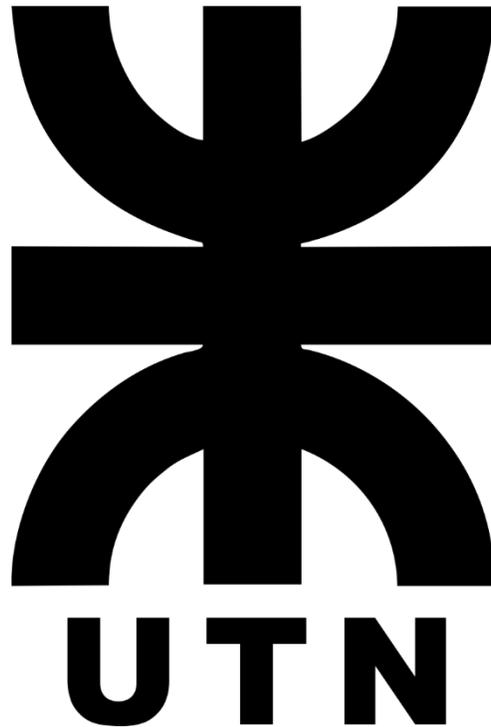


**DESARROLLO DE ESTRUCTURAS POROSAS DE
TITANIO PARA IMPLANTES BIOMÉDICOS
OBTENIDAS POR GEL-CASTING Y SINTERIZACIÓN**



**Universidad Tecnológica Nacional
Facultad Regional Córdoba**

Autor: Ing. Santiago Marcelo Cantero

Director: Dr. Ing. Roberto Oscar Lucci

**Tesis presentada para aspirar al grado de
DOCTOR EN INGENIERÍA, MENCIÓN MATERIALES**

2024

Tribunal nombrado por el Consejo Superior de la Universidad Tecnológica Nacional, resolución N° 1963/2023 el día 4/10/2023.

Jurado: Dra. Eliana VASCHETTO.

Jurado: Dra. Silvia URRETA.

Jurado: Dr. Luis María FABIETTI.

Realizado el acto de defensa y lectura de tesis el día 15 de febrero del 2024, en la Facultad Regional Córdoba de la Universidad Tecnológica Nacional

Calificación:

.....

Jurado: Dra. Eliana VASCHETTO.

.....

Jurado: Dra. Silvia URRETA.

.....

Jurado: Dr. Luis María FABIETTI.

.....

Agradecimientos

Quisiera aprovechar este espacio para expresar mi profunda gratitud a todas las personas que han contribuido de manera significativa en la realización de esta tesis doctoral y a aquellos que me han acompañado a través de este camino.

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia, quienes han sido el pilar fundamental. Su apoyo incondicional, paciencia y amor han sido la fuerza que me impulsó a alcanzar este logro. Cada palabra de aliento y gesto de confianza ha sido el motor para seguir adelante.

No puedo dejar de mencionar a mi director, el Dr. Roberto Lucci, y a mi exdirector, el Dr. Carlos Oldani, cuya guía experta y compromiso incansable fueron esenciales en cada etapa de esta investigación. Sus conocimientos y dedicación no solo fueron un faro en el proceso académico, sino que también inspiraron mi crecimiento como profesional.

Asimismo, quiero expresar mi agradecimiento a los directivos y profesionales de la Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Córdoba. Su apoyo institucional y los recursos brindados fueron fundamentales para llevar a cabo este proyecto de manera exitosa.

A mis amigos, les debo un agradecimiento especial. Su ánimo, comprensión y aliento me ayudaron a seguir adelante, incluso en los momentos más difíciles. Su compañía hizo que cada paso fuera más ligero y significativo.

Finalmente, agradezco a todos aquellos que, de una u otra manera, contribuyeron en este camino. Cada consejo, conversación y gesto de apoyo ha dejado una huella imborrable en este viaje académico. Este logro no solo es mío, sino de todos aquellos que creyeron en mí y me acompañaron en este trayecto.

Gracias, de todo corazón.

Santiago Marcelo Cantero

*“Los imposibles de hoy,
serán posibles mañana.”*

Konstantin Tsiolkovsky (1857-1935)

Resumen

Los problemas degenerativos relacionados con enfermedades óseas, fracturas, y procedimientos quirúrgicos que requieren implantes ortopédicos han impulsado la búsqueda de materiales avanzados que puedan ser implantados en el cuerpo humano para sustituir o reparar tejidos como hueso, cartílago, ligamentos y tendones. El tiempo que transcurre desde la cirugía hasta la fijación efectiva de los implantes oseointegrables es esencial para el éxito de la intervención. Cualquier movimiento inesperado puede conducir a la formación de una cápsula fibrosa alrededor del implante, lo que resulta en una falla prematura. A pesar de la solución que proporciona la cementación de los implantes, para su colocación, esta técnica presenta problemas de incompatibilidad electroquímica y fisuras interfaciales en el cemento. En este contexto, el titanio se ha destacado como un material biomédico prometedor debido a sus excelentes propiedades mecánicas, su biocompatibilidad y su resistencia a la corrosión.

A pesar de lo mencionado, la fabricación de aleaciones de titanio por métodos tradicionales basados en la fusión es compleja y costosa. La alta reactividad del titanio con el oxígeno exige trabajar en condiciones controladas como lo son las atmósferas inertes o bien de alto vacío; lo que ha llevado a la exploración de técnicas alternativas como la pulvimetalurgia. Además, se presenta el desafío de reducir la rigidez del titanio (110 GPa), que es mucho mayor que la del hueso (1 – 30 GPa); lo cual genera un fenómeno conocido como apantallamiento de tensiones que deriva en la degradación del tejido óseo. La introducción de poros en la estructura del material reduce la rigidez de este, permitiendo disminuir el fenómeno mencionado, mejorando a su vez la biocompatibilidad.

Por lo tanto, este trabajo se enfoca en el desarrollo de estructuras porosas de titanio que imiten la arquitectura de los huesos humanos, para su uso en implantes biomédicos, mediante la utilización de la técnica de Gel Casting y Sinterización. Se muestran resultados obtenidos de la fabricación de muestras de titanio a partir de polvos de hidruro de titanio (TiH_2) y polvos de resina acrílica (metil metacrilato de metilo), es decir, por la técnica de gel-casting. Luego del proceso de sinterización, se obtienen estructuras con porosidad uniforme, con porosidad gradual en sentido radial y de manera compuesta, mediante agregados de hidroxiapatita.

Se muestra el estudio de las variables de fabricación de las muestras en verde mediante gel-casting, como lo ser: mezclado de los polvos, formación del barro, colado en el molde y tiempo de secado. Allí, se obtienen muestras en verde con condiciones mecánicas aptas para su manipulación y buena terminación superficial, copiando adecuadamente la geometría del molde. Se presentan estudios de las variables y parámetros del proceso de sinterización, tales como temperatura, tiempo y control de atmósfera. Los mejores resultados, se encuentran a temperatura de 1300 °C, con tiempo de sinterización de 240 minutos, en atmósfera de alto vacío.

En otro orden, se realiza el estudio de descomposición de la hidroxiapatita, según diferentes condiciones de trabajo. Se encuentra que a temperaturas de sinterización de 780 °C y tiempos de 420 minutos, la hidroxiapatita no se descompone y las partículas de titanio se sinterizan correctamente.

Además, se presenta la caracterización de la estructura porosa y sus propiedades mecánicas, obteniéndose porosidades en el rango de 11 % a 91 % de fracción de poro, con tamaños de poro de 3 μm a 195 μm , siendo estos aptos para la regeneración del tejido óseo. En cuanto a las propiedades mecánicas, se presentan resultados de ensayos de compresión uniaxial, con resultados de rigidez de las estructuras porosas, las cuales se adecúan a las características mecánicas del hueso trabecular humano.

Finalmente, se muestran resultados de ensayos in-vitro de citotoxicidad y análisis de morfología y adhesión celular; donde se demuestra la biocompatibilidad del material, destacando la viabilidad celular, la morfología similar a las células en el medio de cultivo suplementado, y la capacidad de adhesión y proliferación celular, tanto en la superficie del material como en el interior de los poros.

Abstract

Degenerative problems related to bone diseases, fractures, and surgical procedures requiring orthopedic implants; have driven the search for advanced materials that can be implanted in the human body to replace or repair tissues such as bone, cartilage, ligaments, and tendons. The time elapsed from surgery to the effective fixation of osseointegrable implants is crucial for the success of the intervention. Any unexpected movement can lead to the formation of a fibrous capsule around the implant, resulting in premature failure. Despite the solution provided by cementing the implants for their placement, this technique presents problems of electrochemical incompatibility and interfacial cracks in the cement. In this context, titanium has stood out as a promising biomedical material due to its excellent mechanical properties, biocompatibility, and corrosion resistance.

However, the manufacturing of titanium alloys through traditional fusion-based methods is complex and costly. Titanium's high reactivity with oxygen requires working under controlled conditions such as inert atmospheres or high vacuum, leading to the exploration of alternative techniques like powder metallurgy. Additionally, there is the challenge of reducing the stiffness of titanium (110 GPa), which is much higher than that of bone (1 – 30 GPa); resulting in a phenomenon known as stress shielding that leads to the degradation of bone tissue. The introduction of pores in the material's structure reduces its stiffness, allowing a decrease in the mentioned phenomenon and improving biocompatibility.

Therefore, this work focuses on the development of porous titanium structures that mimic the architecture of human bones for use in biomedical implants, using the Gel Casting and Sintering technique. Results are presented for the manufacture of titanium samples using titanium hydride (TiH_2) powder and acrylic resin powder (methyl methacrylate), i.e., through the gel-casting technique. After the sintering process, structures with uniform porosity are obtained, with a radial gradient of pore density and composite porosity through the addition of hydroxyapatite aggregates.

The study of the manufacturing variables of the green samples through gel-casting is presented, such as powder mixing, slurry formation, casting in the mold, and drying time. Green samples with suitable mechanical conditions for handling and good surface finish, adequately replicating the mold's geometry, are obtained. Studies of the variables and parameters of the sintering process, such as temperature, time, and atmosphere control, are presented. The best results are found at a temperature of 1300 °C, with a sintering time of 240 minutes, in a high vacuum atmosphere.

Furthermore, the decomposition study of hydroxyapatite is carried out under different working conditions. It is found that at sintering temperatures of 780 °C and times of 420 minutes, hydroxyapatite does not decompose, and titanium particles sinter correctly.

Additionally, the characterization of the porous structure and its mechanical properties is presented, obtaining porosities ranging from 11% to 91% volume pore fraction, with pore sizes from 3 μm to 195 μm , which are suitable for the regeneration of bone tissue.

As for the mechanical properties, results of uniaxial compression tests are presented, with stiffness results of the porous structures, which are suitable for the mechanical characteristics of human trabecular bone.

Finally, results of in-vitro cytotoxicity tests and cellular morphology and adhesion analysis are presented, demonstrating the material's biocompatibility, highlighting cellular viability, a morphology similar to that of cells in the supplemented culture medium, and the capacity for cellular adhesion and proliferation, both on the material surface and inside the pores.

Publicaciones científicas

A continuación, se enumerarán los trabajos y publicaciones derivados de este trabajo de tesis:

- I. Desarrollo y caracterización de estructuras porosas de titanio mediante gel-casting y sinterización para aplicaciones biomédicas
 - Revista: Revista Materia
 - ISSN: 1517-7076
 - DOI: <https://doi.org/10.1590/1517-7076-RMAT-2023-0040>
 - Lugar: Rio de Janeiro, Brasil
 - Autores: S. M. Cantero; C. A. Roure; A. D. Boccardo; P. M. Lerman; R.O. Lucci
 - Fecha: 04/2023

- II. Un modelo Ramberg-Osgood modificado para titanio poroso aplicado a implantes biomédicos
 - Evento: XXXVII Congreso Argentino de Mecánica Computacional
 - Revista: Mecánica Computacional Vol. XXXVIII
 - ISSN: 2591-3522
 - DOI: <http://hdl.handle.net/11336/158067>
 - Lugar: Resistencia – Chaco.
 - Autores: Néstor D. Barulich, Adrian D. Boccardoc, Santiago Cantero, César A. Roure, Roberto O. Lucci.
 - Fecha: 01/11/2021.

- III. Síntesis y caracterización de materiales compuestos por Ti-HAP y Ti-HAP-Poros para aplicaciones como biomateriales
 - Evento: V Jornada de Intercambio y Difusión de los Resultados de Investigaciones de los Doctorados en Ingeniería.
 - Lugar de publicación: AJEA – Actas de Jornadas y Eventos Académicos de UTN.
 - Autores: S. M. Cantero.
 - DOI: <https://doi.org/10.33414/ajea.5.704.2020>
 - ISBN: 978-950-42-0200-4
 - Fecha: 05/10/2020.

- IV. Desarrollo de estructuras porosas de titanio para implantes biomédicos obtenidas por gel-casting y sinterización
 - Evento: IV Jornada de Intercambio y Difusión de los Resultados de Investigaciones de los Doctorados en Ingeniería.
 - Lugar de publicación: AJEA – Actas de Jornadas y Eventos Académicos de UTN.
 - Autores: S. M. Cantero.
 - DOI: <https://doi.org/10.33414/AJEA.4.379.2019>
 - ISBN: 978-987-4998-33-0
 - Fecha: 22/11/2019.

- V. Modelo micromecánico para la predicción del módulo de elasticidad de titanio poroso para implantes biomédicos
- Congreso: XXIV Congreso sobre Métodos Numéricos y sus Aplicaciones – ENIEF 2019.
 - Autores: N. D. Barulich, A. D. Boccardo, S. M. Cantero, C. A. Roure, R. O. Lucci.
 - Publicación con referato.
 - Fecha: 05/11/2019 – 07/11/2019.
- VI. Caracterización de estructuras porosas de titanio obtenidas por gel-casting para uso en implantes biomédicos
- Congreso: 5° Congreso Argentino de Microscopía SAMIC.
 - Autores: S. Cantero, P. Aimaretto, R. Lucci, C. Roure.
 - Trabajo aceptado para presentación en congreso.
 - Fecha: 16/05/2018 – 17/05/2018.
- VII. Desarrollo y caracterización de materiales compuestos de titanio-hidroxiapatita para aplicaciones como biomateriales
- Congreso: 5° Congreso Argentino de Microscopía SAMIC.
 - Autores: R. Lucci, S. Cantero, C. Roure, L. Aldet, B. Estevez.
 - Trabajo aceptado para presentación en congreso.
 - Fecha: 16/05/2018 – 17/05/2018.
- VIII. Desarrollo de biomateriales base titanio activados con hidroxiapatita
- Congreso: 6° Encuentro de Jóvenes Investigadores en Ciencia y Tecnología de Materiales – JIM 2017.
 - Autores: J. Colazo, F. Bocco, S. Cantero, C. Roure, R. Lucci, I. Peveri, L. Aldet.
 - Trabajo aceptado para presentación en congreso.
 - Fecha: 17/08/2017 – 18/08/2017.

Índice

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Introducción..... | 1 |
| 1.1 | Problemática | 1 |
| 1.2 | Biomateriales metálicos..... | 5 |
| 1.2.1 | Titanio..... | 6 |
| 1.2.2 | Porosidad en biomateriales | 10 |
| 1.3 | Fabricación de estructuras porosas de titanio | 11 |
| 1.4 | Biocompatibilidad..... | 12 |
| 1.4.1 | Interacción cuerpo-implante | 13 |
| 1.4.2 | Biocompatibilidad del titanio..... | 14 |
| 1.4.3 | Osteointegración del titanio | 16 |
| 1.4.4 | Superficie del implante y la osteointegración..... | 17 |
| 1.4.5 | Biocompatibilidad en estructuras porosas | 17 |
| 1.5 | Justificación y relevancia de la investigación..... | 18 |
| 2 | Objetivo General..... | 21 |
| 2.1 | Objetivos Específicos..... | 21 |
| 2.2 | Alcance..... | 21 |
| 3 | Materiales y Metodología | 24 |
| 3.1 | Obtención de estructuras de titanio con porosidad uniforme (Ti-Poros) | 24 |
| 3.1.1 | Proceso de Gel-Casting | 24 |
| 3.1.2 | Proceso de sinterización | 30 |
| 3.2 | Obtención de estructuras de titanio con gradiente de porosidad (Ti-GPoros) | 31 |
| 3.2.1 | Proceso de Gel-Casting | 31 |
| 3.2.2 | Proceso de sinterización | 33 |
| 3.3 | Obtención de estructuras titanio-hidroxiapatita porosas (Ti-HAPoros) . | 34 |
| 3.3.1 | Proceso de Gel-Casting | 34 |
| 3.3.2 | Proceso de sinterización | 35 |
| 3.4 | Caracterización metalográfica..... | 36 |
| 3.4.1 | Caracterización visual y macrográfica..... | 36 |
| 3.4.2 | Caracterización micrográfica por microscopía óptica (OM)..... | 36 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.4.3 | Caracterización micrográfica por microscopía electrónica de barrido (SEM) | 37 |
| 3.4.4 | Caracterización micrográfica por microsonda de electrones (EPMA) | 37 |
| 3.4.5 | Caracterización micrográfica digital | 38 |
| 3.5 | Caracterización de la estructura porosa en 3D por microtomografía computarizada | 41 |
| 3.6 | Caracterización mecánica | 45 |
| 3.7 | Caracterización biológica | 46 |
| 3.7.1 | Cultivo celular | 47 |
| 3.7.2 | Ensayo de citotoxicidad | 47 |
| 3.7.3 | Análisis de morfología celular | 47 |
| 3.7.4 | Evaluación de la adhesión celular | 48 |
| 4 | Resultados y Discusión | 50 |
| 4.1 | Estructuras de titanio con porosidad uniforme (Ti-Poros) | 50 |
| 4.1.1 | Proceso de Gel-Casting | 50 |
| 4.1.2 | Proceso de sinterización | 58 |
| 4.2 | Estructuras de titanio con gradiente de porosidad (Ti-GPoros) | 59 |
| 4.2.1 | Proceso de Gel-Casting | 59 |
| 4.2.2 | Proceso de Sinterización | 61 |
| 4.3 | Estructuras titanio-hidroxiapatita porosas (Ti-HAPoros) | 64 |
| 4.3.1 | Proceso de Gel-Casting | 64 |
| 4.3.2 | Proceso de Sinterización | 65 |
| 4.4 | Caracterización metalográfica | 68 |
| 4.4.1 | Estructuras Ti-Poros y Ti-GPoros | 68 |
| 4.4.2 | Estructuras Ti-HAPoros | 83 |
| 4.5 | Caracterización mecánica | 86 |
| 4.5.1 | Ensayo de compresión mecánica | 86 |
| 4.5.2 | Ensayo de dureza Vickers | 88 |
| 4.6 | Caracterización biológica | 88 |
| 4.6.1 | Ensayo de citotoxicidad | 88 |
| 4.6.2 | Análisis de morfología celular | 89 |
| 4.6.3 | Análisis de la adhesión celular | 90 |
| 5 | Conclusiones | 92 |
| 5.1 | Conclusiones generales | 92 |

| | | |
|-------|---|----|
| 5.2 | Conclusiones específicas | 92 |
| 5.2.1 | Estructuras de titanio con porosidad uniforme (Ti-Poros)..... | 92 |
| 5.2.2 | Estructuras de titanio con gradiente de porosidad (Ti-GPoros) | 93 |
| 5.2.3 | Estructuras de titanio-hidroxiapatita porosas (Ti-HAPoros)..... | 93 |
| | Bibliografía..... | 94 |

