



UNIVERSITAT DE BARCELONA



FACULTAT DE QUÍMICA
DEPARTAMENT DE CIÈNCIA DELS MATERIALS I ENGINYERIA
METAL·LÚRGICA

Programa: Tecnología de Materiales, bienio 2002-2004

Recubrimientos biocompatibles obtenidos por
Proyección Térmica y estudio *in vitro* de la función
osteoblástica

Memoria presentada para optar al
grado de Doctor en Ciencias Químicas
por Mireia Gaona Latorre,
bajo la dirección del Profesor Josep
Maria Guilemany Casadamon y el
Profesor Javier Fernández González

Barcelona, Junio 2007

Josep Maria Guilemany Casadamon y Javier Fernández González, Profesores Catedráticos del Departamento de Ciencia de los Materiales e Ingeniería Metalúrgica de la Universidad de Barcelona, CERTIFICAN que:

El presente trabajo titulado “Recubrimientos biocompatibles obtenidos por Proyección Térmica y estudio *in vitro* de la función osteoblástica” ha sido realizado en el Departamento de Ciencia de los Materiales e Ingeniería Metalúrgica de la Universidad de Barcelona por Mireia Gaona Latorre, y constituye su Memoria de Tesis Doctoral.

Prof. J.M. Guilemany

Prof. J. Fernández

Agradecimientos

Cuando se recorre un camino lleno de dificultades siempre hay gente a la que agradecer la inestimable ayuda que te han ofrecido. Gracias a todos ellos los buenos momentos se suceden durante la realización de la tesis. Por ello quiero reconocer la labor de mis codirectores de tesis el Prof. Guilemany, quien ha dirigido el trabajo experimental y ofrecido una inestimable ayuda en todo momento y el Prof. Javier Fernández, por siempre estar dispuesto a afrontar nuevas ideas y haberme ayudado siempre tanto dentro como fuera del laboratorio. La realización de esta tesis nunca habría sido posible sin sus consejos.

Igualmente quiero agradecer al Dr. J.R. Miguel por su paciencia y sus conocimientos sobre la tecnología de la proyección térmica y a la Dra. I. García Cano por darme buenos consejos tanto dentro como fuera del laboratorio y, sobretodo, agradecerle los ánimos que me ha dado en esta última etapa de la escritura.

Quisiera dar las gracias también a la Dra. N. García-Giralt y a todo el grupo de investigación del URFOA-IMIM por darme la oportunidad de trabajar con cultivos celulares, y hacerme sentir una persona más del grupo, y al Dr. Manero por su gran conocimiento en la observación de la adhesión celular mediante ESEM.

Particularly, I would like to express my gratitude to Dr. B. Marple and Dr. R. Lima from the IMI-NRC of Canada whose expertise, understanding, and patience, added considerably to my research experience. I appreciate their vast knowledge and skill in many areas, and his assistance in writing papers.

Del mismo modo agradecer a la Generalitat de Catalunya por la concesión de la beca de Formació de Personal Investigador (FI) para la realización de esta Tesis Doctoral.

Esta tesis doctoral, si bien ha requerido de esfuerzo y dedicación por parte de la autora y sus directores de tesis, no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación desinteresada de todas y cada una de las personas que a continuación citaré y muchas de las cuales han sido un soporte muy fuerte en momentos de inquietud y desánimo.

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis padres, herman@s y cuñad@s por el apoyo que siempre he recibido de ellos. Gracias a ellos he podido llegar a este punto y les agradezco el haberme ayudado siempre, en los buenos y en los malos momentos. También agradecer a las fieras de mis sobrin@s las infinitas veces que me han hecho reír y los grandes momentos pasados con ellos.

Asimismo agradecer a Xavi por compartir los mejores y peores momentos de estos últimos años y sobre todo por su incondicional apoyo, ya que ha sufrido esta tesis en primera fila.

Mi más sincero agradecimiento a mis niñas, Ester, María José y Yolanda por los buenos tiempos que pasamos en Londres y la buena amistad que nos ha quedado. A Anja por ser una excelente compañera de piso y también ser otra espectadora de primera fila. A Mireia y Marta por ser dos grandes amigas y aun estando a muchos kilómetros siempre encontramos el momento de vernos. Y como no! A los "amics del barri", por ser unas personas fantásticas que me han acogido en su grupo como una más y por su interés sobre la evolución de la tesis.

De la gente del laboratorio son tantos los que han pasado por aquí que no quisiera dejarme a nadie! A los ya doctores Sonia, Txus, Bea y Jaume por haberme enseñado a disfrutar de los primeros años en el laboratorio. Al Dr. Daniel Fernández por ser un fantástico compañero y aguantarme estoicamente en el despacho. A la Dra. Nuria Espallargas por estar dispuesta siempre a ayudarme y por las risas que nos hacíamos dentro y fuera del laboratorio. A la recién Dra. Silvia Illescas porque estos últimos meses han sido muy intensos y al final lo consiguió. Al Dr. Sergi Dosta por ser la persona más paciente del mundo. A Marc por siempre estar ahí y sus excelentes white russians. A Núria Cinca por su inestimable ayuda con los cursos de ingeniería y a Regina, la última incorporación, por las tardes que hemos pasado juntas después de salir del laboratorio.

