

PROPIEDADES DE LAS ALEACIONES USADAS EN IMPLANTES QUIRÚRGICOS

R. W. Gregorutti¹, J. E. Grau¹, F. Sives², J. Parisi³, D. Castrogiovanni³, C. I. Elsner⁴

¹ Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica (LEMIT-CICPBA), Av. 52 s/n e/121 y 122, B1900AYB, La Plata, Argentina.
Teléfono: 0221 4831141, e-mail: metalurgia@lemit.gov.ar

² Instituto de Física La Plata, CONICET, Dto. de Física, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, 49 y 115, B1900AYB, La Plata, Argentina
e-mail: sives@fisica.unlp.edu.ar

³ Instituto Multidisciplinario de Biología Celular – IMBICE (CICPBA-CONICET-CCT La Plata), Calle 526 y Camino General Belgrano, B1906APO, La Plata, Argentina.
Teléfono: 0221-4210112, e-mail: cultivos@imbice.gov.ar

⁴ Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CIDEPINT-CICPBA-CONICET), Av. 52 s/n e/121 y 122, B1900AYB, La Plata, Argentina and Facultad de Ingeniería – UNLP, Av. 1 esq. 47, B1900AYB, La Plata, Argentina
Teléfono: 0221 4831141, e-mail: anelpire@cidepint.gov.ar

Resumen

Las aleaciones habitualmente usadas para elaborar dispositivos implantables son los aceros inoxidables ASTM F138 y ASTM F745, la aleación de cobalto ASTM F75, la aleación Ti-6Al-4V y el Ti Grado 4. Las propiedades mecánicas varían desde 480 MPa de resistencia a la tracción del ASTM F745 hasta 890 MPa del Ti-Al-V, con módulos de elasticidad de 200 GPa y 120 GPa, respectivamente. La resistencia a la corrosión es una de las exigencias más importantes, ya que además de la degradación química, genera fenómenos adversos como la liberación de iones metálicos, que pueden depositarse en distintos órganos y producir reacciones sistémico – tóxicas. Los ensayos de polarización cíclica indicaron que el Ti Grado 4 y el Ti-Al-V presentan la menor susceptibilidad a la corrosión localizada en medios que simulan fluidos del cuerpo humano. Otra característica, es que estos materiales no deben ser magnéticos. Las curvas de histéresis magnética mostraron que las aleaciones de Ti experimentan una menor magnetización ante campos magnéticos externos.

En cuanto a la biocompatibilidad, se han iniciado estudios de citotoxicidad en el acero inoxidable ASTM F745. Los resultados de los ensayos Rojo neutro y MTT mostraron una aceptable viabilidad celular, sin evidencia de liberación de compuestos citotóxicos al medio.

1. Introducción

Las prótesis biomédicas son dispositivos usados con el fin de sustituir tejidos óseos y restaurar funciones en el cuerpo humano. Si bien existen evidencias de su uso desde hace varios siglos¹, el factor que impulsó su desarrollo en nuestros tiempos fue la necesidad de rehabilitar a millones de inválidos de guerra. Por este motivo, a partir de la década del 50 se ha impulsado el desarrollo de nuevas disciplinas en Ciencia e Ingeniería de materiales, las que a partir de procedimientos empíricos pretenden adaptar materiales convencionales a aplicaciones biomédicas.

El requisito primordial de un material a ser implantado en el cuerpo humano es que sea biocompatible, de modo tal que no cause ninguna reacción adversa en el organismo. Se puede definir a la biocompatibilidad, como la capacidad de un material para no interferir ni degradar el medio biológico en el cual se encuentra. Los biomateriales existentes hoy en día, que muestran una performance clínica aceptable, son el resultado de la aplicación del método de prueba y error clínico, y no del diseño para el logro de una interacción preestablecida con el medio biológico. Esto se debe a que los mismos no fueron diseñados originalmente para el uso médico.

