

Diferencias estructurales entre la hidroxiapatita biogénica y sintética determinadas por técnicas fisicoquímicas

Cap. 1/o. C.D. Mario Francisco Salinas-Nolasco,* Cap. C.D. Reyna Sánchez-Cruz,*

M.C. Manlio Flavio Salinas-Nolasco,** Dra. Laura E. Vargas-Ulloa***

Escuela Militar de Odontología-Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México.

RESUMEN

Antecedentes. El diente es una estructura biogénica, y es a partir del conocimiento que se tiene de éste, que se intenta obtener materiales propios para una restitución o sustitución eficiente en la práctica odontológica. La compatibilidad biológica entre materiales sintéticos y naturales es el objetivo después de conocer las propiedades de las sustancias y generarlas a partir del entendimiento de la biomineralización.

Objetivo. Analizar algunas propiedades de la hidroxiapatita natural, a partir del esmalte dental, con la idea de apreciar las diferencias sustanciales con respecto a su contraparte sintética.

Método. Estudio observacional prospectivo, en el cual se midieron algunas propiedades de una muestra de hidroxiapatita dental y otra sintética, a través de la potenciometría, adsorción de nitrógeno, espectroscopia infrarroja (FTIR), espectroscopia Raman, difracción de rayos X (XRD) y dispersión de rayos X a ángulos pequeños (SAXS).

Resultados. Se observan diferencias notables entre una y otra, donde sobresale la naturaleza prácticamente lisa, forma laminar y capacidad electrófila de la hidroxiapatita dentaria, en contraste con la rugosidad marcada, forma esférica y capacidad nucleófila de la hidroxiapatita sintética, propiedades que se reflejan en la resistencia o integridad.

Conclusión. Existen diferencias fisicoquímicas sustanciales entre la hidroxiapatita natural respecto a la hidroxiapatita sintética.

Palabras clave: hidroxiapatita, diente, material biogénico, biomineralización.

Introducción

La *hidroxiapatita* es el mayor componente inorgánico de los huesos y órganos dentarios, además de encontrarse presente en conchas (exoesqueletos) de invertebrados marinos (moluscos). En tales materiales *biogénicos*, el so-

Structural differences between biogenic and synthetic hydroxyapatite determined by physical-chemical techniques

SUMMARY

Background. The tooth is a biogenic structure and from its knowledge an efficient restitution or substitution from biogenic materials in dentistry practice is obtained. The biological compatibility between synthetic and natural materials is the objective after the knowledge of the properties of the substances to produce the biomineralization.

Objective. To analyze some properties of natural hydroxyapatite, from dental enamel to appreciate the great differences of the synthetics form.

Method. An observational and prospective study was done through the measure of the properties of two samples, dental and synthetic hydroxyapatite, through a potentiometry, nitrogen adsorption, Fourier transformed infrared (FTIR), Raman spectroscopy, X rays diffraction (XRD), small angle x ray scattering (SAXS).

Results. The samples observed had notable differences between them where natural smooth, laminal form and electrophile capacity of the dental hydroxyapatite against the wrinkled mark, spherical form and nucleophile of synthetic hydroxyapatite, the properties that reflects on the resistance or integrity.

Conclusion. There are substantial differences of the physical and chemical properties of natural hydroxyapatite as compared to the synthetic hydroxyapatite.

Key words: Hydroxyapatite, tooth, biogenic material, biomineralization.

porte es carbonato de calcio (CaCO_3), aunque no resulta claro el porqué el fosfato de calcio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ es el principal constituyente. Presumiblemente existe una especificidad química, biológica y mecánica que favorece un mineral sobre el otro dependiendo del estado evolutivo del organismo.¹

* Egresado de la Escuela Militar de Odontología, Ciudad de México. ** Maestro en Ciencias de la Universidad Autónoma Metropolitana.

*** Doctora en Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Profesora A.T.C. de la Escuela Militar de Odontología.

