destilada antes de volver a rellenarlos.

Para evaluar la *pérdida de peso* se ha utilizado una microbalanza. Cada semana, se han lavado las muestras con agua destilada y secado al aire para poder pesarlas. Finalmente la pérdida de peso se ha cuantificado utilizando la expresión:

$$\% P_{\text{perdido}} = \frac{(P_0 - P_i)}{P_0} \cdot 100$$

En donde, %P es el porcentaje de peso perdido, P_0 es el peso inicial y P_i es el peso en cada tiempo de análisis.

Para los *ensayos de flexión por 3 puntos* se

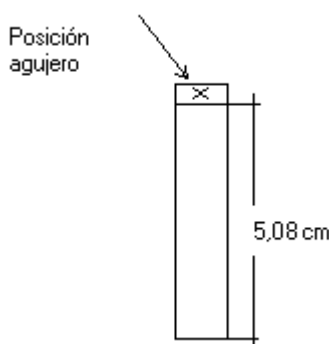


Figura 1. Esquema de una probeta.

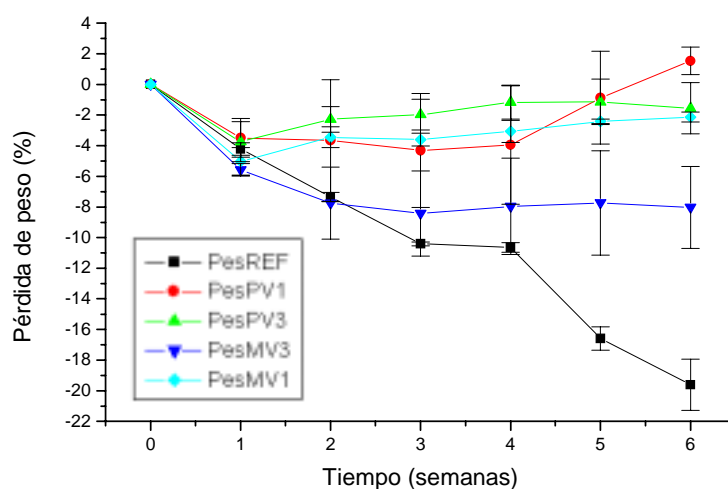


Figura 2. Porcentaje de pérdida de peso en función del tiempo de degradación.

ha utilizado una máquina de ensayos mecánicos servo-hidráulica (Bionix 858 Test System) con una distancia entre soportes de 1 pulgada (25,4 mm), y con una velocidad de avance del pistón de 10 mm/min. El mismo software asociado a la máquina nos proporciona el módulo elástico y la resistencia a flexión.

También se ha utilizado un *microscopio electrónico de barrido ambiental* (ESEM) para poder observar los cambios ocurridos en la microestructura a lo largo del tiempo, como resultado de la interacción con el SBF.

Para poder determinar la naturaleza del precipitado que creció sobre las muestras a partir de la primera semana en SBF, se utilizó la técnica de *difracción de rayos X* (DRX).

La *significación estadística* de las diferencias de las medias de los distintos materiales ensayados

se ha efectuado calculando tablas ANOVA con el software Minitab Release 11. Se ha considerado que las diferencias eran estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

Resultados

Pérdida de peso

En la figura 2 se puede ver representado el peso perdido en porcentaje (%) en función del tiempo.

La tendencia general es la de un aumento de peso de manera homogénea en todas las probetas durante la primera semana. En este punto el control sigue aumentando de peso de manera lineal hasta las 6 semanas, mientras que el resto de probetas tiende a estabilizarse e incluso en algunos casos, como las probetas que tienen un recubrimiento de PLA poco viscoso, se aprecia pérdida de peso.