Los materiales más empleados en esta disciplina son las aleaciones metálicas, polímeros y cerámicos. Las aleaciones metálicas son las que han sido usadas históricamente para elaborar piezas tales como, prótesis de cadera y de rodilla, placas de fijación óseas e implantes dentales. Entre ellas se destacan los aceros inoxidable austeníticos ASTM F138 y ASTM F745, las aleaciones base cobalto tipo ASTM F75, la aleación de titanio Ti-6Al-4V y el Ti Grado 4. Estos materiales deben satisfacer propiedades intrínsecamente relacionadas, como biocompatibilidad, resistencia mecánica y principalmente, resistencia a la corrosión. El posible deterioro de una prótesis implantada puede ser originado por mecanismos electroquímicos, mecánicos o por combinación de ambos. Desde el punto de vista electroquímico, las prótesis están sometidas al entorno biológico consistente en fluidos oxigenados con presencia de iones cloruros, proteínas, enzimas, bacterias y suero, los que eventualmente pueden causar la corrosión del material. Al mismo tiempo, los movimientos propios del cuerpo generan cargas dinámicas que pueden ocasionar el fallo de la pieza por fatiga mecánica. Estas cargas dinámicas varían en distintos puntos del cuerpo, ya que una prótesis de cadera durante una caminata puede llegar a sufrir picos equivalentes a 4 veces el peso del cuerpo, mientras que una de rodilla hasta 3 veces². La conjunción de los efectos electroquímicos y mecánicos generan a su vez, fallas por el mecanismo conocido como corrosión-fatiga³.

Por otro lado, la biocompatibilidad está relacionada con los efectos citotóxicos de los componentes de la aleación (Cr y Ni en el caso del acero inoxidable) y el daño que pueden causar a las células durante el tiempo prolongado en el que la prótesis se implanta en el cuerpo. En la respuesta biológica del organismo a la presencia de cualquier implante, también es importante considerar la capacidad de proliferación de osteoblastos y fibroblastos sobre la superficie metálica para asegurar la oseointegración al hueso^{4,5}.

El presente trabajo presenta valores de propiedades mecánicas, electroquímicas, magnéticas de las aleaciones usadas como biomateriales, obtenidos en experiencias propias y recopiladas de la bibliografía. Al mismo tiempo, también se exponen los resultados de ensayos de citotoxicidad realizados con el acero inoxidable ASTM F745.

2. Materiales y técnicas experimentales

El acero inoxidable ASTM F745 y la aleación de cobalto ASTM F75 fueron obtenidos por colada mediante horno de inducción. Posteriormente a la colada, el acero ASTM F745 fue sometido a un tratamiento térmico de solubilizado a 1050°C, con enfriamiento

en agua, para disolver los carburos y la ferrita delta formada durante la solidificación. Las muestras de Titanio Grado 4 y Ti-6Al-4V y las de acero inoxidable ASTM F138 fueron obtenidas de barras laminadas. En el presente trabajo se evaluaron las propiedades mecánicas del acero inoxidable ASTM F745 mediante ensayos de tracción, determinándose la resistencia y el alargamiento porcentual. Los datos correspondientes al resto de los materiales se obtuvieron de la bibliografía. La susceptibilidad a la corrosión localizada fue evaluada mediante ensayos de polarización cíclica. Los mismos se realizaron con barridos entre un potencial inicial de -0.1V respecto al potencial de circuito abierto en sentido anódico y un potencial de inversión del barrido acotado por una densidad de corriente máxima permitida, en función de las áreas expuestas de las muestras analizadas, que estuvieron en el rango de 3,5 a 4 cm². La velocidad de barrido fue de 0,167 mV/s. La celda se conformó con el material a estudiar como electrodo de trabajo, el electrodo de calomel saturado como referencia y contraelectrodo de platino. Para simular las condiciones del entorno humano, se trabajó con una solución acuosa 0,9 % de NaCl a 37°C y pH entre 7,1 y 7,4.

Las propiedades magnéticas fueron evaluadas mediante curvas de histéresis magnéticas obtenidas mediante un magnetómetro Lake Shore 7404, con campos entre -10.000 y 10.000 Gauss.

Las composiciones químicas de los biomateriales se detallan en la Tabla 1⁶.

