

Nuevos biomateriales: estudio *in vivo* del carburo de silicio como material osteointegrador

New biomaterials: *In vivo* study of silicon carbide as boneintegration material

Rodiño-Padín J¹, Castaño-Montón V¹, Borrajo PJ², González P², Serra J², Muñoz FM³, Miño N³

¹ Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Hospital Xeral-Cies. ² Departamento de Física Aplicada, Universidade de Vigo, Vigo, España. ³ Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, España.

Resumen

Objetivo: Evaluar, mediante ensayos *in vivo*, la biocompatibilidad y el grado de penetración ósea en la microestructura porosa del carburo de silicio (SiC).

Material y métodos: se implantaron en cóndilos femorales de conejos cilindros de SiC obtenidos a partir de maderas de pino y sapeli. Como material de referencia fueron utilizados cilindros de titanio. El sacrificio de los animales se realizó a las 12 semanas de implantación y se procedió al examen histológico de las muestras.

Resultados: Comprobamos un crecimiento de trabéculas óseas, tanto en la superficie del implante como a través de su estructura porosa, sin apreciarse signos de inflamación ni aparición de tejido fibroso alrededor de la muestra. Estos resultados son confirmados mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y análisis de rayos X por dispersión de energías.

Conclusión: El carburo de silicio biomórfico es una cerámica con excelentes propiedades mecánicas y porosidad interconectada que le confiere un especial atractivo de cara a sus aplicaciones biomédicas en implantes ortopédicos.

Palabras clave:

Carburo de silicio, osteointegración, nuevos biomateriales.

Abstract

Objective: To evaluate, using *in vivo* tests, the biocompatibility and the degree of bone penetration into the porous microstructure of silicon carbide (SiC).

Material and methods: For this purpose cylinders of SiC obtained from wood of pine and sapeli were implanted in femoral condyles of rabbits. As reference material we used titanium cylinders. The slaughter of animals was performed at 12 weeks of implantation and proceeded to the histological examination of the samples.

Results: We see a growth of bone trabeculae, both on the surface of the implant and through its porous structure, without signs of inflammation or appearance of fibrous tissue around the samples. These results are confirmed by scanning electron microscopy scanning (SEM) and X-ray analysis by dispersion of energies (EDS).

Conclusion: Biomorphic silicon carbide (SiC) is a ceramic with excellent mechanical properties and interconnected porosity which gives a special attraction for their biomedical applications in orthopaedic implants.

Key words:

Silicon carbide, bone-integration, new biomaterials.

Correspondencia

J Rodiño Padín
María Martín, 3, 4ºE. 36950 Moaña, Pontevedra, España.
E-mail: johnnyrodi_o@hotmail.com

Introducción

En el campo de la traumatología se han empleado distintos materiales para la fabricación de placas y tornillos de osteosíntesis e implantes protésicos. El objetivo de estos materiales es que tengan unas características biológicas y biomecánicas lo más similares posible al hueso humano. El carburo de silicio biomórfico (SiC) es una cerámica con excelentes propiedades mecánicas y con potenciales aplicaciones biomédicas en implantes ortopédicos. Se obtiene a partir de estructuras vegetales, como maderas de pino, eucalipto, sapeli, etc., mediante un proceso de pirólisis seguido de una infiltración de silicio líquido. Como resultado de este proceso se obtiene una microestructura porosa interconectada que replica la morfología del tejido óseo. El objetivo de este estudio es evaluar la biocompatibilidad del carburo de silicio biomórfico mediante ensayos *in vivo* en conejos. Se pretende valorar su capacidad osteointegradora analizando el crecimiento óseo, tanto alrededor del implante como a través de su estructura porosa e interconectada. Los resultados se comparan con materiales de control de titanio.

Material y métodos

El procedimiento de fabricación del carburo de silicio comprende el secado de las piezas de madera de sapeli y de pino durante 24 horas a 60° C, y posterior pirólisis (900° C a 0,5° C/min) en un horno de tubo cerrado de alúmina con flujo de argón (50 L/hora y 0.5 bar). Las piezas de carbón resultantes se mecanizaron para obtener cilindros, de 4 mm de diámetro y 10 mm de longitud, y a continuación fueron infiltradas en un horno con un vacío de 10⁻³ mbar, siguiendo una rampa de temperatura adecuada hasta 1.550° C durante 30 minutos.