Correspondencia: Dra. Laura Vargas Ulloa

Escuela Militar de Odontología. Batalla de Celaya 202, Col. Lomas de Sotelo, C.P. 11200, México, D. F. Tel.: 5520-2591

Recibido: Julio 29, 2003.

Aceptado: Diciembre 26, 2003.

El mundo está lleno de materiales inorgánicos especializados, conchas, corazas, caparazones, espinas, hueso, son unos cuantos dentro de la vasta variedad de la ingeniería mineral biológica creados por las criaturas vivientes. La mayoría de éstos están contruidos biológicamente por minerales inorgánicos intrínsecamente combinados con polímeros o moléculas orgánicas; esta peculiaridad provee a tales estructuras de las formas y las propiedades físicas que los caracterizan.²

La ciencia se interesa por el estudio de los *biomateriales*, debido a su naturaleza estructural bien definida y el alto grado de especialización que presentan para funciones específicas, formas y condiciones de alta resistencia al medio, como parte de los seres vivos. Los dientes humanos están formados en su generalidad por este tipo de materiales. Un material *biogénico* es aquella estructura inorgánica generada a partir de un ser vivo, dentro de sus propios procesos de desarrollo, adaptación, crecimiento y formación.³

Los esfuerzos dirigidos a encontrar materiales con las características adecuadas para la restauración o sustitución de tejidos duros de los dientes en los seres humanos, han determinado no sólo la necesidad de conocer y comprender tales materiales, sino que, además, constantemente se elaboren nuevas tecnologías para perfeccionarlos y dotar a los cirujanos de biomateriales ideales que cumplan con las exigencias más modernas y eficientes de este campo.⁴

Los alentadores resultados obtenidos en el mundo con la aparición de diversos materiales *bioactivos* han sido asombrosos, pues poseen la capacidad de establecer intercambios químicos y de formar enlaces interfaciales en el tejido vivo, lo que favorece los procesos de integración y formación de nuevo tejido, por lo cual éstos han tenido gran desarrollo y aplicación en los últimos años.⁵

El propósito del presente proyecto fue localizar las diferencias más significativas fisicoquímicas de la hidroxiapatita biogénica, a partir del esmalte del diente humano, y contrastar esas propiedades con una contraparte de referencia que fue la hidroxiapatita comercial o sintética, aparentemente de composición química semejante, pero de origen artificial.

Esta investigación proporciona cierta información relevante acerca de las grandes diferencias que existen entre ambos compuestos, lo que se ve reflejado en la práctica, en una deficiente *biocompatibilidad* en procesos de restitución.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos, es posible dirigir futuros esfuerzos en la investigación y desarrollo de nuevos materiales que se correspondan adecuadamente con las propiedades de la hidroxiapatita dentaria y optimizar los procesos restaurativos en la práctica odontológica.

Material y método

El estudio observacional prospectivo fue realizado en la Escuela Militar de Odontología en coordinación con la Universidad Autónoma Metropolitana. El estudio se llevó a cabo en el ciclo escolar 2002-2003.

Material

Se utilizaron 10 g de hidroxiapatita comercial de marca Aldrich, grado reactivo 99% de pureza y 10 g de esmalte dental humano en polvo.

El esmalte dental humano se obtuvo de premolares extraídos por razones ortodóncicas, dientes normales, sin caries ni obturaciones, de pacientes adultos jóvenes entre 18 a 25 años de edad, escogidos aleatoriamente.

Método

Los dientes se lavaron y limpiaron con acetona, se pulverizaron hasta alcanzar un diámetro de partícula de 10 µm. Se prepararon pastillas comprimidas de 1 cm de diámetro por 1 x 1 cm de espesor para las mediciones experimentales.

Técnicas químicas

Espectroscopia infrarroja

Determina los modos normales de vibración, que se detectan por picos en frecuencias específicas.

Espectroscopia Raman

Polariza la muestra, proporciona información sobre la presencia de sustancias que afectan las propiedades del sólido.

Potenciometría

Consiste en la medición del pH (potencial de hidrógeno), a través del tiempo o diversas condiciones de temperatura.