Tabla 1. Composición química de los materiales usados en implantes quirúrgicos

	C	Cr	Ni	Mo	Fe	Co	Ti	Otros
ASTM F745	<0,06	17,0-19,0	11,0-14,0	2,0-3,0	resto	-	-	Si<1,0, Mn<2,0
ASTM F138	<0,03	17,0-19,0	13,0-15,0	2,25-3,0	resto	-	-	Si<0,75, Mn<2,0
ASTM F75	<0,35	27,0-30,0	<1	5,0-7,0	<0,75	resto	-	Si<1,0, Mn<1
Ti Grado 4	0,003	-	-	-	0,05	-	resto	0,34O, 0,0015H, 0,006N
Ti-Al-V	0,08	-	-	-	0,25	-	resto	6,0 Al, 4,0V, 0,13O, 0,0125H

Los ensayos de biocompatibilidad se realizaron empleando la línea celular osteoblástica de rata UMR-106 (ATCC, CRL-1661), la que fue cultivada en medio DMEM 10% SBF a 37°C y 5% de anhídrido carbónico. El material a ensayar se puso en contacto con el vehículo de extracción (VE), consistente en el medio de cultivo, durante 72 horas a 37°C, siguiendo la relación superficie/volumen de 2 cm²/mL, de acuerdo a lo especificado por la NORMA ISO 10995-5. Los bioensayos desarrollados para evaluar la citotoxicidad fueron los de rojo neutro, ensayo de reducción del bromuro de 3(4,5 dimetil-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazolico y ensayo de colágeno Tipo I.

Se realizaron tres experimentos por cada bioensayo, haciéndose ocho mediciones en cada caso. Los valores medios de las 24 determinaciones se compararon con las realizadas con un medio de cultivo sin exposición al material, usado como control CTR. Los datos se analizaron estadísticamente mediante la prueba t de Student.

3. Propiedades mecánicas

Los valores de resistencia a la tracción, tensión de fluencia y módulo de elasticidad de los materiales habitualmente usados para confeccionar implantes quirúrgicos se ilustran en la Tabla 2, así como también las propiedades del hueso cortical⁶.

Tabla 2. Propiedades mecánicas de los materiales usados en implantes quirúrgicos

	σ_{fl} (MPa)	σ_{tracc} (MPa)	E (GPa)	δ (%)
ASTM F745 (*)	221	483	200	12
ASTM F138	190	490	200	40
ASTM F75	450	655	248	8
Ti Grado 4	485	550	110	15
Ti-Al-V recocido	830	895	124	10
Hueso cortical	-	50-150	7-30	-

La aleación Ti-Al-V es la que presenta la mayor resistencia mecánica y menor módulo elástico, respecto de los aceros inoxidable y la aleación de cobalto. En la actualidad se considera que el valor del módulo elástico debe ser lo más próximo posible al del hueso, de modo reducir la carga fisiológica que ejerce el implante sobre el mismo. Una alta carga fisiológica puede conducir a un proceso de osteopenia, esto es, la pérdida de masa ósea, también llamada reabsorción ósea. La consecuencia final es la pérdida de la interfase hueso-implante. Por este motivo, se están desarrollando materiales porosos con el objetivo de disminuir el módulo elástico, al tiempo que mejoraría la osteointegración del implante, a través de la penetración de tejido óseo a través de los poros de la pieza implantada⁷⁻⁹.

4. Susceptibilidad a la corrosión localizada

Los materiales implantables deben su pasividad a una capa superficial, que en el caso de los aceros inoxidable y de la aleación ASTM F75 es de Cr_2O_3 , mientras que en el Ti Grado 4 y la aleación Ti-Al-V dicha capa es de TiO_2 .

La susceptibilidad a la corrosión localizada fue evaluada a través de un ensayo de polarización cíclica, mediante el cual se determina el potencial de corrosión (E_{Corr}), el potencial de ruptura de la película pasiva (E_{Rupt}) y el potencial de protección o repasivación (E_{Repas}). El E_{Corr} revela la tendencia a la corrosión del material y queda determinado por el punto al cual la densidad de corriente tiende a cero. El E_{Rupt} es el potencial a partir del cual, el proceso de picado se desarrolla progresivamente y se pone de manifiesto cuando la densidad de corriente anódica se incrementa considerablemente, indicando que el material deja de estar pasivo. Por otro lado, el E_{Repas} es el potencial al que se completa el lazo de histéresis, denotando la repasivación del material. La Figura 1 ilustra una curva obtenida en el ensayo de polarización cíclica, donde se muestran los potenciales mencionados.