Estudio *in vivo*

Para investigar el comportamiento de los implantes en el hueso se siguió la normativa europea e internacional. Se emplearon 18 conejos, en los que se realizó un abordaje lateral longitudinal distal sobre el muslo de ambas extremidades interiores. Con una broca se hizo un orificio en la epífisis distal del fémur, donde a continuación se implantó el cilindro. Los implantes se mantuvieron 12 semanas, tras lo cual los animales fueron sacrificados mediante la administración intravenosa de pentobarbital sódico. Las muestras se obtuvieron mediante el mismo abordaje y empleando una sierra de autopsia.

Histomorfometría

Las muestras fueron procesadas para su estudio utilizando las técnicas de inclusión en metacrilato descritas

por Donath [1], siguiendo los pasos de fijación, deshidratación, infiltración, inclusión y polimerización. Posteriormente se realizaron secciones longitudinales del cóndilo del fémur de aproximadamente 30 micras de espesor, que fueron teñidas mediante la tinción de Levai Laczco y la tinción de Kossa. Una vez preparadas las muestras, se observan con lupa binocular y se estima el hueso superficial, que definimos como la densidad de hueso neoformado dentro del defecto cavitario y del hueso remodelado que rodea al mismo. Para ello se crea un área de interés de 1 mm² [2] en los cuatro puntos cardinales de la sección del implante. La calibración posterior se realizó con el programa Microimage.

Microscopía electrónica de barrido

La morfología de los implantes fue observada por SEM con un aumento de 180x. Se tomaron distintas micrografías desde la periferia del implante al extremo opuesto siguiendo el diámetro del material y en la dirección perpendicular [3].

Se evaluó la distancia promedio entre el implante y el hueso formado [4][5], tomando cinco medidas en cada uno de los cuadrantes. Las medidas se realizaron con los programas Photoshop 6.0 e ImageTool. En zonas de interés de cada una de las imágenes se realizaron macroanálisis por dispersión de energías (EDS). Mediante la utilización del *software* INCA, se estimó la composición del hueso circundante y del hueso neoformado que penetraba en los poros del implante, determinando la razón del contenido de calcio y fósforo para conocer su grado de mineralización.

Resultados

Se han estudiado un conjunto de 15 muestras implantadas en fémur de conejo, divididas en tres grupos de materiales: cinco cilindros de SiC obtenidos a partir de sapeli, cinco cilindros de SiC obtenidos a partir de pino y, por último, cinco cilindros de titanio utilizados como control.

Este conjunto de muestras nos permite trabajar con materiales que presentan tamaños de poro extremos y diferente distribución de los mismos. Los valores de porosidad difieren en casi 10 unidades, siendo el valor medio para sapeli de unas 111 micras, mientras que para el pino se encuentra alrededor de 27 micras. En cuanto a la microestructura el pino presenta distribución más regular con poros altamente ordenados, mientras que para el sapeli es más irregular y los poros están dispersos en la superficie de la pieza. La caracterización de las muestras después de la implantación se realizó mediante análisis histológico, SEM y EDS. Los resultados de estos estudios se detallan a continuación.

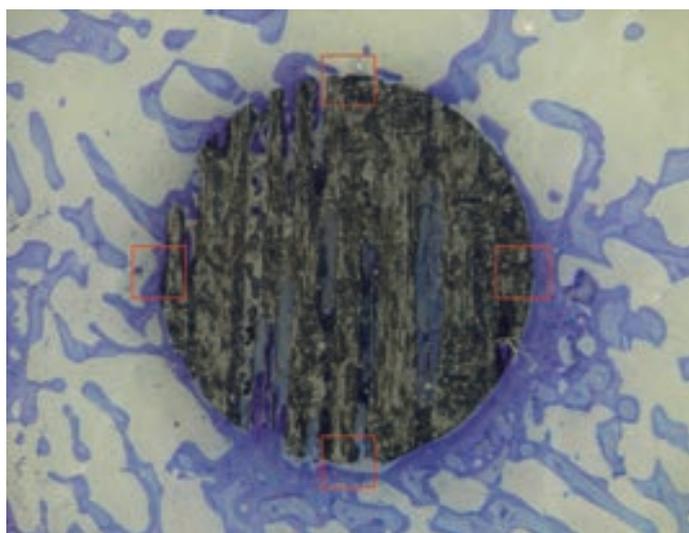


Fig. 1. Imagen histológica (400x) de muestra de SiC obtenida a partir de sapeli. Se muestra tinción ósea alrededor y en el interior del implante, sin observarse tejido fibroso.