Índice de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1.1 - Cantidad de lesiones óseas registradas en 2019, expresado en millones de personas [1]. | 1 |
| Figura 1.2 - a) Población mundial entre los años 1990 y 2020 expresado en mil millones de personas. b) Esperanza de vida mundial entre los años 1990 y 2020 expresado en años. | 2 |
| Figura 1.3 - Aumento porcentual de lesiones óseas entre 1990 - 2019 [1]. | 3 |
| Figura 1.4 - Número de casos de fracturas a nivel mundial clasificado por zona de lesión, grupo etario y sexo. | 3 |
| Figura 1.5 - Micrografía óptica de la microestructura de una aleación de titanio tipo alfa (α) [31]. | 8 |
| Figura 1.6 - Micrografía óptica de la microestructura equiaxial de una aleación de titanio tipo alfa más beta(α) [31]..... | 9 |
| Figura 1.7 - Micrografía de la microestructura de una aleación de titanio tipo beta (β) recocida [31]. | 10 |
| Figura 1.8 - Micrografías SEM de estructuras porosas de Ti. a) Macroporosidad. b) Microporosidad [33]. | 11 |
| Figura 1.9 - Etapas de la osteointegración..... | 13 |
| Figura 1.10 - Módulos de elasticidad para distintos biomateriales y el hueso cortical humano [54]. | 15 |
| Figura 1.11 - Respuesta biológica sobre un implante de titanio [56]...... | 16 |
| Figura 3.1 - Metodología propuesta para la fabricación de estructuras porosas por Gel-Casting y Sinterización..... | 26 |
| Figura 3.2 - Imágenes SEM de los polvos. a) Partículas de polimetil metacrilato, magnificación 100x. b) Partículas de hidruro de titanio. | 28 |
| Figura 3.3 - Mezclador de polvos..... | 28 |
| Figura 3.4 - Diseño 3D del molde para muestras de 6 mm de diámetro y 8 mm de altura. | 29 |
| Figura 3.5 - Mesa vibratoria utilizada en la fabricación de muestras en verde. | 29 |

| | |
|--|----|
| Figura 3.6 - Ciclos térmicos de sinterización. a) Ciclo térmico 1 (TC1) b) Ciclo térmico 2 (TC2)..... | 30 |
| Figura 3.7 - Fabricación de muestras con 2 capas de RA. a) Molde para fabricación del anillo exterior. b) Molde cilíndrico para el llenado del anillo..... | 32 |
| Figura 3.8 - Fabricación de muestras con 3 capas de RA. a) Molde para fabricación del anillo exterior. b) Molde para fabricación del anillo intermedio. c) Molde cilíndrico para el llenado del anillo central..... | 33 |
| Figura 3.9 - Ciclo térmico 3 (TC3)..... | 35 |
| Figura 3.10 - Binarización de una micrografía. a) Micrografía original. b) Micrografía en escala de grises. c) Micrografía binarizada..... | 39 |
| Figura 3.11 - Segmentación de una micrografía. a) Micrografía binarizada. b) Micrografía segmentada..... | 39 |
| Figura 3.12 - Análisis del factor de forma de un poro..... | 40 |
| Figura 3.13 - Segmentación de las partículas de HAP. a) Micrografía por microsonda de electrones EPMA. b) Micrografía segmentada..... | 41 |
| Figura 3.14 - Visualización de un volumen renderizado de una microtomografía de una muestra 6R. a) Vista superficial. b) Vista de un corte longitudinal..... | 42 |
| Figura 3.15 - Region of Interest (ROI) utilizado en la segmentación..... | 43 |
| Figura 3.16 - Segmentación mediante la herramienta Threshold..... | 44 |
| Figura 3.17 - Segmentación del ROI de la estructura porosa en 3D. a) Segmentación. b) Segmentación sobre visualización del render de la estructura. c) Segmentación y visualización de planos R, Y y G. d) Segmentación sobre los planos R, Y y G..... | 45 |
| Figura 4.1 - Micrografía SEM de las partículas de polvo de la resina acrílica..... | 50 |
| Figura 4.2 - Mapa de composición química SEM-EDS de las partículas de polvo de la resina acrílica..... | 51 |
| Figura 4.3 - Composición química de las partículas de resina acrílica..... | 51 |
| Figura 4.4 - Micrografía SEM de las partículas de polvo del hidruro de titanio..... | 52 |
| Figura 4.5 - Composición química de las partículas de hidruro de titanio..... | 52 |
| Figura 4.6 - Confección de muestra en verde. a) Desmolde de una muestra en verde. b) Muestra en verde desmoldada..... | 53 |
| Figura 4.7 - Consistencia del barro previo al colado..... | 54 |
| Figura 4.8 - Oclusión de aire en una muestra fabricada sin la implementación de la mesa vibratoria..... | 54 |
| Figura 4.9 - Micrografía SEM de la superficie de una muestra en verde..... | 55 |
| Figura 4.10 - Micrografías SEM del cuello de sinterización entre partículas de polvo de titanio a diferentes temperaturas. a) Muestra 12R sinterizada a 1150 °C. b) Muestra 12R sinterizada a 1150 °C. c) Muestra 9R sinterizada a 1300 °C. d) Muestra 9R sinterizada a 1300 °C..... | 59 |

| | |
|---|----|
| Figura 4.11 - Muestra en verde con gradiente de porosidad. a) Vista transversal de la muestra. b) Vista transversal de la muestra a mayor magnificación..... | 60 |
| Figura 4.12 - Micrografía confocal láser de una discontinuidad entre capas en una muestra con gradiente de porosidad..... | 61 |
| Figura 4.13 - Micrografía longitudinal y transversal de una muestra con porosidad gradual a 40x. a) Corte longitudinal de la periferia. b) Corte longitudinal de la interfase. c) Corte longitudinal del centro. d) Corte transversal de la periferia. e) Corte transversal de la interfase. f) Corte transversal del centro..... | 62 |
| Figura 4.14 - Micrografía confocal láser de la sección transversal de una muestra con porosidad gradual de dos capas a 50x..... | 63 |
| Figura 4.15 - Microscopía confocal láser de la sección transversal de una muestra con porosidad gradual de tres capas a 50x..... | 63 |
| Figura 4.16 - Micrografía SEM de las partículas de HAP previo al sinterizado. Zonas de análisis de los espectros de composición química en las partículas de HAP. | 64 |
| Figura 4.17 - Composición química de una partícula de HAP..... | 65 |
| Figura 4.18 - Micrografía óptica de una muestra 12-5 RH sinterizada. Identificación de cuellos de sinterización..... | 66 |
| Figura 4.19 - Análisis de composición química por microanálisis con sonda de electrones (EPMA). La zona de análisis 001 corresponde a la matriz de Ti, mientras que la 002 a una partícula de HAP post sinterizado. | 67 |
| Figura 4.20 - Análisis de composición química por microanálisis con sonda de electrones (EPMA). a) Espectro de la zona 001 correspondiente a una región metálica de Ti. b) Espectro de la zona 002 correspondiente a una partícula de HAP post sinterizado. | 67 |
| Figura 4.21 - Mapas de composición química de una muestra de Ti-poro-HAP..... | 68 |
| Figura 4.22 - Superficie de una muestra sinterizada. Magnificación 25x..... | 69 |
| Figura 4.23 - Análisis estadístico de las contracciones en diámetro, altura y pérdida en peso. | 70 |
| Figura 4.24 - Porosidad en función de la FAR..... | 71 |
| Figura 4.25 - Resultados de la prueba de Anderson-Darling. a) Gráfico de probabilidad residual. b) Residuos vs valores ajustados. c) Gráfico de frecuencia. d) Residuo vs orden de observación..... | 74 |
| Figura 4.26 - Análisis estadístico de: a) El conteo de poros por mm ² encontrado en un rango; b) Porcentaje de poros contados por rango; c) Valor medio del cociente entre la suma de las áreas de poros individuales contenidos en un rango y el área total de la imagen y d) Valor medio del área de poros encontrado en un rango determinado..... | 76 |
| Figura 4.27 - Factor de forma para las mezclas 3R, 6R, 9R y 12R..... | 78 |
| Figura 4.28 - Micrografía del tamaño de grano de las estructuras obtenidas post sinterización a 1300 °C..... | 78 |
| Figura 4.29 - Identificación de porosidad interconectada en micrografías SEM de una muestra 9R sinterizada. a) Zona de interconectividad superficial. b) Zona de interconectividad interna a mayor magnificación..... | 79 |

| | |
|---|----|
| Figura 4.30 - Micrografía SEM de una zona de fractura de una muestra 6R sinterizada. Detección de interconectividad de poros..... | 80 |
| Figura 4.31 - Micrografía SEM de una muestra 9R sinterizada. Zonas de análisis de los espectros de composición química en la estructura..... | 80 |
| Figura 4.32 - Espectro de composición química de una muestra 9R sinterizada.... | 81 |
| Figura 4.33 - Microtomografía computarizada de una muestra 9R. a) Imagen renderizada de un ROI de la muestra. b) Modelo tridimensional de la segmentación de los poros de la estructura mostrada en a)..... | 81 |
| Figura 4.34 - Medidas de porosidad para las distintas muestras, ensayadas superficialmente (OM) y ensayadas volumétricamente (microCT)..... | 82 |
| Figura 4.35 - Segmentación de un poro pequeño por microCT..... | 83 |
| Figura 4.36 - Micrografía de una muestra Ti-poro-HAP..... | 83 |
| Figura 4.37 - Histogramas de distribución de: a) Tamaño de poro. b) Factor de forma de los poros..... | 84 |
| Figura 4.38 - Micrografía por microsonda de electrones (EPMA) de una muestra Ti-poro-HAP..... | 85 |
| Figura 4.39 - Histogramas de distribución de: a) Tamaño de partícula de HAP. b) Factor de forma de las partículas de HAP..... | 85 |
| Figura 4.40 - Rigidez de las estructuras porosas obtenidas vs. porosidad..... | 87 |
| Figura 4.41 - Porcentaje de viabilidad de células incubadas en presencia de diluciones de 25, 50, 75 y 100 % de cuatro extractos de titanio después de 24 hs de cultivo..... | 88 |
| Figura 4.42 - Micrografías electrónicas de barrido de células Vero, expuestas a 100-extracto de los composites durante 4 días. a y b) Muestra de titanio poroso. c y d) DMEM..... | 89 |
| Figura 4.43 - Imágenes de contraste de fase representativas de células NIH 3T3 cultivadas en presencia de: 100-extracto de Ti-P (a y b) y DMEM suplementado (c y d). Las figuras a y c corresponden a más de 2 días de cultivo. Las figuras b y d a después de 5 días de cultivo..... | 90 |
| Figura 4.44 - Microscopía de fluorescencia de las células NIH 3T3 cultivadas durante 96 h sobre la superficie de los composites. a) Muestras sin células. b) Muestras con células..... | 90 |

Índice de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1.1 - Composición química y propiedades mecánicas de los distintos grados de titanio de tipo comercial..... | 8 |
| Tabla 3.1 - Tabla de mezclas de polvos con su respectiva cantidad de AR (expresado en porcentaje) utilizadas en la fabricación de las muestras..... | 27 |

| | |
|---|----|
| Tabla 3.2 - Tabla de mezclas de polvos con su respectiva cantidad de AR e HAP (expresado en porcentaje) | 35 |
| Tabla 4.1 - Estudio de la relación Ca/P para partículas de HAP previo a la sinterización..... | 65 |
| Tabla 4.2 - Estudio de la relación Ca/P para partículas de HAP post sinterizado. . | 68 |
| Tabla 4.3 - Caracterización micrográfica de las diferentes mezclas estudiadas. .. | 72 |
| Tabla 4.4 - Prueba de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD). | 73 |
| Tabla 4.5 - Tamaños de poros expresados como diámetros equivalentes [μm]. | 75 |
| Tabla 4.6 - Porosidad volumétrica expresada como porcentaje. | 82 |
| Tabla 4.7 - Caracterización de la estructura porosa obtenidas en muestras de Ti - poro - HAP con cantidades de 12 % en peso de RA. | 84 |
| Tabla 4.8 - Caracterización de las partículas de HAP en muestras sinterizadas de Ti - poro - HAP con cantidades de 12 % en peso de RA. | 84 |
| Tabla 4.9 - Caracterización de la rigidez, expresado en GPa, de las estructuras porosas obtenidas..... | 86 |
| Tabla 4.10 - Caracterización de la dureza, expresada en Hv, de las estructuras porosas obtenidas..... | 88 |

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1 Introducción

1.1 Problemática

Millones de personas en el mundo se ven afectadas por traumatismos, enfermedades o diferentes discontinuidades óseas; las cuales disminuyen la calidad de vida de las mismas. Las fracturas, lesiones o traumatismos pueden dar lugar a discapacidades, deterioro de la calidad de vida, disminución de la productividad, ausentismo laboral, pérdida de la salud y altos costos de atención de la salud. Además, son una carga importante para las personas, familias y los sistemas de atención de la salud [1].

A nivel mundial, en 2019, hubo un total de 178 millones nuevas fracturas (un aumento del 33,4 % desde 1990) en donde 455 millones resultan casos de síntomas agudos o a largo plazo (un aumento del 70,1 % respecto a 1990). Las fracturas de la parte inferior de la pierna como la rótula, tibia, peroné o tobillo fueron de las fracturas más comunes en el año 2019 [1]. El seguimiento y análisis de los datos de estas lesiones son muy importantes para poder efectuar un correcto planeamiento y focalizar los esfuerzos en encontrar las mejores soluciones respecto a esta problemática. La Figura 1.1 presenta el registro de la cantidad de fracturas clasificadas por los principales huesos afectados, tanto para hombres como para mujeres durante el año 2019 [1].

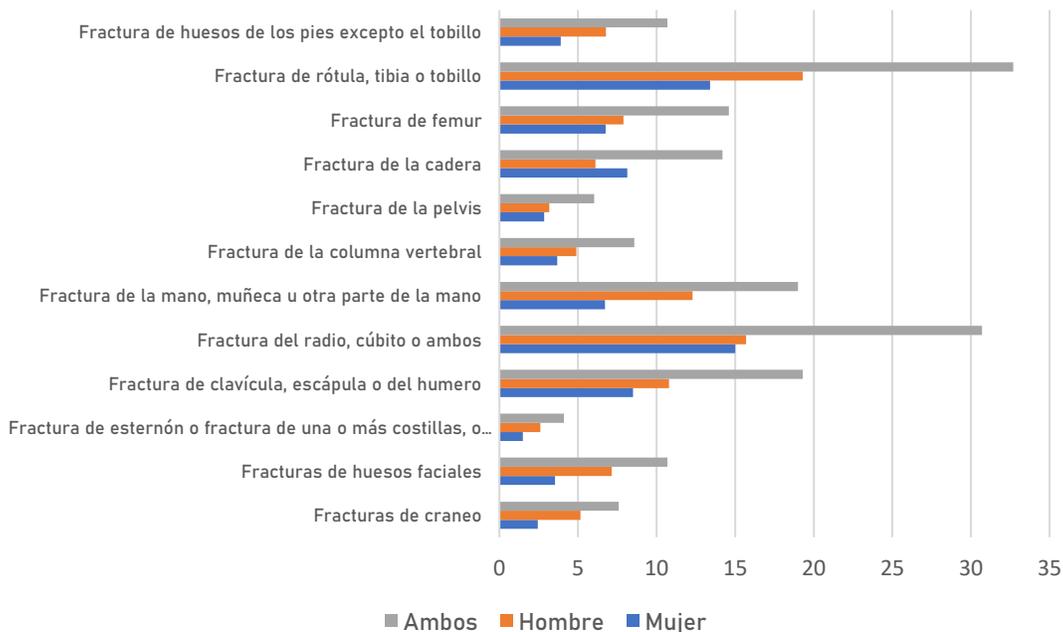


Figura 1.1 - Cantidad de lesiones óseas registradas en 2019, expresado en millones de personas [1].

El aumento mundial de la población y el aumento de la esperanza de vida son dos factores que influyen directamente en la cantidad de casos de lesiones óseas que serán necesarias tratar. Por lo que, resulta importante el análisis de la tasa de crecimiento de ambos factores.

Las Figura 1.2 a y b muestran el aumento poblacional y de esperanza de vida respectivamente entre los años 1990 y 2020. Con respecto a la población mundial, se puede observar que varió de 5,55 mil millones a 8,39 mil millones de personas en el período analizado. Esto quiere decir, un aumento poblacional del 51 % con respecto al año 1990 [2]. En cuanto a la esperanza de vida, la misma fue de 64,6 años en 1990, incrementando a 72,6 para el año 2020; siendo esta última la mayor registrada hasta la fecha. La esperanza de vida aumentó por lo tanto 8 años en el período analizado, lo que equivale a un aumento del 12,3 % respecto al año 1990 [3].

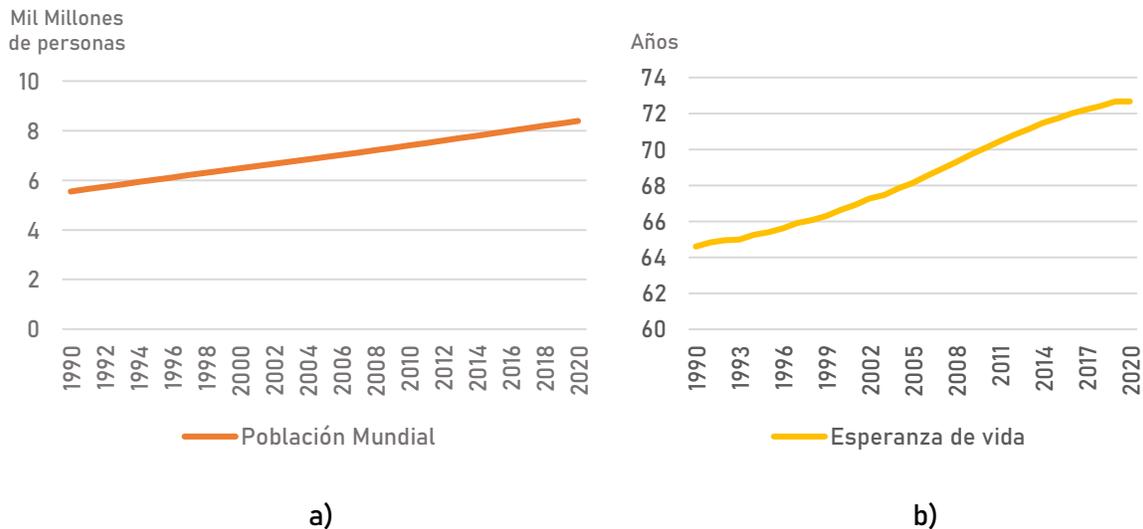


Figura 1.2 – a) Población mundial entre los años 1990 y 2020 expresado en mil millones de personas.
b) Esperanza de vida mundial entre los años 1990 y 2020 expresado en años.

El aumento poblacional en 2,84 mil millones de personas en el lapso mencionado afecta directamente a la demanda de intervención en los tratamientos de lesiones óseas. Es por eso, que en la Figura 1.3 se presentan las tasas de aumento porcentual de la cantidad de lesiones óseas registradas entre los años 1991 y 2019, según la misma clasificación utilizada en la Figura 1.1 [1]. Se pueden observar que los aumentos porcentuales van desde los 17,8 % hasta los 92,7 % dependiendo el tipo de hueso analizado. Las fracturas de cadera fueron de las lesiones que mayor aumento tuvieron en el período correspondiente, alcanzado el valor del 92,7 % [4]. El aumento poblacional en la franja etaria de personas mayores a los 50 años debido al aumento de la esperanza de vida (Figura 1.2b), sustentan los datos de crecimiento en estos tipos de lesiones.

Los antecedentes de caídas y la osteoporosis subyacente son los principales factores de riesgo para sufrir una fractura de cadera por fragilidad en la vejez [5], [6]. Además, en las mujeres la densidad mineral ósea disminuye con la edad a un ritmo más acelerado que los hombres; y es por ello, que la tasa de crecimiento en este tipo de lesión (107,4 %) es mayor que la de los hombres (76 %) como se puede observar en la Figura 1.3.



Figura 1.3 - Aumento porcentual de lesiones óseas entre 1990 - 2019 [1].

En la Figura 1.4 se puede observar el aumento de casos de fractura cada 100000 personas, clasificados según sexo y grupo etario. La misma expone lo mencionado anteriormente, encontrándose un aumento significativo de casos de fractura según aumenta la edad del grupo etario, pero siendo mayor para las mujeres que para los hombres [7].

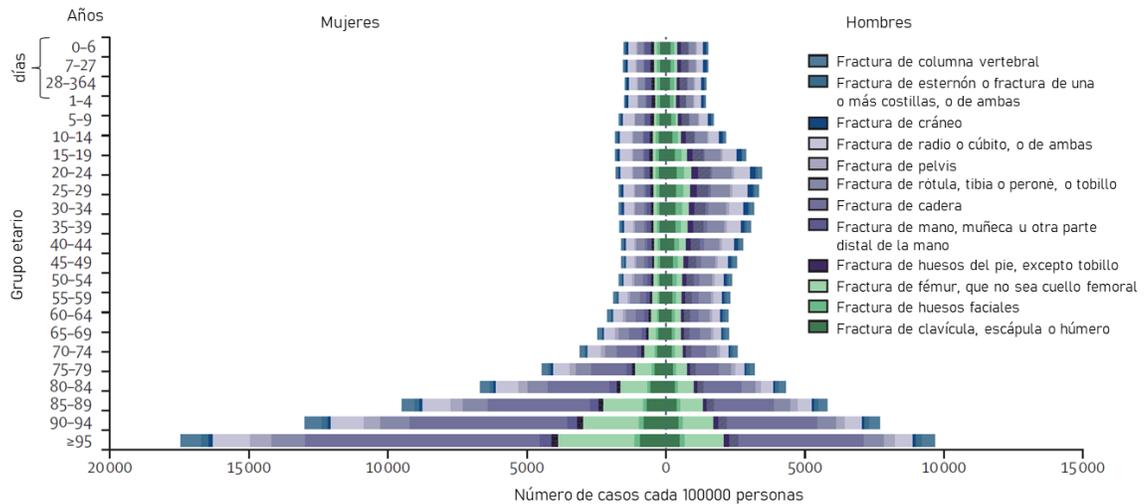


Figura 1.4 - Número de casos de fracturas a nivel mundial clasificado por zona de lesión, grupo etario y sexo.

