

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 799 449**

51 Int. Cl.:

A61L 27/32 (2006.01)

A61L 27/56 (2006.01)

A61L 31/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.05.2016 PCT/IB2016/052566**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.11.2016 WO16178174**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.05.2016 E 16731655 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2019 EP 3291850**

54 Título: **Método para fabricar un implante óseo e implante obtenido**

30 Prioridad:

05.05.2015 PL 41223815

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

17.12.2020

73 Titular/es:

**INSTYTUT WYSOKICH CISNIEN POLSKIEJ
AKADEMII NAUK (100.0%)
Ul. Sokolowska 29/37
01-142 Warszawa, PL**

72 Inventor/es:

**SWIESZKOWSKI, WOJCIECH;
CHUDOBA, TADEUSZ;
KUSNIERUK, SYLWIA;
KEDZIERSKA, ALEKSANDRA;
WOZNIAK, BARTOSZ;
HIGUCHI, JULIA;
SMOLEN, DARIUSZ;
PIETRZYKOWSKA, ELZBIETA;
LOJKOWSKI, WITOLD;
WOJNAROWICZ, JACEK;
GEDANKEN, AHARON;
LOCS, JANIS;
ZALITE, VITA;
PILMANE, MARA y
SALMA, ILZE**

74 Agente/Representante:

CASTELLET I TORNE, Mari Angels

ES 2 799 449 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para fabricar un implante óseo e implante obtenido

5 SECTOR DE LA TÉCNICA

La invención se refiere a un método de producción de implantes óseos con carácter de estructura de soporte, recubiertos al menos parcialmente por una hidroxiapatita sintética, e implantes óseos para su uso en cirugía ortopédica, cirugía de trauma (traumatología) e implantología regenerativa, que favorecen o aceleran la regeneración del tejido óseo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 En medicina, especialmente en ortopedia, odontología y traumatología, y en el tratamiento de defectos óseos causados por la extirpación de tumores, se utilizan implantes, también conocidos como matrices para la regeneración del tejido óseo, con el fin de inducir o acelerar la regeneración de los tejidos óseos por el organismo; tejido perdido como resultado de un trauma, cirugía de extirpación de cáncer, cirugía ortopédica, cirugía dental, extracción dental, otras causas, o mejoras estéticas. Para la producción de estos implantes se utilizan diferentes tipos de biomateriales sintéticos (metales, cerámicas, materiales sintéticos: polímeros, compuestos) así como materiales naturales. Deben cumplir una serie de criterios, entre los que se incluyen la ausencia de toxicidad para el organismo, el reemplazo adecuado del volumen óseo que falta y las propiedades mecánicas apropiadas. Concretamente, una característica muy valiosa de esos materiales es su biorreabsorción.

En la actualidad, hay muchos métodos de tratamiento para pequeños defectos en los huesos, pero todavía no se conoce ninguna solución para casos de gran pérdida de tejido (la denominada pérdida crítica). Para rellenar la cavidad y favorecer la regeneración ósea activa se debe crear una matriz (implante), que rellene el espacio de la pérdida ósea y transfiera la tensión mecánica, permitiendo que el tejido óseo rellene gradualmente el espacio vacío. Lo preferible es que el implante se reabsorba con el tiempo, permitiendo así que todo el espacio se rellene de tejido óseo nuevo. Otro criterio es garantizar el flujo de células y nutrientes del torrente sanguíneo a través del material de las matrices. También se realizan determinadas modificaciones en las superficies de los implantes para acelerar la regeneración de la pérdida sustancial de tejido.

Para garantizar la eficacia del implante óseo, es importante utilizar las capas superficiales de un implante que contenga fosfatos de calcio. Hasta un 70% del hueso natural (dependiendo del tipo de tejido óseo) está formado por una materia inorgánica, compuesta en gran parte por hidroxiapatita depositada en forma de cristales. La hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ es uno de los principales minerales del cuerpo humano. Es la responsable de la dureza y la fuerza de los huesos y los dientes. En el cuerpo humano la hidroxiapatita se presenta en forma de cristales con estructura laminar, de 2 nm de grosor, 25 nm de ancho y 50 nm de largo. [M. Sadat-Shojai, M.-T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi, A. Jamshidi "Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures", Acta Biomaterialia, vol. 9, 2013, págs. 7591-7621]. La hidroxiapatita es un material ampliamente utilizado en las cirugías ortopédica, maxilofacial y de implantes, entre otras cosas para la producción de capas de implantes destinadas a la regeneración ósea.

50

Una nueva posibilidad de favorecer o acelerar la regeneración del tejido óseo es la nanotecnología, un campo en el que las propiedades de los materiales conocidos cambian de manera sorprendente, así como su tamaño, que va desde 1 a 100 nm.

- 5 La publicación WO2011/022642 expone el recubrimiento de implantes óseos con una capa porosa compuesta de hidroxiapatita y dióxido de zinc, de un tamaño superior a 50 nm.

10 La publicación WO2013/112743 describe un implante con islas de hidroxiapatita de un grosor medio de 45-70 nm, si bien se proporciona información sobre el tamaño de las nanopartículas de hidroxiapatita y la proporción molar de calcio y fósforo.

15 En la especificación de la patente US6129928 se presentan capas de fosfato de calcio de nanoestructura indeterminada y grosor de 2-30 μm , aplicadas a implantes. Algunas de las desventajas del método de recubrimiento de implantes son el complejo proceso de fabricación de varias etapas y el considerable grosor de las capas obtenidas.

20 En la especificación de la patente US5441536 se expone un método para producir capas de hidroxiapatita en implantes médicos mediante un tratamiento hidrotérmico a temperaturas superiores a 100 °C; sin embargo, en la patente no se especifica la estructura resultante de las capas obtenidas. El recubrimiento obtenido por este método se caracteriza por un grosor medio de 50 μm y una tendencia a la deslaminación cuando está sometido a tensión. La publicación WO2002/078759 describe una capa bioactiva compuesta por las diferentes fases del fosfato de calcio. La composición se basa en fosfatos de calcio amorfos y nanocristalinos que forman una capa porosa con un grosor de 0,1 a 50 μm y una densidad de poros entre 10^4 y $10^8/\text{mm}^2$. Esta capa puede ser una fuente de iones de calcio, que son necesarios para la formación activa del hueso. La proporción de calcio y fósforo en toda la superficie de la subestructura oscila entre 0,5 y 2. La desventaja del método descrito es la necesidad de formar poros en la capa. En la publicación se menciona la presencia de hidroxiapatita nanocristalina en la capa, sin embargo, no se dan datos importantes en cuanto a la nanotecnología, como el tamaño y la distribución de la cristalita, y su estructura. Además, el fosfato de calcio y la hidroxiapatita representan solo entre el 1 y el 40% del recubrimiento óseo. Tampoco hay información sobre el recubrimiento de matrices porosas.

35 La publicación CN101703798 expone el recubrimiento mediante descargas electrostáticas. La capa así obtenida está formada por nanopartículas de hidroxiapatita en una cantidad entre el 70 y el 90%, y el aditivo de fibras de seda en una cantidad del 10 al 30% en peso. Sin embargo, no se especifican el grosor de la capa ni su estructura. La publicación US2011/0281127 expone un método de fabricación de una capa de hidroxiapatita con un grosor de 30 a 50 nm. Se ha demostrado una biocompatibilidad óptima, confirmada en ensayos celulares, en las capas formadas por partículas de menos de 50 nm de diámetro, preferiblemente 30 nm. Sin embargo, no se ha especificado la eficacia real de dichas capas.