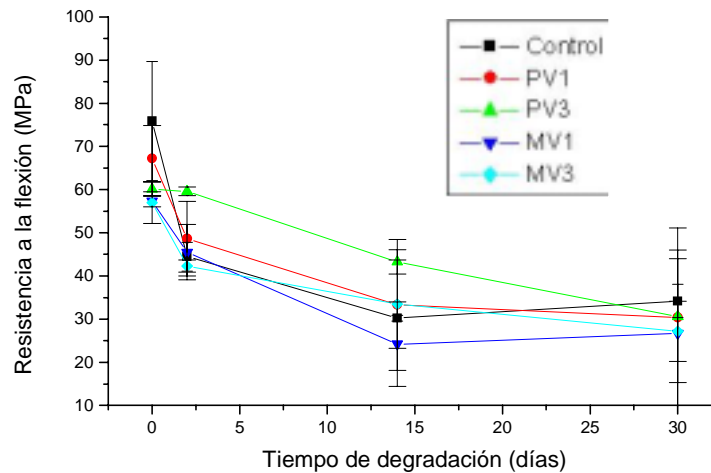


Figura 3. Evolución temporal de la resistencia a flexión.

Tabla 2. Decrementos de la resistencia a flexión y módulo elástico con diferentes relaciones temporales (valor absoluto; (valor porcentual respecto al tiempo 0))

Intervalo de tiempo	Incrementos de la resistencia a flexión (MPa)				
	Control	PV1	PV3	MV1	MV3
48 horas-t=0	-31,40;(-41,4)	-18,55;(-27,6)	-0,56;(-0,9)	-11,79;(-20,6)	-14,73;(-25,8)
2 semanas-t=0	-45,65;(-60,2)	-33,88;(-50,4)	-16,90;(-28,1)	-33,07;(-57,7)	-23,53;(-41,3)
4semanas-t=0	-41,70;(-55,0)	-36,78;(-54,7)	-29,51;(-49,1)	-30,57;(-53,4)	-29,82;(-52,3)
Intervalo de tiempo	Incrementos del módulo de Young (GPa)				
	Control	PV1	PV3	MV1	MV3
48horas-t=0	-6,56;(-72,6)	-2,53;(-46,3)	-0,53;(-10,8)	-1,55;(-32,8)	-1,77;(-36,1)
2semanas-t=0	-7,86;(-87,0)	-3,00;(-55,0)	-2,70;(-54,8)	-3,25;(-68,7)	-3,60;(-73,5)
4semanas-t=0	-7,56;(-83,7)	-1,92;(-35,2)	-1,83;(-37,1)	-3,03;(-64,1)	-3,73;(-76,0)

Propiedades mecánicas (módulo elástico y resistencia a flexión)

Los resultados de las propiedades mecánicas se detallan en las figuras 3-5. Cabe destacar una disminución importante de propiedades mecánicas a

tiempo 0 (sin haber entrado todavía en contacto con SBF), en todas aquellas probetas que han sido recubiertas con una o más capas de polímero, como puede apreciarse en las figuras 4 y 5a y en la tabla 2.