Es importante destacar que estos tipos de lesiones se consideran un problema de salud pública a nivel mundial debido a sus altos niveles de aparición. Es por ello, que resulta imprescindible la búsqueda de nuevos métodos para el correspondiente

tratamiento, que tiendan a mejorar las condiciones de recuperación de cada uno de los pacientes afectados.

Recientemente se han utilizado biomateriales metálicos como titanio, cobalto, acero inoxidable, tantalio y magnesio (y aleaciones) en una magnitud de dispositivos ortopédicos. Sin embargo, estos materiales pueden presentar varias desventajas, ya que en algunos casos presentan una capacidad de osteointegración insuficiente y reacciones adversas de los tejidos del hueso huésped a la liberación de iones metálicos [8].

Debido a la naturaleza del enlace metálico, el cual contiene electrones libres, los metales tienen tendencia a corroerse, formando compuestos que producen su degradación continua. Los desechos generados por el proceso de corrosión son detectados por el cuerpo humano, generando el rechazo del material en cuestión. Este es un limitante en la elección del uso de los materiales metálicos como biomateriales [9].

Otro aspecto a considerar es que, la diferencia del módulo de Young entre los biomateriales en forma densa y el hueso, provoca una inestabilidad interfacial en la zona de contacto implante-hueso lo que lleva al aflojamiento del mismo mediante osteoporosis. Este fenómeno es conocido como stress-shielding [9]. La diferencia de valores del módulo de Young entre los metales y el hueso es acentuada; por ejemplo, el acero inoxidable posee valores cercanos a los 200 GPa, aleaciones base cobalto 240 GPa y el titanio valores que rondan los 110 GPa; mientras que el hueso cortical posee valores de 10-30 GPa o bien el hueso trabecular de 0,3 – 4 GPa [10]. En consecuencia, esto conduce al crecimiento interno de un tejido fibroso en la interfaz del implante, la interrupción de la osteointegración, la movilidad del implante y el desarrollo de una respuesta inflamatoria que conduce a la necesidad de una cirugía de revisión [11].

La rigidez del Ti puede reducirse mediante la adición de elementos de aleación, la modificación de la estructura metalográfica o la generación de estructuras porosas [12], [13]. La utilización de elementos de aleación posee algunas desventajas. En primer lugar, los procesos de fundición y colada generan estructuras internas que causan problemas de segregación y pueden contener altos niveles de impurezas incorporadas a lo largo del proceso. En segundo lugar, el uso de elementos de aleación es limitado y genera pérdida de biocompatibilidad. Sin embargo, el empleo de una estructura porosa reduce eficientemente el valor del módulo elástico y además promueve el crecimiento óseo [13].

Los implantes de Ti pueden ser fabricados por pulvimetalurgia (Powder Metallurgy (PM)). Los pasos comunes involucrados en PM son el proceso de compresión para obtener partes con la forma deseada y el proceso de sinterización para generar la unión de partículas por difusión. Para obtener una microestructura porosa, PM permite la incorporación de partículas espaciadoras hechas de materiales como el carbonato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, que se eliminan en el proceso de sinterización. El proceso de compresión no es adecuado cuando se requiere compactación axial en formas complejas, como ocurre en la mayoría de los implantes biomédicos [14], [15].

Existe un método alternativo de PM para desarrollar estructuras porosas de Ti a través del método de Gel-Casting y sinterización (GCS). Este método se basa en la fabricación de una suspensión compuesta por la mezcla de diferentes polvos con un monómero disolvente líquido. La mezcla en polvo se basa en polvo metálico y una resina acrílica (AR). Cuando el monómero líquido entra en contacto con él, comienza una reacción de polimerización entre la resina acrílica en polvo y el monómero. La resina acrílica

resultante funciona como aglutinante, uniendo las partículas de polvo. Después de eso, la suspensión se cuela en un molde de forma específica, en donde el solvente desaparece por evaporación natural o artificial y la pieza sólida queda lista para ser desmoldada. Finalmente, la pieza en verde es sinterizada [16], [17].

El método de Gel-Casting tiene la ventaja de obtener piezas con la geometría deseada y las superficies finales con buena terminación. Otra ventaja es que permite obtener el producto final con las dimensiones y características estructurales deseadas. Esto nos daría la posibilidad de poder fabricar implantes a medida, para cada paciente [16].

1.2 Biomateriales metálicos

Los biomateriales son materiales que desempeñan un papel crucial al reemplazar estructuras biológicas comprometidas, elevando así la calidad de vida de los pacientes [18]–[20].

En el contexto de un creciente envejecimiento poblacional, las enfermedades como la artritis y los dolores articulares afligen a los ancianos, generando una alta demanda de instrumentos biomédicos para sustituir tejidos duros disfuncionales [21]. Esto ha impulsado un notable incremento en la atención dedicada a los materiales biomédicos en las últimas décadas.

En función de su aplicación específica, estos materiales hallan su empleo en diversas partes del cuerpo humano, tales como stents intravasculares, válvulas cardíacas, simuladores cardiacos, así como implantes de reemplazo en caderas, rodillas, codos, hombros, oídos y odontológicos [18], [22].

Consecuentemente, la implantación quirúrgica de implantes biomédicos artificiales emerge como la solución óptima para restablecer la función de los tejidos duros afectados. De acuerdo con datos sobre cirugías de reemplazo total de articulaciones en Estados Unidos, se proyecta un incremento del 174% (0.57 millones de procedimientos) para reemplazos de cadera y del 673% (3.48 millones de procedimientos) para artroplastias de rodilla hacia finales de 2030, en comparación con las tasas actuales [23].

El motivo de este aumento en los reemplazos articulares radica principalmente en la creciente necesidad tanto de cirugías de reemplazo como de revisiones. No obstante, es lamentable que las tasas de éxito en las cirugías de revisión sean considerablemente menores en comparación con la implantación inicial. Las causas principales de fallo en los implantes pueden atribuirse a la generación de residuos, liberación de iones metálicos y respuesta del cuerpo ante cuerpos extraños, así como desajuste en el módulo de elasticidad entre los huesos y los implantes o una resistencia insuficiente para mantener la carga [20].

Por lo tanto, los biomateriales utilizados en aplicaciones de carga deben exhibir propiedades confiables, incluyendo propiedades mecánicas adecuadas, excelente resistencia a la corrosión, alta resistencia al desgaste, biocompatibilidad sobresaliente, osteointegración y no citotoxicidad, con el fin de prevenir la necesidad de cirugías de revisión [24].

La biocompatibilidad se postula como uno de los aspectos primordiales en el diseño y selección de materiales biomédicos, determinando el éxito de la implantación a través de las reacciones que ocurren en la interfaz entre el tejido huésped y el implante. Para

garantizar la biocompatibilidad, se excluye el uso de elementos tóxicos en los materiales biomédicos [25]. Estudios previos destacan elementos como Ti, Nb, Mo, Ta, Zr, Au, W y Sn como altamente biocompatibles, mientras que Al, V, Cr, Ni, entre otros, son considerados elementos perjudiciales para el organismo humano [26]. En virtud de ello, se prefiere considerar elementos seguros y biocompatibles en el diseño de materiales biomédicos [25].

Por otro lado, las propiedades mecánicas de estos materiales biomédicos determinan su idoneidad para aplicaciones específicas. Aspectos como el módulo elástico, resistencia a la fatiga, resistencia a la tracción y elongación son críticos para los reemplazos de tejidos duros de carga. Por ejemplo, la resistencia del material del implante define su capacidad de carga. Además de la fatiga y la resistencia a la fractura, se requiere que el implante tenga un módulo comparable al hueso reemplazado. De lo contrario, el fenómeno de apantallamiento de tensiones, que impide la transferencia de esfuerzo necesario al hueso adyacente, puede ocasionar reabsorción ósea alrededor del implante y la muerte de células óseas [27].

En consecuencia, se espera que un material biomédico ideal posea propiedades combinadas de bajo módulo (próximo al hueso) y alta resistencia para mantener una prolongada vida útil y evitar la necesidad de cirugías de revisión. Además, la duración del servicio del implante está determinada por su resistencia al desgaste y corrosión. La baja resistencia al desgaste y corrosión de los implantes en el cuerpo humano da lugar a la generación de residuos y/o la liberación de iones metálicos incompatibles, lo cual puede desencadenar reacciones alérgicas y tóxicas. Por lo tanto, se espera que los materiales biomédicos diseñados posean tanto alta resistencia al desgaste como a la corrosión, con el objetivo de maximizar la longevidad de los implantes en el cuerpo humano [27].

Por último, la alta biocompatibilidad, incluyendo la osteointegración y la actividad antibacteriana, constituye la consideración más significativa al utilizar implantes en aplicaciones ortopédicas, lo cual implica principalmente la formación de una unión fiable entre el implante y el hueso adyacente sin la presencia de tejido fibroso e infecciones [27].

1.2.1 *Titanio*

El titanio y sus aleaciones son ampliamente utilizadas como materiales biomédicos debido a su biocompatibilidad y resistencia mecánica. El titanio forma una película pasiva de óxido en su superficie, principalmente de TiO_2 , que protege al material de la corrosión y promueve la integración con los tejidos circundantes [21].

Desde el punto de vista físico, el titanio posee una baja densidad, aproximadamente la mitad de la del acero, lo que le aporta una alta relación entre peso y resistencia. Esta densidad relativamente baja, en comparación con otros materiales metálicos utilizados en implantes biomédicos, hace que sea más liviano y cómodo para los pacientes. Su resistencia a la tracción es notable, superando incluso la del acero inoxidable [21],[28].

Desde un punto de vista químico, el titanio es altamente reactivo y forma compuestos con una amplia variedad de elementos. A pesar de esta reactividad, el titanio es conocido por su excepcional resistencia a la corrosión en muchos entornos agresivos, lo que se atribuye a la mencionada capa de óxido que se forma naturalmente. Asimismo, su biocompatibilidad se debe a la formación de esta capa de óxido estable en contacto con tejidos biológicos [29].

Por otro lado, algunas aleaciones de titanio poseen propiedades de memoria de forma y superelasticidad, especialmente en aleaciones de titanio-níquel (TiNi) [19]. Estas propiedades permiten que los implantes de TiNi se deformen y recuperen su forma original, lo que facilita la estabilidad mecánica y la integración con los tejidos circundantes [19]. Además, el titanio y sus aleaciones tienen una alta resistencia y una rigidez relativamente baja, lo que los hace adecuados para aplicaciones en implantes óseos [22].

En cuanto a la biocompatibilidad, el titanio y sus aleaciones exhiben una buena biocompatibilidad tanto in vitro como in vivo [22]. Autores como Zhang *et al.* y Abdel *et al.* afirman que el titanio permite integrar tejido vivo circundante sin producir condiciones adversas o bien procesos antiinflamatorios y promueve la adhesión y proliferación de células óseas [20], [22]. Además, el titanio muestra una resistencia a la corrosión y una baja liberación de iones metálicos, lo que lo hace seguro para su uso en el cuerpo humano [20].

1.2.1.1 Aleaciones de titanio

El titanio puro comercial (CP-Ti, estructura α) muestra la mejor biocompatibilidad dentro de los materiales metálicos utilizados, sin embargo, sus propiedades mecánicas resultan deficientes para ciertas aplicaciones. Es por ello que resulta necesario mejorar dichas cualidades. Actualmente se pone en foco el estudio de la composición química y de fase en aleaciones de titanio, con el fin de obtener propiedades mecánicas atractivas y una buena biocompatibilidad [30].

Dependiendo del tipo de aleante que se introduzcan en la estructura, se podrán obtener los siguientes tipos de aleaciones:

Aleaciones tipo alfa (α)

Las aleaciones de titanio tipo alfa presentan una estructura de red hexagonal, heredada de la estructura nativa del titanio puro a temperatura ambiente. Estas aleaciones contienen elementos sustitucionales (Al o Sn), o bien, intersticiales (O, N o C) solubles en la fase α . Cabe destacar que prácticamente todas las aleaciones α contienen una pequeña cantidad de fase β (2-5 % en volumen) estabilizadas principalmente con Fe, lo que evita el crecimiento del grano en las mismas. La fase β es útil para controlar el tamaño de grano α recristalizado y mejora la tolerancia al hidrógeno de estas aleaciones [30].

Los elementos estabilizadores de la fase α son:

- Aluminio (Al)
- Oxígeno (O)
- Carbono (C)
- Nitrógeno (N).

Por lo tanto, los principales mecanismos de endurecimiento de estas aleaciones son el endurecimiento por solución sólida, por tamaño de grano, por textura y por precipitación al formarse la fase α_2 (Ti₃Al) [30].

No es posible obtener titanio en estado puro, ya que este incorpora fácilmente elementos como el oxígeno (O), carbono (C) y nitrógeno (N) como impurezas. Al titanio que contiene estas impurezas se le denomina titanio de tipo comercial (CP-Ti). El CP-Ti se clasifica en cuatro grados, según el contenido de impurezas y las propiedades mecánicas

resultantes como se puede observar en la Tabla 1.1. En este trabajo se utiliza el titanio comercial de grado 2.

Tabla 1.1 - Composición química y propiedades mecánicas de los distintos grados de titanio de tipo comercial [31].

| | Grade 1 | Grade 2 | Grade 3 | Grade 4 |
|---------------------------|---------------------|---------|---------|---------|
| Element | Composition (mass%) | | | |
| Fe | <0.15 | <0.2 | <0.25 | <0.3 |
| O | <0.18 | <0.25 | <0.35 | <0.45 |
| N | <0.03 | <0.03 | <0.05 | <0.05 |
| H | <0.0125 | <0.0125 | <0.0125 | <0.0125 |
| C | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 |
| Ti | Balance | Balance | Balance | Balance |
| | Mechanical property | | | |
| Tensile strength (MPa) | 275-412 | 343-510 | 481-618 | >550 |
| 0.2% Proof strength (MPa) | 170 | 275 | 380 | >440 |
| Elongation (%) | >27 | >23 | >18 | >15 |
| Young's modulus (GPa) | 114 | | | |

La microestructura de las aleaciones α consiste en granos α recristalizados con fase β dispersa, como se puede observar en la Figura 1.5. Esta fase β está presente porque siempre hay una pequeña cantidad de Fe presente en todos los grados de CP-Ti. El Fe tiene una solubilidad muy baja en la fase α y, por lo tanto, es expulsado para formar la fase β , ya sea durante la solidificación o en enfriamiento posterior. Esta fase β permanece estable hasta temperatura ambiente. El contenido típico de Fe depende del grado de CP-Ti y aumenta a medida que aumenta el número de grado. El Fe está presente como una adición aleante deliberada porque la fase β fija los límites del grano α y ayuda a controlar el tamaño del grano durante la recristalización [31].

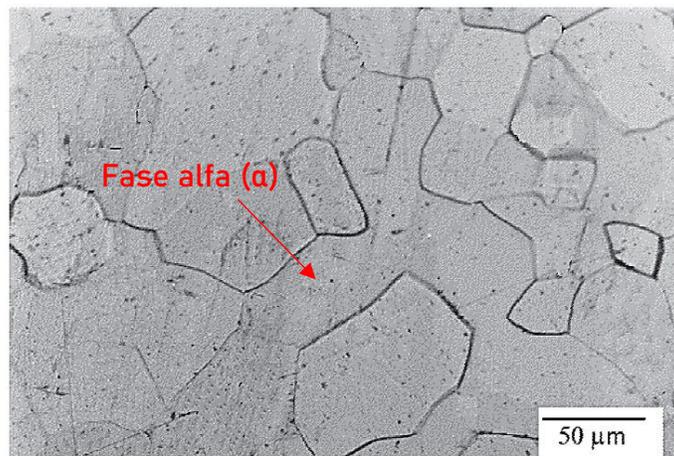


Figura 1.5 - Micrografía óptica de la microestructura de una aleación de titanio tipo alfa (α) [31].

Aleaciones tipo alfa más beta ($\alpha+\beta$)

Las aleaciones de dos fases ($\alpha+\beta$) suelen contener alrededor del 20 % en volumen de fase β . Aquellas aleaciones que contienen menos del 10 % en volumen de fase β se denominan comúnmente aleaciones "casi α ". Las aleaciones $\alpha+\beta$ experimentan una transformación martensítica al enfriarse desde la temperatura en la que se encuentra presente la fase β hasta la temperatura ambiente. Es posible lograr tres tipos diferentes

de microestructuras para estas aleaciones: estructuras laminares, estructuras equiaxiales y microestructuras bimodales (dúplex) [34].

Los elementos estabilizadores de la fase β son:

- Isomorfos:
 - Vanadio (V)
 - Molibdeno (Mo)
 - Niobio (Nb)
 - Tantalio (Ta).
- Eutectoides:
 - Hierro (Fe)
 - Manganeso (Mn)
 - Cromo (Cr)
 - Níquel (Ni)
 - Cobre (Cu)
 - Silicio (Si)
 - Hidrógeno (H).

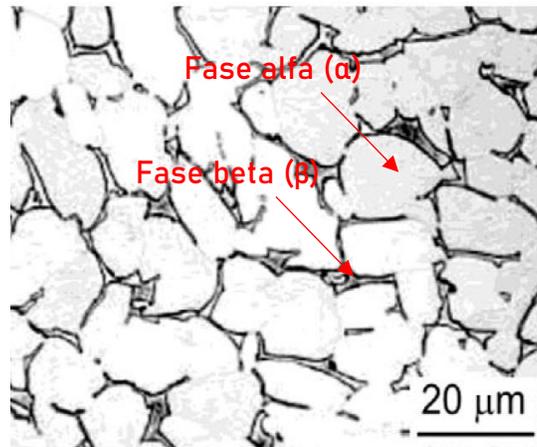


Figura 1.6 - Micrografía óptica de la microestructura equiaxial de una aleación de titanio tipo alfa más beta (α) [31].

Es preferible utilizar aleaciones de titanio de alta resistencia, que indican las aleaciones de doble fase ($\alpha+\beta$). Una de las primeras aleaciones de titanio utilizadas para implantes fue la Ti_6Al_4V con vanadio como estabilizador de fase β , demostrando un alto nivel de propiedades mecánicas [29]. Sin embargo, tanto el aluminio como el vanadio se descubrieron como tóxicos o irritantes, por lo que surge la necesidad de desarrollar aleaciones de titanio libres de tales efectos adversos en el cuerpo humano. Esto llevó al desarrollo de la primera generación de aleaciones que contienen componentes no tóxicos como niobio, hierro y molibdeno para reemplazar al vanadio; y tantalio, hafnio y circonio como reemplazo del aluminio [30].

Aleaciones tipo beta (β)

Las aleaciones de titanio tipo β , distinguidas por su estructura cristalina predominante de tipo β (cúbica centrada en el cuerpo) a temperatura ambiente, poseen características mecánicas excepcionales que las hacen altamente valoradas en diversas

aplicaciones industriales. Esta estructura β les otorga una combinación de alta resistencia, tenacidad y ductilidad, lo que las hace ideales para entornos donde se requiere una resistencia mecánica significativa, así como la capacidad de deformarse bajo carga. Estas aleaciones son metaestables, lo que significa que mantienen su estructura beta incluso a temperaturas más bajas [30].

Estas aleaciones utilizadas en dispositivos médicos deben contener aditivos como Nb, Ta, Sn o Zr. Las aleaciones β no muestran transformación martensítica al templarse desde la temperatura de estabilidad de la fase β , dando estructuras como la que muestra la Figura 1.7 [29].

Se ha demostrado que los elementos aleantes del titanio, como Ta, Nb, Zr, Mo, Sn y Si son biocompatibles. Sin embargo, los metales pueden mostrar un comportamiento citotóxico diferente en relación a su forma de suministro: en masa o en forma de polvo. La investigación en el desarrollo de aleaciones de titanio que contienen Mo, Nb y Si, producidas mediante metalurgia de polvos, mostró cierta citotoxicidad. Los polvos de Ti y Nb mostraron una citotoxicidad sustancial, pero los especímenes en masa de estos materiales mostraron biocompatibilidad. Los polvos de Mo y Si revelaron una citotoxicidad relativamente fuerte; sin embargo, en el caso de los especímenes sólidos, la citotoxicidad fue notablemente menor. Solo Ta, Zr y Sn mostraron una buena biocompatibilidad en ambas formas: en masa y en polvo [32].