45 En el artículo de revisión "Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and Methodologies" [Materials Science and Engineering R 66 (2009) 1-70] S.R. Paital y N. Dahore describen varios métodos de producción de capas de fosfato de calcio en implantes para la regeneración ósea, especialmente los metálicos, hechos principalmente de aleaciones de titanio. Esta publicación expone, entre otras cosas, varios tipos de depósito de la fase de vapor de la familia PVD (depósito físico por vapor) o de la familia CVD (depósito químico por vapor), por ejemplo, el método IBAD (depósito asistido por haz de iones) mediante haz de iones. Se describen también los procesos de pulverización de plasma (depósito por pulverización de plasma); tecnologías de láser PLD

(depósito por láser pulsado); tratamiento electroquímico de superficies, por ejemplo MAO (oxidación por micro arco); depósito por pulverización de átomos/iones en un campo magnético (depósito por pulverización de magnetrón); método de fusión directa por láser; un método sol-gel; y también la producción de soluciones que simulan los fluidos fisiológicos (fluidos fisiológicos simulados, SBF). Muchos de estos métodos solo se pueden utilizar para producir capas sobre materiales resistentes a temperaturas superiores a 200 °C, lo que excluye su uso con la mayoría de los plásticos. De los métodos mencionados anteriormente, solo se pueden utilizar PVD, sol-gel y SBF a temperaturas inferiores a 200 °C. En el caso de los dos últimos, se requiere una mayor activación de los materiales de la superficie para permitir que el proceso posterior de nucleación se desarrolle más eficazmente, y para reforzar la conexión entre la subestructura y la hidroxiapatita.

En la publicación WO2012/110816 se expone un ejemplo de la aplicación del método de pulverización de plasma para recubrir el implante de plástico. Este método supone la formación de la capa de transición, por ejemplo de titanio, y luego el depósito de la capa adicional de material polimérico o cerámico, por ejemplo la hidroxiapatita. El material de la subestructura debe ser resistente a temperaturas superiores a 200-250 °C (por ejemplo, PEEK, PAEK, poliamida). La capa exterior de la hidroxiapatita se puede aplicar mediante pulverización de plasma o por galvanoplastia. La ventaja de este método es la buena adhesión de las capas a la subestructura, pero su desventaja es la necesidad de la capa metálica de transición y una temperatura de proceso superior a 200 °C. No se ha especificado ninguna información sobre la estructura y el grosor de esta capa.

Otro método para producir una capa de hidroxiapatita se denomina método "capa por capa" (LBL). Con este método se fabrica el compuesto, formado por capas alternas de quitosano con hidroxiapatita, y ácido poliacrílico (PAA). Este método se encuentra en N. Shah, J. Hong et al. "Osteophilic multilayer coatings for accelerated bone tissue growth" [Adv Mater., 15 de mayo de 2012; 24 (11): págs.1445-50], donde se aplica la capa adicional que contiene factores de crecimiento, como la rhBMP-2. La ventaja de este método radica en la obtención de una capa homogénea que contiene diversos tipos de sustancias activas. El proceso se lleva a cabo a temperatura ambiente. Para la aplicación a escala industrial es necesaria la inmersión múltiple del material en una suspensión. Esto alarga la duración del proceso y aumenta la posibilidad de contaminación. En el documento "The future of biological coatings for orthopaedic implants" [Biomaterials, vol.34, publicado el 13 de abril de 2013, págs. 3174-3183] S. Goodman y Z. Yao explican que la resistencia mecánica de esta capa es insuficiente en términos de su adhesión a la subestructura, lo cual es un inconveniente. En la publicación de A.Oyane, C.Choong, J.Triffitt "Simple surface modification of poly (ϵ caprolactone) for apatite deposition from simulated body fluid" [Biomaterials, vol. 26, publicado el 15 de mayo de 2005, págs. 2407-2413] se describe un método de producción de capas de O-hidroxiapatita mediante su precipitación en una solución que estimula los fluidos del cuerpo humano. El material a recubrir es una matriz de policaprolactona (PCL), realizada mediante una técnica de impresión tridimensional (modelado por depósito fundido, FDM). Además, la matriz se sumergió en SBF durante 14 días, durante los cuales creció la capa de fosfato de calcio. La capa obtenida estaba compuesta de hidroxiapatita. En el documento de T. Kokubo "Formation of biologically active bone-like apatite on polymers and metals by a Biomimetic process" [Thermochimica Acta, vol. 280-281, julio de 1996, págs. 479-490] se describe una técnica similar. La desventaja de este método es la duración del proceso, así como unión débil entre el polímero y el material cerámico. En las micrografías SEM (microscopía electrónica de barrido), se aprecian grietas y defectos de la capa, en el lugar donde la capa se ha desprendido de la subestructura. La especificación de la patente US8075562 expone la aplicación del mismo método. El método presentado se

refiere a la obtención de las capas de la subestructura mediante la inmersión del material polimérico para el recubrimiento en una solución de fluidos fisiológicos simulados (SBF) a la que se añaden factores de crecimiento óseo, por ejemplo la e-BMP-2, y un implante listo en forma de un tornillo de polímero recubierto con una capa de hidroxiapatita. La tecnología presentada proporciona una capa homogénea, que contiene hidroxiapatita ligada químicamente y factores de crecimiento. El inconveniente de esta tecnología es la necesidad de sumergir el material recubierto en una serie de soluciones diferentes, así como el largo tiempo necesario para la preparación de las capas. No se ha especificado ninguna información sobre la estructura de las nanopartículas y las capas.

La publicación EP2251049 presenta un método de producción sobre una subestructura metálica, de una capa de hidroxiapatita formada por colágeno, fosfato de calcio (hidroxiapatita) y opcionalmente algunos factores de crecimiento. Según este método, la subestructura metálica destinada al recubrimiento se inserta en un líquido que contiene colágeno o se recubre con gotas de dicho líquido. A continuación, se retira el exceso de colágeno y se sumerge la subestructura en una solución metaestable que contiene iones de calcio y fosfato, lo que da lugar a la precipitación de fosfatos de calcio. La desventaja de esta solución es la cantidad de tiempo necesario para preparar el recubrimiento: al menos 12 horas a remojo en una solución de iones de calcio y fosfato, dos horas de congelación y el paso de liofilización de varias horas. Tampoco se proporciona información sobre la estructura de las capas ni las partículas.

La especificación de la patente US6280789 expone una tecnología similar. Presenta la producción de recubrimientos de hidroxiapatita en la superficie de implantes metálicos y cerámicos. El material de la subestructura se sumerge en una solución que contiene calcio, fosfato y bicarbonato, a un pH comprendido entre 6,8 y 8. La solución se calienta a una temperatura de entre 50 y 80 °C, lo que provoca un aumento del pH y la precipitación de hidroxiapatita con adición de iones de hidrogenocarbonato. Los cristales precipitados de hidroxiapatita tienen una longitud de 10 a 40 nm y un ancho de 3 a 10 nm. La ventaja de este método es la corta duración del proceso; sin embargo, la temperatura de proceso relativamente alta que se requiere lo hace inadecuado para las subestructuras de polímeros, especialmente aquellas con baja temperatura de ablandamiento y poca resistencia química.

También se conocen tecnologías para producir capas utilizando la energía de los ultrasonidos. La especificación de la patente US7896539 expone el recubrimiento con fármacos o polímeros de stents (implantes que restauran la permeabilidad de los vasos sanguíneos) utilizando una boquilla ultrasónica para pulverizar el material de recubrimiento. Sin embargo, no hay posibilidad de un recubrimiento uniforme de las subestructuras porosas, y ni siquiera se ha sugerido la posibilidad de recubrimiento con nanopartículas de hidroxiapatita.

En la publicación WO2007/127193 se describe la preparación de las capas de la superficie de los implantes médicos mediante la aplicación electrostática del material de pulverización. Sin embargo, estos métodos se limitan únicamente al recubrimiento de materiales conductores o de materiales cubiertos con una capa conductora previamente añadida. Además, es difícil o imposible cubrir todo el volumen del material debido al pequeño tamaño de los poros y a una geometría complicada. Ni siquiera se ha sugerido la posibilidad de recubrir con nanopartículas de hidroxiapatita.

Muchos de los materiales plásticos utilizados como implantes para la regeneración del tejido óseo son materiales termoplásticos, que pueden ser moldeados por extrusión o inyección. Las

temperaturas a las que pueden formarse esos materiales se sitúan en torno a los 100 °C o incluso menos.