Durante estos años, siempre pensé que llegaría un día que escribiría los agradecimientos de mi tesis, lo que supondría que estaba prácticamente terminada. Ahora ese momento ha llegado. Habéis sido muchos los que me habéis apoyado este tiempo, de muy distinta forma, en momentos no poco difíciles. Sin vosotros este trabajo nunca habría visto la luz. A todos vosotros GRACIAS.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1:

Introducción

1.1	Problemática sociológica actual	1
1.2	Reemplazo total de cadera	4
1.3	Uso de recubrimientos de hidroxiapatita en prótesis	7
1.4	La proyección térmica en la obtención de recubrimientos biocompatibles	11
1.5	El hueso	16
1.5.1	Fisiología del sistema óseo	16
1.5.2	Estructura del hueso	17
1.5.3	Histología del hueso	18
1.5.4	Propiedades mecánicas del tejido óseo	19
1.5.5	Constituyentes del tejido óseo	20
1.5.5.1	La matriz ósea	21
1.5.5.2	Las células óseas	21
	a) Osteoblastos	21
	b) Osteoclastos	23
	c) Osteocitos	24
	d) Células de revestimiento	24
1.5.6	Remodelado óseo	25
1.6	Referencias	27

CAPÍTULO 2:

Objetivos y estructura de la tesis

2.1	Objetivos de la tesis	31
2.2	Estructura de la tesis	32

CAPÍTULO 3:

Procedimiento experimental

3.1	Equipos de proyección térmica	35
3.1.1	Proyección térmica por plasma atmosférico (APS)	35
3.1.2	Proyección térmica por alta velocidad (HVOF)	36
3.2	Materias primas empleadas en la proyección	38
3.2.1	Polvos de proyección utilizados	38
a)	Hidroxiapatita	39
b)	Titania convencional	39
c)	Alúmina	39
d)	Circona estabilizada con itria	40
e)	Titania nanoestructurada	40
3.2.2	Substrato de proyección	40
3.3	Caracterización estructural de las materias primas y recubrimientos	42
3.3.1	Caracterización del tamaño de partícula del polvo de proyección	42
3.3.2	Determinación de la fluidez del polvo de proyección	42
3.3.3	Determinación de la densidad del polvo	43
3.3.4	Caracterización del comportamiento térmico del polvo	43
3.3.5	Caracterización estructural mediante microscopía electrónica de barrido (MEB)	44
3.3.6	Determinación de la porosidad del recubrimiento	44
3.3.6	Determinación de la composición mediante microanálisis por separación de energías (EDS)	45
3.3.8	Caracterización estructural mediante difracción de rayos x	45
3.3.9	Caracterización estructural mediante espectroscopia IR (FTIR)	46
3.3.10	Determinación de la rugosidad superficial del recubrimiento	47
3.3.11	Estudios de inmersión en medios fisiológicos simulados	47
3.3.12	Determinación de la adherencia del recubrimiento	49
3.3.13	Determinación de la resistencia al desgaste por fricción	50
3.3.14	Estudios <i>in vitro</i> de la citotoxicidad de los recubrimientos	51
a)	Obtención de las células	51
b)	Criopreservación	52
c)	Descongelación de células	52
d)	Trpsinización y recuento celular	53
e)	Morfología celular	54
f)	Determinación de la viabilidad celular	54
g)	Cuantificación de la proliferación celular	55
h)	Diferenciación celular	57
3.4	Referencias	59

CAPÍTULO 4:

Recubrimientos de hidroxiapatita obtenidos mediante proyección térmica por plasma atmosférico (APS)

4.1	Introducción	61
4.2	Objetivos	63
4.3	Resultados	64
4.3.1	Caracterización del polvo de proyección	64
	a) Distribución del tamaño de partícula	64
	b) Densidad del polvo de proyección	65
	c) Fluidez del polvo de proyección	66
	d) Caracterización estructural del polvo de proyección mediante microscopía electrónica de barrido (MEB)	66
	e) Caracterización estructural mediante microanálisis por separación de energías (EDS)	67
	f) Caracterización estructural mediante difracción de rayos x.	67
	g) Caracterización estructural mediante FTIR	68
	h) Caracterización mediante análisis térmico diferencial	70
	i) Microscopía óptica de calefacción	73
4.3.2	Caracterización del sustrato de proyección	74
4.3.3	Caracterización de recubrimientos de HA obtenidos mediante proyección térmica por plasma atmosférico (APS)	75
	4.3.3.1 Resultados	77
	4.3.3.2 Resultados sobre la influencia de los parámetros de proyección	85
	a) Caracterización superficie libre	85
	b) Sección transversal	86
	c) Caracterización estructural mediante EDS	89
	d) Caracterización estructural mediante DRX	90
	e) Caracterización estructural mediante FTIR	94
	f) Adherencia	95
	g) Resistencia al desgaste por fricción	98
4.4	Discusión de resultados	100
4.4.1	Composición y fases presentes en los recubrimientos	100
4.4.2	Temperatura de las partículas proyectadas	101
4.4.3	Velocidad del haz de proyección	107
4.4.4	Velocidad pistola	108