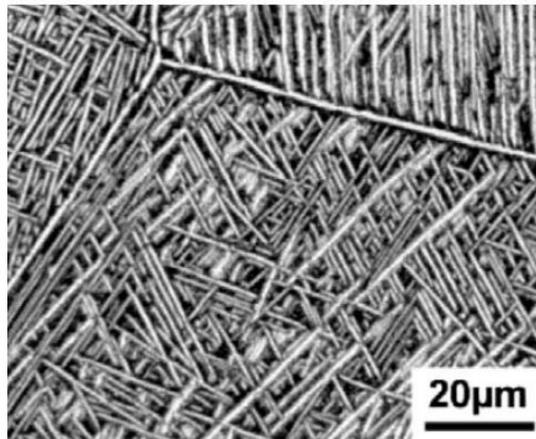


Figura 1.7 - Micrografía de la microestructura de una aleación de titanio tipo beta (β) recocida [31].

Estas aleaciones tipo beta encuentran una amplia gama de aplicaciones desde componentes en aeronaves, como partes de motores y estructuras, hasta equipos utilizados en entornos marinos y químicos. Asimismo, en el campo médico, son esenciales para la fabricación de implantes ortopédicos y dispositivos médicos de alta calidad.

1.2.2 Porosidad en biomateriales

Los materiales porosos se caracterizan por la presencia de espacios vacíos en su estructura, en donde estos pueden ser abiertos o cerrados. La porosidad en los distintos materiales, como también en el titanio, permite una mejor interconexión con el hueso y promueve el crecimiento de tejido óseo en los poros [33]. Estudios recientes indican que la porosidad óptima que estimula eficazmente el crecimiento óseo se encuentra en el rango de 20 a 50 % de porosidad [34], [35], con un tamaño de poro aproximado de 100 a 400

μm [36]. Estas condiciones proporcionan una interconectividad de los poros, la cual permite que los fluidos corporales fluyan, lo que conduce a un aumento en la vascularización [37]. Además de la presencia de los poros con los tamaños mencionados, en las estructuras pueden encontrarse poros con tamaños más pequeños (microporosidad) que suelen ser consecuencia del método de fabricación empleado. En la Figura 1.8 se puede observar la presencia de ambos tipos de poros mencionados.

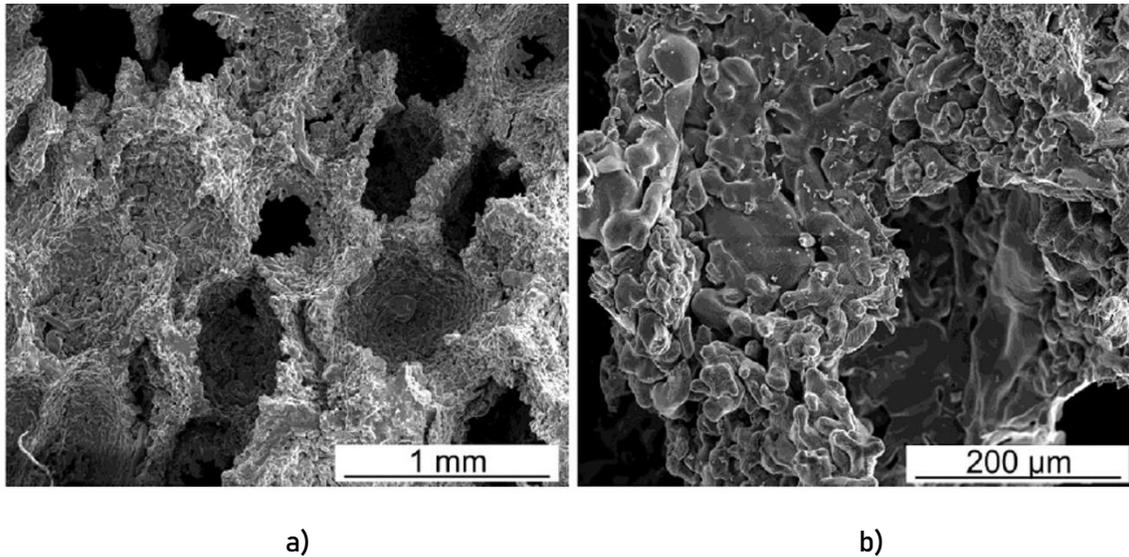


Figura 1.8 - Micrografías SEM de estructuras porosas de Ti. a) Macroporosidad. b) Microporosidad [33].

La porosidad también influye en las propiedades mecánicas de los biomateriales. El módulo de elasticidad de los materiales porosos puede ser modificado mediante la manipulación de la estructura porosa, llevándolo a valores comparables a las del hueso humano. Esto denota una ventaja, debido a que mejora la distribución de las tensiones (en el conjunto implante-hueso) y las condiciones para la remodelación ósea, evitando así el fenómeno de apantallamiento de tensiones o stress shielding, que puede causar resorción ósea y aflojamiento del implante [38].

Sin embargo, es importante destacar que aún se requiere más investigación sobre las propiedades de fatiga y corrosión de los biomateriales porosos. Estas propiedades son cruciales para garantizar un rendimiento a largo plazo de los implantes biomédicos y deben ser objeto de estudios más profundos en el futuro [39].

1.3 Fabricación de estructuras porosas de titanio

Los metales porosos representan una gama diversa de materiales que despiertan interés debido a su capacidad para exhibir propiedades que no son inherentes a los materiales de los que están compuestos. La dependencia de las propiedades tanto del metal base como de la estructura implica que diferentes propiedades pueden ajustarse dentro de ciertos límites para satisfacer los requisitos de aplicaciones específicas [40].

La fabricación de estructuras porosas de titanio en estado líquido presenta desafíos debido a su alta temperatura de fusión y a su afinidad por gases atmosféricos. Por tanto, las estructuras porosas de titanio se procesan casi siempre a partir de la metalurgia de polvos, generando una condición porosa a partir del procesamiento de las partículas de

polvo y estableciendo enlaces a nivel atómico, entre las partículas, mediante un tratamiento de sinterización a una temperatura inferior al punto de fusión [13].

Se identifican varios tipos de procesos basados en la metalurgia de polvos para el titanio y sus principales aleaciones. Entre ellos se destacan la sinterización parcial, la técnica de partículas espaciadoras, introducción y expansión de gases y gel casting entre otras[41]. Algunos de ellos se discuten en secciones posteriores.

Además de los métodos basados en polvos, se encuentran técnicas de fabricación por suspensión, como lo son el slip casting y el tape casting, que involucran mezclar polvo de titanio con solventes, aglutinantes y dispersantes para formar suspensiones que se moldean y sinterizan posteriormente. Asimismo, podemos encontrar métodos no basados en polvos, como lo son la fundición a cera perdida y la sinterización de fibras de titanio, que ofrecen ventajas específicas en ciertos contextos de aplicación [41].

En el ámbito de la fabricación aditiva, se destaca el uso de técnicas como la fusión selectiva por láser (SLM) y la fusión de haz de electrones (EBM), que permiten la creación de estructuras porosas complejas mediante la fusión controlada de volúmenes específicos de polvo de titanio [42]–[44].

El titanio de pureza comercial y la aleación Ti-6Al-4V se destacan como las aleaciones más utilizadas para la fabricación de estructuras porosas, aunque se menciona que aleaciones con memoria de forma como NiTi han sido producidas también en forma porosa [41].

La diversidad de métodos de fabricación de estructuras porosas en titanio ofrece un abanico de posibilidades para adaptar las propiedades de los materiales a los requisitos específicos de diversas aplicaciones. Cada técnica presenta ventajas y limitaciones particulares, y la elección del método dependerá de los objetivos y necesidades específicas en cuestión.

1.4 Biocompatibilidad

La biocompatibilidad es la capacidad que posee un material, dispositivo o sustancia para coexistir de manera armoniosa con un sistema biológico o un organismo vivo sin causar daño, irritación o rechazo significativo. En el contexto de implantes médicos, como prótesis o dispositivos médicos, la biocompatibilidad implica que el material no provoque una reacción adversa en el cuerpo y pueda funcionar de manera efectiva dentro del entorno biológico [45].

Un material biocompatible es aquel que es tolerado por los tejidos y fluidos del cuerpo sin desencadenar una respuesta inmunológica excesiva o efectos secundarios nocivos. Los factores que intervienen para que el organismo no rechace a un implante son característicos del material, entre los que se pueden resaltar [46]:

- No ser tóxico, no generar patologías y no ser carcinógeno.
- Ser químicamente estable e inerte (que no se degrade con el tiempo).
- Poseer resistencia mecánica adecuada.
- Tener una densidad y peso adecuados.
- El diseño del implante (tamaño y forma) también debe de ser adecuado para su función.

1.4.1 Interacción cuerpo-implante

La biocompatibilidad de un material está influenciada por las reacciones que ocurren entre la superficie del material y el tejido circundante. Estas incluyen: la absorción de moléculas y proteínas, la adhesión celular y bacteriana, la activación de células del sistema inmune, la formación de tejido y la inflamación [45].

Las características superficiales, como la energía, química y morfología de la superficie son especialmente importantes en situaciones donde se requiere una curación rápida o cuando la calidad o cantidad de hueso es limitada. Se utilizan diversas estrategias, como enfoques bioactivos para estimular el crecimiento óseo o estímulos topográficos para influir en las células formadoras de hueso [47].

Los procesos que ocurren después de la implantación son complejos y están influenciados por múltiples variables. Comienzan inmediatamente después de la colocación del implante, con una etapa inicial llamada "carrera por la superficie" en la cual componentes del fluido corporal intentan unirse a la superficie del implante.

Muchos sistemas de implante están en contacto con tejidos blandos como nervios, músculos, órganos internos, sangre o fluidos corporales en lugar de tejidos duros como el hueso. En la interfase entre el tejido blando y la superficie del material siempre se busca la encapsulación fibrosa cuando se trata de una integración inerte; mientras que las interfaces del tejido duro, como el hueso, se busca asegurar con un mejor soporte de cargas después de la integración bioactiva de este [46].

1.4.1.1 Osteointegración

La osteointegración se define como la formación de una interfase entre el hueso y el implante sin la intervención de tejidos blandos. Cuando un biomaterial es introducido en un medio fisiológico se producen una serie de acontecimientos encadenados entre la superficie del implante y el medio fisiológico, como los que detalla la Figura 1.9 [48].



Figura 1.9 - Etapas de la osteointegración.

1. En un comienzo se produce la mojabilidad de la sangre en la superficie del biomaterial. Como se conoce, la modificación de la composición y de la energía superficial

del sólido altera la respuesta de las células óseas. La mojabilidad es una característica importante, que depende de la energía superficial del sólido, ya que de ella dependerá la adsorción de proteínas, la adhesión celular y su proliferación, así como la compatibilidad de la sangre con el biomaterial, entre otros aspectos para la osteointegración [49], [50].

2. Adsorción inespecífica de proteínas que se produce con mucha rapidez, formándose una capa de proteínas inespecíficas que se absorben en la superficie. Normalmente, los valores de ángulo de contacto son valores constantes con el tiempo. Sin embargo, cuando la mojabilidad es entre un biomaterial y sangre, los valores no son constantes. Las proteínas que se encuentran en la sangre se adsorben en el biomaterial, por lo que la naturaleza de la gota de sangre cambia con el tiempo transformándose en una interfaz más hidrofílica. Por lo tanto, es indispensable que inicialmente haya un cierto carácter hidrofóbico, porque le da volumen al líquido para la rotación y movimiento proteico, permitiendo anclar las proteínas en el biomaterial. Esta etapa es una de las críticas para la buena osteointegración. Esta etapa está ligada directamente con la topografía y la fisicoquímica de la superficie del biomaterial, ya que así se puede garantizar una adsorción específica de proteínas para la formación de hueso e inhibir las que son precursoras del tejido blando [49].

3. Una vez que las proteínas se han adsorbido en la superficie del biomaterial ocurre la migración de las células hacia la superficie. Las proteínas son las que controlan la adhesión de las células y por tanto las biorreacciones con los implantes. La base de la adhesión celular es el reconocimiento por parte de las integrinas de las proteínas adsorbidas en la superficie del implante. Las células migran propulsadas por mecanismos difusivos, convectivos o activos. Las células se podrán adherir, liberar compuestos activos, reclutar otras células, crecer en tamaño, replicarse y morir [49].

4. Después de la adhesión celular y la interacción con la superficie, las células pueden multiplicarse, diferenciarse, comunicarse con otras células y organizarse ellas mismas para convertirse en tejidos. Las células secretan moléculas de la matriz extracelular (ECM) que llena los espacios entre células y sirven como unión entre las estructuras de proteínas y células. El proceso de angiogénesis (formación de pequeños vasos sanguíneos) o vasculogénesis (formación de largos vasos sanguíneos) son críticos para proporcionar al nuevo tejido nutrientes y eliminar residuos [49].

1.4.2 *Biocompatibilidad del titanio*

El titanio es considerado un material biocompatible debido a varias razones. En primer lugar, forma una capa de óxido de titanio (TiO_2) en su superficie cuando se encuentra expuesto al oxígeno del ambiente. Esta capa de óxido es estable y resistente a la corrosión, lo que evita la liberación de iones tóxicos y protege al material de la degradación en el entorno biológico. Esto es esencial para garantizar la durabilidad y la integridad de los implantes a largo plazo [51].

A pesar de ser conocido por ser un material inerte en el entorno del cuerpo humano, las preocupaciones sobre su biocompatibilidad se han discutido y estudiado ampliamente desde la década de 1970. Por ejemplo, debido a sus características inertes, es propenso que se formen cápsulas de tejido fibroso en las superficies de los implantes, lo que puede llevar a una respuesta de cuerpo extraño sección 1.4.3. Además, algunos elementos de ciertas aleaciones de titanio son tóxicos en estados elementales, como el V

en la aleación Ti-6Al-4V y el Ni en las aleaciones con memoria de forma de la serie TiNi, por lo que la liberación de estos elementos puede resultar perjudicial [52].

Es importante destacar que la condición de inerte del titanio, en el cuerpo humano, no es la única característica que se debe tener en cuenta cuando se analiza su biocompatibilidad. Un aspecto importante es la biocompatibilidad mecánica. Esta ocurre cuando el material del implante tiene un módulo de elasticidad similar al del hueso. Esto asegura que cuando el implante y el hueso están sometidos a carga mecánica, esta se distribuye de manera equitativa entre ambos [15].

Si el módulo de elasticidad del implante es mayor que el del hueso, el implante soporta la mayoría de la tensión, no solicitando mecánicamente al hueso y provocando su resorción. Este fenómeno se conoce como "apantallamiento de tensiones sobre el hueso" o "stress shielding" [53].

La resorción ósea o la osteoporosis generada por el apantallamiento de tensiones, está relacionada con lo previsto por la ley de Wolff, enunciada por el cirujano alemán Julius Wolff, que establece que el hueso se adapta a las cargas a las que está sometido. Si la carga aumenta, el hueso se remodela para hacerse más fuerte; si disminuye, el hueso se debilita. Esta ley subraya la importancia de las tensiones mecánicas en la salud y fortaleza del tejido óseo [53].

En general, los biomateriales metálicos poseen una baja biocompatibilidad mecánica con el hueso en el que se insertan, lo que resulta en el apantallamiento de tensiones sobre este. Esto se debe a la gran diferencia en los módulos de elasticidad entre los materiales metálicos y el hueso humano, como puede verse en la Figura 1.10.

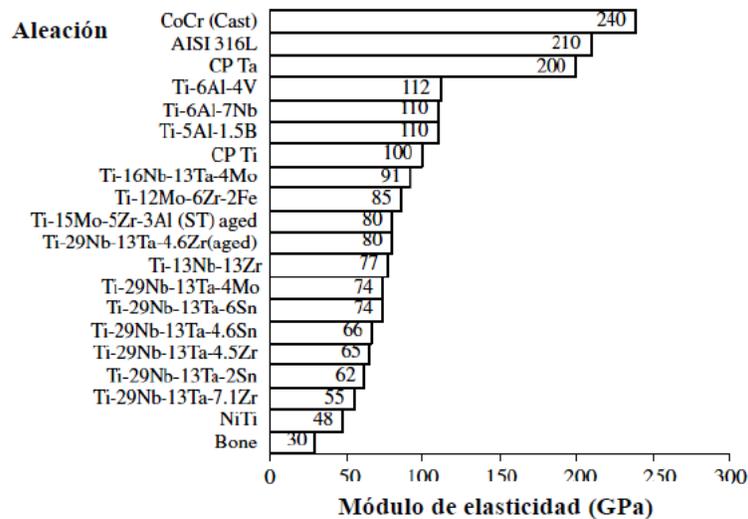


Figura 1.10 - Módulos de elasticidad para distintos biomateriales y el hueso cortical humano [54].

La utilización de titanio puro y aleaciones como la Ti-6Al-4V, cuyos módulos de elasticidad son aproximadamente la mitad de los aceros inoxidables y aleaciones CoCrMo, fue un avance significativo [55]. Sin embargo, el titanio y sus aleaciones aún poseen valores de módulo de elasticidad bastante mayores que los huesos humanos. Para mejorar la biocompatibilidad mecánica, se busca el agregado de poros en su estructura, lo cual se discute en las secciones 1.2.2 y 4.5.1.

1.4.3 Osteointegración del titanio

La osteointegración es un factor clave para el éxito del implante y puede ser definida como una conexión estructural y funcional directa entre hueso vivo ordenado y la superficie de un implante.

A pesar de que los implantes de Ti se los considera como inertes, estos pueden inducir una leve reacción de cuerpo extraño desencadenando en un rechazo eventual del implante. Después de la cirugía, las proteínas del suero se adsorben en la superficie de titanio, regulando la actividad del sistema inmunológico. Los neutrófilos, linfocitos, monocitos y finalmente los macrófagos desempeñan un papel crucial en el reconocimiento de las características superficiales del material y en la expresión de factores biológicos en el tejido circundante. Estas señales polarizan la población de macrófagos hacia M1 (fenotipo proinflamatorio, generalmente asociado con infecciones microbianas) o hacia M2 (fenotipo antiinflamatorio). Tras esta polarización, podría ocurrir una encapsulación fibrosa del biomaterial como consecuencia de una respuesta de cuerpo extraño. Ambos eventos afectan la futura integración del implante en el tejido óseo, con tres posibles escenarios como se observa en la Figura 1.11 [56].

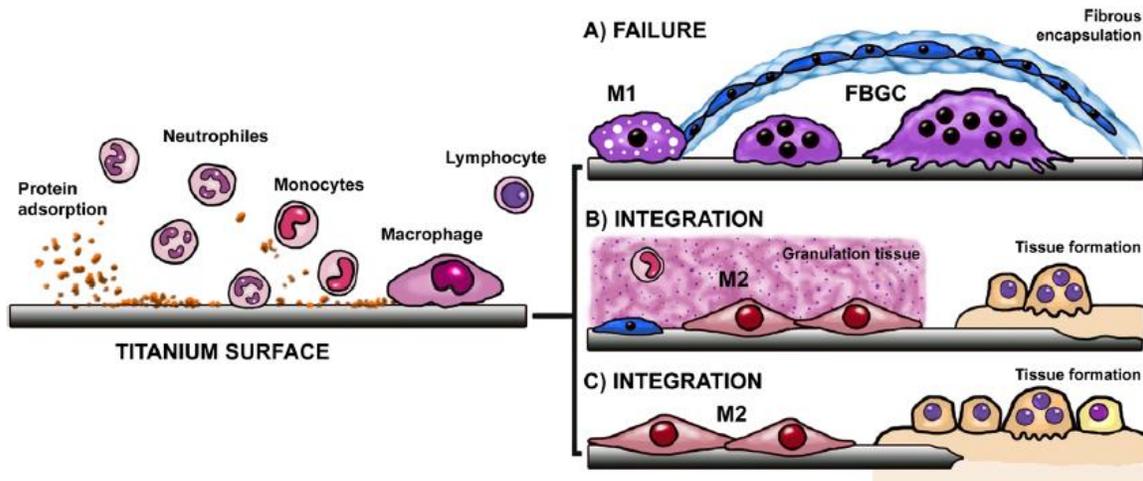


Figura 1.11 - Respuesta biológica sobre un implante de titanio [56].

La opción A de la Figura 1.11 muestra el fracaso de la implantación, la polarización de los macrófagos hacia M1 y la encapsulación de tejido fibroso conducen a la formación de células gigantes de cuerpo extraño (CGCE), inflamación del tejido y rechazo del implante. En el escenario B el biomaterial está rodeado de tejido de granulación, pero predomina el fenotipo de macrófago M2, lo que provoca una transformación progresiva del tejido de granulación en tejido óseo después de la deposición de matriz. Para el escenario C, el fenotipo de macrófago M2 está presente y no hay reacción adversa, lo que favorece la osteointegración y el éxito del implante. En ambos últimos casos tenemos integración ósea [56].