Técnicas físicas

Difracción de rayos X

Determina si la muestra es cristalina o no, es posible determinar la forma geométrica de la red e identificar las caras que tiene.

Dispersión de rayos X a ángulos pequeños

Detecta la morfología de superficie, la forma de los granos o partícula y la cantidad de electrones superficiales.

Adsorción de nitrógeno

Determina el área superficial de un mineral, así como la distribución de poros además de algunos parámetros morfológicos de superficie.

Tipos y paquetes estadísticos utilizados en el estudio fueron el Origin 6, Math lab 6 y Excel.

Resultados

Análisis potenciométrico

La hidroxiapatita natural (HA-N) que regula el pH del medio acuoso hacia pH mayores, presenta una superficie nucleofílica y una cinética compleja en dos pasos, lo que se ve reflejado en una baja solubilidad. En cambio, la hidroxi-

patita sintética (HA-S), regula el pH del medio acuoso hacia pH menores, presenta una superficie electrofílica y una cinética en un solo paso, además es más soluble que la HA-N (Figura 1).

Absorción de nitrógeno

La superficie de la HA-N es casi lisa, sin poros significativos. La HA-S tiene una superficie rugosa, con poros acotados y área específica característica de un polvo policristalino (Figura 2).

Difracción de rayos X

Ambas muestras son sólidos policristalinos con estructura cristalográfica semejante que corresponde al patrón de una hidroxiapatita pura, con el mismo plano de clivaje preferencial. La HA-N no presenta el plano [012] y sus picos

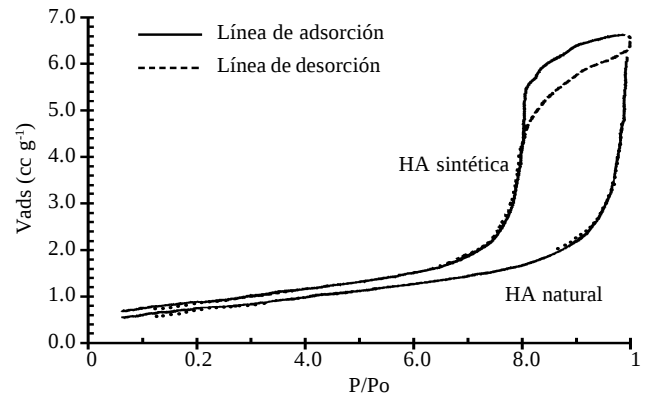


Figura 2. Isotermas para la HA-N e HA-S medidas a partir de la absorción de nitrógeno a 77 k.

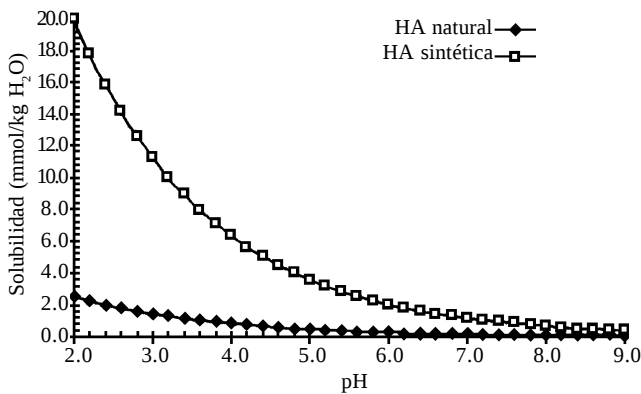


Figura 1. Solubilidad de la HA-N y la HA-S a diferentes pH en solución acuosa.