Histología

La Figura 1 muestra una imagen histológica representativa de la cerámica biomórfica de SiC obtenida tras las 12 semanas de implantación. Se puede observar crecimiento de hueso neoformado en la superficie de los implantes, no apreciándose signos de inflamación ni aparición de tejido fibroso [6] alrededor de las muestras. La evaluación cuantitativa se realizó sobre cuatro zonas específicas, las cuales se señalan en la imagen, y los resultados se encuentran resumidos en la Tabla 1. Como puede observarse, el crecimiento de hueso neoformado en la superficie de las cerámicas biomórficas es similar al del material de control (titanio), incluso ligeramente superior en el caso del SiC obtenido a partir de pino (0.45 frente a 0.35 del titanio). Adicionalmente, es de destacar que, en el caso de las cerámicas biomórficas, el hueso neoformado penetra por los poros de las mismas, lo cual representa una característica a destacar frente al Ti de control.

SEM

En la Figura 2 se muestra una micrografía para un implante de SiC obtenido a partir de sapeli tras las 12 sema-



Fig. 2. Muestra de SiC de sapeli en la que se observa penetración de trabéculas óseas en el interior del poro.

nas de implantación. Como puede observarse, el crecimiento de trabéculas óseas tiene lugar tanto en la superficie del implante como dentro de los poros del mismo. En cuanto a la distancia promedio hueso-implante (*gap* hueso-implante), se observó que ésta es menor en el SiC de sapeli con respecto al SiC de pino, y se asemeja más al del material de

Tabla 1. Densidad de hueso formado en la superficie del implante para los tres grupos de materiales analizados

IMPLANTE	Hueso superficial (mm ²)					media
	1	2	3	4	5	
SiC-pino	0,48	0,48	0,41	0,49	0,36	0,45
SiC-sapeli	0,42	0,27	0,34	0,32	0,15	0,31
Titanio	0,25	0,36	0,32	0,45	0,35	0,35

Tabla 2. Distancia entre el hueso formado y la superficie del implante para los tres grupos de materiales analizados

IMPLANTE	GAP hueso-implante (μm)					media
	1	2	3	4	5	
SiC-pino	71,4	84,6	60,1	54,4	99,1	73,9
SiC-sapeli	34,3	65,1	78,5	43,8	56,1	55,6
Titanio	35,1	11,7	2,7	33,8	50,6	26,8

control (titanio), donde es ligeramente menor. Sin embargo, las diferencias no son excesivamente grandes, como se puede comprobar en la Tabla 2.

Con respecto al interior de los poros se observó que las trabéculas óseas formadas en el SiC de sapeli presentaban una estructura cualitativamente más organizada y similar al hueso maduro que en los poros del SiC de pino (Figs. 2 y 3), y penetraban hasta una profundidad mayor.

EDS

Finalmente, mediante análisis EDS se ha estudiado el grado de mineralización del hueso neoformado en ambos tipos de implante [7], utilizando para ello la razón en porcentaje atómico entre el calcio y el fósforo (Ca/P). De los análisis realizados se ha podido comprobar que cuanto mayor es la penetración del hueso en el poro del implante su grado de mineralización es menor. Este comportamiento tiene lugar por el propio proceso de formación ósea, ya que primero se deposita la matriz osteoide y posteriormente ésta se va mineralizando. Así, hemos podido constatar que en el caso del SiC de sapeli la razón Ca/P varía desde un valor de 0.78 en superficie hasta 0.086 en la zona más interior del implante. Para el SiC de pino los valores son de 0.22 en superficie

hasta 0.033 en la zona más profunda de hueso. En ambos casos la razón Ca/P en superficie se encuentra por debajo del valor encontrado para los implantes de control (Ti), el cual ha sido de 1.1, similar al hueso maduro.