Cuanto mayor sea la diferencia ($E_{Corr} - E_{Rupt}$) menor será la tendencia del material a desarrollar un proceso de picado, a la vez que cuanto menor sea la diferencia ($E_{Rupt} - E_{Repas}$) mayor será su capacidad de repasivación.

Las curvas obtenidas para cada uno de los biomateriales analizados se muestran en la Figura 2, donde se observa que si bien el Ti Grado 4 y la aleación Ti-Al-V presentan menores E_{Corr} , lo que indica una mayor tendencia a la corrosión, sus respectivos potenciales E_{Rupt} son significativamente mayores, denotando una menor tendencia al picado respecto de la aleación de cobalto y de los aceros inoxidable. Al mismo tiempo, se ha notado en ambos materiales que la densidad de corriente vuelve a estabilizarse hacia potenciales mayores, lo que indicaría una tendencia a una segunda pasivación.

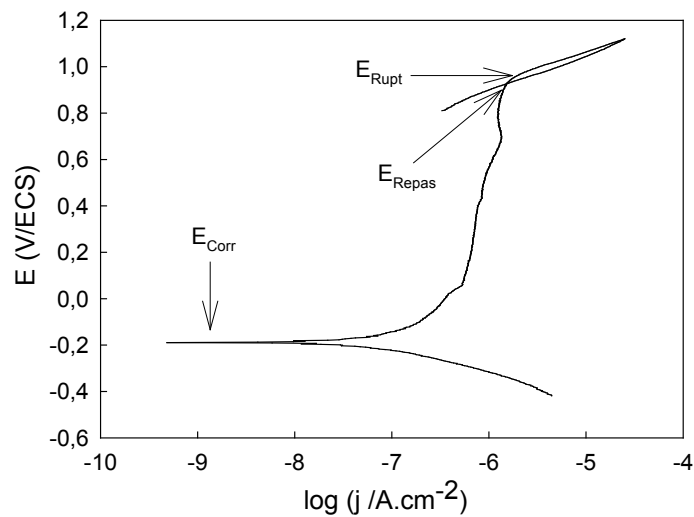


Figura 1. Ilustración de los potenciales E_{Corr} , E_{Rupt} y E_{Repas}

En el caso de la aleación de cobalto ASTM F75, se han observado valores intermedios de E_{Rupt} , siendo la característica más significativa de este material, el estrecho lazo de histéresis que presenta, lo que revela su alta capacidad de repasivación.

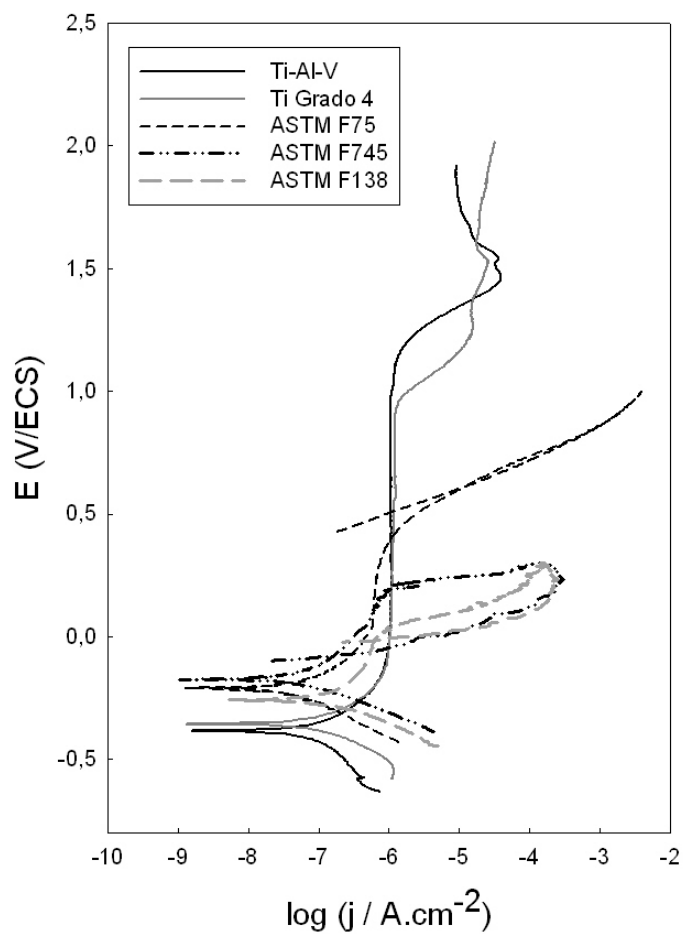


Figura 2. Curvas potenciodinámicas de los biomateriales analizados.