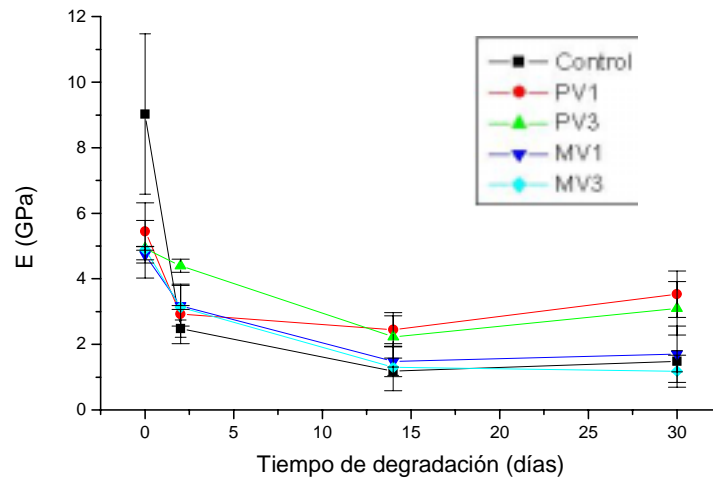
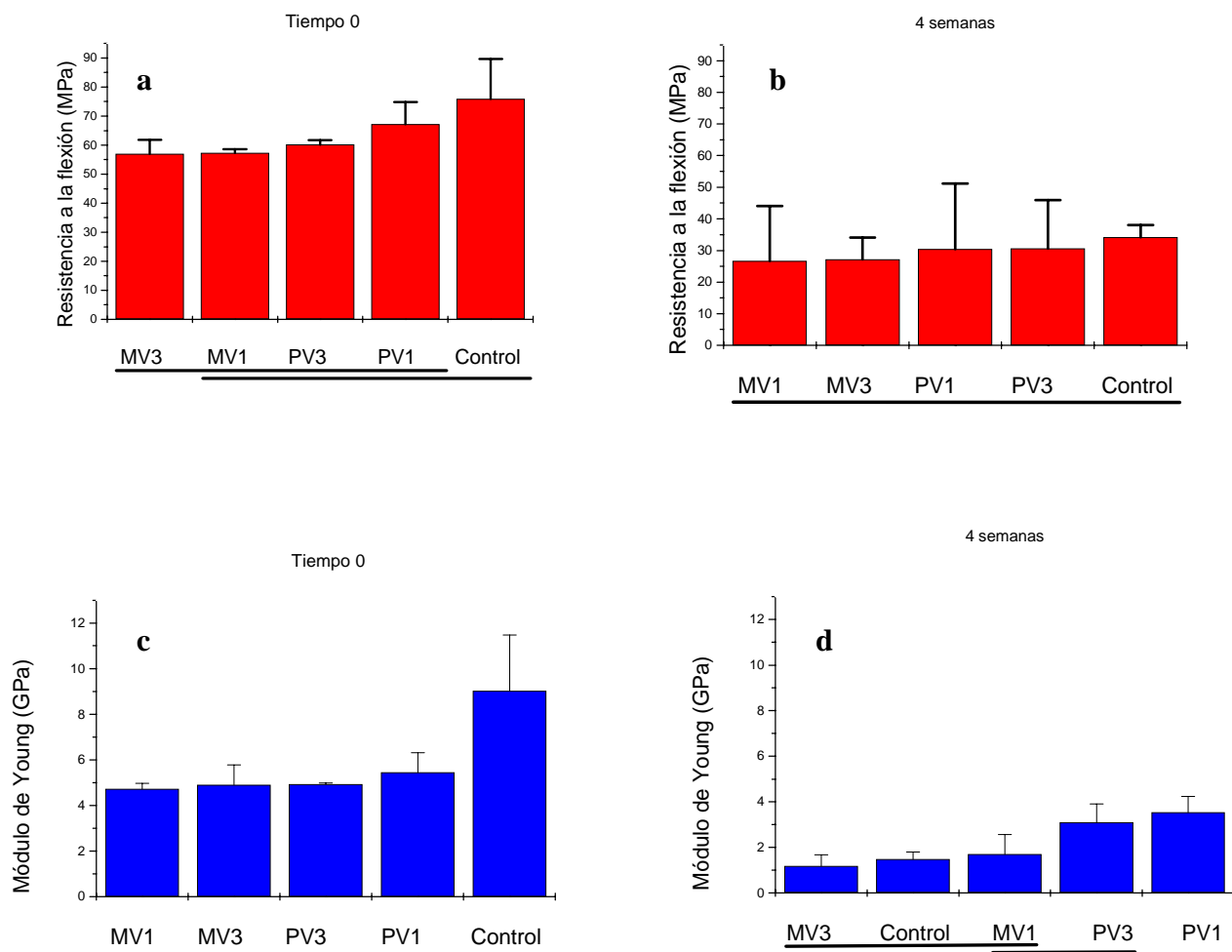


Figura 4. Evolución temporal del módulo de elasticidad



Figuras 5. (a-d) Propiedades mecánicas de los diferentes materiales, (a,b) $t=0$ y (c,d) $t=4$ semanas. Las diferencias estadísticamente significativas han sido señaladas con las barras horizontales.

Las propiedades mecánicas han descendido de un manera notoria y muy acusada en las primeras 48 horas.

Tras este período, la velocidad de degradación decrece tanto para el módulo como para la resistencia a flexión en todos los materiales ensayados.