Discusión

El carburo de silicio es un material biocompatible y osteoconductor *in vivo*, ya que no se ha observado crecimiento de tejido fibroso ni reacción inflamatoria entre el implante y el hueso en ninguno de los materiales estudiados. Se ha demostrado que el tejido óseo crece no sólo a su alrededor, sino también en el interior de la estructura porosa e interconectada de este material, lo que representa una ventaja muy significativa respecto a la utilización de implantes convencionales de titanio. Con respecto a sus características histomorfométricas, cabe resaltar que la densidad de hueso en la superficie de los implantes y la distancia implante-hueso presentan valores dentro del mismo orden de magnitud para los dos grupos de carburo de silicio estudiados y el titanio, utilizado como material de control. Respecto al grado de mineralización ósea, se observa una mineralización progresiva del hueso que coloniza el interior de la estructura porosa del implante, siendo ésta mayor para el SiC obtenido de sapeli que para el pino. Este dato deja entrever que con un periodo más largo de permanencia del implante en el hueso se obtendría una mineralización ósea similar al hueso maduro de la periferia. Estos resultados plantean el empleo del carburo de silicio como biomaterial con gran proyección futura para osteosíntesis o implantes protésicos, demostrando gran biocompatibilidad *in vivo* en animales. No obstante, se debe completar el estudio en humanos y confirmar estos resultados a medio-largo plazo. ■

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a los profesores Julián Martínez Fernández y Antonio Ramírez de Arellano López las facilidades proporcionadas para la fabricación de las piezas de carburo de silicio biomórfico y la financiación aportada por los proyectos PGIDT05PXIC30301PN, PGIDIT03TMT30101PR (Xunta de Galicia) y MAT2004-02791 (Ministerio de Educación y Ciencia).

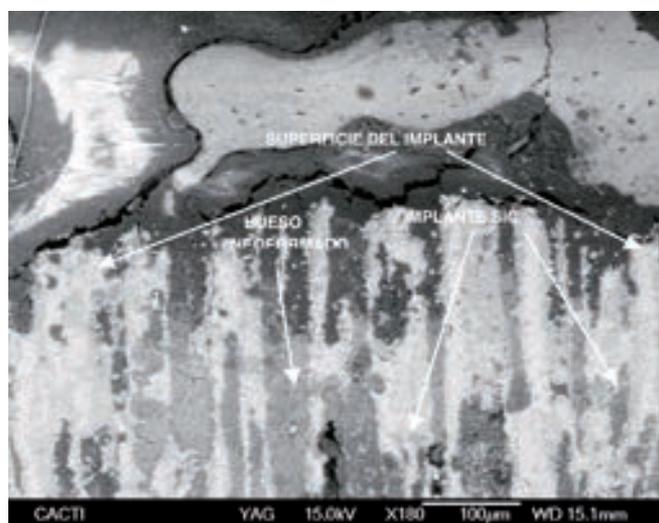


Fig. 3. Muestra de SiC de pino en la que se observa hueso en la superficie y crecimiento óseo en los poros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Donath K, Preparation of histologic sections. Ed. Exakt-Kulzer-Publication, Norderstedt, 1995.
2. Tonino AJ, Thèrin M, Doyle C. Hydroxyapatite-coated femoral stems. J Bone Joint Surg [Br] 1999; 81-B:148-54.
3. Darimont GL, Cloots R. *In vivo* behaviour of hydroxyapatite coatings on titanium implants: a quantitative study in the rabbit. Biomaterials 2002; 23:2569-75.
4. Rahbek O, Kold S. The influence of surface porosity on gap-healing around intraarticular implants in the presence of migrating particles. Biomaterials 2005; 26:4728-36.
5. Fujibayashi S, Kim HM. Repair of segmental long bone defect in rabbit femur using bioactive titanium cylindrical mesh cage. Biomaterials 2003; 24:3451.
6. Fini M, Giavaresi G. The effect of osteopenia on the osteointegration of different biomaterials: histomorphometric study in rats. J Materials Sci: 2000; 11:582.
7. Stanic V, Aldini NN. Osteointegration of bioactive glass-coated zirconia in healthy bone: an *in vivo* evaluation. Biomaterials 2003; 23:3833-83.

Conflicto de intereses

Los autores ha recibido financiación a través de los proyectos PGIDT05PXIC30301PN, PGIDIT03TMT30101PR (Xunta de Galicia), MAT2004-0291(Ministerio de Educación y Ciencia). No hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a percibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial.