

[dx.doi.org/10.17488/RMIB.38.1.22](https://doi.org/10.17488/RMIB.38.1.22)

Evaluación de la Permeabilidad en Andamios Macroporosos de Bioglass 45S5 para Ingeniería de Tejidos

Permeability Evaluation of 45S5 Bioglass Macroporous Scaffolds for Bone Tissue Engineering

V. I. Macías-Andrés^{1,2}, J. M. Orozco-Sixtos², J. Maldonado-Paleo², E. A. Aguilar-Reyes¹

¹Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Av. Francisco J. Mújica S/N, 58030, Morelia, México.

²Instituto Tecnológico Superior P'urhépecha, Carretera Carapan-Uruapan Km 31.5, Cherán, Michoacán.

RESUMEN

Andamios macroporos de biovidrio 45S5 han sido desarrollados como una alternativa para sustituir injertos de hueso tradicionales. Un factor crucial en el diseño de estos andamios es la permeabilidad ya que de esto dependerá su capacidad para remover desechos y suministrar nutrientes y oxígeno a las células. En este trabajo se llevó a cabo la evaluación de la permeabilidad basados en la ley de Darcy de andamios macroporos de biovidrio 45S5 con porosidades en el rango de 69%-74%. Los valores de permeabilidad obtenidos fueron de 4.19×10^{-10} , 3.75×10^{-10} y $3.48 \times 10^{-10} m^2$ que estuvieron en el rango de los valores de permeabilidad del hueso trabecular.

PALABRAS CLAVE: Permeabilidad, Andamios porosos, Biovidrio 45S5.

ABSTRACT

Bioactive glass 45S5 foams were produced as an alternative to be used to fill and restore bone defects. A crucial design factor of foams is permeability, since it is related to their capability for waste removal and nutrients/oxygen supply to cells. In the present work a study was carried out to analyze the bioactive glass 45S5 foams permeability by Darcy's law. The measure average permeability value on foams of 69%-74% porosity was 4.19×10^{-10} , 3.75×10^{-10} y $3.48 \times 10^{-10} m^2$, which are in the range of permeability values for trabecular bone.

KEYWORDS: Permeability, foams, Bioactive glass 45S5.

Correspondencia

DESTINATARIO: Víctor Iván Macías Andrés

INSTITUCIÓN: Instituto de Investigación en Metalurgia y
Materiales, Universidad Michoacana de San Nicolás de
Hidalgo

DIRECCIÓN: Av. Francisco J. Mújica S/N, C.P. 58030,
Morelia, México

CORREO ELECTRÓNICO: vmacias_andres@yahoo.com

Fecha de recepción:

16 de octubre de 2016

Fecha de aceptación:

26 de diciembre de 2016

INTRODUCCIÓN

Los biomateriales basados en el sistema SiO_2 -CaO- Na_2O - P_2O_5 son comúnmente llamados biovidrios, son utilizados en aplicaciones biomédicas como andamios en implantes óseos, debido a su capacidad de formar una fuerte unión con el tejido vivo tanto óseo como tejido conectivo. Esta habilidad es atribuida a la capacidad que tiene de formar una capa de hidroxiapatita^[1,2]. Por otra parte, se ha demostrado en diferentes estudios que hay un control genético de la respuesta celular en materiales de biovidrio 45S5. Esto indica que este tipo de materiales pueden ser utilizados como andamios en la regeneración de tejido y en la ingeniería de tejidos (IT)^[3,4].

De acuerdo con *Chen y Boccaccini*^[5], un andamio ideal debe de ser altamente permeable, con porosidad interconectada y un tamaño de poro en el rango de 10-500 μm para crecimiento celular, permitir el crecimiento de tejido óseo así como también una buena distribución de nutrientes y permitir la remoción de desechos. Por otra parte, es importante diseñar andamios con un tipo de porosidad bimodal como el hueso trabecular, el cual es un factor importante para la buena vascularización y crecimiento del tejido óseo^[6].

La permeabilidad de los andamios está relacionada directamente con el grado de interconectividad de los poros, y es uno de los factores que influyen en la capacidad de regeneración del andamio. La permeabilidad controla el flujo de nutrientes a través del andamio hacia las células que migran en su interior. En estudios realizados se ha encontrado que el crecimiento celular dentro del andamio, depende de que los nutrientes puedan permear al interior de la estructura porosa durante el cultivo celular^[7,8].

El objetivo de la presente investigación es el de estudiar la permeabilidad de andamios de biovidrio 45S5 diseñados para ingeniería de tejidos, fabricados mediante tecnología de polvos.

METODOLOGÍA

Los reactivos que se utilizaron para la obtención del biovidrio 45S5 fueron polvos comerciales de alta pureza de carbonato de sodio anhidro, óxido de calcio, dióxido de silicio y pentóxido de fósforo (Sigma-Aldrich). La mezcla de polvos se realizó de acuerdo a la estequiometría para obtener una composición final de 45% SiO_2 , 24.5% Na_2O , 24.5% CaO y 6% P_2O_5 en peso, los cuales se colocaron en un recipiente de polietileno para homogeneizarlos mediante un molino de bolas convencional durante 15 *minutos*. La mezcla fue puesta en un crisol de sílice fundida a 900 °C por 90 *minutos* en una mufla Carbolite® HTF17, seguido, se elevó la temperatura a 1350 °C por 90 *minutos*. La fundición obtenida fue vertida sobre una placa de acero inoxidable para obtener el biovidrio 45S5. Una vez obtenido el biovidrio 45S5, fue pulverizado en un molino de mortero de agata (Mortar Grinder PULVERISETTE 2, FRITSCH), hasta obtener un tamaño de partícula < 63 μm .

Los andamios macroporosos de biovidrio 45S5 fueron producidos mediante tecnología de polvos siguiendo la ruta descrita por *Aguilar et al*^[9]. Brevemente, el polvo de biovidrio 45S5 obtenido fue mezclado con una resina fenólica y tolueno sulfonil hidrazida (TSH) como espumante en una proporción de 60:39:1 en % peso. Las mezclas de polvos se vertieron en dados de acero inoxidable de 2 *cm* de diámetro x 5 *cm* de altura para su compactación y posterior tratamiento térmico que consta de tres pasos: (a) espumado, (b) pirólisis y (c) sinterización con tres diferentes tiempos de permanencia 1, 2, 3 *horas* a 975 °C temperatura a la cual aún se tiene sinterización viscosa en el material y se obtienen buenas propiedades mecánicas. Se tomaron 5 muestras por tiempo para calcular la porosidad y permeabilidad de los andamios. Las muestras con diferentes tiempos de sinterización fueron identificadas como BG1, BG2 y BG3.

Los andamios fueron maquinados en cilindros ($D=1.5$ *cm*; $L=2$ *cm*). La densidad de los andamios, ρ_{andamio} fue medido usando la masa y dimensión de las muestras sinterizadas. La porosidad fue calculada con la fórmula:

$$p = \left(1 - \frac{\rho_{\text{andamio}}}{\rho_{\text{biovidrio}}}\right) * 100 \quad (1)$$

donde $=2.7 \text{ g/cm}^3$ es la densidad teórica del Bioglass® 45S5. La estructura de los andamios fue observada en un microscopio electrónico de barrido (MEB) JEOL JSM-7600.

La permeabilidad fue determinada por medio de una prueba de conductividad con carga de agua variable basada en la ley de Darcy. Se construyó un dispositivo que consiste principalmente en un tubo vertical que proporcionaba la carga de agua, una cámara de permeabilidad para posicionar la muestra y un recipiente para coleccionar el agua. Antes de la prueba, las muestras fueron sumergidas en agua destilada durante una hora a presión negativa para eliminar el aire remanente dentro de la estructura. La permeabilidad y la conductividad hidráulica fueron calculados basados en la ley de Darcy:

$$k = K \frac{\mu}{\rho g} \quad (2)$$

$$K = \frac{a L}{A t} \ln \frac{H_1}{H_2} \quad (3)$$

donde μ es la viscosidad dinámica del agua, ρ es la densidad del agua, A es el área de sección transversal del tubo, L es el área de sección transversal de la muestra, t es el ancho de la muestra, H_1 y H_2 son la altura inicial y final del medio líquido respectivamente. Para el estudio de la permeabilidad fueron evaluadas 5 muestras por serie.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se calculó el % de porosidad en las espumas mediante la Ecuación (1) los resultados se muestran en la Tabla 1. El tiempo de sinterización no tuvo un efecto significativo en la porosidad de las espumas ya que esta no disminuyó de manera significativa. En la Figura 1 se puede observar que en la muestra BG1, la distribución de tamaño de poro es más amplia encontrándose poros de hasta $1000 \mu\text{m}$. A medida que se incrementa el tiempo

de estancia el tamaño de los poros va disminuyendo. En la Figura 1 (c) se observa una distribución de poros más uniforme con tamaños de poro máximo de $500 \mu\text{m}$. En la Figura 2 se puede observar las paredes que forman los poros las cuales están formadas por partículas sinterizadas de diferentes tamaños con una morfología irregular. En las tres muestras se pueden observar poros con tamaños menores a $50 \mu\text{m}$ mismos que se forman entre partículas con poco grado de sinterización.

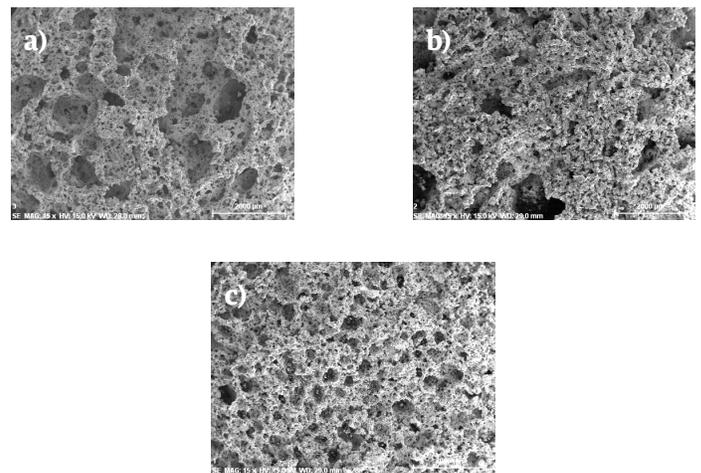


FIGURA 1. Imágenes MEB a 15x de espumas sinterizadas a 975 °C con diferentes tiempos de estancia. (a) BG1, (b) BG2 y (c) BG3.

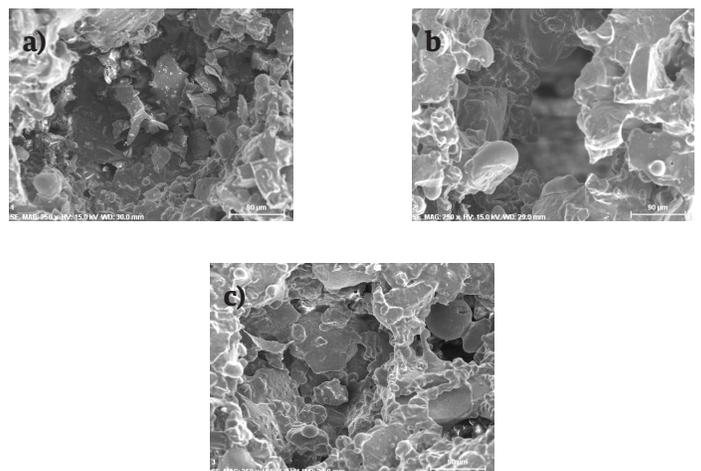


FIGURA 2. Imágenes MEB a 250x de espumas sinterizadas a 975 °C con diferentes tiempos de estancia. (a) BG1, (b) BG2 y (c) BG3.

TABLA 1. Densidad volumétrica y % de porosidad de espumas de biovidrio sinterizadas a diferentes tiempos de estancia a 975 °C.