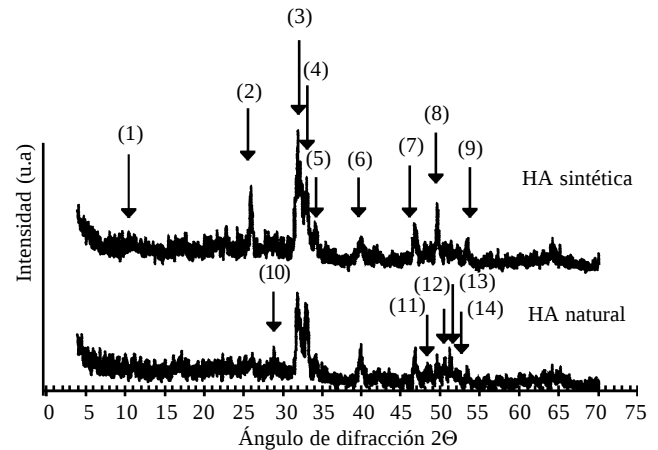


Figura 3. Difractogramas de la HA-N y la HA-S, identificándose los picos de intensidad.

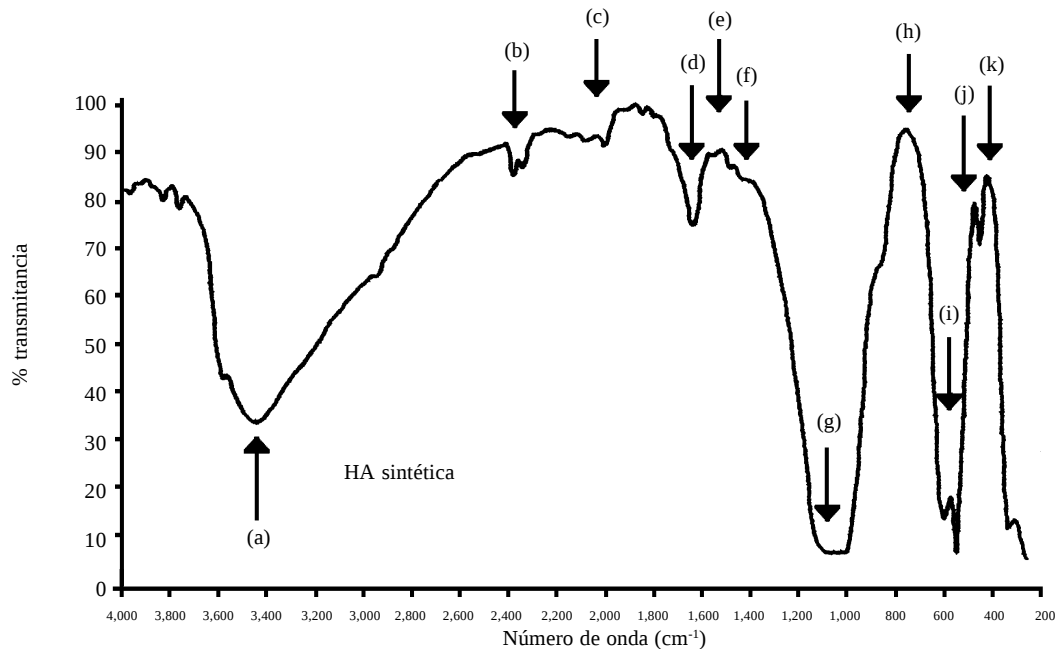


Figura 4. Espectro infrarrojo para la HA-N a 298.15K (25 °C).