En consecuencia, los dispositivos de Ti pueden ser reconocidos como cuerpos extraños y rodeados de tejido de granulación o bien aislados por tejido fibroso [57]. En ese escenario, se necesita una respuesta del sistema inmunológico subsiguiente para evitar la

inflamación crónica y la fibrosis, e iniciar la remodelación del tejido para la integración del implante. De lo contrario, la implantación del implante de Ti puede fallar.

1.4.4 *Superficie del implante y la osteointegración*

Como se menciona en el apartado anterior, el titanio inerte posee dificultades para combatir infecciones o regular activamente procesos específicos de las células óseas [56].

La modificación de las condiciones superficiales del implante, puede ser una ventaja para mejorar estos aspectos. De los factores que afecta al proceso de osteointegración, entre el medio biológico y la superficie del material implantado, se puede actuar sobre [51]:

- La morfología de la superficie del implante mediante modificación física o química de la misma. Algunos ejemplos son: modificación superficial por mecanizado, granallado, ataque químico, ablación laser, tratamientos UV y métodos de oxidación como lo es el anodizado [56].
- Modificación química o agregado de agentes en la superficie del material. En este caso se busca modificar la composición química de la superficie, como por ejemplo con la deposición de capas inorgánicas como lo es la hidroxiapatita HAP. O bien agregando componentes bioactivos que mejoren la osteointegración, agentes antibióticos, etc. [56].

Por lo tanto, se ha hecho foco en la mejora de las superficies de titanio para abordar estos problemas. Debido a esto, en la actualidad se puede encontrar una variedad de modificaciones de superficie de titanio y recubrimientos que pueden desencadenar directamente la formación ósea o incluso reducir el riesgo de infecciones. La mayoría de los recubrimientos de titanio siguen una lógica biológica y tienen como objetivo imitar el tejido óseo y sus componentes.

Además, las moléculas que regulan directamente los procesos de diferenciación osteogénica, como lo son ciertas proteínas de la matriz extracelular (ECM) y factores de crecimiento (GFs), se han probado en combinación con materiales de recubrimiento y se han incorporado en ellos utilizando diferentes enfoques, con el fin de inducir la formación ósea y mejorar la osteointegración del implante. Del mismo modo, se han incorporado antibióticos y agentes bactericidas en los recubrimientos de implantes, con el objetivo de reducir y prevenir infecciones asociadas con los procesos de implantación.

1.4.5 *Biocompatibilidad en estructuras porosas*

La aplicación de una estructura porosa mejora el entrelazado mecánico entre el biomaterial metálico y el hueso a través de su crecimiento en los poros [58]. Nadezdhin *et al.* mediante una prueba de osteogénesis ectópica, evidenciaron mejores características osteogénicas y osteoconductoras de implantes porosos en comparación con la configuración de superficie uniforme de baja rugosidad [59]. El proceso de crecimiento óseo se realaciona con la porosidad, tamaño de poro y estructura del material, lo cual se discute en la sección 4.4.1.2. Por otra parte, Chang *et al.* advierten que los poros pequeños de aproximadamente 188 μm son más propensos a promover la diferenciación celular al principio de la cicatrización del implante, mientras que los poros mayores a 313 μm la proliferación celular y el crecimiento óseo [60], [61].

En las estructuras porosas los poros deben estar interconectados para proporcionar una vascularización suficiente y suministro de nutrientes en su interior. Mour *et al.* menciona que una porosidad del 75 al 85 %, podría proporcionar un rápido crecimiento óseo [62]. Otros autores como Bobyn *et al.* e Itä Lää *et al.* recomiendan un tamaño de poro de 100 μm a 150 μm para lograr una correcta adhesión celular. Por otro lado, para promover la migración celular se recomiendan tamaños de poro desde 300 μm hasta 800 μm [63], [64].

A pesar de la mejora en la interconexión de los biomateriales porosos con el hueso, el titanio puro es bioinerte y no induce la formación ósea. Chen *et al.* afirma que los implantes porosos puros y no modificados poseen una menor resistencia a la corrosión en comparación con el titanio sólido. Este efecto puede evitarse mediante la formación de capas de óxido en la superficie del implante [65].

Otra dificultad que se encuentra en la bibliografía es la dificultad de incorporar agentes biomiméticos en las estructuras porosas y de lograr una homogeneidad del recubrimiento en su interior [66]. Se evalúan algunos métodos de tratamiento de superficies para superar estos problemas. Algunos de los más discutidos son métodos químicos, térmicos y termoquímicos, que se consideran una buena alternativa a las técnicas convencionales [67].

Por otro lado, se busca la incorporación de componentes bioactivos en estructuras porosas. Li *et al.* evaluaron la biocompatibilidad de andamios de Ti-6Al-4V porosos con un recubrimiento de hidroxiapatita asistido por polidopamina. Los autores informaron una mayor proliferación y diferenciación osteogénica de las células MC3T3-E1 *in vitro* y un mayor proceso de integración ósea y osteogénesis de los implantes *in vivo* [145]. Scislowska-Czarnecka *et al.* evaluaron implantes de titanio poroso recubiertos ya sea con hidroxiapatita, biovidrio (BG) o silicato de calcio mediante el método sol-gel. En su investigación, los implantes con hidroxiapatita y BG indujeron el menor efecto proinflamatorio en células de macrófagos, siendo un método prometedor [68]. En este trabajo se discute la incorporación de componentes bioactivos en las estructuras porosas (secciones 3.3 y 4.3).

1.5 Justificación y relevancia de la investigación

La búsqueda de la mejora en el desempeño de los biomateriales para reemplazo óseo lleva al desarrollo de nuevas tecnologías, o bien, a la adaptación de las ya conocidas para la obtención de materiales con mejores desempeños en estas aplicaciones. Dicha mejora se traduce en una mejor calidad de vida de los pacientes, debido a una posible reducción del tiempo de recuperación, o bien, una disminución en la probabilidad de rechazo del material implantado.

En esta tesis se desarrolla un método que presenta la ventaja de producir piezas con porosidad controlada y geometrías diversas. Esto se logra debido a que se utiliza una resina, cuya mezcla con TiH_2 produce un material fluido que puede colarse en un molde con la forma final deseada. En este tipo de proceso se obtienen piezas con forma final, lo que reduce en gran medida los procesos de mecanizado, y por lo tanto, de desperdicio de material. Por otro lado, los moldes utilizados son más económicos que los utilizados en la pulvimetalurgia tradicional por compactación. Esto se debe a que estos últimos deben resistir esfuerzos elevados de carga y solo deben limitarse a formas simples para lograr un completo llenado de la matriz.

Otro aspecto para destacar es que esta técnica permite la obtención de piezas a medida. La obtención de tomografías de la zona afectada, y el diseño de las prótesis o implantes a medida para un paciente en particular, es posible mediante softwares de diseño. Luego, el desarrollo del molde a partir del diseño de la prótesis o implante, y su materialización a través de tecnologías de impresión 3D, nos permite obtener los moldes adecuados, de manera rápida y económica para la fabricación de la pieza.

Por otro lado, la importancia de la obtención de estructuras porosas radica en que las mismas reducen la rigidez del material, evitando o disminuyendo el fenómeno de stress shielding; el cual conlleva a una reducción de la masa ósea en la interfase implante-hueso (osteoporosis). Además, permite una adherencia mecánica implante-hueso mejor que la adherencia tradicional a través de la rugosidad superficial del implante. El hueso es capaz de adentrarse en la estructura porosa y generar una unión, con el implante, desde el interior del mismo.

Sumado a esto, la técnica permite la fabricación de estructuras con porosidad gradual, pudiendo adaptar las condiciones de porosidad para obtener de manera simultánea: una óptima condición superficial para una adecuada osteointegración y poseer una resistencia mecánica adecuada. Además, permite el agregado de compuestos bioactivos, los cuales promueven el crecimiento óseo en el implante.

Por lo mencionado, los resultados obtenidos en este trabajo contribuyen al conocimiento de la técnica de Gel-Casting y sinterizado con resina acrílica, TiH_2 y HAP; como así las características metalográficas, mecánicas y biológicas de las estructuras obtenidas.

CAPÍTULO 2

**OBJETIVOS, ALCANCE Y
DELIMITACIONES**

2 Objetivo General

El objetivo general de este trabajo es desarrollo y síntesis de estructuras porosas de titanio, a través del método de gel-casting y posterior sinterización (GCS), controlando el tamaño, la forma del poro y el gradiente de porosidad desde la superficie al núcleo, imitando la arquitectura que presentan los huesos humanos, para la fabricación de implantes biomédicos oseointegrables.

2.1 Objetivos Específicos

- I. Estudio y desarrollo del método de gel-casting, que permita obtener estructuras en verde a partir de hidruro de titanio en polvo.
- II. Estudio de procesos pulvimetalúrgicos para la sinterización de los materiales en verde, obtenidos por gel-casting, para conseguir titanio metálico poroso, posibilitando el control del tamaño, la forma, la cantidad y la distribución de poros en la estructura.
- III. Estudio de las variables del método de gel-casting y sinterización sobre las características de porosidad, propiedades mecánicas, químicas y biológicas.
- IV. Caracterización metalográfica, mecánica, química y biológica de las estructuras de titanio porosas obtenidas.
- V. Estudio de la relación entre las características de la porosidad y sus propiedades mecánicas.

2.2 Alcance

Este trabajo estudia procesos destinados a la fabricación de estructuras de titanio porosas para ser utilizadas posteriormente en la fabricación de implantes biomédicos. Se explora a través del empleo de procesos pulvimetalúrgicos, derivados del proceso de "Gel-Casting", conocidos como "Near-Net-Shape". En esta última, la obtención de la muestra o pieza en "verde" se genera por colado de una mezcla de resina acrílica (AR) con partículas de TiH_2 . La resina acrílica, actúa como ligante de la estructura metálica y como agente espaciador, para generar la formación de poros. Luego, la mezcla se seca y se obtiene un producto en "verde" con suficiente resistencia para su manipulación. Posteriormente, se lleva a cabo un proceso de sinterización a temperatura, tiempo y atmósfera controlada. Por último, se evalúan las propiedades estructurales, físicas, químicas y biológicas de las estructuras obtenidas.

Para el desarrollo del método de Gel-Casting, se estudiaron distintas proporciones de AR- TiH_2 , que permitan el control de las características de porosidad. Además, se investiga la posibilidad de generar un gradiente de porosidad radial, fabricando muestras mediante capas concéntricas con distintas relaciones AR- TiH_2 . Finalmente, se experimenta la fabricación de composites de AR- TiH_2 con agregados de hidroxiapatita (HAP).

Para evaluar las propiedades de las estructuras porosas de titanio, se efectuaron caracterizaciones metalográficas, mecánicas, químicas y biológicas. Se evalúan características de los poros, tales como la forma, tamaño, cantidad y distribución. Además, la caracterización metalográfica, permite evaluar la calidad del proceso de sinterización, correcta descomposición del hidruro de titanio y la soldadura de las partículas en forma de titanio metálico. Las propiedades mecánicas, se caracterizan mediante la evaluación del módulo elástico y de la dureza final del titanio poroso.

Por otra parte, para los casos donde se efectuó la aplicación de hidroxiapatita, se hace foco en el estudio de la composición química, antes y posteriormente a su sinterización. Por último, se estudian condiciones biológicas de biocompatibilidad, mediante análisis in vitro.

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y METODOLOGÍA

3 Materiales y Metodología

En este trabajo, se realizan distintos estudios y experiencias, con el fin de establecer un proceso que nos posibilite la obtención de estructuras de titanio con porosidad controlada, a través de un método pulvimetalúrgico que combina la técnica de Gel-Casting y sinterización. En primer lugar, se estudia y desarrolla un método de obtención de estructuras de titanio con porosidad uniforme. Luego, se exploran posibilidades de obtener estructuras de titanio con porosidad gradual, así como estructuras porosas con el agregado de hidroxiapatita, como compuesto bioactivo. En este capítulo, se detalla la metodología propuesta para cada desarrollo, así como los materiales utilizados para la fabricación de dichas estructuras y sus caracterizaciones.

3.1 Obtención de estructuras de titanio con porosidad uniforme (Ti-Poros)

3.1.1 *Proceso de Gel-Casting*

3.1.1.1 *Materias primas*

1. Resina acrílica (AR)

Se utiliza una resina acrílica, de ahora en más AR, autocurable, de marca Cardent de dos componentes. El primer componente está compuesto por polimetil-metacrilato (polímero) suministrado en forma de polvo, peróxido de benzoilo (iniciador) y sales de cadmio, hierro o pigmentos orgánicos (pigmentos) también en forma de polvo. Son plásticos derivados del etileno, que contienen un grupo vinilo. Las resinas acrílicas más utilizadas son las derivadas del ácido acrílico y del ácido metacrílico. De los ésteres obtenidos de estos ácidos, unidos a diferentes radicales (metilo, etilo, fenilo), se obtienen los monómeros de dichas resinas: acrilato de metilo y metacrilato de metilo.

La elección de este tipo de resina radica en que es posible lograr mezclas homogéneas, de manera sencilla, entre las partículas del material metálico y la resina correspondiente. Esto, posibilita explorar ventajas operativas y de proceso, respecto al método pulvimetalúrgico tradicional que emplea la compactación de polvos [69]. Por otro lado, al mezclar este polvo con su correspondiente activador de polimerización (el activador se suministra en estado líquido), se forma una pasta o barro que es posible colar, sin complicaciones, dentro de un molde con una forma geométrica determinada, por ejemplo, una prótesis biomédica. Además, con el objetivo de obtener cavidades dentro de la estructura metálica (poros), a dicha resina se la puede volatilizar a temperaturas de entre 200 a 300 °C, lo que permite generar un espaciado interno que asegura una porosidad interconectada [70].

El segundo componente es un monómero marca Subiton, de presentación líquida, el cual es metacrilato de metilo ($C_5H_8O_2$). Cuando el monómero de metacrilato de metilo se pone en contacto con la componente en polvo de la AR, mencionado anteriormente, polimeriza dando lugar al polimetilmetacrilato (PMMA) que es un plástico amorfo, conocido cotidianamente como acrílico. Es tóxico e inflamable [71].

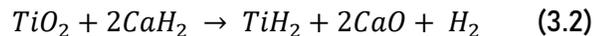
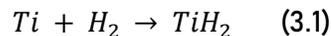
Estos acrílicos, en general presentan contracción (del 0,2 al 0,5 %). Tienen cierta capacidad para absorber o ceder agua, no son solubles en agua o saliva, pero sí lo son en disolventes orgánicos (acetona y benceno) [70].

Propiedades:

- **Transparencia:** El PMMA es excepcionalmente transparente y permite la transmisión de luz visible en un grado similar al del vidrio. Esto lo hace valioso en aplicaciones donde la claridad óptica es esencial.
- **Resistencia a la intemperie:** Tiene una buena resistencia a la intemperie y a la radiación UV, lo que lo hace adecuado para aplicaciones en exteriores.
- **Dureza y resistencia a la abrasión:** El PMMA es conocido por su dureza superficial, lo que lo hace menos propenso a rayarse en comparación con otros materiales plásticos.
- **Baja densidad:** Es más ligero que el vidrio, lo que facilita su manipulación y reduce el peso en aplicaciones donde el peso es un factor importante.
- **Buenas propiedades de aislamiento eléctrico:** El PMMA es un aislante eléctrico eficaz.
- **Buena estabilidad química:** Es resistente a muchos productos químicos y solventes.
- **Facilidad de procesamiento:** Puede ser moldeado, cortado, fresado y pulido con herramientas comunes [70].

2. Hidruro de titanio (TiH₂)

Se utiliza hidruro de titanio (II) en polvo, de ahora en más TiH₂, marca Sigma Aldrich, con una pureza del 98 % y tamaño de partícula menor a 43 μm [72]. Este se obtiene de la reacción directa del hidrógeno (3.1) con el titanio, o por reducción del dióxido de titanio con hidrógeno usando hidruro de calcio (3.2). De esta manera, es posible utilizar titanio en contacto con la atmósfera del aire, sin que ocurra la formación de óxido de titanio [15].



El TiH₂ es un material de interés en la fabricación de materiales compuestos y estructuras porosas para aplicaciones biomédicas. También, se utiliza en la industria de materiales y como precursor en la síntesis de otros compuestos de titanio [15].

Se opta por la utilización de este material, en vez de polvo de titanio, debido a las siguientes razones:

- El polvo de titanio posee una pobre capacidad de molienda, que dificulta la obtención de los polvos. Además, debido a su reactividad forma óxidos en la superficie, que dificultan su posterior sinterizado. Sin embargo, el hidruro de titanio, posee buena capacidad de molienda debido a su fragilidad y no es reactivo con el medio durante este proceso [73].
- El hidrógeno atómico liberado en el calentamiento en atmósferas de vacío limpia al material y elimina impurezas como lo son el O, C y Cl [74], [75].
- La descomposición del hidruro de titanio genera una alta concentración de vacancias y dislocaciones, lo que incrementa la velocidad de difusión durante el sinterizado [74], [75].

- Los poros resultantes del proceso de sinterización son más finos y mejor distribuidos que los obtenidos con polvo de titanio [75].

Propiedades:

- Estado físico: Sólido.
- Color: Gris oscuro a negro.
- Densidad: Alrededor de 49,88 g/mol.
- Solubilidad: Insoluble en agua, soluble en ácidos diluidos.
- Frágil.
- Alta estabilidad química en aire [72].

3.1.1.2 Etapas del proceso de Gel-Casting

La elaboración de las muestras para la obtención de estructuras Ti-Poros, consta de dos etapas principales. En primer lugar, se busca obtener muestras en verde, mediante el proceso de Gel-Casting. Dentro de este proceso, se pueden diferenciar 4 etapas que se detallan en la Figura 3.1. En segundo lugar, las muestras con matriz metálica de Ti-Poros, se obtienen mediante el proceso de sinterización, correspondiente a la etapa 5 de la Figura 3.1.



Figura 3.1 - Metodología propuesta para la fabricación de estructuras porosas por Gel-Casting y Sinterización.

A continuación, se detalla la metodología de fabricación de las muestras en verde, correspondientes a las etapas 1 al 4 de la Figura 3.1:

1. Preparación de la mezcla de polvos: consiste en la confección de muestras mediante el pesaje de los polvos. Una adecuada manipulación de las proporciones en peso de los polvos de TiH_2 y AR, nos permiten obtener

diferentes estructuras de Ti-Poros. Esta etapa, es importante, debido a que posibilita dosificar la cantidad de Ti y AR que controlan la porosidad final obtenida en la muestra. Para ello, se estudian diferentes relaciones, modificando las fracciones en peso de AR (FAR). La Tabla 3.1, detalla las fracciones seleccionadas para esta etapa del trabajo. La FAR se define como se muestra en la ecuación (3.3):

$$FAR = [w_{AR}/(w_{AR} + w_{TiH_2})] \times 100 \quad (3.3)$$

donde w_{AR} es el peso de AR y w_{TiH_2} es el peso de TiH_2 utilizado en la mezcla.

Tabla 3.1 - Tabla de mezclas de polvos con su respectiva cantidad de AR (expresado en porcentaje) utilizadas en la fabricación de las muestras.

| Mezcla | FAR [%] |
|--------|---------|
| 3R | 3 |
| 6R | 6 |
| 9R | 9 |
| 12R | 12 |
| 15R | 15 |
| 18R | 18 |
| 21R | 21 |

Las muestras en verde, se fabrican mezclando polvos de TiH_2 y AR. La resina tiene una doble función como aglutinante y espaciador. Como aglutinante, permite la unión entre las partículas de TiH_2 . Como espaciador, permite generar poros, cuando la misma es volatilizada en la etapa de sinterización. La elección de este material, se basa en su capacidad para descomponerse completamente a relativamente bajas temperaturas (≈ 300 °C), lo cual permite evitar las reacciones con el polvo de TiH_2 . Además, es importante advertir, que las cavidades o poros, se obtienen sin la adición de elementos espaciadores como NH_4HCO_3 , NaCl u otros, los cuales son los métodos de obtención de poros empleados en la actualidad [76], [77].

Debido a la irregularidad en el tamaño de las partículas del polimetacrilato de metilo, se realiza una selección y homogenización previa, mediante un tamizado con apertura de malla estándar de 88 μm . Por otra parte, las partículas de AR tienen forma esférica, como se muestra en la imagen de microscopía electrónica de barrido de la Figura 3.2a.

En otro orden, las partículas de TiH_2 tienen un tamaño medio de 44 μm y poseen forma irregular, con cantos afilados, como se muestra en la Figura 3.2b. Debido a la homogeneidad en tamaños, no es necesario una tamización para su empleo. El valor del tamaño de partículas se refiere a un valor de diámetro equivalente, explicado en el apartado 3.4.2.