En la resistencia a flexión (figura 3) se muestra como a partir de las 2 semanas en adelante no existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos materiales.

En cambio, en el módulo elástico (figura 4) sí se aprecian valores mayores con diferencias estadísticamente significativas para los materiales con un recubrimiento del tipo poco viscoso, comparados con las probetas que poseen un recubrimiento del tipo muy concentrado (MV) y el control. Estas últimas; sin embargo, no presentan diferencias estadísticamente significativas entre ellas.

Microscopía electrónica de barrido ambiental (ESEM)

La figura 6 corresponde a una fotografía a 1500 aumentos de un precipitado que apareció sobre las probetas, a 2 semanas de inmersión en SBF, en donde se aprecia cierta cristalinidad del mismo con tamaños de cristal inferiores al micrómetro.

La figura 7 representa la evolución de todos los tipos de probetas durante el mes de estudio. En esta figura pueden apreciarse todos los tipos de probetas a tiempo 0 y después de las 4 semanas de estudio.

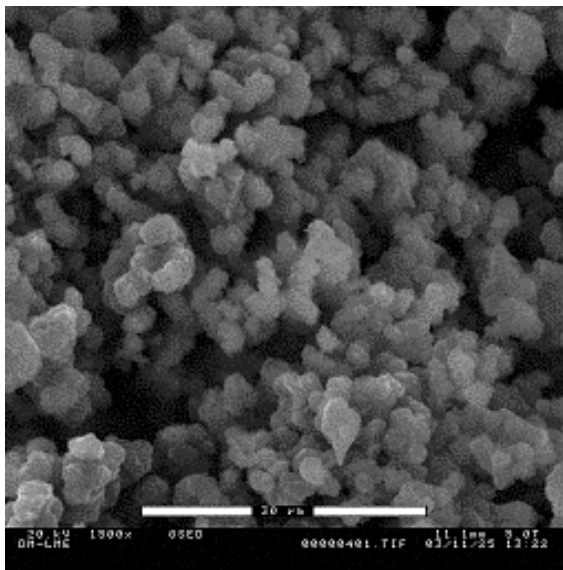


Figura 6. Imagen del precipitado de fosfato de calcio formado en la superficie del material compuesto

Es importante destacar la decohesión producida entre las partículas de vidrio de fosfato de calcio y la matriz polimérica en las imágenes correspondientes al mes de inmersión, sobretodo en el control; así como la perfecta unión entre capas consecutivas de recubrimiento, tanto para las probetas del tipo poco viscoso como para las del tipo muy viscoso. Se aprecia una unión correcta de todos los recubrimientos con el material compuesto a tiempo 0. Sin embargo, después de las 4 semanas, los materiales recubiertos con polímero muy viscoso presentan una desunión entre la capa y el material, así como la formación de poros superficiales por efecto significativo de la decohesión del recubrimiento.

Difracción de rayos X

En la figura 8 se representa el difractograma de rayos X de la sustancia que apareció sobre la superficie de las muestras para pérdida de peso en la primera semana. Los picos obtenidos son anchos y localizados, principalmente, a valores de $2\theta = 12^\circ$ y entre $2\theta = 20-28^\circ$. El primer pico podría corresponder a la presencia de brucita.

Discusión

Propiedades mecánicas

En primer lugar cabe resaltar la pérdida acusada de propiedades a tiempo 0 en todas aquellas probetas recubiertas (de 1 y 3 capas) por el simple hecho de aplicarles dicho recubrimiento, ya que es muy importante de cara a encontrar futuras soluciones. Se puede encontrar explicación a este hecho si se recuerda que la aplicación del recubrimiento se hizo disolviendo el polímero en cloroformo. La presencia del cloroformo en la capa polimérica podría afectar disminuyendo la cristalinidad del material ya que actúa disolviendo la probeta en su interior debido a un proceso de difusión. Como consecuencia, la resistencia mecánica de la probeta disminuye.