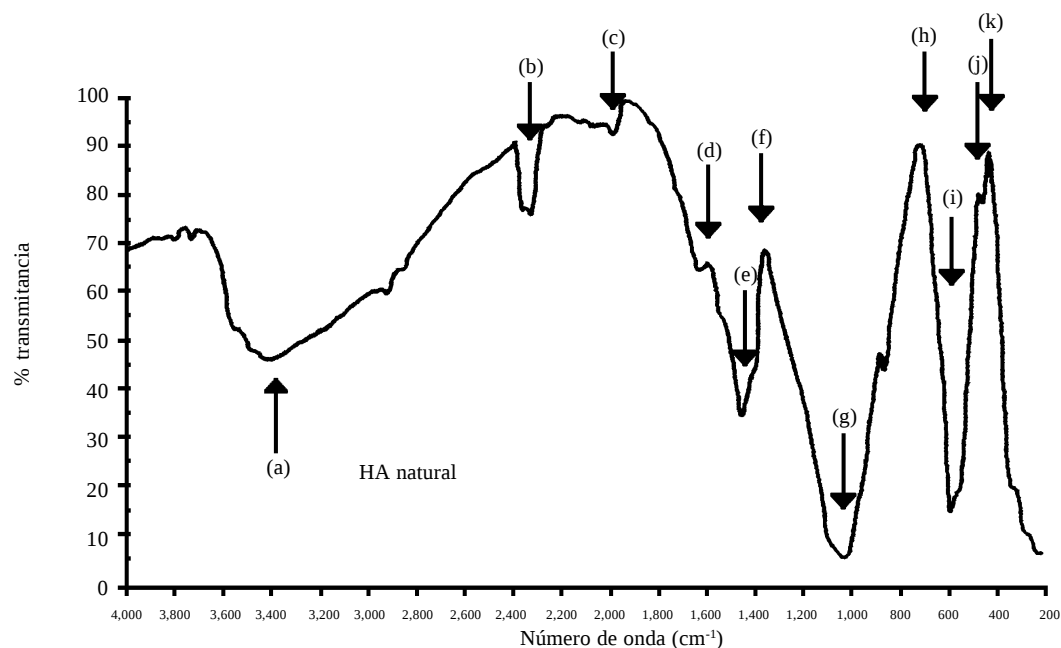


Figura 5. Espectro infrarrojo para la HA-N a 298.15K (25 °C).

son atenuados con respecto a la HA-S, lo que indica una superposición de sustancias en dichos planos (presencia de marices orgánicas en el seno de la estructura cristalina) (Figura 3).

Espectroscopia infrarroja

La composición elemental química coincide en ambos casos, pero los movimientos vibracionales se ven acentuados en la HA-N, por algún efecto de influencia o empaquetamiento interno, a diferencia de la HA-S (Figuras 4 y 5).

Espectroscopia Raman

Ambas muestras presentan la propiedad de termoluminiscencia, característica de la hidroxiapatita, pero la HA-N lo presenta atenuado en comparación de la HA-S. Esto se debe a la presencia superficial e interna de compuestos que disminuyen la capacidad de polarizabilidad de la estructura (Figura 6).

Dispersión de rayos X a ángulos pequeños

La forma característica de una partícula de HA-N es laminar, a diferencia de la esférica que presenta la HA-S. Esto coincide con las características de nucleación que cada uno presenta, dependiendo del medio en que se desarrollen (Figura 7).

Análisis estadístico de la morfología superficial

Es posible aplicar un poco de estadística para destacar las propiedades superficiales de la hidroxiapatita natural, en comparación con la hidroxiapatita sintética. Como se vio anteriormente, la técnica de adsorción de nitrógeno nos proporcionó los valores de área específica superficial y tamaño de poro (o de partícula). Éstos son valores promedio entre el

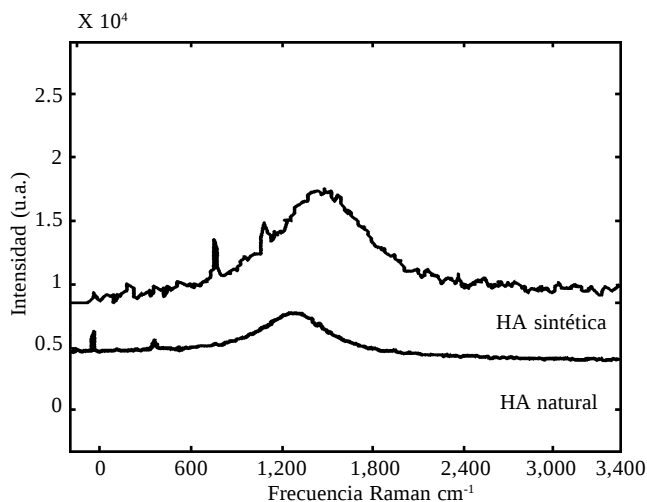


Figura 6. Espectro Raman de la HA-N y la HA-S realizada a 298.15 K (25 °C).