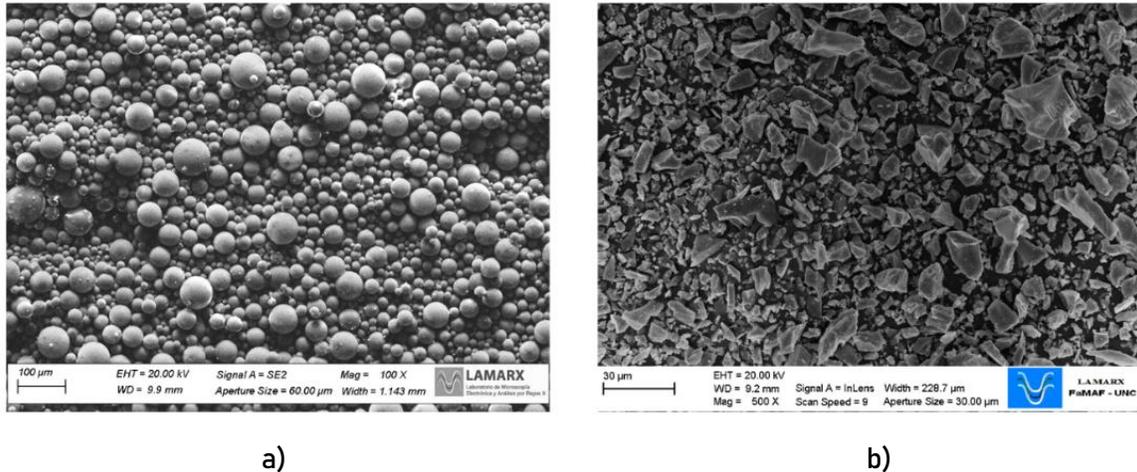


Figura 3.2 – Imágenes SEM de los polvos. a) Partículas de polimetil metacrilato, magnificación 100x. b) Partículas de hidruro de titanio.

- Mezclado: consiste en obtener una mezcla homogénea de los polvos de TiH_2 y AR. Las mezclas se realizan en un dispositivo tubular que gira a 43 rpm, como se muestra en la Figura 3.3. El dispositivo, tiene una forma similar a la letra “Y” y está fabricado en vidrio, lo que permite que las partículas de polvo se deslicen correctamente en su interior, para garantizar la mezcla.



Figura 3.3 - Mezclador de polvos.

Los polvos se mezclan durante aproximadamente 15 minutos. Una mezcla adecuada, proporciona una dispersión homogénea de las partículas de AR en la mezcla.

- Preparación y colada de muestras: a la mezcla de polvos de AR y TiH_2 , se agrega peróxido de benzoilo (iniciador de reacción) y metacrilato de metilo (monómero autocurable). Estos últimos, se encuentran en estado líquido, obteniéndose así una suspensión a la que se la suele denominar como “barro” o “slug”. En el momento en que la suspensión tiene la viscosidad

adecuada, se vierte dentro de un molde. Los moldes, poseen orificios cilíndricos de 6 mm de diámetro y 8 mm de altura como se muestra en la Figura 3.4.

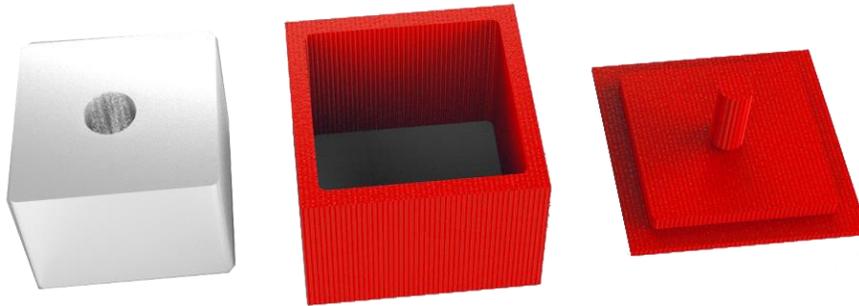


Figura 3.4 - Diseño 3D del molde para muestras de 6 mm de diámetro y 8 mm de altura.

Los moldes se fabrican de caucho siliconado. Este material, presenta la ventaja de que el barro no se adhiere al mismo, por lo que facilita el proceso de desmolde de la pieza en verde, una vez que se ha realizado el secado final.

La fabricación de los moldes, se lleva a cabo mediante manufactura aditiva FDM (impresión 3D), permitiendo confeccionar la forma geométrica del negativo del molde, para conseguir verter el caucho siliconado y obtener así el molde con la geometría final.

los moldes y los negativos, se diseñaron mediante la ayuda del software Solidworks® 2018 y luego se imprimieron mediante tecnología de impresión 3D en polímero. La impresora utilizada es de marca Trideo, modelo Print Box Max y el polímero empleado es PLA (ácido poliláctico).

Con el objetivo de evitar oclusiones de aire durante el vertido del barro en los moldes, así como asegurar el correcto llenado, se aplica vibración durante el moldeo. Para ello, se emplea un dispositivo de vibración como se muestra en la Figura 3.5.

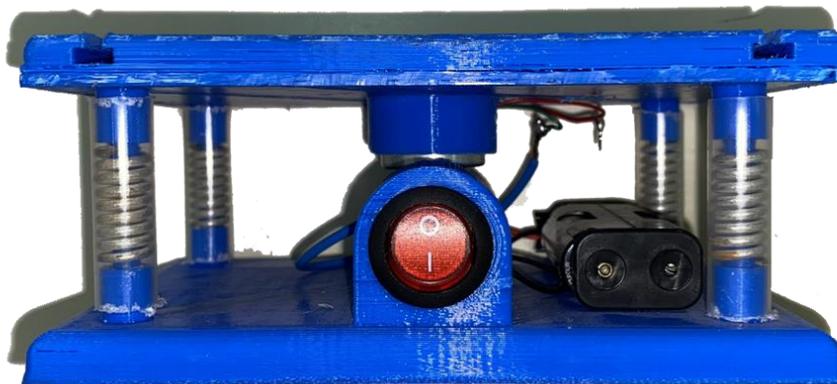


Figura 3.5 - Mesa vibratoria utilizada en la fabricación de muestras en verde.

El dispositivo, también es fabricado mediante tecnología de impresión 3D. El mismo consta de una base que se encuentra vinculada mediante resortes a una parte superior, en donde se aloja el motor. Este posee un contrapeso, que al rotar genera la vibración buscada. Las ondas de vibración transportan las burbujas de aire dispersas en el barro hasta la parte superior, lo que permite un correcto llenado del molde.

4. Secado: luego de 24 horas, las muestras están secas y se pueden desmoldar. En ese momento las muestras en verde se encuentran completamente conformadas, esto se representa como la etapa 4 en la Figura 3.1. El proceso de polimerización de la resina acrílica permite obtener una estructura polimérica (que es el “esqueleto” que soporta los esfuerzos mecánicos de las muestras en verde) con una dispersión de polvo de TiH₂ en su interior.

3.1.2 Proceso de sinterización

Finalmente, se llega a la etapa de transformación de la muestra en verde en una muestra metálica porosa, mediante el proceso de sinterización, representado como la etapa 5 en la Figura 3.1. Para la etapa de sinterización, se utiliza un horno eléctrico tubular de alta temperatura (fabricado por la empresa Sentro Tech), el cual se encuentra conectado a una bomba de alto vacío (fabricada por la empresa Edwards). Se estudian dos ciclos térmicos, denominados ciclo térmico 1 (TC1) y ciclo térmico 2 (TC2). La Figura 3.6 muestra los valores de temperatura versus tiempo para cada uno. Ambos trabajan en atmósfera de alto vacío, a 10⁻⁶ mbar de presión, durante la etapa de sinterización.

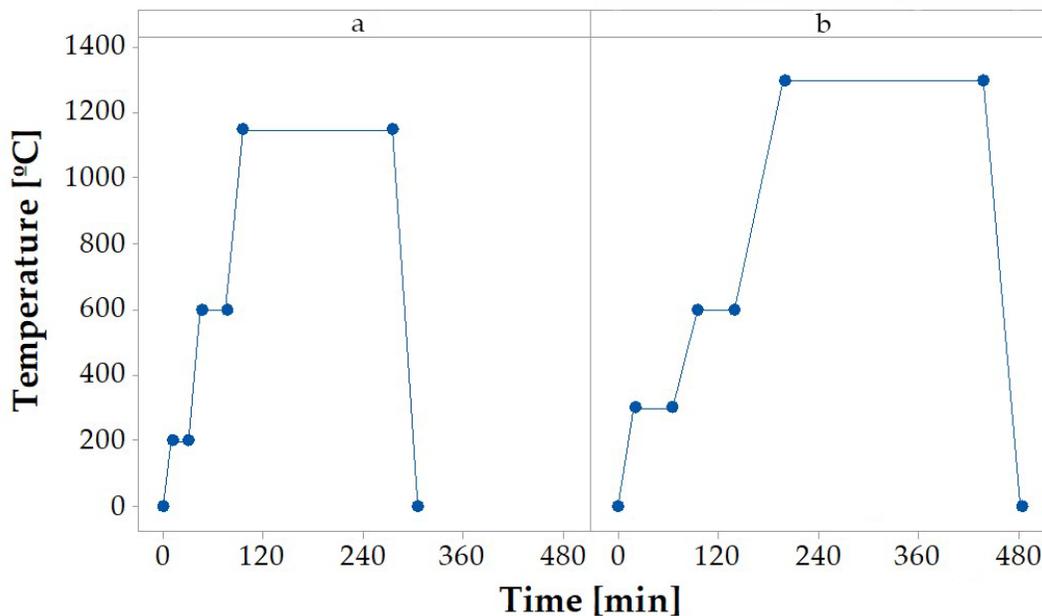


Figura 3.6 - Ciclos térmicos de sinterización. a) Ciclo térmico 1 (TC1) b) Ciclo térmico 2 (TC2).

El ciclo térmico de sinterización tiene tres etapas (Figura 3.6). En la etapa 1, las muestras se colocan en una navicilla de porcelana y luego dentro del horno eléctrico. Luego, las muestras se calientan a 200 °C por 30 min para TC1 y 300 °C por 45 min para

TC2, con el fin de volatilizar la resina acrílica y generar las cavidades o poros buscados. La resina volatilizada es extraída del horno gracias a la bomba de alto vacío. En la etapa 2, ocurre la descomposición del TiH_2 según la ecuación (3.4), a 600 °C durante 45 min tanto para TC1 y TC2. En esta etapa, el hidrógeno es eliminado a través de la bomba de vacío, quedando las partículas de titanio en el interior del horno. Es importante advertir, que, una vez realizada la descomposición del hidruro de titanio, la atmósfera del horno debe estar exenta de oxígeno para evitar la oxidación del titanio.



Por último, en la etapa 3 del ciclo térmico, se lleva a cabo el proceso de sinterización. Éste, se realiza a 1150 °C por 180 min en TC1 y 1300 °C por 240 min en TC2. Durante la sinterización, las partículas de titanio se unen entre sí a través de un proceso difusional. Como resultado, se obtiene un material poroso, con titanio metálico $Ti(\alpha)$ como matriz.

3.2 Obtención de estructuras de titanio con gradiente de porosidad (Ti-GPoros)

Como se ha mencionado, la generación de poros a una estructura determinada, en este caso titanio, nos permitirá variar sus propiedades mecánicas y topográficas. La mejora en la adhesión y migración celular viene relacionada al tamaño de poro que se consigue [78]. Mientras que la reducción del fenómeno de stress-shielding, viene relacionado a la cantidad de poros que se obtienen (a mayor cantidad de poros, menor es la rigidez de la estructura) [35], [79]. Cabe mencionar, que la reducción de la rigidez de la estructura, a valores cercanos al hueso, tiene influencia solo en la zona de contacto con el hueso y no en toda la estructura [80]. Además, una reducción excesiva del módulo elástico, en toda la estructura, podría deteriorar de manera drástica las propiedades mecánicas de la misma, pudiendo fallar de forma prematura, por esfuerzos mecánicos estáticos o bien por fatiga [80].

Es por esto, que resulta interesante poder obtener estructuras con características específicas en las distintas zonas de la pieza o muestra. La fabricación de estructuras con gradiente de porosidad, podría cumplir con lo mencionado anteriormente.

3.2.1 *Proceso de Gel-Casting*

3.2.1.1 *Materias primas*

Los materiales utilizados para la fabricación de muestras con porosidad gradual, son TiH_2 y AR, como se detalla en el apartado 3.1.1.1.

3.2.1.2 *Etapas del proceso*

Se propone un método de fabricación de muestras con gradiente de porosidad radial, basándonos en el proceso descrito en 3.1. Se realizan muestras de 2 y 3 capas con distintos valores de AR en cada una de ellas. Del proceso descrito en 3.1, la etapa 4 es la única que se modifica para poder obtener estos tipos de muestras. Para muestras de 2 capas, se tienen las siguientes sub-etapas:

1. Se utiliza un molde con forma de anillo cilíndrico de 12 mm de diámetro exterior y 6 mm de diámetro interior, como se puede observar en la Figura 3.7a.

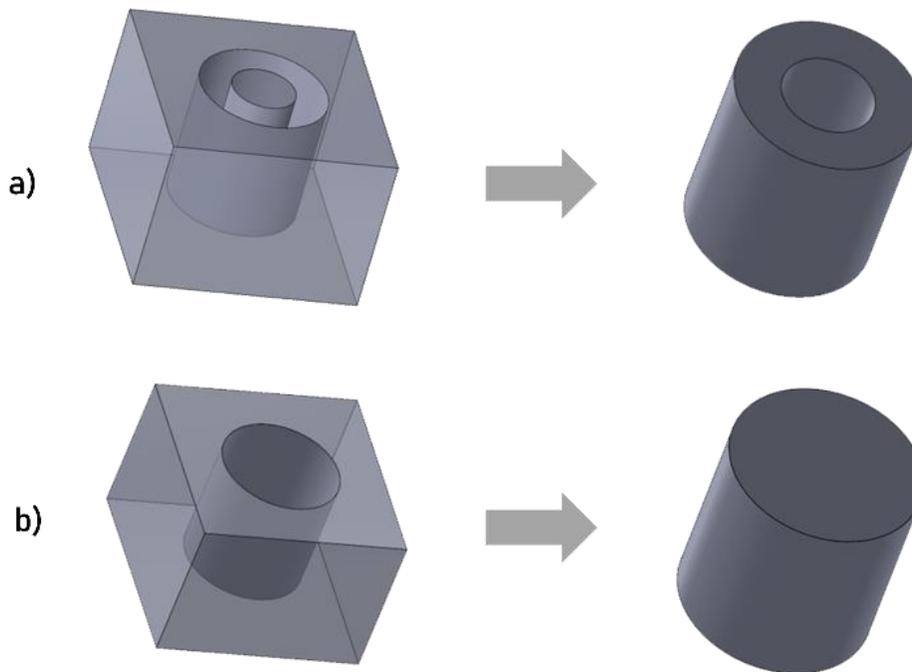


Figura 3.7 – Fabricación de muestras con 2 capas de RA. a) Molde para fabricación del anillo exterior. b) Molde cilíndrico para el llenado del anillo.

El mismo es llenado con una mezcla de una cantidad de resina acrílica definida. Para este estudio, se selecciona la mezcla 9R, con la finalidad de producir mayor porosidad superficial. Una vez que la muestra se seca, el anillo se desmolda quedando una muestra como la que se observa a la derecha de la Figura 3.7a.

2. Luego, en otro molde (Figura 3.7b), se coloca el anillo obtenido anteriormente y se realiza el llenado de la parte central con el barro de gel-casting. La mezcla utilizada es diferente a la de la confección del anillo. En este caso, se estudia la mezcla 3R, con la finalidad de dar menor porosidad y mayor rigidez en el núcleo. Es importante mencionar, que la zona interna del anillo es previamente humedecida con monómero líquido antes de verter la nueva mezcla o barro de gel-casting. Esto se realiza para mejorar la unión entre las capas.

Para muestras de 3 capas, se tienen las siguientes sub-etapas:

1. Se utiliza un molde con forma de anillo cilíndrico de 12 mm de diámetro exterior y 10 mm de diámetro interior, como se puede observar en la Figura 3.8a. Este es llenado con la mezcla 12R. Una vez seco, el anillo se desmolda, quedando una muestra como la que se observa a la derecha de la Figura 3.8a.

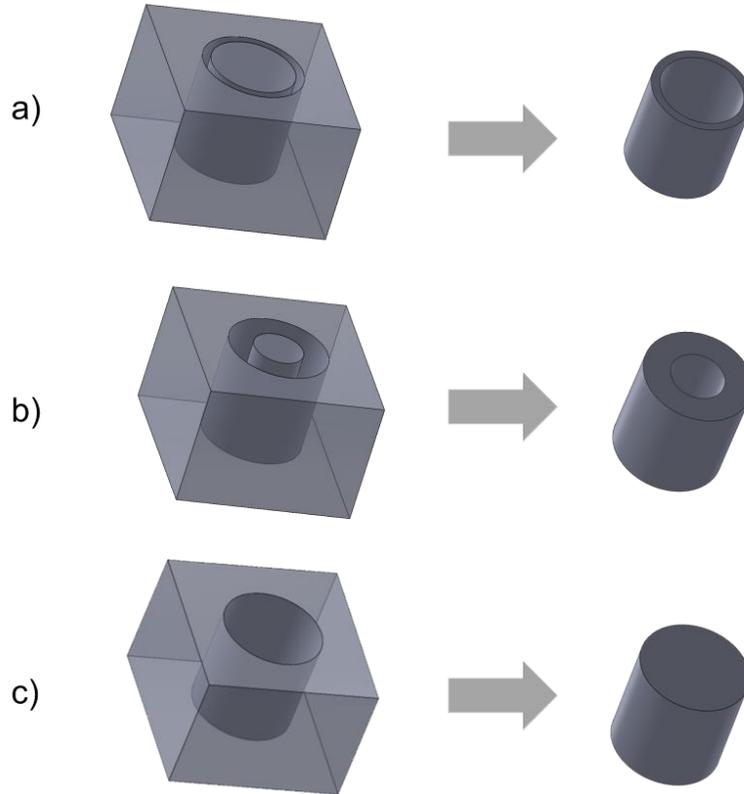


Figura 3.8 - Fabricación de muestras con 3 capas de RA. a) Molde para fabricación del anillo exterior. b) Molde para fabricación del anillo intermedio. c) Molde cilíndrico para el llenado del anillo central.

2. El anillo obtenido en el paso 1, es colocado en un segundo molde como el que se muestra en la Figura 3.8b. Dicho molde nos va a permitir obtener un anillo intermedio, con un diámetro exterior de 10 mm y uno interior de 6 mm. La mezcla que se utiliza para su llenado es la mezcla 6R.
3. Luego, en un tercer molde se colocan los anillos de los pasos 1 y 2, cuyas capas están unidas entre sí, y se realiza el llenado de la parte central (Figura 3.8c). La mezcla utilizada es la 3R.

En los pasos 2 y 3 la zona interna del anillo es previamente humedecida con monómero líquido antes de verter la nueva mezcla, como se explica en la fabricación de muestras con 2 capas.

Finalmente, tendremos muestras cilíndricas con mezclas diferentes en su interior. Para el caso de 2 capas, el gradiente se conforma por una porosidad que resultará de las mezclas 3R-9R. El caso de 3 capas, el gradiente de porosidad resultará de las mezclas 3R-6R-12R.

3.2.2 *Proceso de sinterización*

Las muestras metálicas con porosidad gradual se obtienen mediante la sinterización de las muestras en verde descritas en el apartado 3.2.1. El proceso de sinterización realizado es el mismo que se detalla para TC2 en el apartado 3.1.2.

3.3 Obtención de estructuras titanio-hidroxiapatita porosas (Ti-HAPoros)

La posibilidad de obtener estructuras porosas controladas, tanto en cantidad y tamaño de poros, en la zona de la pieza que se desee; permite mejorar la migración y adhesión celular, así como reducir el fenómeno de stress-shielding. Por ende, esto conlleva a una mejora en la biocompatibilidad del material. Sin embargo, estos materiales no promueven el crecimiento del tejido óseo, dado que el titanio es bioinerte.

La hidroxiapatita (HAP) es un material biocerámico con propiedades mecánicas deficientes, pero posee una estructura similar a los huesos. Además, posee buenas propiedades bioactivas y biodegradables que pueden promover el crecimiento de tejidos naturales [81].

Por lo tanto, resulta de interés la obtención de un material compuesto, el cual pudiera englobar propiedades como ser de carácter bioinerte, bajo módulo de Young y alta biocompatibilidad. El método GCS propuesto, puede ser utilizado para la fabricación de un material compuesto de titanio-HAP-poros con propiedades combinadas.