4.4.5	Efecto de la distancia de proyección	109
4.4.6	Microestructura de los recubrimientos	111
4.4.7	Adherencia.	112
4.4.8	Resistencia al desgaste por fricción	114
4.5	Conclusiones del capítulo	116
4.6	Referencias	119

CAPÍTULO 5:

Optimización de las condiciones de proyección para la obtención de recubrimientos de hidroxiapatita mediante proyección térmica por alta velocidad (HVOF)

5.1	Introducción	121
5.1.1	Optimización de los parámetros de proyección térmica	122
	a) Polvo de proyección	122
	b) Velocidad transversal de desplazamiento de la pistola	123
	c) Caudales de gases	123
	d) Distancia de proyección	124
5.2	Objetivos	125
5.3	Resultados	126
5.3.1	Optimización de las condiciones de proyección	126
	a) Polvo de proyección	126
	b) Elección del gas combustible	126
	c) Distancia de proyección	129
	d) Relación entre la adherencia y las condiciones de proyección	130
5.4	Discusión de resultados	132
5.4.1	Influencia de los parámetros de proyección en el equipo DJ	132
	a) Efecto del gas utilizado como combustible	132
	b) Efecto de la velocidad transversal de la pistola de proyección	132
	c) Influencia de los gases	133
	d) Efecto del caudal de hidrógeno	135
	e) Efecto del caudal de aire comprimido	136
	f) Efecto del caudal de oxígeno	136
5.4.2	Fases presentes en los recubrimientos obtenidos por HVOF	137
5.5	Conclusiones del capítulo	138
5.6	Referencias	139

CAPÍTULO 6:

Caracterización de los recubrimientos optimizados de hidroxiapatita obtenidos por HVOF y propuestas de mejora de la adherencia

6.1	Recubrimientos de hidroxiapatita obtenidos por HVOF	141
6.1.1	Recubrimientos totalmente cristalinos	142
6.1.2	Recubrimientos de cristalinidad gradual	142
6.1.3	Disminución del gradiente térmico entre el sustrato y las partículas proyectadas	142
6.1.4	Utilización de capas de anclaje	142
6.2	Objetivos	144
6.3	Resultados	145
6.3.1	Ampliación de resultados de la caracterización de los recubrimientos de HA obtenidos por HVOF con las condiciones optimizadas y de los totalmente cristalinos	159
6.3.1.1	Difracción de rayos x de ángulo rasante	159
6.3.1.2	Ensayos de inmersión en SBF	160
6.3.1.3	Resistencia al desgaste por fricción	162
6.3.2	Resultados de las propuestas para mejorar la adherencia	163
6.3.2.1	Tratamientos térmicos	163
6.3.2.2	Recubrimientos de cristalinidad gradual	163
6.3.2.3	Calentamiento previo del sustrato	165
6.3.2.4	Capas de anclaje	168
6.3.3	Adherencia de las propuestas de mejora tras inmersión en SBF	178
6.4	Discusión de resultados	181
6.4.1	Comparación de los recubrimientos de HA obtenidos por APS y HVOF	181
6.4.2	Propuestas de mejora de la adherencia	185
6.5	Conclusiones del capítulo	191
6.6	Referencias	193

CAPÍTULO 7:

Evaluación y comparación de la respuesta biológica de recubrimientos de hidroxiapatita por proyección térmica de alta velocidad (HVOF)

7.1	Introducción	195
7.2	Objetivos	197
7.3	Resultados	198
7.4	Discusión de resultados	227
	7.4.1 Morfología celular	227
	7.4.2 Viabilidad y proliferación celular	229
	7.4.3 Diferenciación celular y actividad osteoblástica.	229
7.5	Conclusiones del capítulo	231
7.6	Referencias	232

CAPÍTULO 8:

Recubrimientos de titania nanoestructurada y titania nanoestructurada con hidroxiapatita mediante proyección térmica por alta velocidad

8.1	Introducción	233
8.2	Objetivos	237
8.3	Resultados	238
8.4	Discusión de resultados	277
8.5	Conclusiones del capítulo	281
8.6	Referencias	283

CAPÍTULO 9:

Conclusiones **285**

ANEXO I **289**