intervalo de valores que pueden tener los poros en una distribución. Se observa en la figura 8 que las distribuciones de tamaño se pueden ajustar estadísticamente a una *distribución tipo normal o gaussiana*.²⁴

La distribución de poros más detallada nos muestra una distribución tipo *Pareto* o *ley de potencia*, típico del desarrollo de poros grandes a expensas de los pequeños en el crecimiento cristalino. Si consideramos los poros como esféricos, es posible establecer el número de poros totales a partir del volumen total adsorbido obtenido de la isoterma de adsorción, suponiendo como aproximación que dicho volumen representa únicamente el volumen poroso. Por otro lado, mediciones sobre el tamaño de los agregados policristalinos confirman que el tamaño pro-

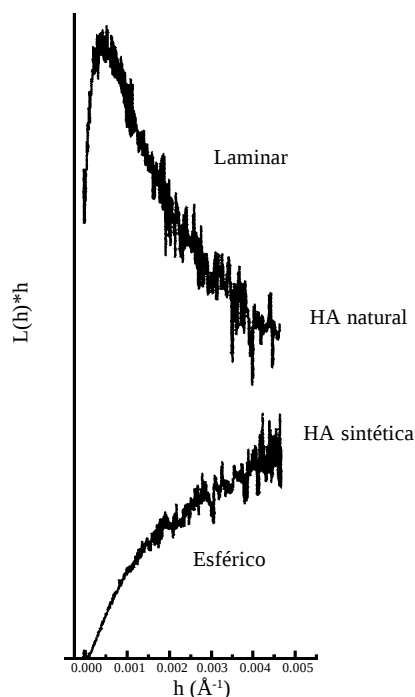


Figura 7. Diagrama de Kratky para la determinación de la forma de las partículas de la HA-N e HA-S.

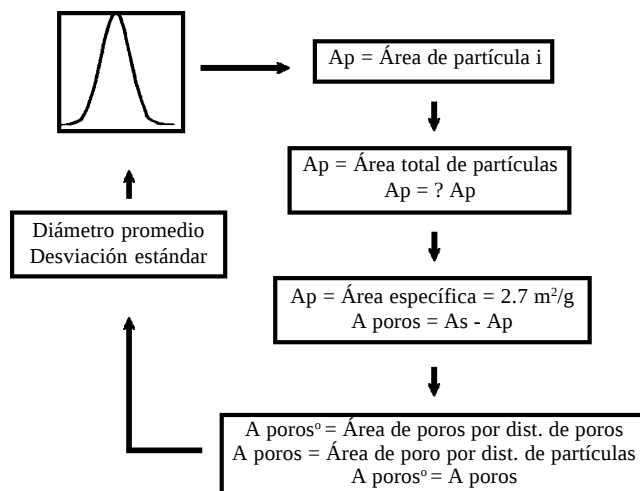


Figura 9. Diagrama de flujo para el cálculo interactivo del tamaño promedio de partícula y la desviación estándar, a partir de una distribución gaussiana.

en el presente trabajo. Solamente en lo referente al estudio de espectroscopia infrarroja, espectroscopia Raman y difracción de rayos X, en donde se pudo corroborar aspectos como los espectros estudiados a través de las bandas típicas de vibración, las cuales fueron muestras de hidroxiapatita, y la concordancia con las tablas respectivas de la literatura revisada.

La espectroscopia Raman reveló propiedades de termoluminiscencia y polarizabilidad en una superficie sólida, en lo que se refiere a la difracción de rayos X nos indicó que en un determinado plano de cleavaje preferencial (030) presentan los mismos planos identificados por los picos y al compararlos con las tablas respectivas resultaron ser casi similares.

En lo que se refiere a las mediciones potenciométricas, absorción de nitrógeno y dispersión de rayos X a ángulos pequeños, los resultados obtenidos en nuestro estudio son nuevos y de mucha relevancia, ya que no se reporta en la literatura consultada este tipo de observaciones. Tomando en cuenta que los resultados varían de una solución a otra, ya que cada muestra es diferente.