5 Por ejemplo, el punto de reblandecimiento de la policaprolactona está en torno a los 60 °C. Por este motivo, el proceso de aplicación de la capa de este material en un implante requiere temperaturas por debajo de las temperaturas de reblandecimiento para evitar distorsiones o daños. La publicación US2011/097957 describe un método de aplicación ultrasónica de óxidos metálicos (CuO, ZnO, MgO) en el tejido, con el fin de conferirle propiedades antibacterianas, mientras que la publicación US2011/300767 expone un método de adhesión ultrasónica al
10 tejido de las microesferas de proteína que contenga alguna sustancia, por ejemplo un fármaco, que luego se libere en el medio ambiente. Ninguna de las dos publicaciones indica nada acerca del recubrimiento de los implantes óseos con hidroxiapatita. En la publicación JP2013022234 se describe un método para obtener una capa de hidroxiapatita en una subestructura de material termoplástico aplicando en la subestructura las partículas de hidroxiapatita, que se mezclan con el material después de calentarse por encima de la
15 temperatura de reblandecimiento. La eficacia del recubrimiento se comprueba sometándolo a ultrasonidos a una frecuencia de 38 KHz durante un periodo de 10 minutos; conviene apuntar que los ultrasonidos empleados aquí no se utilizan en el proceso de recubrimiento. No se proporciona ninguna información sobre la nanoestructura de hidroxiapatita utilizada. La publicación KR101005499 expone un método de endurecimiento de la superficie de los
20 stents tridimensionales y la aplicación de sustancias medicinales en su superficie mediante cavitación ultrasónica en un líquido en el que se sumerge el stent. Tampoco hay directrices en esta solución acerca del uso de ultrasonidos para obtener capas de hidroxiapatita.

25 La solicitud de patente polaca P.396906 expone una nanolámina sintética de hidroxiapatita con una estructura hexagonal y un tamaño promedio de partícula comprendido entre 3 y 30 nm. La proporción molar de calcio y fósforo (Ca/P) de esta nanolámina oscila entre 1,55 y 1,65. El nanopolvo que se describe está destinado a rellenar cavidades no deseadas del tejido óseo, pero no hay directrices en cuanto a la aplicación del nanopolvo para la
30 producción de implantes y capas de implantes.

La solicitud de patente polaca P.399701 describe un implante óseo formado por un nanopolvo de hidroxiapatita sintética compactado a alta presión, que tiene una estructura hexagonal con un tamaño promedio de partícula comprendido entre 3 y 30 nm, y una
35 superficie específica superior a 200 m²/g. Este informe no contiene ninguna directriz acerca del recubrimiento duradero con este polvo de implantes óseos espacialmente complejos, en concreto los de alta flexibilidad.

40 La publicación de I. Salma et al., "First results of the bone tissue morphological evaluation after implan- tation of new polymer and tricalcium phosphate scaffolds coated with resorbable nano hydroxyapatite" [Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine 8, 409-410] expone los resultados de los ensayos de recubrimiento de matrices porosas con nanohidroxiapatita mediante ultrasonidos. Sin embargo, esta publicación no proporciona ningún detalle acerca del recubrimiento ni de las propiedades del recubrimiento obtenido, a
45 pesar de que es sabido que, en nanotecnología, las propiedades de las nanopartículas dependen en gran medida de su tamaño, forma, composición química de las moléculas adheridas a la superficie, y estructura interna de estas.

50 En su publicación "Ultrasonic coating technique of a polymer scaffold for bone implant applications" [European Cells and Materials, vol. 26, supl. 2, 2013, pág. 17] A. Kędzińska et al. describen matrices para la regeneración del tejido óseo realizadas mediante el depósito en

las matrices de polímeros de las capas de nanohidroxiapatita, con estructura laminar y tamaño de 5 a 30 nm, mediante ultrasonidos. Esta publicación no contiene información sobre la composición química de la hidroxiapatita utilizada, ni sobre los tipos de fenómenos físicos que se producen durante la sonicación, así como el posible impacto de la estructura obtenida en los procesos de regeneración del tejido óseo. Esto es muy importante, ya que estos fenómenos, como bien sabe todo especialista en los procesos que ocurren cuando el tamaño de las partículas de la materia es inferior a 100 nm, son muy impredecibles y dependen en gran medida del tamaño de las nanoestructuras; del mismo modo, desde el punto de vista físico y químico, un material con un tamaño de partículas de 70 nm puede tener propiedades totalmente diferentes a las de un material con un tamaño de partículas de 20 nm.

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

El objetivo de la invención es obtener un implante óseo eficiente que estimule el crecimiento del hueso, así como un método rápido y sencillo de fabricación de estos implantes.

Este objetivo se debe alcanzar siguiendo el método objeto de la invención, que consiste en depositar una hidroxiapatita sintética en una estructura de soporte mediante la inmersión de la estructura de soporte en un líquido fuente de esta hidroxiapatita. Se caracteriza por el hecho de que la estructura de soporte del implante se sumerge en primer lugar en una suspensión compuesta por una fase líquida, preferiblemente agua, que contiene una fase dispersa de partículas de hidroxiapatita sintética con un tamaño promedio de partícula no superior a 100 nm (preferiblemente no superior a 30 nm). A continuación, en una parte de la suspensión que está en contacto con la estructura de soporte se induce la cavitación ultrasónica. La estructura de soporte se inmoviliza en la suspensión y se induce la cavitación ultrasónica mediante un objeto vibrador sumergido en la suspensión cerca de la estructura de soporte inmovilizada del implante. El objeto vibrador tiene una superficie frontal vibradora y durante la cavitación la distancia de la superficie frontal vibradora respecto a la superficie de la estructura de soporte es constante y no superior al 200% del diámetro de la superficie frontal vibradora, preferiblemente alrededor del 100%.

Para la preparación de la fase dispersa se utilizan las partículas de hidroxiapatita, que contienen agua estructural en una cantidad del 2 al 6% en peso y una proporción molar de calcio y fósforo (Ca/P) mayor de 1,55 y menor de 1,67.

En otra realización del método objeto de la invención, se induce la cavitación mediante un objeto sumergido en la suspensión cerca de la estructura de soporte del implante y provocando vibraciones a una frecuencia entre 18 a 40 kHz, preferiblemente a una frecuencia de 20 kHz.

En otra realización del método objeto de la invención, la relación de peso de la fase dispersa de la suspensión (3) está entre el 0,01% y el 2%, preferiblemente entre el 0,1% y el 0,5%.

En otra realización del método objeto de la invención, la temperatura de la suspensión no supera los 100 °C y, preferiblemente, es inferior a 40 °C.

En otra realización adicional del método objeto de la invención, la duración del estado de cavitación varía de 1 a 30 minutos y, preferiblemente, no supera los 15 minutos.

El implante objeto de la invención tiene una estructura de soporte recubierta, al menos parcialmente, con una hidroxiapatita sintética. Se caracteriza por el hecho de que el

recubrimiento de hidroxiapatita sintética de la estructura de soporte se encuentra en forma de partículas con un tamaño promedio de partícula superior a 100 nm, preferiblemente no superior a 30 nm, sometidas a cavitación ultrasónica. El grosor de este recubrimiento es de 50 nm a 1000 nm, preferiblemente de 50 nm a 300 nm.

5

Las partículas de hidroxiapatita contienen agua estructural en una cantidad del 2 al 6% en peso y una proporción molar de calcio y fósforo (Ca/P) mayor de 1,55 y menor de 1,67.

El recubrimiento cubre al menos el 80% de la estructura de soporte.

10

En otra realización del implante objeto de la invención, la estructura de soporte está hecha de un material polimérico o cerámico.

En otra realización del implante objeto de la invención, la estructura de soporte está hecha de material polimérico con una porosidad que oscila entre el 40% y el 80% y puede estar compuesta de fibras poliméricas.

15

En otra realización adicional del implante objeto de la invención, la estructura de soporte está hecha de material cerámico y se caracteriza por una microporosidad estructural que oscila entre el 25% y el 75%, preferiblemente del 50%. La estructura de soporte cerámica del implante puede estar hecha de fosfato de calcio β -TCP.

20

El implante objeto de la invención se puede fabricar mediante el método objeto de la invención descrito anteriormente.

25

El implante objeto de la invención está recubierto con una hidroxiapatita que estimula muy eficazmente la proliferación celular y el crecimiento del tejido óseo en el cuerpo. Los resultados de los ensayos *in vivo* con conejos indican que al menos el 25% de los poros de un implante de este tipo y al menos el 10% del volumen de pérdida ósea, se rellenan con nuevo tejido óseo tres meses después del implante. Este tejido se acumula de manera uniforme y se caracteriza por la buena calidad que se observa en el contenido de proteínas, la actividad celular, los factores de crecimiento óseo, los índices de distribución tisular y sus inhibidores, y las citoquinas pro y antiinflamatorias. La durabilidad del recubrimiento de hidroxiapatita aplicado mediante el método de la presente invención, incluso a una estructura de soporte del implante no resistente, favorece el ajuste de la forma del implante, por ejemplo cortando o doblando durante la operación, sin perder las propiedades beneficiosas de la superficie.