En cuanto a los aceros inoxidable, sus potenciales E_{Rupt} y E_{Repas} son más bajos respecto de los biomateriales previamente analizados y también es más amplio su lazo de histéresis, lo que indica que presentan una mayor tendencia a sufrir un evento de corrosión localizada y una menor capacidad de repasivación.

Las normas internacionales que tratan los aspectos relativos a la resistencia a la corrosión de los biomateriales, sólo establecen los ensayos que se deben realizar y no especifican valores de potenciales que se deben alcanzar. De modo que, estos resultados son comparativos y establecen una escala relativa sobre el posible desempeño de estos materiales en el cuerpo humano.

5. Propiedades magnéticas

Además de las propiedades mecánicas y de la resistencia a la corrosión, los biomateriales deben satisfacer la condición de no ser magnéticos, ya que de lo contrario podrían ocasionar efectos nocivos en el cuerpo ante la exposición de campos magnéticos importantes como en el caso de los estudios por Resonancia Magnética Nuclear^{10,11}. El análisis de las propiedades magnéticas se realizó mediante las curvas de histéresis ilustradas en la Figura 3, las que permiten evaluar la respuesta de un material cuando es expuesto a un campo magnético externo. Los estudios se centraron en el acero inoxidable ASTM F745, la aleación de cobalto y el Ti Grado 4.

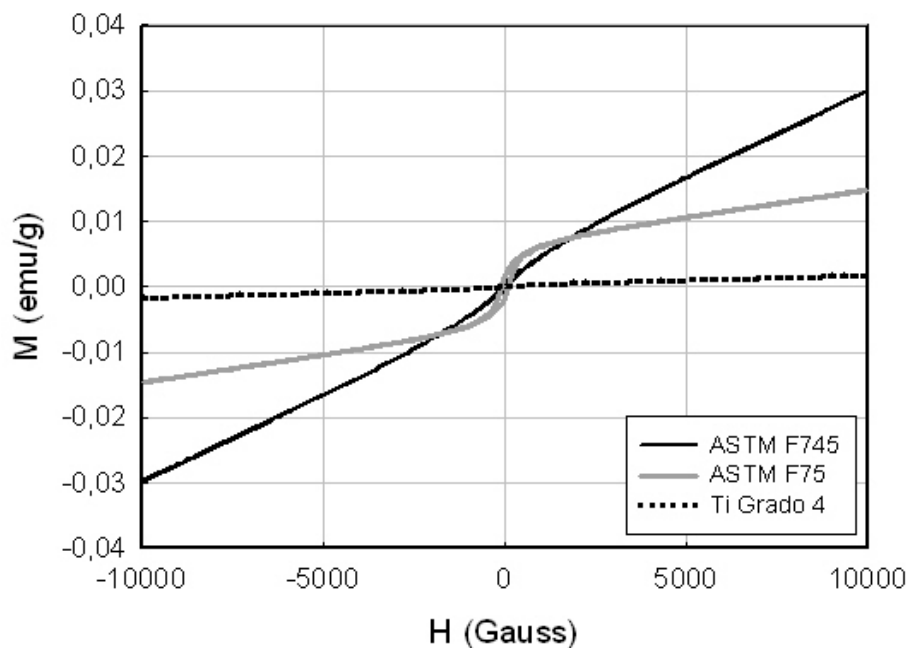


Figura 3. Curvas de histéresis magnética

En todos los casos, se observó que el área encerrada en el ciclo de histéresis fue mínima, con muy bajos valores de remanencia y coercitividad. El acero inoxidable es el biomaterial que experimenta la mayor magnetización de saturación ante los campos magnéticos aplicados. Este comportamiento puede ser atribuido a que al ser obtenido por colada, este material puede contener pequeñas cantidades de ferrita delta precipitada, fase que le otorga cierto carácter magnético. La aleación ASTM F75 presenta una magnetización intermedia, aunque ha registrado mayor coercitividad, por lo que es más proclive al calentamiento cuando se la expone a un campo magnético. Por otro lado, el Ti Grado 4 es el material de mejor comportamiento, ya que mostró la menor magnetización.