3.3.1 *Proceso de Gel-Casting*

3.3.1.1 *Materias primas*

Los materiales utilizados para la fabricación de estructuras porosas con HAP son TiH_2 , AR e HAP; donde el TiH_2 y la AR se encuentran detallados en el apartado 3.1.1.1.

1. Hidroxiapatita (HAP)

La hidroxiapatita (HAP) es un mineral y material biológico compuesto por fosfato de calcio cristalino ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), constituyendo el componente inorgánico principal de los huesos, dientes, dentina y esmalte dental en vertebrados [82]. Se utiliza una HAP sintética de marca Sigma Aldrich de pureza mayor al 97 % [83].

Debido a sus propiedades de biocompatibilidad, no toxicidad, estabilidad química, osteoconducción y bioactividad, la HAP es ampliamente utilizada en aplicaciones médicas, como reemplazo óseo, relleno dental, recubrimiento de implantes metálicos y liberación de medicamentos [82].

La HAP cristaliza en un sistema hexagonal y posee características iónicas que le confieren dureza, refractariedad y una alta temperatura de fusión. Además, puede sustituir parcial o completamente iones en su red por otros de tamaño similar, lo que contribuye a su insolubilidad. Su relación Ca/P ideal es de 10:6, con una densidad calculada de $3,219 \text{ g/cm}^3$ y propiedades mecánicas que varían según el proceso de fabricación, teniendo un módulo elástico entre 40 y 117 GPa [84].

Cuando se implanta en tejido óseo, la HAP se reabsorbe gradualmente, liberando fosfato y calcio para procesos de biomineralización y regeneración ósea. Estudios indican que la HAP estimula el ligamento periodontal y promueve la proliferación celular, lo cual está asociado con la activación de ciertas vías de señalización celular [85].

Desde su introducción en aplicaciones clínicas en 1981, la HAP ha sido utilizada en rellenos periodontales, bloques de relleno y revestimiento de implantes dentales y ortopédicos. Se ha demostrado su biocompatibilidad a largo plazo, sin toxicidad, respuesta inflamatoria ni interposición fibrosa entre el implante y el hueso. La biodegradación de la HAP es un factor inherente a su compatibilidad, y se propone que ocurre tanto a nivel químico como celular [86].

3.3.1.2 Etapas del proceso

Se propone un método de fabricación de estructuras porosas con HAP, basándonos en el proceso descrito en 3.1. Para la elaboración de las muestras en verde, se mezclan polvos de TiH_2 y de AR, como se describe en la etapa 1 en 3.1, junto con HAP en polvo de origen sintético. Se estudian las siguientes mezclas:

Tabla 3.2 - Tabla de mezclas de polvos con su respectiva cantidad de AR e HAP (expresado en porcentaje).

| Mezcla | FAR [%] | HAP [%] |
|----------|---------|---------|
| 12-5 RH | 12 | 5 |
| 12-10 RH | 12 | 10 |

Luego, las etapas siguientes del proceso se realizan de la misma manera que se detalla en 3.1.

3.3.2 Proceso de sinterización

La sinterización se realiza según el ciclo térmico TC3, el cual se define en la Figura 3.9. Las etapas 1 y 2 del ciclo, se realizan de la misma manera que en TC2 (Figura 3.6) como se describe en el apartado 3.1.2. Mientras que la etapa 3, correspondiente a la sinterización, se realiza a una temperatura de 780 °C durante 420 minutos. La elección de la temperatura utilizada se explica en las secciones 3.4.3 y 4.3.2.1.

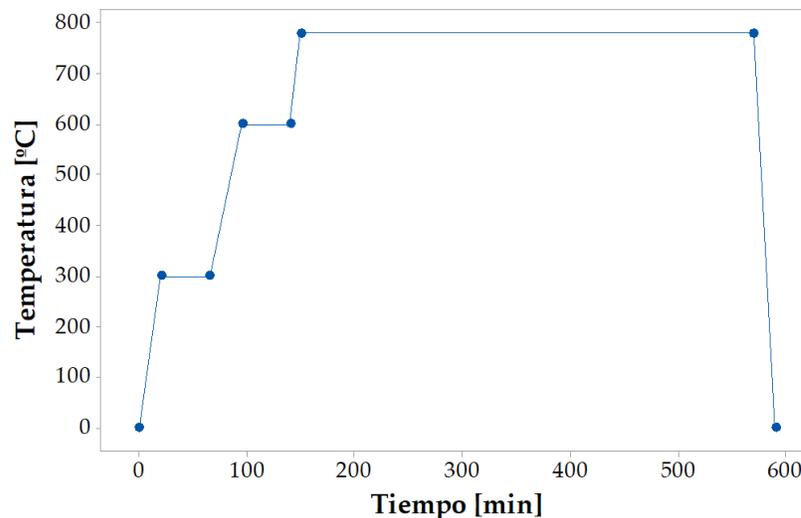


Figura 3.9 – Ciclo térmico 3 (TC3).

Una vez finalizada la etapa de sinterización, se obtiene un material compuesto metálico con poros de titanio como matriz y partículas de HAP distribuidas en su interior.

3.4 Caracterización metalográfica

Las diferentes estructuras porosas desarrolladas, fueron ensayadas para caracterizar sus propiedades metalúrgicas y biológicas que permitan su empleo para fines médicos. Los resultados obtenidos, se procesaron estadísticamente utilizando el software Minitab® 18.

3.4.1 Caracterización visual y macrográfica

Una vez concluidos los ciclos de sinterización, se realiza un examen visual de la morfología y características superficiales de las muestras. Este examen, se realiza tanto a las muestras con porosidad uniforme, con gradiente de porosidad y las muestras porosas con HAP. Se presta especial atención a los cambios de geometría, pérdida de masa y defectos superficiales como ampollas, grietas o defectos por contracción. Las imágenes se toman con un microscopio estereoscópico Olympus, acoplado a una cámara Motic de 5,0 Mpx.

Las contracciones en diámetro (DS) y altura (HS) se calculan mediante las ecuaciones (3.5) y (3.6), respectivamente:

$$DS = \frac{Df - Di}{Di} \times 100 \quad (3.5)$$

$$HS = \frac{Hf - Hi}{Hi} \times 100 \quad (3.6)$$

Donde Df y Di son los diámetros final e inicial, respectivamente, y Hf y Hi son las alturas final e inicial de las muestras, respectivamente. Los resultados se expresan en porcentaje.

La pérdida de masa (WL) se calcula de acuerdo con la ecuación (3.7) como:

$$WL = \frac{Wf - Wi}{Wi} \times 100 \quad (3.7)$$

Donde Wf y Wi son los pesos final e inicial, respectivamente, de las muestras medidas por una balanza de precisión de laboratorio (Ohaus, modelo: PA224).

3.4.2 Caracterización micrográfica por microscopía óptica (OM)

Se realiza la caracterización metalográfica de las estructuras Ti-Poros, Ti-GPoros y Ti-HAPoros, mediante microscopía óptica (OM). Esto nos permite analizar características de los poros, tales como tamaño, cantidad, forma y distribución; así como analizar el tamaño de grano de la matriz de titanio.

Para la caracterización metalográfica, las muestras, o una fracción de las mismas, se preparan por montaje en resina acrílica preacelerada. Las muestras se montan en sus secciones transversales y longitudinales. Luego, se procede al desbaste de la superficie, llevada a cabo con lijas de carburo de silicio al agua, con tamaños de abrasivo o granulometría de 80, 240, 400, 600, 1000, 1200, 1500 y 2000. Luego, se realiza el pulido en paño, empleando pasta de diamante con granulometría de 1 µm. Una vez que se obtiene una superficie con ausencia de rayas, se procede a la toma de imágenes para analizar las características de la estructura porosa.

Una vez que se analizan y se efectúa el relevamiento fotográfico de las muestras pulidas, se procede a efectuar un ataque químico con reactivo Kroll por un lapso de entre 5 a 7 minutos. De esta manera se revelan los bordes de grano [87].

Se relevan imágenes con un aumento de 100x, sobre distintas zonas de cada muestra. Se utiliza un microscopio óptico Olympus acoplado a una cámara Motic de 5,0 Mpx. Luego, se realizan mediciones sobre las imágenes. Dichas mediciones se realizan con el software Motic Images Plus 3.0, provisto por el fabricante de la cámara utilizada.

3.4.3 *Caracterización micrográfica por microscopía electrónica de barrido (SEM)*

Se realiza la caracterización de las estructuras Ti-Poros y Ti-GPoros con el objetivo de:

1. Controlar las partículas de TiH_2 y AR, utilizadas como materias primas. Se relevan imágenes con microscopía electrónica de barrido, con electrones secundarios, para analizar su morfología y tamaño. Asimismo, se analizan con espectroscopía por energía de dispersión de electrones (EDS), para analizar la composición química.
2. Corroborar la unión de las partículas de titanio posteriormente al sinterizado. De esta manera, se evalúan las condiciones de los ciclos térmicos experimentados, permitiendo definir los parámetros y variables de proceso. Para ello, se obtienen imágenes SEM de electrones secundarios en diferentes muestras sinterizadas, analizando la unión por soldadura (difusión) de las partículas de titanio en la matriz del material poroso. Así, se consigue corroborar si los ciclos térmicos TC1, TC2 y TC3, son aptos para obtener estructuras con matriz metálica continua. Para ello, se analizan imágenes sobre los cuellos de sinterización entre partículas de Ti, empleando aumentos de 300x, 500x y 2000x.

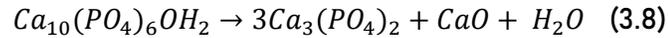
Para estos ensayos, se utiliza un Microscopio Electrónico de Barrido Carl Zeiss- Σ igma, cortesía del Laboratorio de Microscopía Electrónica y Análisis por Rayos X, Facultad de Física, Matemática y Astronomía de la Universidad Nacional de Córdoba.

3.4.4 *Caracterización micrográfica por microsonda de electrones (EPMA)*

Se caracterizan las estructuras Ti-HAPoros mediante esta técnica, con el objetivo de:

1. Realizar la caracterización post sinterización de las partículas de HAP que forman parte de las estructuras compuestas Ti-HAPoros. Se realiza un relevamiento de imágenes por microsonda de electrones (EPMA), donde este tipo de imagen logra generar un contraste adecuado entre la matriz metálica de titanio y las partículas de HAP. Luego, se analiza la forma y distribución de dichas partículas como se detalla en el apartado 3.4.5.
2. Estudio de la relación Ca/P de las partículas de HAP previo y post sinterizado en las estructuras Ti-HAPoros. En la bibliografía se reporta que hay descomposición de la HAP en subproductos, cuando la misma es afectada a altas temperaturas. Algunos autores [88], afirman que en atmósferas exentas de humedad a temperaturas de 850 °C ocurre la

descomposición de los iones hidroxilo que conduce a la formación de oxi-hidroxiapatita (OHA). Otros autores indican que por encima de los 1000 °C, la HAP se descompone a beta fosfato tricálcico, liberando óxido de calcio [88]. A 1200 °C la HAP se encontraría completamente descompuesta según:



La temperatura de sinterización elegida para el ciclo térmico TC3, se basó en los antecedentes expresados anteriormente. La intención, es de evitar la posible descomposición de la HAP, así como evitar la reacción de sus productos de reacción con el Ti de la matriz metálica.

Por lo tanto, resulta de interés analizar si se produce descomposición de la HAP con el método propuesto. Una manera de realizarlo es a través de la medición de la relación Ca/P. La relación Ca/P se utiliza como indicador de la calidad de las apatitas resultantes del proceso [51], valor que se puede comparar con la relación estequiométrica de la misma (Ca/P = 1,67 según el diagrama de fases para el sistema CaO-P₂O₅ [88]). Aunque estudios más recientes de Zaichick y Tzaphlidou, atribuyen a la HAP un valor Ca/P = 2,85 [89]. Es importante tener en cuenta que, dependiendo de la naturaleza de la HAP, esta relación estequiométrica no siempre se halla, pudiendo ser mayor o menor [90]. Esto trae ciertas consecuencias; por ejemplo, apatitas con una relación Ca/P < 1,67 poseen una pérdida de cristalinidad que acelera la descomposición de la misma. Una relación Ca/P > 1,67 tiende a producir CaO en calentamientos superiores a los 900 °C, tendiendo a la descomposición de la HAP [90].

Es por ello, que se analiza la composición química tanto de las muestras Ti-HAPoros, como de las partículas de HAP previo al sinterizado. Se utiliza Microanálisis con Sonda de Electrones (EPMA). Se calcula la relación Ca/P para las distintas muestras y para las partículas de HAP de partida.

Para estos ensayos, se utiliza una Microsonda JEOL JXA 8230, cortesía del Laboratorio de Microscopía Electrónica y Análisis por Rayos X, Facultad de Física, Matemática y Astronomía de la Universidad Nacional de Córdoba.

3.4.5 Caracterización micrográfica digital

1. Caracterización de los poros:

Se capturan imágenes con un aumento de 100x, sobre tres áreas diferentes, para cada muestra. Se utiliza un microscopio óptico Olympus acoplado a una cámara Motic de 5,0 Mpx.

Las imágenes se analizan para caracterizar la cantidad, tamaño, distribución y forma de los poros. El estudio cuenta con la ayuda de un analizador de imágenes programado en Matlab (The MathWorks Inc., vR2017a). El analizador de imágenes busca realizar la segmentación a través de la binarización de las imágenes. La imagen original está conformada por 3 matrices superpuestas (RGB) de 256 niveles, la cual es reducida a una imagen de escala de grises que posee una sola matriz con 256 niveles. Finalmente, esta última matriz, es transformada en una nueva de solo 2 niveles: 0 (ceros) y 1 (unos) como se puede observar en la Figura 3.10.

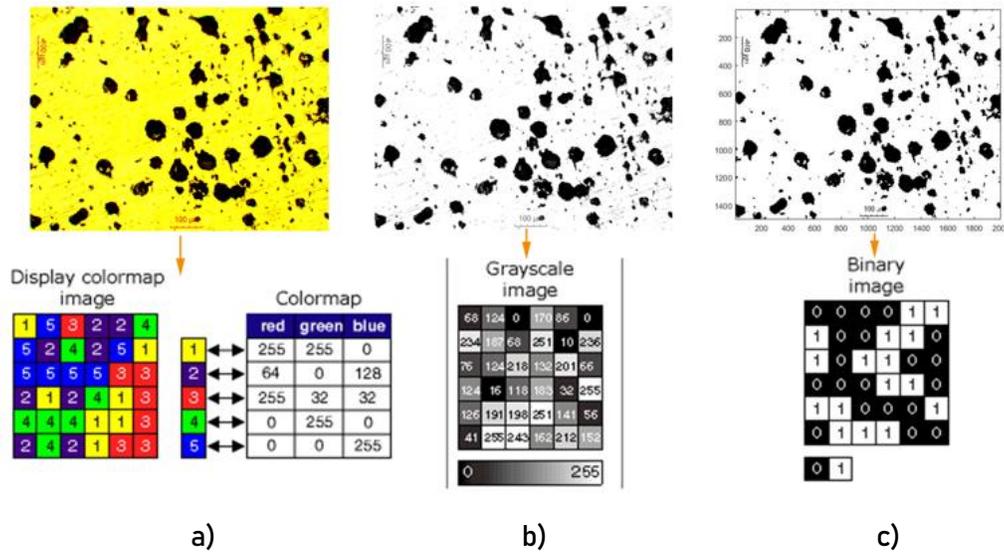


Figura 3.10 - Binarización de una micrografía. a) Micrografía original. b) Micrografía en escala de grises. c) Micrografía binarizada.

El programa reconoce a las zonas negras (ceros) como poros y a las zonas blancas (unos) como matriz metálica. Además, diferencia a cada uno de los poros como una entidad individual, como se puede observar en la Figura 3.11. Cabe aclarar que las escalas que se presentan en las imágenes de la Figura 3.11 corresponden a la cantidad de píxeles.

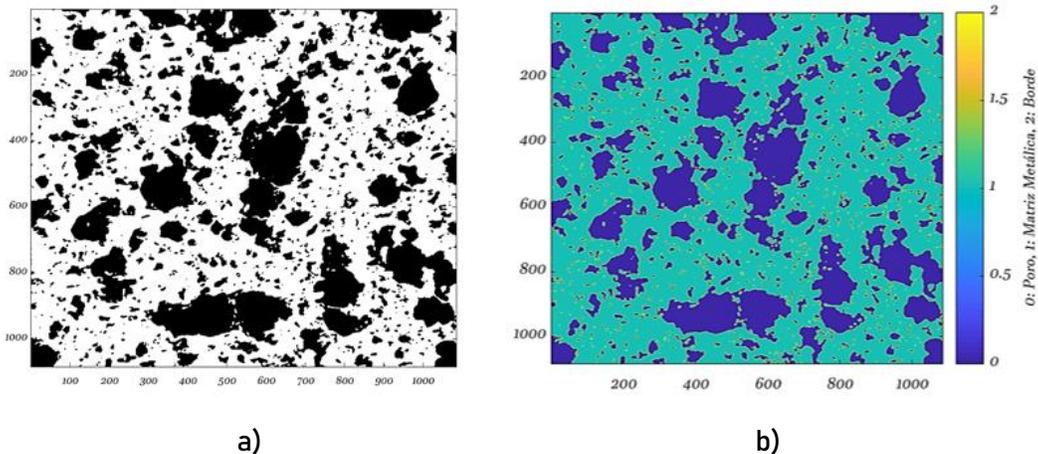


Figura 3.11 - Segmentación de una micrografía. a) Micrografía binarizada. b) Micrografía segmentada.

Las zonas azules de la Figura 3.11b corresponden a los poros, las zonas verdes a la matriz metálica y las amarillas a la interfaz poro-matriz metálica. Esta interfaz es la que diferencia y reconoce a cada poro como un ente individual; lo que nos permite analizarlos de manera aislada.

Identificando la cantidad de píxeles que corresponden a cada uno de los poros y la cantidad que corresponde a la matriz metálica, es posible realizar el cálculo de la porosidad correspondiente. La porosidad porcentual [%], se calcula en el centro de las muestras de la siguiente manera:

$$P = \frac{A_p}{A_t} \times 100 \quad (3.9)$$

Donde A_p es el área de la superficie de los poros y A_t es el área de la superficie total de la micrografía. P se expresa como porcentaje.

Como se mencionó, el analizador de imágenes detecta a los poros de manera individual para poder calcular su tamaño y forma. En cuanto al cálculo del tamaño, se suponen poros esféricos y se calcula el diámetro equivalente (d_{eq}) para cada poro con la ecuación (3.10):

$$d_{eq} = \sqrt[2]{\frac{4 \times A_p}{\pi}} \quad (3.10)$$

Este valor permite analizar la distribución del tamaño de poros de las muestras.

La caracterización de la forma de los poros se realizó mediante el cálculo del factor de forma (FF). Este valor se calcula para cada poro mediante la siguiente ecuación:

$$FF = \frac{d_{min}}{d_{max}} \quad (3.11)$$

Donde d_{min} es el eje menor y d_{max} es el eje mayor de una elipse que se ajusta al perímetro del poro mediante el criterio de Mínimos Cuadrados como se observa en la Figura 3.12. El valor cero corresponde a la máxima irregularidad, mientras que los valores cercanos a uno coinciden con los llamados poros esféricos.

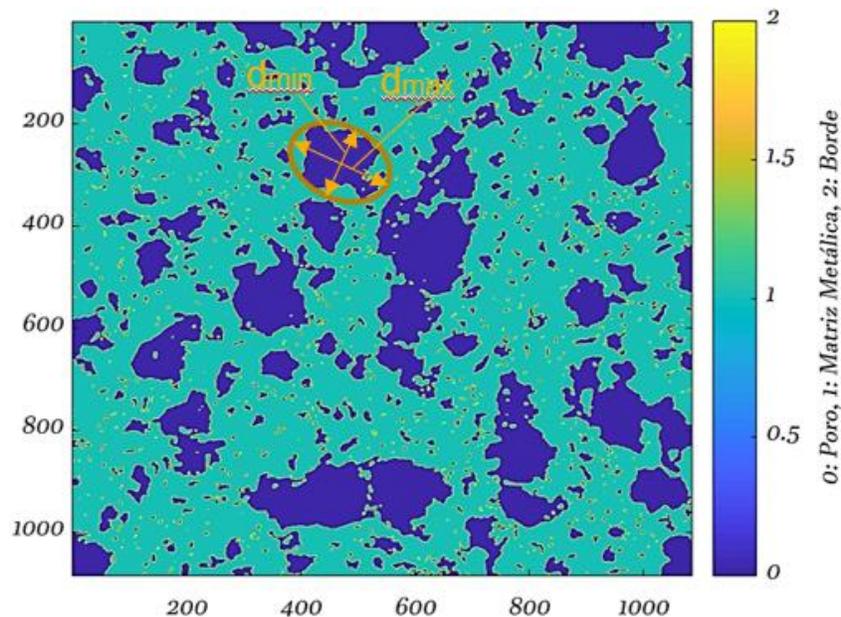


Figura 3.12 - Análisis del factor de forma de un poro.