No hay que olvidar que si nos fijamos en la evolución temporal, y si dejamos de lado la pérdida de propiedades mecánicas a tiempo 0, en las probetas que poseen recubrimiento, es decir, de manera relativa (tabla 2), los recubrimientos permiten mantener la resistencia a la flexión y, sobre todo, el módulo elástico, de forma más eficaz que los compuestos sin recubrir.

El hecho de que haya mantenido mucho más el módulo que la resistencia a flexión se debe a que ésta última depende de la cohesión entre fases, mien-

tras que el módulo lo hace en mayor medida con respecto a la integridad intrínseca de cada una de las fases.

Poco viscosas vs. muy viscosas

De los resultados se desprende con claridad que los materiales recubiertos con PLA poco viscoso mantienen mejor las propiedades que las que tienen el recubrimiento muy viscoso y el control.

El PLA es un polímero cuyo proceso de degradación es en bloque, es decir, se degrada desde el interior hacia el exterior del material. En estudios previos se han reportado espesores críticos a partir de los cuáles se ha visto claramente el efecto de esta degradación en bloque debida al mecanismo de autocatálisis [8]. Lo cual significa que a partir de un espesor determinado y, por lo tanto, un aumento de la concentración de PLA en la superficie, es posible que las reacciones de hidrólisis conlleven a la ruptura de las cadenas poliméricas en el interior del material, acidificándolo y acelerando así su degradación (ciclo autocatalítico).

Por otro lado, como ya se ha comentado anteriormente, la aplicación del recubrimiento con cloroformo disuelve un porcentaje importante del interior de la probeta disminuyendo así su cristalinidad. Es un hecho conocido, que el ácido poliláctico se degrada preferencialmente a partir de

las regiones amorfas o de baja cristalinidad. Por lo tanto, en nuestro caso es posible que al utilizar los recubrimientos muy viscosos y en múltiples capas, esto es, al aumentar la concentración de PLA en cada muestra, haya tenido lugar el proceso de degradación descrito, ya que al aplicar el recubrimiento no solo aumenta el espesor de la probeta sino que también disminuye la cristalinidad. Esto explicaría la formación de poros e irregularidades en el interior del material.

Aumento de peso de las probetas y difracción de rayos X

La absorción de agua sumada a la formación de la nueva sustancia, caracterizada por los rayos X, ha hecho aumentar de peso a todas las probetas de una forma significativa. A pesar de que, tal y como demuestran los resultados de propiedades mecánicas, los materiales se degradan por efecto del SBF.

En cuanto a la fase que se forma sobre la superficie del material, debido a la anchura de los picos obtenidos en el difractograma, sólo podemos decir que se trata de algún tipo de fosfato de calcio amorfo o cristalino, con un tamaño de cristal muy pequeño.

A pesar del que el pico formado a $2\theta = 12^\circ$ corresponde a la presencia de brucita, no se puede asegurar que el fosfato de calcio formado en la su-