Muestra	% Porosidad
BG-1	74
BG-2	71
BG-3	69

Como se puede observar en los datos de la Tabla 1 la porosidad de las muestras BG2 y BG3 varió en 4 y 6% respectivamente con respecto a la muestra BG1, lo que no es un cambio significativo. Por otro lado, en la Figura 3 se encontró que la permeabilidad para los tres sistemas BG1, BG2 y BG3 fue de 4.19×10^{-10} , 3.75×10^{-10} y $3.48 \times 10^{-10} m^2$ respectivamente. La permeabilidad disminuyó significativamente debido al cierre de microporos formados en la estructura de los andamios por la unión de partículas pequeñas al momento de la sinterización lo que provocó que hubiera una menor interconexión de poros dentro de la estructura. El tratamiento realizado a los andamios a diferentes tiempos de permanencia a la temperatura de sinterización puede ser utilizado como método para controlar la permeabilidad de los andamios porosos de biovidrio 45S5. Cabe destacar, que la permeabilidad es independiente del fluido ya que sólo depende de la estructura porosa del andamio. *Ochoa et al.*^[10] encontraron valores de permeabilidad en el rango de $1.85 \times 10^{-9} - 2.07 \times 10^{-9} m^2$ para andamios de Bioglass® 45S5 en andamios con porosidades de 90-95%. Se han reportados varios valores de permeabilidad de andamios porosos. *Shimko et al.*^[11] reportó valores de permeabilidad entre $5.2 \times 10^{-10} - 6.2 \times 10^{-10} m^2$ de andamios de tantalio. Adicionalmente, *Li et al.*^[7] midieron una permeabilidad de $2.13 \times 10^{-10} m^2$ para biomateriales porosos con 70% de porosidad. Estos valores reportados por varios investigadores están muy cercanos a la permeabilidad de tejido óseo encontrado por *Nauman et al.*^[12]

En el presente trabajo se utilizó la técnica de metalurgia de polvos para la obtención de andamios con porosidades bimodales, que nos permita tener un material con características óptimas en permeabilidad y tipo de poro para ayudar en la regeneración ósea. Los resultados obtenidos en el presente trabajo están en el rango de los reportados en esta investigación. Como se muestra, la permeabilidad puede ser diferente en materiales con el mismo % de porosidad, esto debido a las diferencias en el diseño estructural, estructura de poro y morfología. Por otra parte, un andamio con alta permeabilidad y alta porosidad no es necesariamente óptimo para regeneración de tejido óseo, debido a que sus propiedades mecánicas se verán altamente afectadas por la elevada porosidad del material.

Aguilar et al.^[9] mostraron que los andamios fabricados mediante la técnica de metalurgia de polvos han demostrado tener una porosidad interconectada, con una distribución de tamaño de poro entre 335-540 μm y resistencia a la compresión en el orden de los 5 MPa. Además, los andamios fabricados mediante esta técnica poseen microporosidad un factor estructural esencial para aplicaciones en IT.

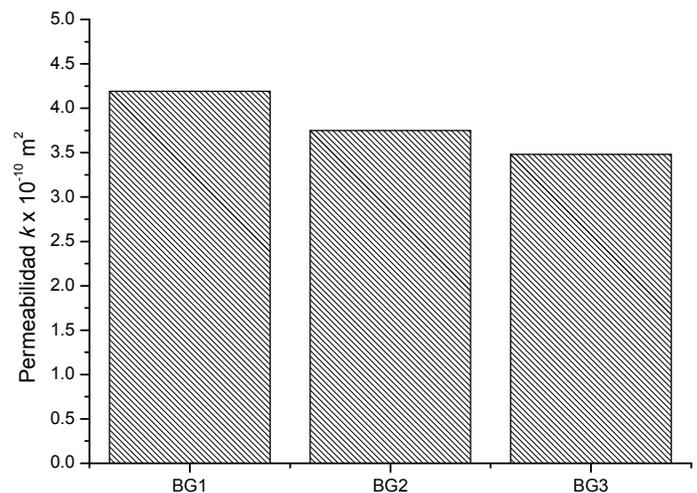


FIGURA 3. Permeabilidad de las muestras BG1, BG2 y BG3.