Conclusión

Analizando por varias técnicas experimentales las características estructurales de dos diferentes hidroxiapatitas (natural y sintética), es posible apreciar las diferencias sustanciales que se presentan entre ellas, considerando que tales propiedades determinan el comportamiento físico y químico del mineral ante determinadas condiciones del medio, es de vital importancia establecer la relación entre esas diferencias y las características deseadas en el sólido.

Resulta difícil explicar los mecanismos por los cuales se conforma una estructura dentaria a partir de los elementos simples como el Ca, P, O e H, pero conociendo las propiedades que posee en forma de hidroxiapatita, es posible discernir cuáles son las características deseadas en una estructura obtenida sintéticamente, con fines de sustitución o complemento.

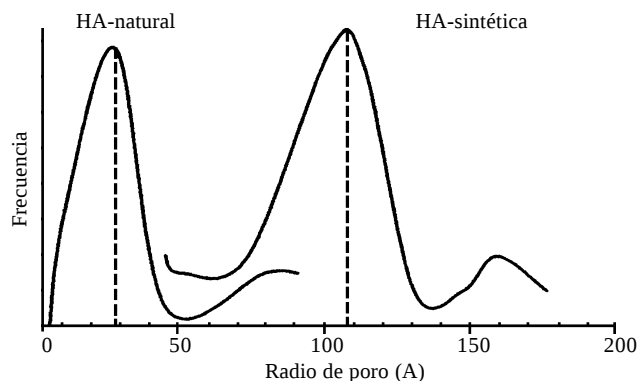


Figura 8. Distribución de tamaño de poros (o partícula) para la hidroxiapatita natural y sintética, obtenida por absorción de nitrógeno a 77 K y el método BET.

medio de partícula resulta de 10 nm en promedio para hidroxiapatita sintética, además que su forma se considera esférica idealmente.

Proponiendo una distribución normal de tamaño de partículas, es posible calcular el diámetro promedio, la desviación estándar y el intervalo de tamaños. Estos resultados quedan restringidos a una condición geométrica simple: el área de las partículas en su totalidad más el área de los poros debe ser igual al área específica experimental (Figura 9).

Discusión

Existen pocas investigaciones en la bibliografía consultada donde se hace mención acerca de los estudios propuestos

Así, a partir de una muestra comercial de hidroxiapatita sintética, se establecieron las diferencias fisicoquímicas entre la hidroxiapatita natural (esmalte), con el objetivo de conocerlas mejor y contrastar porqué no se ha encontrado un sustituto ideal del esmalte, a pesar de tener el compuesto sintético con la misma composición química que la natural.

El desarrollo de nuevos compuestos para uso odontológico no sólo debe considerar la composición química como parámetro de afinidad con la estructura dentaria, sino que además existen múltiples factores adicionales que tienen que ver más con la morfología de la superficie y la estructura cristalina. Este problema es aún más complicado de resolver, debido a que la compleja especialización de los biomateriales sólo es explicada por el alto grado de refinamiento y evolución de los organismos vivos a través del tiempo. Los biomateriales son estructuras sólidas de gran especificidad, que aún hoy, sorprende por su enorme eficiencia. De aquí que igualar a la naturaleza implica dotar a los materiales artificiales de un conjunto de propiedades notables y de gran versatilidad.

Con lo anterior, se puede apreciar que existen más diferencias que coincidencias entre ambas muestras. Lo interesante radica en tener estas conclusiones como punto de partida en la consideración de nuevos materiales de uso odontológico. En este trabajo se propone para un posterior proyecto, que estas diferencias pueden ser salvadas o reducidas a partir de un principio superficial, es decir, encontrar la sustancia que a través de la absorción pueda cambiar la carga de la superficie, disminuir la rugosidad, cerrar algunos poros, y en consecuencia, se disminuye la cinética de disolución y la solubilidad, y los cambios sustanciales sólo se aprecian a nivel interfacial, quedando el interior del mineral sin cambio.