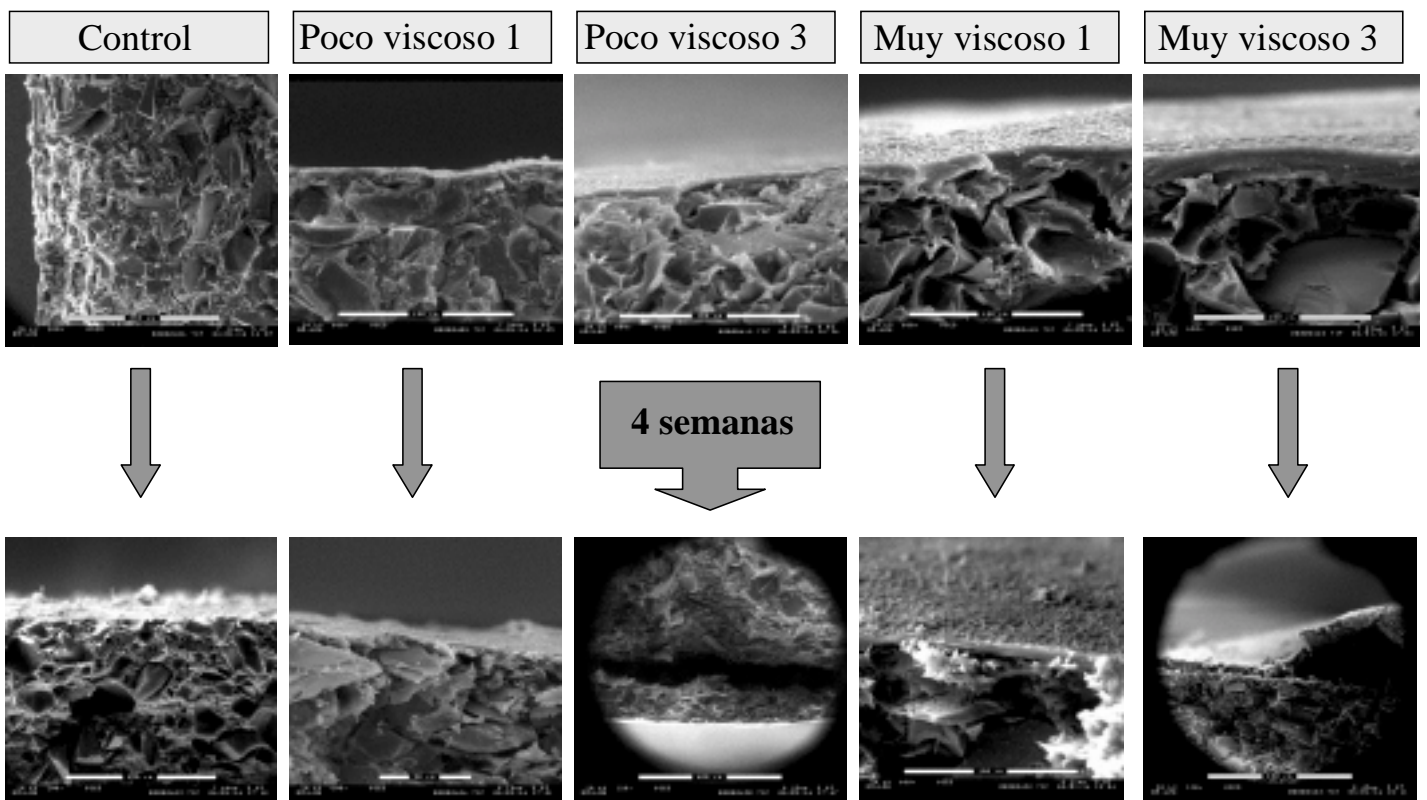


Figura 7. Evolución de todos los tipos de recubrimientos a lo largo del período de 1 mes

resto de los picos que la caracterizan no pueden ser identificados.

Este precipitado se forma a partir de una reacción química entre los productos de degradación del vidrio que está presente como refuerzo en las probetas y el SBF envolvente. Los grupos ortofosfato (PO_4) desprendidos del vidrio son capaces de combinarse con los iones Ca^{2+} presentes en el SBF y formar estos compuestos de fosfato de calcio.

El hecho de que el control difiera tanto del resto de probetas es debido precisamente a esto. Es decir, al no existir ningún tipo de recubrimiento la sustancia empieza a formarse de inmediato, en el momento de contacto del vidrio con el SBF, con lo que las probetas de tipo control ganan peso más rápidamente que el resto.

Debido a la complejidad de la figura 1, y a la amplia dispersión observada se hace muy difícil dar explicación al comportamiento del resto de las probetas.

Conclusiones

Los compuestos biodegradables que se han recubierto con capas de PLA poco viscoso han conseguido mejorar la capacidad de mantener las propiedades mecánicas del material a medida que avanza el tiempo de degradación, comparándolos con los compuestos no recubiertos y con los recubiertos con PLA de alta densidad.

No obstante, la utilización del dipping como método de recubrimiento ha provocado un descenso en las propiedades mecánicas iniciales de todos los

compuestos recubiertos, por lo que es necesario variar o mejorar la técnica utilizada.