CONCLUSIONES

Andamios porosos de biovidrio 45S5 fueron fabricados mediante la técnica de tecnología de polvos y fueron estudiados en términos de su permeabilidad. Los valores promedios de permeabilidad de los andamios evaluados fueron de 4.19×10^{-10} , 3.75×10^{-10} y $3.48 \times 10^{-10} m^2$ los cuales disminuyeron al aumentar el

tiempo a la temperatura de $975 \text{ }^\circ\text{C}$ debido a la disminución en el % de porosidad. Por otra parte, los valores obtenidos de permeabilidad, están en el rango de los valores experimentales, reportados para el hueso trabecular, confirmando que estos andamios pueden ser utilizados como matrices para el crecimiento celular y regeneración ósea.

REFERENCIAS

- [1] J.R. Jones, "Review of bioactive glass : From Hench to hybrids", *Acta Biomater.* vol. 9, pp. 4457-4486, 2013.
- [2] L.L. Hench, "The story of bioglass.", *J. Mater. Sci. Mater. Med.* vol. 17, pp. 967-78, 2006. DOI:10.1007/s10856-006-0432-z
- [3] X.B. Yang, D. Webb, J. Blaker, A.R. Boccaccini, V. Maquet, C. Cooper, "Evaluation of human bone marrow stromal cell growth on biodegradable polymer/Bioglass.", *Biochem Biophys Res Commun.* vol. 342 pp. 1098-1107, 2006. DOI:10.1016/j.bbrc.2006.02.021
- [4] L.C. Gerhardt, K.L. Widdows, M.M. Erol, C.W. Burch, J. A. Sanz-Herrera, I. Ochoa, "The pro-angiogenic properties of multi-functional bioactive glass composite scaffolds", *Biomaterials*, vol 32, pp 4096-4108, 2011. DOI:10.1016/j.biomaterials.2011.02.032
- [5] Q.Z. Chen, I.D. Thompson, A.R. Boccaccini, "45S5 Bioglass-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering.", *Biomaterials*, vol 27, pp. 2414-2425, 2006. DOI:10.1016/j.biomaterials.2005.11.025
- [6] L.C. Gerhardt, A.R. Boccaccini, "Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue." *Engineering, Materials (Basel)*, vol. 3, pp. 3867-3910, 2010. DOI:10.3390/ma3073867
- [7] S. Li, J.R. De Wijn, J. Li, P. Layrolle, K. De Groot, "Macroporous biphasic calcium phosphate scaffold with high permeability/porosity ratio.", *Tissue Eng.*, vol. 9, pp.535-48, 2003. DOI:10.1089/107632703322066714
- [8] E. A. Botchwey, M. A. Dupree, S.R. Pollack, E.M. Levine, C.T. Laurencin, "Tissue engineered bone: measurement of nutrient transport in three-dimensional matrices.", *J. Biomed. Mater. Res. Part A.*, vol. 67, pp. 357-367, 2003. DOI:10.1002/jbm.a.10111
- [9] E. A. Aguilar-Reyes, C. A. León-Patiño, B. Jacinto-Díaz, L.-P. Lefebvre, "Structural characterization and mechanical evaluation of bioactive glass 45S5 foams obtained by a powder technology approach.", *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 95, pp. 3776-3780, 2012. DOI:10.1111/j.1551-2916.2012.05465
- [10] I. Ochoa, J. A Sanz-Herrera, J.M. García-Aznar, M. Doblaré, D.M. Yunos, A.R. Boccaccini, "Permeability evaluation of 45S5 bio-glass-based scaffolds for bone tissue engineering.", *J. Biomech.*, vol. 42, pp. 257-260, 2009. DOI:10.1016/j.jbiomech.2008.10.030
- [11] D. A. Shimko, V.F. Shimko, E. A. Sander, K.F. Dickson, E. A. Nauman, "Effect of porosity on the fluid flow characteristics and mechanical properties of tantalum scaffolds.", *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, vol. 73, pp. 315-324, 2005. DOI:10.1002/jbm.b.30229
- [12] E. A Nauman, K.E. Fong, T.M. Keaveny, "Dependence of intertrabecular permeability on flow direction and anatomic site.", *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 27, pp. 517-524, 1999. DOI: doi:pers://82E9EA27-E255-4A82-9E40-6DAC45A310F4/Paper/p667