6. Ensayos de biocompatibilidad

Como se mencionara anteriormente, el Cr y Ni pueden promover efectos citotóxicos en el cuerpo humano. Por esta razón, previamente a los ensayos, el VE fue analizado por ICP para determinar la cantidad de Cr y Ni que pudo haber liberado el acero inoxidable. La concentración de Cr fue menor que 0,05 mg/L, mientras que la de Ni fue de 13 mg/L.

Los ensayos de biocompatibilidad se realizaron para evaluar la citotoxicidad del acero inoxidable ASTM F745. Se entiende por citotoxicidad a la disminución de la proliferación celular inducida por un agente físico, químico o biológico. Los bioensayos realizados fueron los siguientes: Ensayo de Rojo Neutro (RN), ensayo de reducción del bromuro de 3(4,5 dimetil-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazolico (MTT) y ensayo de

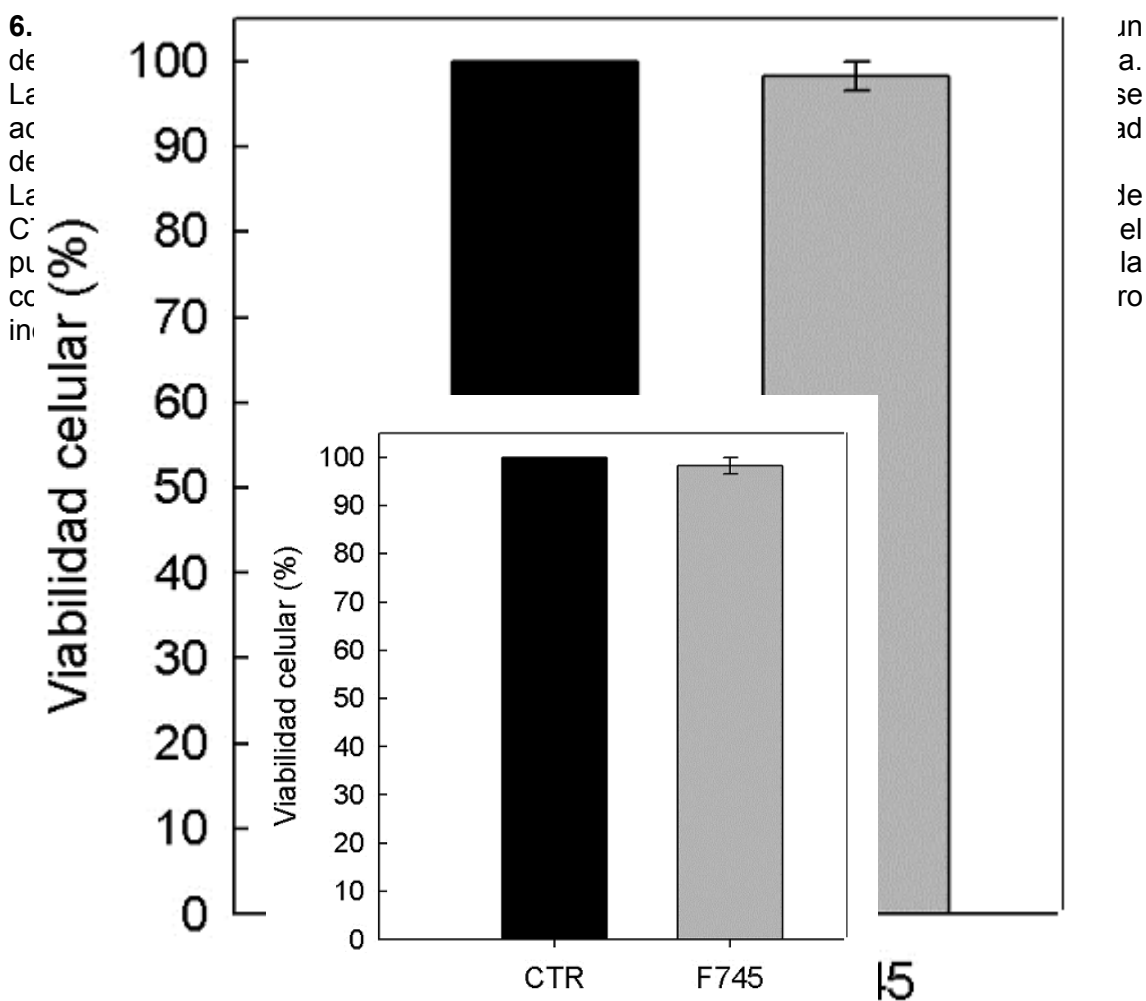


Figura 4. Ensayo de Rojo neutro

6.2 Ensayo MTT: Este ensayo se basa en la reducción de MTT a formazan insoluble 41-43. La reacción depende de la actividad metabólica mitocondrial de la enzima succinato deshidrogenasa. En consecuencia, las células con metabolismo bajo reducen muy poco MTT, mientras que las células que se dividen rápidamente exhiben altas tasas de reducción del MTT. La Figura 5 muestra que la viabilidad celular alcanza valores similares a CTR. No se observaron diferencias significativas en el análisis estadístico. Este resultado indicaría la ausencia de compuestos tóxicos que puedan afectar el metabolismo mitocondrial de las células.