30

35

La fabricación de un implante mediante un método objeto de la invención también permite un ahorro significativo debido a su corta duración (menos de 60 minutos) y a la baja temperatura del proceso (menos de 100 °C), así como a la posibilidad de utilizar una suspensión con baja concentración de hidroxiapatita. La baja temperatura de proceso amplía sustancialmente la gama de materiales adecuados con los que se puede fabricar la estructura de soporte del implante, en particular los materiales que tienen un bajo punto de fusión, que hasta ahora no eran adecuados para tal fin.

40

45

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Los dibujos muestran ejemplos de las diferentes realizaciones de la invención, donde la Fig. 1 es un diagrama de un ejemplo de soporte de trabajo para cubrir una estructura de soporte

50

de un implante con hidroxiapatita. La Fig. 2 muestra imágenes de microscopía (SEM) del implante de la primera realización tomadas en tres aumentos diferentes. La Fig. 3 muestra una imagen SEM de la estructura de soporte de polímero no recubierta del primer ejemplo de los ensayos *in vivo*, mientras que la Fig. 4 muestra una imagen de microscopía del implante con la estructura de soporte recubierta con GoHAP en el ensayo similar utilizando un modelo animal. La Fig. 5 muestra imágenes de microscopía (SEM) de la segunda realización en tres aumentos diferentes. La Fig. 6 muestra una imagen de microscopía de la estructura de soporte de cerámica de la segunda realización después del ensayo *in vivo*, mientras que la Fig. 7 muestra una imagen de microscopía de dicho implante con la estructura de soporte recubierta con GoHAP después de un ensayo *in vivo* similar. La Fig. 8 muestra imágenes de microscopía (SEM) del implante de la tercera realización en tres aumentos diferentes.

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

La invención se describirá más detalladamente en los siguientes ejemplos de realización. En estos ejemplos se utilizó un nanopolvo de hidroxiapatita, bajo el nombre comercial GoHAP, con las siguientes características:

- las partículas de nanopolvo se encuentran en forma de plaquetas con un tamaño promedio de partícula inferior a 30 nm, según el análisis de la imagen obtenida por microscopía electrónica de transmisión (MET) utilizando el campo oscuro para al menos 200 partículas, donde el tamaño medio de las partículas es igual al diámetro del círculo trazado alrededor de la forma de las partículas;
- la proporción de calcio y fósforo (Ca/P) es mayor de 1,55, pero menor de 1,67;
- el nanopolvo contiene agua estructural en una cantidad que oscila entre el 2 y el 6% en peso, y la cantidad de agua viene determinada por la pérdida de peso del nanopolvo durante el calentamiento por encima de 200 °C;
- la solubilidad está determinada por el procedimiento de la norma ISO 10993-14, que oscila entre 5 y 35 mg/dm³.

Ejemplo 1

Implante de polímero poroso

La estructura de soporte 1 del implante se hizo de polímero biodegradable policaprolactona (PCL). Tiene una forma de matriz tridimensional de 4 x 6 mm, hecha de fibras de polímero mediante la tecnología de impresión de "prototipado rápido" espacial que se describe en W. Świążkowski et al., "*Repair and regeneration of osteochondral defects in the articular joints*" [Biomolecular Engineering, 2007 24 (5): págs. 489-95]. La estructura de soporte 1 se caracteriza por una porosidad de aproximadamente el 41%. Como material de recubrimiento de la estructura de soporte se utilizó un nanopolvo de hidroxiapatita GoHAP, con una proporción molar (Ca/P) de 1,65, y un contenido de agua estructural del 5% en peso. Este polvo (en cantidad de 0,1% en peso) se mezcló en el recipiente 2 de 50 ml con agua desionizada para formar una suspensión homogénea 3, en la que la fase externa es el agua y la interna la hidroxiapatita. La estructura de soporte 1 se enjuagó con agua destilada y luego se colocó en el soporte 4 para su inmovilización. El soporte 4 se colocó en el recipiente 2 con la suspensión 3 calentada a 30 °C. Una cabeza de ultrasonido 5 con una superficie frontal (emisora) de 13 mm de diámetro como fuente de ultrasonidos, se conectó a un dispositivo de alimentación 6 y se sumergió en la suspensión 3. La distancia de la superficie frontal de la cabeza 5 y de la estructura de soporte 1 no será superior al 200% del

- diámetro de la superficie de la cabeza, siendo lo óptimo mantener una distancia igual al 100% de su diámetro. Durante los siguientes quince minutos, la cabeza 5 generó ultrasonidos a una frecuencia de 20 kHz. El ultrasonido generado a esta frecuencia indujo un fenómeno de cavitación ultrasónica, es decir, la formación y actividad de burbujas de gas en el líquido expuesto al campo ultrasónico. La cavitación se produjo principalmente en la parte de la suspensión 3 que estaba en contacto con la superficie de la estructura de soporte 1, incluida la suspensión 3 que rellenaba los poros de la estructura de soporte 1. Se confirmó la cavitación mediante la observación del líquido y el control de la temperatura. Para mantener una temperatura estable de la suspensión 3 se utilizó un circuito de refrigeración de flujo 7. Tras desconectar el suministro de energía de la cabeza 4, el implante recubierto 1 se sacó del recipiente 2, se enjuagó con agua destilada y se secó en una cabina de flujo laminar de alta pureza. Estos pasos se repitieron docenas de veces para obtener el número de implantes suficiente para los ensayos *in vitro* e *in vivo*. En base al análisis de la imagen SEM, se constató que la capa de GoHAP aplicada sobre la estructura de soporte 1 tenía unas características morfológicas similares a las del polvo GoHAP inicial (tamaño y forma de las partículas). Se obtuvo el recubrimiento, con un grosor de 200 nm que cubría uniformemente más del 85% de la superficie de la estructura de soporte del implante 1 (Figura 2).
- Los implantes obtenidos se obtuvieron primero en ensayos celulares *in vitro*. Se utilizó la línea celular MG-63 (osteosarcoma) y el medio de cultivo D-MEM suplementado con un 10% de suero bovino fetal. Además del medio celular para las muestras anteriores se añadió penicilina/estreptomicina. La incubación se llevó a cabo en placas de 24 pocillos a 37 °C y un 5% de CO₂ en el ambiente. Las células se separaron del sustrato de incubación con un 0,25% de tripsina/EDTA. Los implantes (matriz) para los ensayos se enjuagaron con PBS (tampón fosfato salino, pH 7.4). A continuación, se implantaron células en las matrices preparadas. Para cada matriz de ensayo se utilizó una concentración de aproximadamente 10⁵ células en 200 ml de medio de cultivo y luego se introdujeron las matrices en la incubadora durante una hora y media. Transcurrido este tiempo, se añadió el medio a los pocillos para cubrir completamente la muestra. Después, la incubación duró cinco días. Los resultados mostraron que la proliferación celular en la matriz de polímero con la capa de GoHAP era mayor que en la matriz de polímero correspondiente sin esta capa. El análisis del número de células indicó claramente que la matriz de polímero con la capa de GoHAP tiene mejores características para estimular la proliferación celular. Después de cinco días de cultivo, la densidad celular de la matriz de polímero con esta capa era tres veces mayor que en la matriz de polímero sin recubrimiento. Después de cinco días de duración del cultivo, se observó en el microscopio invertido que la confluencia de células en todos los pocillos alrededor del material de ensayo era $\geq 95\%$.
- Los implantes preparados en esta realización también se examinaron *in vivo* utilizando un modelo animal. Se administró anestesia general mediante procedimientos estándar a conejos macho neozelandeses de diez meses de edad, y en este estado se les perforó la tibia y se rellenaron los orificios con los implantes mencionados. Como material de referencia se utilizaron las matrices de polímero descritas anteriormente, limpias, para rellenar los orificios del hueso de la cadera de los sujetos del grupo de control. Una vez completado el implante, se suturó el periostio de todos los animales y se cerró el tejido blando capa por capa con suturas de Vicryl 5-0. Se cosió la piel con suturas de Prolene 4-0 interrumpidas. Se aplicó una vez al día durante 5 días la inyección subcutánea de la solución antibiótica Enrobioflox al 5% (solución de 50 mg/ml), que contenía 5 mg por kilogramo de peso de la sustancia activa Enrofloxacin. Al cabo de tres meses, se llevó a cabo la eutanasia, utilizando procedimientos estándar, de todos los sujetos del estudio, tras