Bibliografía

1. **Agrawal CM, Niederauer G, Micallef D, Athanasiou KA:** The use of PLA-PGA polymers in orthopaedics; in; Wise D, Trantolo D, Altobelh D, Yaszemski M, Greser J, Schwartz E (eds): Encyclopaedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering. Part A. Materials. New York, Marcelo Dekker, pp 1055-1089.
2. **Athanasiou KA, Agrawal CM, Barber FA, Burkhart SS:** Orthopaedic applications for PLA-PGA biodegradable polymers. *Arthroscopy* 1998;14:726-737.
3. **Ciccione W, Motz C, Bentley C, Tasto J:** Bioabsorbable Implants in Orthopaedics: New Developments and Clinical Applications. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons* 2001;9:280-288.
4. **Ashammakhi N, Suuronen R, Tianen J, Tormala P, Waris T:** Spotlight on naturally absorbable osteofixation devices. *Journal of Craniofacial Surgery* 2003;14:247-259.
5. **Boeree NR, Dove J, Cooper JJ, Knowles J, Hastings GW:** Development of A Degradable Composite for Orthopaedic Use – Mechanical Evaluation of An Hydroxyapatite Polyhydroxybutyrate Composite-Material. *Biomaterials* 1993;14:793-796.
6. **Kasuga T, Maeda H, Kato K, Nogami M, Hata K, Ueda M:** Preparation of poly (lactic acid) composites containing calcium carbonate (vaterite). *Biomaterials* 2003;24:3247-3253.
7. **Latour RA:** Fiber-Reinforced Composite Biomaterial for Orthopaedic Implant Applications; Encyclopaedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering Part B. New York, Marcelo Decker Inc.

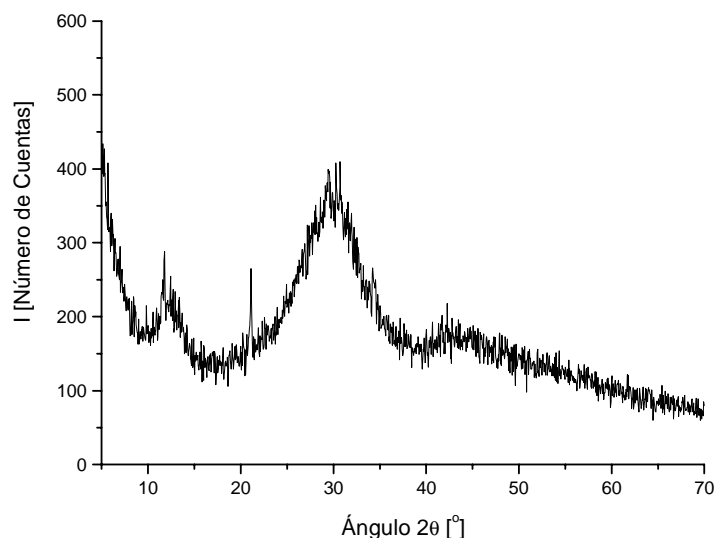


Figura 8. Diffractograma del precipitado formado en la superficie del material compuesto

8. **Li SM, Vert M:** Hydrolytic degradation of coral/poly (DL-lactic acid) bioresorbable material. *Journal of Biomaterials Science-Polymer edition* 1996;7:817-827.
9. **Ural E, Kesenci K, Fambri L, Migliaresi C, Piskin E:** Poly(D,L-lactide/e-caprolactone)/hydroxyapatite composites. *Biomaterials* 2000;21:2147-2154.
10. **Ylinen P, Suuronen R, Taurio R, Tormala P, Rokkanen P:** Use of hydroxyapatite/polymer-composite in facial bone aumentation. An experimental study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2002;31:405-409.
11. **Mandiwar Sachin S, Arena C, Kelly S, Alexander H and Ricci J:** Characterization of a calcium sulphate/PLLA composite for use in bone repair. *Society for biomaterials. 28th Annual Meeting Transactions.* 2002.
12. **Navarro M, Ginebra MP, Clement J, Martinez S, Avila G, Planell JA:** Physicochemical degradation of titania-stabilized soluble phosphate glasses for medical applications. *Journal of the American Ceramic Society* 2003; 86:1345-1352.