El efecto no tóxico de F745-SS mostrado en este ensayo es coincidente con un trabajo realizado en placas de reconstrucción maxilofacial hechas de 316L¹⁴. En él se informó la buena biocompatibilidad in vitro de esta aleación con fibroblastos. Al mismo tiempo, Wang et. Al, también se refieren a los efectos no adversos de 316L sobre la viabilidad celular de las células L929 y NIH3T3¹⁵.

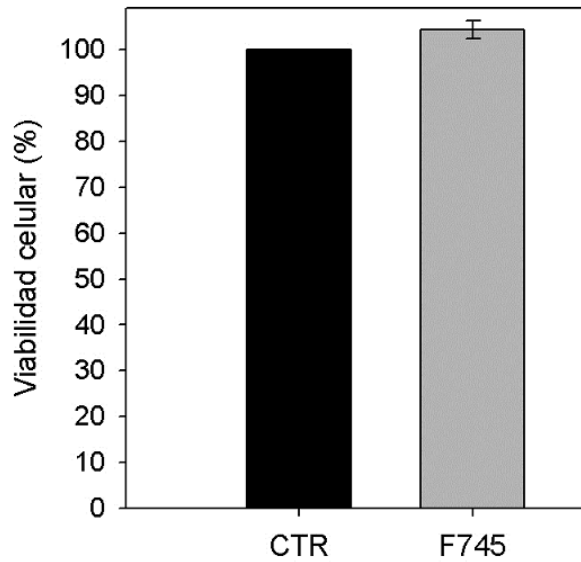


Figura 5. Ensayo MTT

6.3 Ensayo de determinación de colágeno Tipo I: El colágeno tipo I constituye el 85% de la matriz extracelular de hueso, lo cual tiene un papel importante en la diferenciación y función de los osteoblastos que participan en la integración del implante^{5,14,16}.

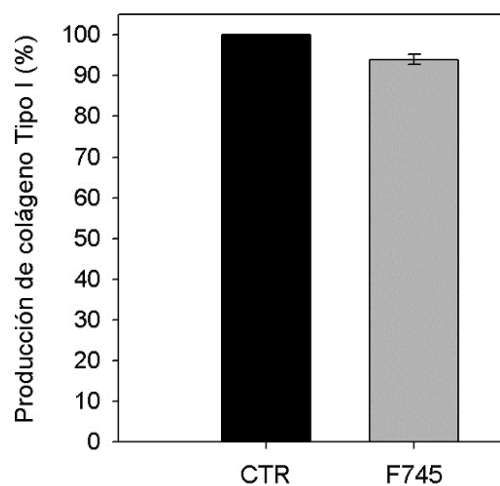


Figura 6. Ensayo de colágeno Tipo I

Las células expuestas al VE experimentaron una ligera reducción en la producción de colágeno respecto a las expuestas al CTR, como se muestra en la Figura 6. En este caso, el análisis estadístico mediante la prueba t de Student mostró un valor p menor que 0,05, indicando que el acero inoxidable podría generar algún efecto tóxico en la producción de colágeno. De acuerdo con la caracterización del VE utilizado, se podría conjeturar que la disminución en la producción de colágeno es una consecuencia de la concentración de Ni. Aunque para confirmar esta presunción, deben realizarse nuevos ensayos.