lo cual se recogieron las muestras de tejidos duros y blandos y se examinó su histología y su capacidad para facilitar la regeneración de los huesos. En cada caso se realizó una tinción de rutina con hematoxilina y eosina. La matriz de polímero extraída sin una capa de hidroxapatita se muestra en la sección de la Figura 3, donde hay un espacio para la penetración de la médula ósea roja (BM) alrededor de las fibras (S) de la matriz pura. La Figura 4 muestra el hueso nuevo (NB) relleno de los espacios entre los residuos de las fibras (S) del implante objeto de la invención. El análisis morfométrico de la imagen de la Figura 4 indicó que la proporción de tejido nuevo del espacio poroso del implante con capa de GoHAP fue aproximadamente del 33%, del cual el 35% estaba constituido por el tejido óseo nuevo (NB), mientras que para una matriz (S) sin dicha capa, el crecimiento del tejido óseo fue insignificante.

Ejemplo 2:

15 *Implante de cerámica porosa*

Para producir un implante de cerámica recubierto con una capa de nanopartículas de hidroxapatita se utilizó una estructura de soporte en forma de gránulos de cerámica porosa. Para la producción de los gránulos se utilizó un método de prensado uniaxial del polvo β -TCP con una fuerza de presión de 15 kN. Para la producción de una muestra se utilizaron 3,06 g de polvo. Para lograr la microporosidad estructural se utilizó un método de tratamiento térmico en el que los gránulos se sometieron a 1200 °C durante un periodo de dos horas. A continuación se examinaron los gránulos para detectar signos de porosidad mediante métodos de microtomografía computerizada y el método de Arquímedes. Según los cálculos de la m-CT se alcanzó una porosidad del 49%, mientras que el resultado del análisis por el método de Arquímedes fue del 52% (+/- 2,6%). Los procesos de recubrimiento con GoHAP de la estructura de soporte del implante de cerámica preparado se llevaron a cabo de manera análoga al primer ejemplo, donde se utilizó un nanopolvo con un contenido de agua del 5% en peso. El recubrimiento obtenido tenía un grosor de 250 nm, cubriendo uniformemente más del 80% de la superficie de la estructura de soporte (1) del implante (Figura 5). El material utilizado para el recubrimiento, es decir, el nanopolvo de hidroxapatita GoHAP, se caracterizaba por una proporción molar (Ca/P) de 1,66.

La capa cerámica de los implantes GoHAP se probó *in vivo* utilizando un modelo animal (conejos neozelandeses). El procedimiento de implantación del implante de cerámica, el material comparativo utilizado, la recogida de muestras para el ensayo y la tinción de hematoxilina y eosina se realizaron de manera similar a la del primer ejemplo. Las matrices de cerámica sin capa de GoHAP extraídas después de tres meses se habían rellenado de tejido óseo de manera sustancial (tejido óseo nuevo en la Figura 6). Un análisis morfométrico de las imágenes de estas estructuras reveló que casi el 50% de los poros del implante (matriz) se habían rellenado de tejido óseo. El análisis morfométrico de la imagen de la matriz de cerámica con una capa de GoHAP, que se muestra en la Figura 7, reveló que casi el 70% de los poros de la matriz se habían rellenado de tejido óseo.

45 Ejemplo 3

Implante de metal monolítico

Para producir un implante de metal monolítico se utilizó una estructura de soporte en forma de un tornillo de titanio para artroscopia, de 5 mm de diámetro y 150 mm de longitud. El tornillo se recubrió con una capa de nanopartículas GoHAP por efecto ultrasónico en las

5 suspensiones acuosas que se describen de forma detallada en la primera realización, con un diámetro del polvo no superior a 6 nm, un contenido estructural de agua del 3% en peso y una proporción molar de calcio y fósforo (Ca/P) de 1,60. En base al análisis de la imagen SEM, se constató que el recubrimiento resultante tenía propiedades morfológicas propias del polvo GoHAP inicial. El tornillo de titanio se recubrió con una capa uniforme de hidroxiapatita de 200 nm de grosor, que cubría el 85% de su superficie (Figura 8).

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para fabricar un implante óseo, que consiste en depositar una hidroxiapatita sintética en una estructura de soporte (1), y que incluye un paso de inmersión de la estructura de soporte (1) en una suspensión (3) formada por una fase líquida, preferiblemente agua, que contiene una fase dispersa de partículas de hidroxiapatita sintética con un tamaño promedio de partícula no superior a 100 nm y una proporción molar de calcio y fósforo (Ca/P) mayor de 1,55 y menor de 1,67, y un paso de inducción de cavitación ultrasónica en una parte de la suspensión (3) en contacto con la estructura de soporte (1), **caracterizado porque** para la preparación de la fase dispersa se utilizan partículas de hidroxiapatita que contienen agua estructural en una cantidad del 2 al 6% en peso, la estructura de soporte se inmoviliza en la suspensión (3), la cavitación ultrasónica se induce por medio de un objeto vibrador (5) sumergido en la suspensión (3) cerca de la estructura de soporte (1) inmovilizada del implante, el objeto vibrador (5) tiene una superficie frontal vibradora, y durante la cavitación la distancia de la superficie frontal vibradora respecto a la superficie de la estructura de soporte (1) es constante y no superior al 200% del diámetro de la superficie frontal vibradora, preferiblemente en torno al 100% del diámetro.
- 10
- 15
- 20 2. El método según la Reivindicación 1, **donde** la relación de peso de la fase dispersa de la suspensión (3) es del 0,1% al 0,5%.
- 25 3. El método según la Reivindicación 2, **donde** la temperatura de la suspensión (3) oscila entre los 30 °C y 40 °C.
- 30 4. El método según la Reivindicación 3, **donde** la duración del estado de cavitación oscila entre 1 y 30 minutos y preferiblemente no supera los 15 minutos.
- 35 5. Un implante óseo que tiene una estructura de soporte recubierta al menos parcialmente con partículas de hidroxiapatita sintética con un tamaño promedio de partícula no mayor de 100 nm y una proporción molar de calcio y fósforo (Ca/P) mayor de 1,55 y menor de 1,67, sometido a cavitación ultrasónica, mientras que el grosor del recubrimiento es de 50 nm a 300 nm, **caracterizado porque** las partículas de hidroxiapatita contienen agua estructural en la cantidad de 2% a 6% en peso y el recubrimiento cubre al menos el 80% de la estructura de soporte (1).
- 40 6. El implante según la Reivindicación 5, **donde** la estructura de soporte (1) está hecha de un material polimérico que tiene una porosidad que oscila entre el 40% y el 80%.
- 45 7. El implante según la Reivindicación 6, **donde** la estructura de soporte (1) está hecha de fibras poliméricas.
8. El implante según la Reivindicación 5, **donde** la estructura de soporte (1) está hecha de material cerámico y **se caracteriza por** una microporosidad estructural que oscila entre el 25% y el 75%, preferiblemente del 50%.
- 50 9. El implante según la Reivindicación 8, **donde** la estructura de soporte (1) está hecha de fosfato de calcio β -TCP.