Finalmente, se puede concluir que se cumplieron los objetivos establecidos en el principio de este trabajo, dejando claro que la HA-N efectivamente presenta diferencias fisicoquímicas sustanciales con respecto a la HA-S.

Referencias

- Lowenstam Heinz A. Science minerals formed by organisms. *Science* 1981; 211:
- Man S. Molecular recognition in biomineralization: review article. *Nature* 1998; 332: 10.
- Man S. Molecular tectonics in biomineralization and biomimetic materials chemistry. *Review Article* 1993; 365: 499-505.
- Legeros RZ. Calcium phosphates in oral biology. New York: Monographs in Oral Science; 1991.
- Man S. Mineralization in biological systems. *Inorganic chemistry laboratory*; 1983.
- Coleman ML. Microbial processes: controls on the shape and composition of carbonate concretions. *Marine Geology* 1993; 113: 127-40.
- Heuer AH, Fink DJ, Laraia JL, Calvert PD, Kendall K, Messing GL, Blackwell J, Rieke PC, Thompson DH, Wheeler Ap, Caplan AI. Innovative materials processing strategies: a biomimetic approach. *Science* 1992; 255: 1098-105.
- Stupp SI, Braun PV. Molecular manipulation of microstructures: biomaterials, ceramics and semiconductors. *Science* 1997; 277: 1242-8.
- Mann S, Ozin GA. Synthesis of inorganic materials with complex form. *Nature* 1996; 382: 313-18.
- Albeck S, Alzenberg J, Addadi L, Weiner S. Interactions of various skeletal intracrystalline components with calcite crystals. *J Am Chem Soc* 1993; 115: 11691-7.
- Lazzari EP. Composición química de los dientes. 9a. edición. Edit. Interamericana; 1978, p. 66-7.
- Figun ME, Garindo RR. Anatomía odontología funcional y aplicada. 3a. Edición. Buenos Aires: Editorial Ateneo; 1978, p. 208-9.
- Williams EJC. Bioquímica dental básica y aplicada. 2a. Ed. México: Edit. El Manual Moderno; 1990, p. 315.
- Alcántara J, Rodríguez CM. Caracterización del esmalte dental humano por microscopía electrónica de transmisión. Tesis (Cirujano Dentista). México, D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México; 1993 p. 104.
- González TA, Madrigal CA. Análisis estructural y químico del esmalte dental humano por técnicas de microscopía electrónica. Tesis de Licenciatura en Odontología UNAM, 1994.
- Bres EF, Barry JC, Hutchinson JL. An structural basis for the caris dissution of the apatite crystals of human tooth enamel. *Ultramicroscopy* 1984; 12: 367.
- Vargas Ulloa L. Análisis estructural y químico de la línea oscura de los granos del esmalte dental humano por medio de microscopía electrónica. Tesis de Maestría, Facultad de Odontología UNAM, 1997.
- Ayuso Arce AMN. Esmalte dental en niños, adolescentes y adultos: Caracterización por técnicas de microscopía electrónica. Tesis de Maestría en Odontología, UNAM, 1999.
- Bigéard L, Hemmerle J. Two site model of human dental enamel. *J Dent Child* 1996; 63(1): 2233-41.
- Ichijo T, Yamshita Y, Trashima T. Observation on structural features and characteristics of biological apatite crystals. Observation on lattice imperfection of human tooth and bone crystals II; *Bull. Tokyo Med Dent Univ* 1993; 40: 193-205.
- Orban S. Histología y embriología. 6a. Ed. México, D. F.: Edit. Prensa Médica Mexicana; 1986.
- Ham D, Histología. 9a. Edic. Canadá: Editorial Harla; Facultad de Medicina de la Universidad de Toronto, Canadá; 1988.
- González TA, Madrigal C. Análisis estructural y químico del esmalte dental humano por técnicas de microscopía electrónica. Tesis de Licenciatura en Odontología, UNAM; 1994.
- Apoulis A. Probability, random variables, and stochastic processes. 3a. Ed. NY, EUA: Mc Graw Hill; 1991.