7. Conclusiones

De los estudios realizados, se deduce que el Ti Grado 4 y la aleación Ti-Al-V presentan el mejor comportamiento como biomaterial, teniendo en cuenta sus altas resistencias mecánicas, bajos módulos elásticos y a la menor susceptibilidad a la corrosión localizada. Al mismo tiempo, estos materiales experimentan menor magnetización, ante la presencia de campos magnéticos.

La aleación de cobalto ASTM F75 presenta una buena resistencia mecánica y un comportamiento satisfactorio ante la corrosión localizada, con una alta capacidad de repasivación. En cuanto a los aceros inoxidables, si bien poseen una aceptable resistencia mecánica, su respuesta ante eventos de corrosión localizada es inferior a la de los otros materiales analizados. Respecto de los bioensayos realizados con el acero inoxidable ASTM F745, se ha observado que la viabilidad celular ha sido satisfactoria, evidenciando que el Cr y Ni en las concentraciones medidas, no provocarían efectos citotóxicos, en las condiciones de ensayo establecidas. Sin embargo, se observó una ligera disminución en la producción de colágeno Tipo I.

Agradecimientos

Al Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica (LEMIT), a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICIPBA) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por el apoyo económico brindado para su desarrollo.

Referencias

1. ASM Metals Handbook, Vol 13, Corrosion, (1987), 3313-3339.
2. V. Sudhakar, Engineering Failure Analysis, 12, (2005), 249–256.
3. R. Altobelli Antunes, M. C. Lopes de Oliveira, Acta Materialia, 8, (2012), 937-962.
4. L. C. Baxter, V. Frauchiger, M. Textor, I. Gwynn, R. G. Richards: 'Fibroblast and osteoblast adhesion and morphology on calcium phosphate surfaces', *Eur. Cells and Mater.*, 2002, **4**, 1-17, DOI: 10.22203/eCM.
5. A. F. Mavrogenis, R. Dimitriou, J. Parvizi and G. C. Babis: 'Biology of implant osseointegration', *J. Musculoskelet Neuronal Interact.*, 2009, **9**, (2), 61-71.
6. Handbook of Materials for Medical Devices, Ed. J. R. Davis, ASM International, (2003).
7. A. S. Unger, R. J. Lewis, T. Gruen, The Journal of Arthroplasty, Vol. 20, 8 (2005), 1002-1009.
8. X. Flecher, S. Sporer and W. Paprosky, The Journal of Arthroplasty, Vol. 23, 7, (2008), 949-955.
9. Y. J. Chen, B. Feng, Y. P. Zhu, J. Weng, J. X. Wang, X. Lu, Materials Letters, 63, (2009), 2659-2661.
10. H. Mansura, T. Inoue, H. Konno, N. Sasaki., K. Ogasawara, A. Ogawa., J. Neurosurg., 97, (2002), 1472–1475.

11. M. Sawyer-Glover, F. G. Shellock, J. Magn. Reson. Imaging, 12, (2000), 92–106.
12. J. Weyermann, D. Lochmann and A. Zimmer: 'A practical note on the use of cytotoxicity assays', *Inter. J. of Pharm.*, 2005, **288**, 369-376.
13. G. Fotakis and J. A. Timbrell: 'In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride', *Toxicol. Lett.*, 2006, **160**, (2), 171-177.
14. N. P. M. Sumarta, C. P. Danudiningrat, E. A. Rachmat and P. Soesilowati: 'Cytotoxicity difference of 316L stainless steel and titanium reconstruction plate', *Dent. J.*, 2011, **44**, (1), 7-11.
15. Y. B. Wang, H. F. Li, Y. F. Zheng and M. Li: 'Corrosion performances in simulated body fluids and cytotoxicity evaluation of Fe-based bulk metallic glasses', *Mater. Sci. and Eng. C*, 2012, **32**, 599-606.
16. C. Roehlecke, M. Witt, M. Kasper, E. Schulze, C. Wolf, A. Hofer and R. H. W. Funk: 'Synergistic Effect of Titanium Alloy and Collagen Type I on Cell Adhesion, Proliferation and Differentiation of Osteoblast-Like Cells', *Cells Tissues Organs*, 2001, 168, 178-187.