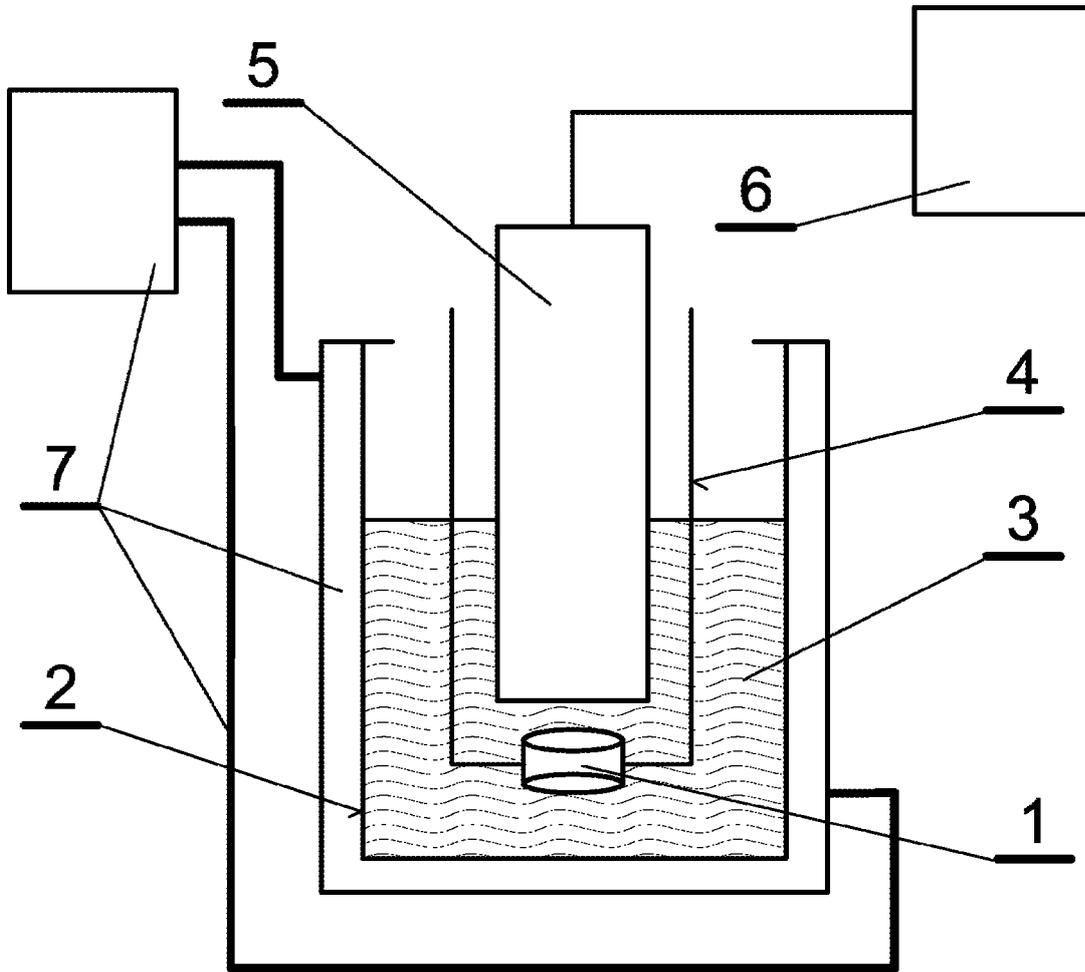


Fig.1

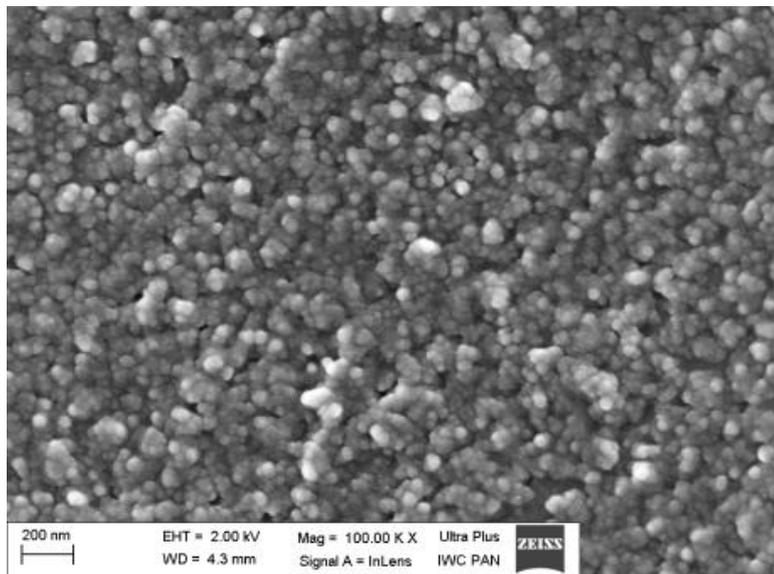
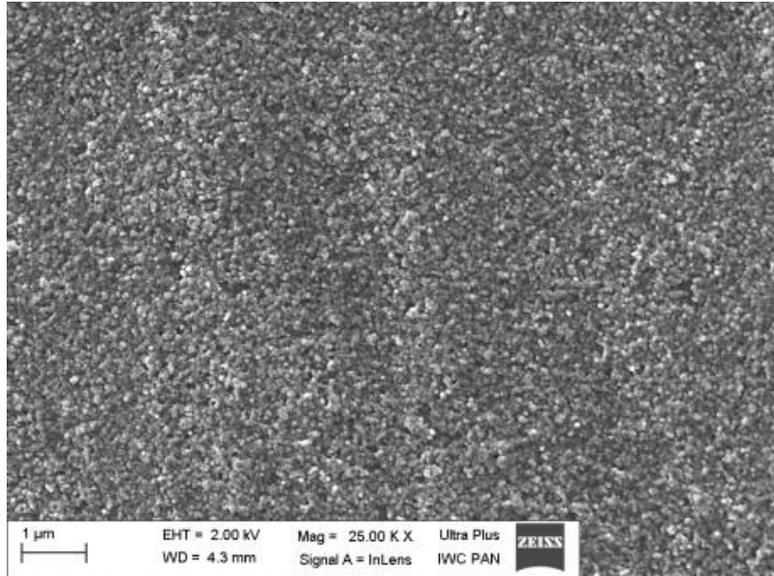
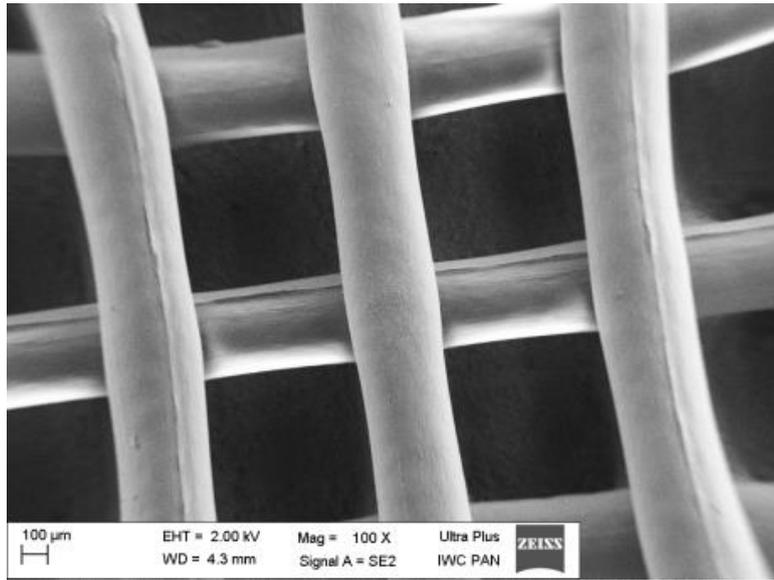


Fig. 2

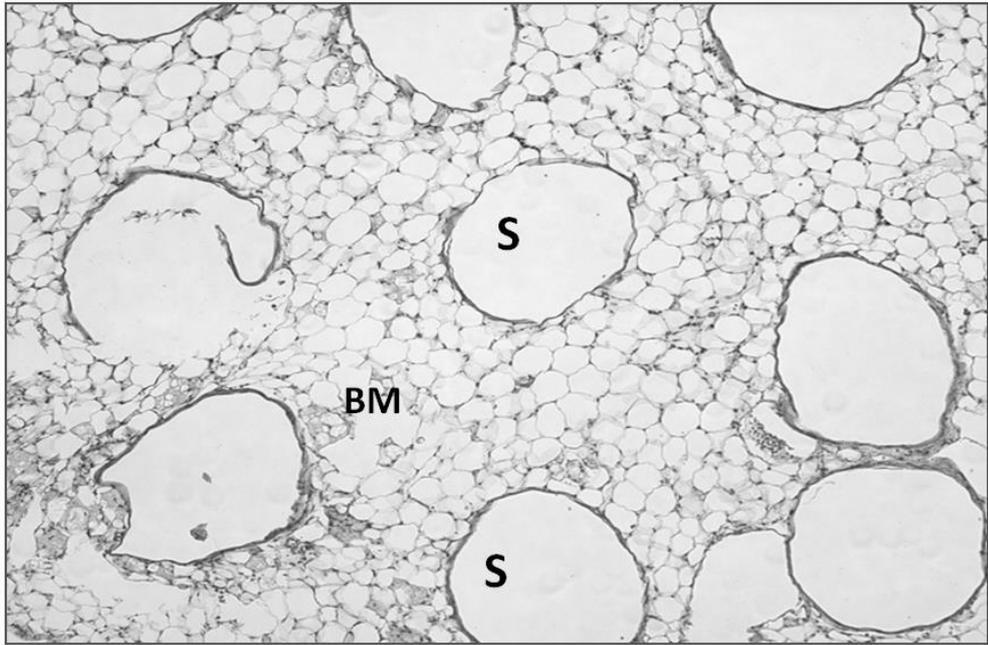


Fig. 3

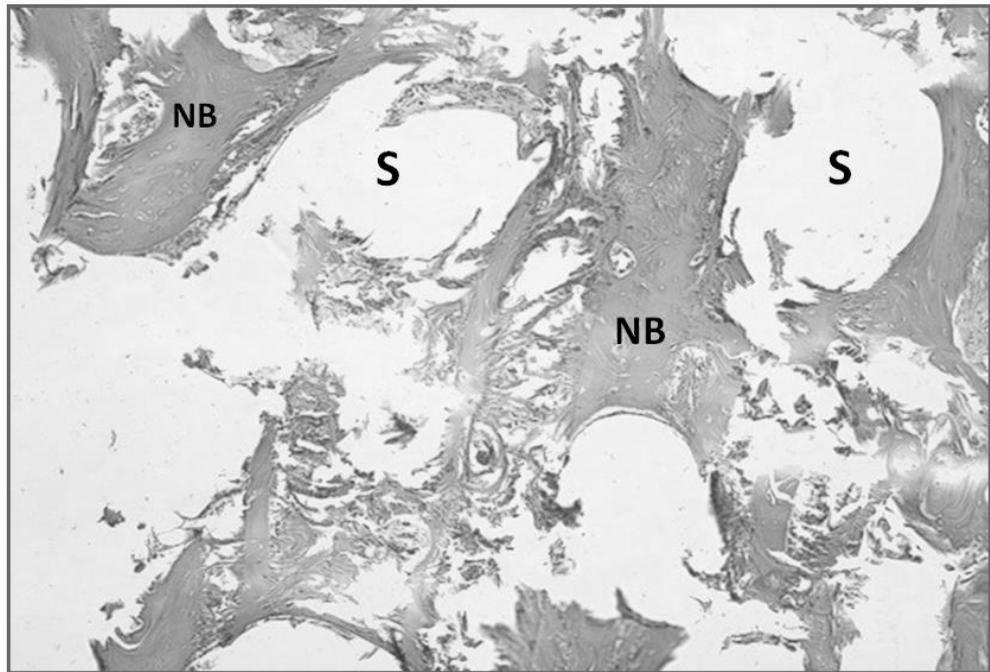


Fig. 4

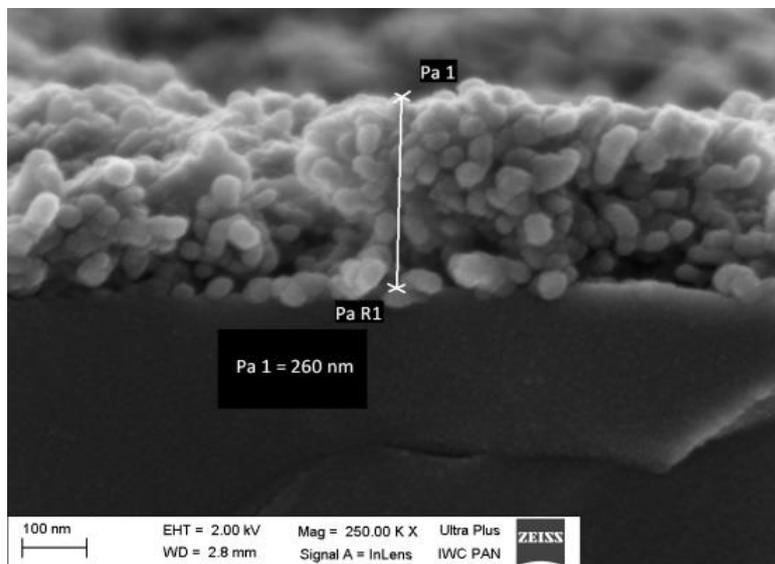
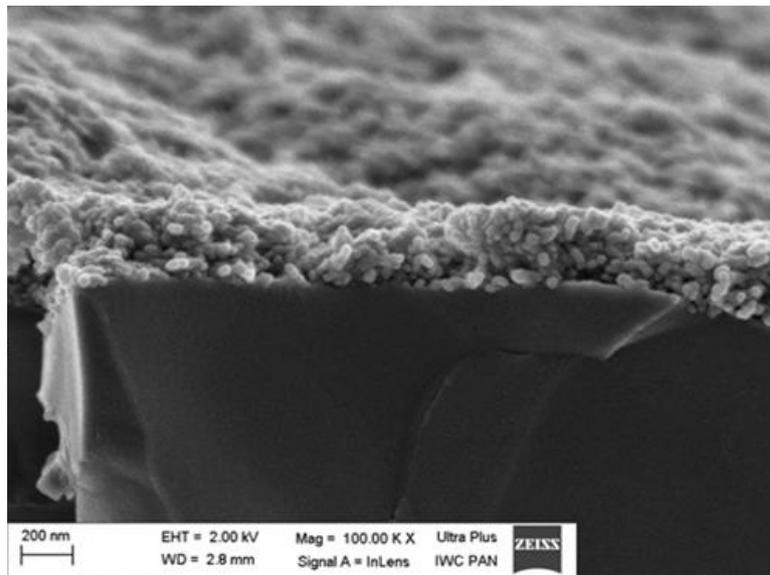
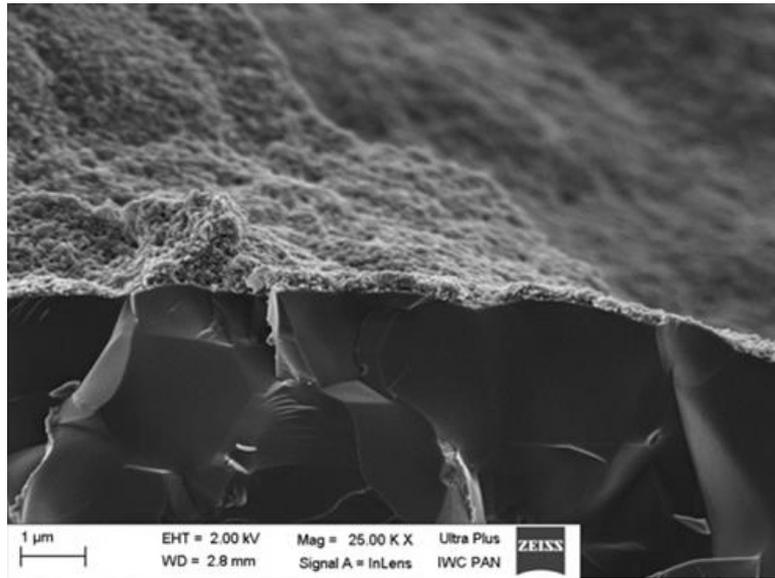


Fig. 5

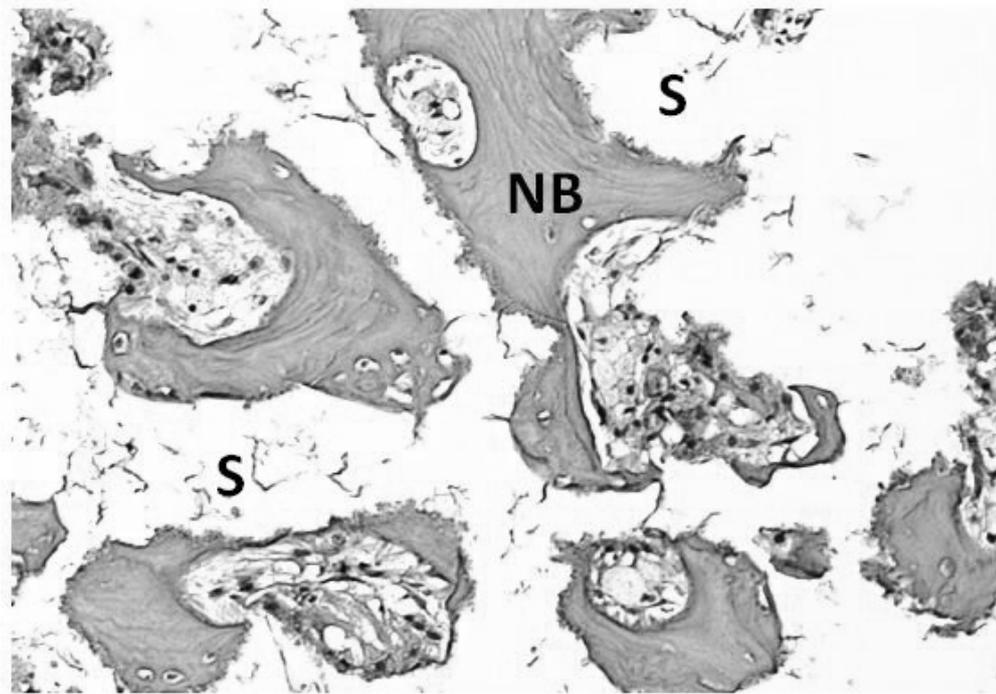


Fig. 6

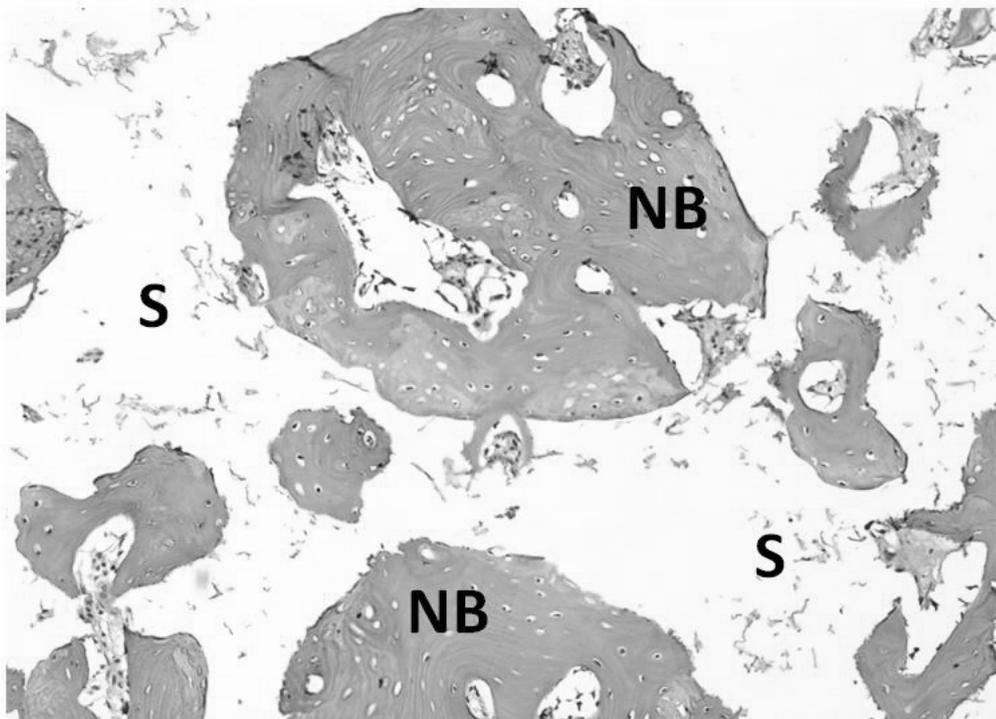


Fig. 7

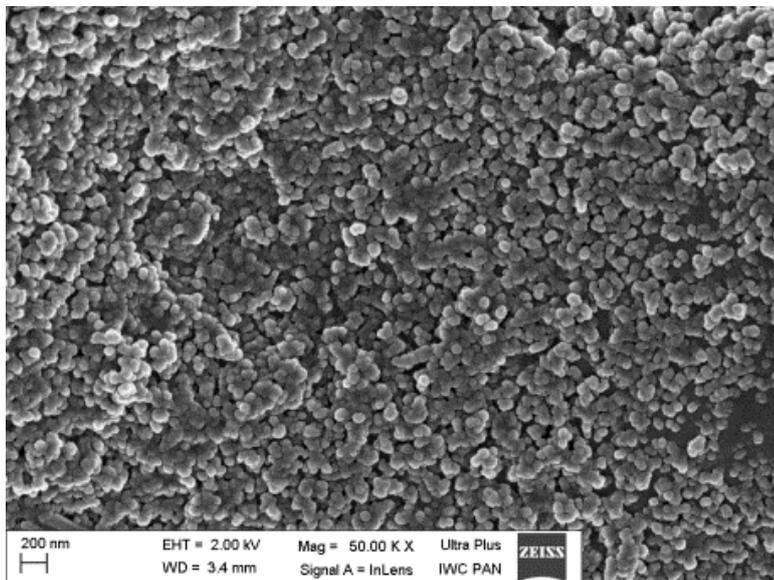
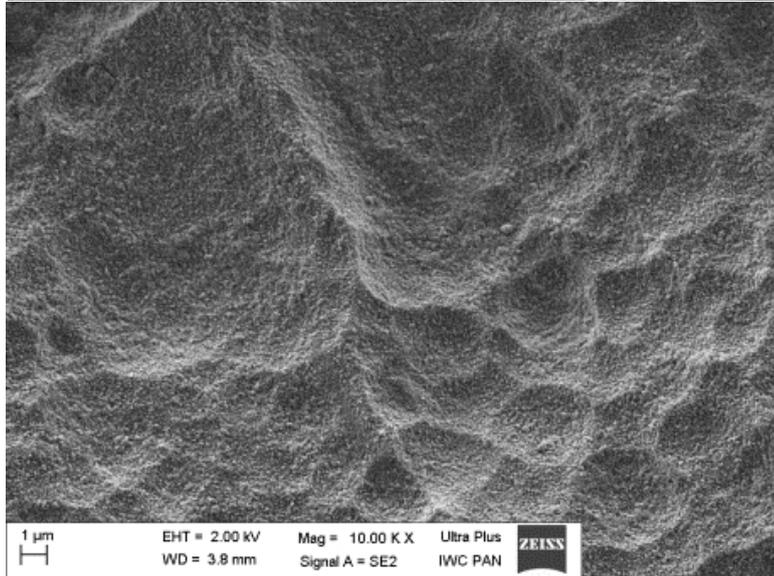
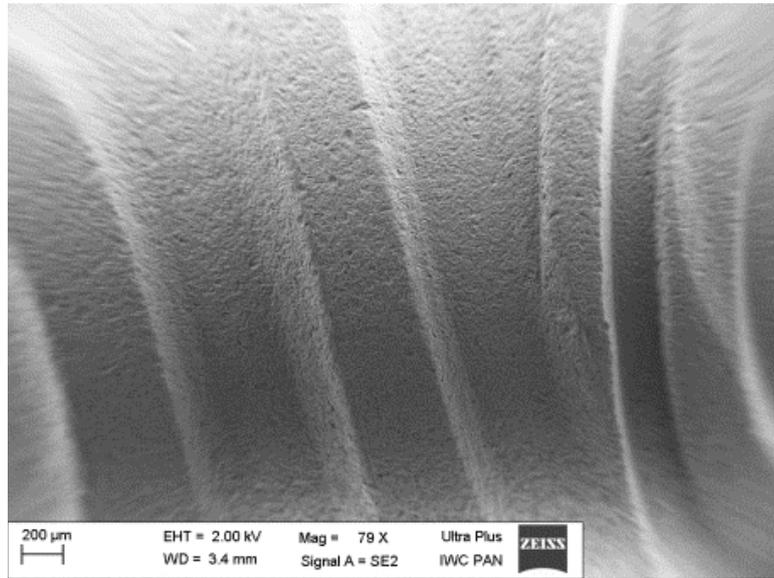


Fig.8