2. Caracterización de la HAP

La caracterización de las partículas de HAP en las muestras porosas con agregado de HAP, se realiza segmentando las imágenes obtenidas por microsonda de electrones (EPMA). Las imágenes EPMA, como la que se observa en la Figura 3.13, son utilizadas para el análisis de las partículas de HAP, debido a que poseen un mejor contraste de las partículas en comparación a las micrografías obtenidas por OM.

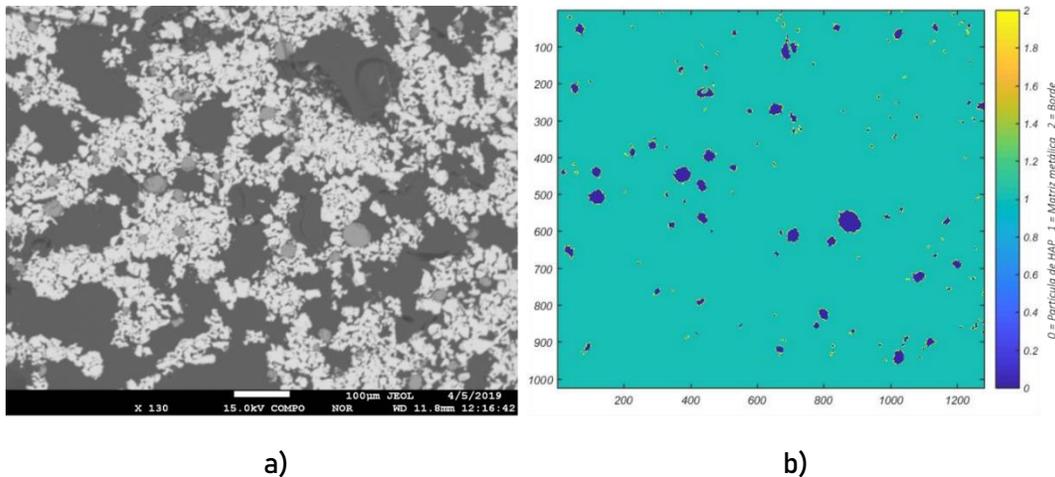


Figura 3.13 - Segmentación de las partículas de HAP. a) Micrografía por microsonda de electrones EPMA. b) Micrografía segmentada.

El analizador de imágenes diferencia a las partículas de HAP por su nivel de intensidad de grises. Una vez detectadas, es posible binarizar la imagen, transformando la matriz inicial en una nueva de solo 2 niveles: 0 (ceros) y 1 (unos). El programa reconoce a las zonas negras (ceros) como partículas de HAP y a las zonas blancas (unos) como matriz metálica. Finalmente, la segmentación queda como se observa en la Figura 3.13.

El analizador de imágenes detecta a cada partícula de HAP como una entidad individual, por lo que es posible calcular su tamaño y factor de forma aplicando las fórmulas (3.10) y (3.11). Se capturan imágenes empleando un aumento de 130x. Se utiliza una microsonda de Electrones (EPMA JEOL JXA 8230).

Los resultados se procesan mediante análisis estadístico descriptivo, empleando el software Minitab 18 (Minitab LLC., v18.1, EE. UU.). Las variables descriptivas de interés son: porosidad media (Pm), coeficiente de variación (CV), valor de porosidad mínima (Min), valor de porosidad máxima (Max) y rango de porosidad (R) para cada mezcla estudiada.

3.5 Caracterización de la estructura porosa en 3D por microtomografía computarizada

Además de la caracterización de la estructura porosa en 2 dimensiones mediante microscopía óptica, como se explica en el punto 3.4.2, también se realiza una caracterización de la estructura porosa en 3 dimensiones, mediante microtomografía computarizada (microCT).

La microtomografía computarizada es una técnica de imagen tridimensional que se utiliza para visualizar y analizar muestras en una escala microscópica. Es una variante de la tomografía computarizada (TC) convencional, pero con una resolución mayor, lo que

permite la observación detallada de estructuras pequeñas. La microCT se basa en la adquisición de imágenes de rayos X de la muestra, desde múltiples ángulos, al girarla alrededor de un eje. Estas imágenes bidimensionales, se capturan en forma de proyecciones, las que contienen información sobre la absorción de los rayos X por parte de los diferentes materiales en la muestra. Luego, utilizando algoritmos de reconstrucción computacional, estas proyecciones se combinan para generar una imagen tridimensional del objeto tomografiado. La reconstrucción, se basa en la diferencia en la atenuación de los rayos X por parte de los diferentes componentes de la muestra, lo que permite visualizar sus estructuras internas en detalle.

Se realizan ensayos de tomografía digital de alta resolución de sólidos a muestras de Ti-Poros, con relaciones de mezcla de 3R, 6R, 9R y 12R. Las muestras poseen dimensiones de 8 mm de diámetro y 10 mm de altura. Los ensayos se realizan en un tomógrafo industrial de alta resolución L2-END-544, en los Laboratorios de la Dirección Técnica Centro Litoral, del Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), de la ciudad de Rafaela, Santa Fe.

Se busca medir la porosidad volumétrica de las distintas estructuras porosas obtenidas. Para ello, se procesan las imágenes en el software de código abierto 3D Slicer. Para lograr la medición, se realiza la segmentación de la imagen y luego se calcula el volumen que comprende dicha segmentación. La segmentación es el proceso de dividir una imagen en diferentes regiones o segmentos con el objetivo de identificar y aislar estructuras de interés.

A continuación, se enumeran los pasos seguidos para la segmentación y medición de la porosidad volumétrica en el software 3D Slicer:

1. El primer paso es cargar los datos de la microtomografía computarizada en 3D Slicer. El formato de archivo utilizado es DICOM.
2. Una vez importados los datos correctamente, se visualiza la imagen mediante "Volumen Rendering" para una inspección inicial. Aquí se tiene una imagen superficial de baja resolución, como se observa en la Figura 3.14.

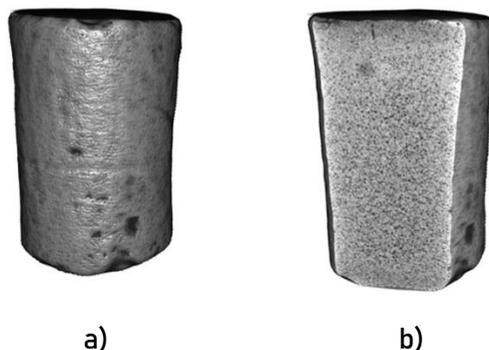


Figura 3.14 - Visualización de un volumen renderizado de una microtomografía de una muestra 6R. a) Vista superficial. b) Vista de un corte longitudinal.

Esto permite explorar y comprender la estructura de los objetos en la microtomografía, sin la necesidad de utilizar recursos elevados del ordenador empleado.

3. En muchos casos, es necesario realizar un preprocesamiento de la imagen antes de la segmentación, para mejorar así la calidad de la imagen o eliminar artefactos no deseados. Esto, puede implicar operaciones de filtrado, corrección de atenuación, ajuste de contraste, entre otros.
4. Previo a la segmentación, es necesario delimitar la zona de trabajo que se desea segmentar. Esto, nos permite trabajar con un volumen reducido, que sea representativo de la estructura que se quiere analizar. A este volumen representativo, se lo conoce como la ROI (Region of Interest, por sus siglas en inglés) y se refiere a una herramienta que permite definir y delimitar una región específica en una imagen o volumen de interés. Al delimitar con precisión la región que se desea segmentar, se puede aplicar un algoritmo de segmentación dentro de la ROI seleccionada. Ello permite concentrar el análisis y la segmentación en áreas específicas y evitar la interferencia de estructuras no deseadas para obtener medidas de volumen, área, intensidad de píxeles u otras características dentro de la ROI. Así, es posible la obtención de datos cuantitativos precisos y repetibles en estudios de investigación, por lo que es particularmente útil cuando se trabaja con imágenes de diferentes modalidades o de diferentes momentos en el tiempo, permitiendo una comparación precisa entre ellas.

En este trabajo se utiliza una ROI cúbica con dimensiones de 0,5 mm de lado y un volumen total de $0,125 \text{ mm}^3$, como se muestra en la Figura 3.15. De esta manera, es posible saber con precisión el volumen de trabajo total utilizado, para poder calcular la porosidad volumétrica buscada. Se analizan cinco zonas diferentes por cada muestra, y posteriormente se calcula la porosidad promedio obtenida para cada una de ellas.

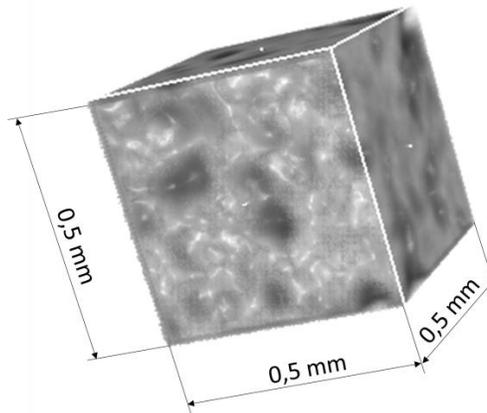


Figura 3.15 - Region of Interest (ROI) utilizado en la segmentación.

5. 3D Slicer ofrece una variedad de algoritmos de segmentación que se pueden utilizar, como segmentación basada en intensidad, técnicas de crecimiento de regiones, segmentación manual o semiautomática, entre otros. Debido a que las imágenes están compuestas por tonalidades que van desde el blanco (metal) hasta el negro (poro), pasando por los distintos niveles de grises, es posible segmentar a los poros delimitando las zonas más oscuras. La herramienta "Threshold" nos ayuda a segmentar según un

umbral de intensidad, en donde configurando adecuadamente se pueden seleccionar los poros como se observa en la Figura 3.16.

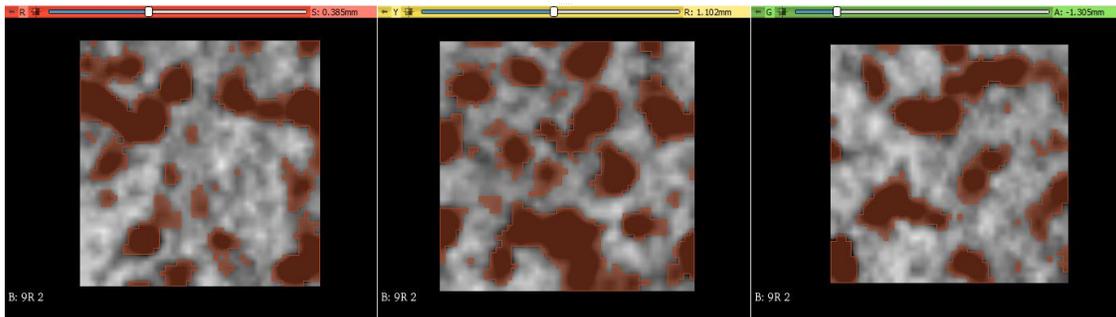


Figura 3.16 - Segmentación mediante la herramienta Threshold.

6. Después de la segmentación inicial, es probable que sea necesario realizar ajustes y refinamientos manuales en la segmentación para corregir errores o mejorar la precisión. Esto se puede hacer mediante herramientas de edición proporcionadas por 3D Slicer.
7. Una vez que se ha completado la segmentación, se pueden visualizar los resultados. La Figura 3.17 muestra distintos ejemplos de visualización de la segmentación. En la Figura 3.17 a, b y c se observa a la segmentación propiamente dicha, a la segmentación sobre el volumen del ROI renderizado y a la segmentación con la visualización de los planos R, Y y G (planos X, Y y Z). La Figura 3.17 d muestra la segmentación en 2D de los planos observados en la Figura 3.17 c. Si se está conforme con ella, se debe generar el modelo sólido de la segmentación para poder ser analizado.

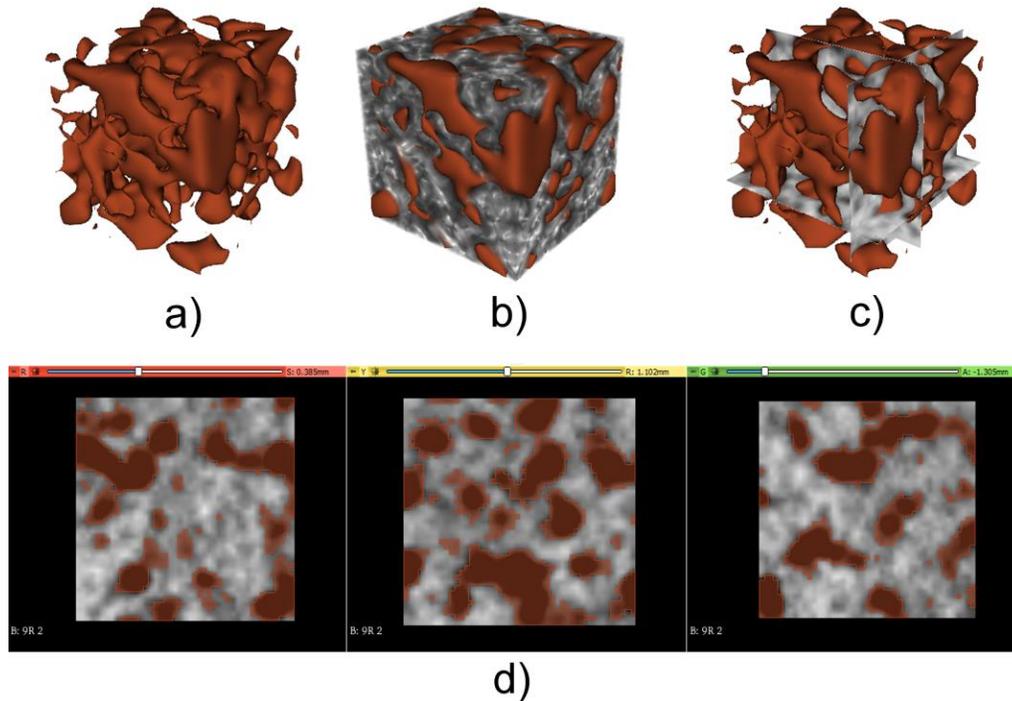


Figura 3.17 - Segmentación del ROI de la estructura porosa en 3D. a) Segmentación. b) Segmentación sobre visualización del render de la estructura. c) Segmentación y visualización de planos R, Y y G. d) Segmentación sobre los planos R, Y y G.

8. Finalmente, se genera un modelo sólido de la estructura segmentada, en donde dicho modelo tendrá la información de la superficie y el volumen que abarca. Por lo que, aplicando la fórmula (3.12), es posible calcular la porosidad volumétrica (Pvol) para cada ROI analizado:

$$Pvol = \frac{Vp}{Vt} \times 100 \quad (3.12)$$

Donde Vp es el volumen de los poros segmentados y Vt es el volumen total del ROI (0,125 mm³). Pvol se expresa como porcentaje. Los resultados se procesan mediante análisis estadístico descriptivo, empleando el software Minitab 18 (Minitab LLC., v18.1, EE. UU.).

3.6 Caracterización mecánica

El aflojamiento y desprendimiento de implantes óseos afecta a millones de personas en el mundo y suele estar vinculado a problemas de unión superficiales implante-hueso. Sin embargo, es frecuente que esto ocurra debido a un detrimento de la estructura ósea contigua al implante por un fenómeno conocido como apantallamiento de tensiones [77]. Uno de los objetivos de obtener una estructura porosa, es la de reducir la rigidez (módulo de elasticidad) que posee el material metálico. La introducción de poros en el titanio permite disminuir su módulo de elasticidad aproximándolo a los valores encontrados en los tejidos óseos. Además, la porosidad, favorece la vascularización y transporte de productos metabólicos fundamentales en la formación del mismo [91]. Para

poder medir esta cualidad en las distintas estructuras porosas obtenidas, se realiza el ensayo de compresión estática bajo la norma ASTM E9-89a [92].

Se busca analizar el comportamiento de las estructuras en el período elástico, con el objetivo de cuantificar el módulo de Young (3.13) de las distintas estructuras:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (3.13)$$

Para ello, se utiliza una máquina de tracción/compresión, en donde los parámetros utilizados son:

- Strain rate: 0,005 o 0,008 mm/mm.min (se utilizó 1 mm/mm.min debido a que los anteriores eran demasiado lentos).
- Loading rate: 600 Kgf/s.
- Max Strain: 50 %.

En este trabajo, solo se realiza el análisis correspondiente al período elástico, debido a que aquí es donde se determina la rigidez de cada estructura. No se analiza el período de deformación plástica.

Además, se realizan mediciones de dureza a través del ensayo de microdureza Vickers (Hv). Se utiliza un micro durómetro marca "Leitz Wetzlar" con una carga de 300 gr, durante 15 segundos, para la toma de dureza en 5 zonas diferentes para cada mezcla estudiada.

Los datos obtenidos son procesados mediante análisis estadístico descriptivo, empleando el software Minitab 18 (Minitab LLC., v18.1, EE. UU.).

3.7 Caracterización biológica

Las estructuras porosas desarrolladas, tienen como objetivo ser aplicadas en la confección de prótesis o implantes biomédicos. Por lo que, su aplicación dependerá del grado de biocompatibilidad que posea el mismo en medios biológicos. Es por ello, que se plantea la necesidad de evaluar su desempeño en condiciones simuladas o reales de trabajo.

Un estudio de biocompatibilidad completo como indica la norma ISO 10993-1 [93], permitiría determinar la aptitud del material para ser aplicado en la confección de dispositivos médicos. Esta fuera del alcance de este trabajo, dicho estudio. Pero, teniendo en cuenta que el comportamiento de las células en contacto con el biomaterial, el mecanismo de adhesión celular en la superficie y la viabilidad celular están estrechamente relacionado con la biocompatibilidad; se evalúan algunas características relevantes, tales como la citotoxicidad, la adhesión y proliferación celular como correlato de su biocompatibilidad in vitro en líneas celulares epiteliales Vero y células fibroblásticas NIH 3T3, de acuerdo a la norma ISO 10993.

Se preparan muestras porosas 9R, de 6 mm de diámetro y 8 mm de altura, siguiendo el método GCS desarrollado en 3.1. Luego, se realiza la esterilización y el extracto de dichas muestras, para evaluar el efecto citotóxico de las mismas. Las condiciones de extracción y esterilización se realizan según norma ISO 10993 - 5 [94]. Las muestras esterilizadas se ponen en recipientes estériles, químicamente inertes y

cerrados. Se añade medio de cultivo Dulbeccos Eagle modificado (DMEM) (Gibco, Invitrogen, Auckland, NZ) en una proporción de 0,1 g/ml (masa de disco/volumen de DMEM). Las muestras se incubaron en una atmósfera humidificada de 5 % de CO₂ en aire a 37 °C durante 72 h. Los discos se retiran de los medios de cultivo y luego de la adición de suero fetal bovino (SFB) (PAA, Pasching, Austria) a una concentración final del 10 % se obtiene el extracto al 100 % (100-extracto).

Para el ensayo de citotoxicidad se preparan adicionalmente diluciones del extracto: 75 %, 50 % y 25 % (75, 50, 25-extracto). Los extractos se usan inmediatamente después de la preparación para evitar la sorción en el recipiente de extracción u otros cambios en la composición.

3.7.1 *Cultivo celular*

Se cultivan células epiteliales Vero y células fibroblásticas NIH 3T3. Estas son cultivadas en DMEM suplementado con 10% de SFB, 4 mM de L-glutamina (Gibco, Invitrogen, Auckland, NZ), 4 mM de Piruvato de sodio (Sigma, St Louis, EE.UU.) y 10000 UI/ml de penicilina-10000 µg/ml de estreptomicina a 37 °C en una atmósfera humidificada de 5 % de CO₂ en aire. El medio de cultivo se renueva cada 3 días.

3.7.2 *Ensayo de citotoxicidad*

Para esta evaluación, se utiliza el ensayo de MTT siguiendo los lineamientos de la norma 10993 - 5 [94]. El MTT amarillo soluble en agua (3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolio bromuro) es reducido en células viables transformándose en una solución de formazán, insoluble en agua. La intensidad de la absorbancia depende del número de células viables. Las células Vero o NIH 3T3 se siembran en DMEM durante 24 horas. Estas, se suplementan en placas de 96 pocillos, a una densidad de 10000 células por pocillo. Transcurridas las 24 horas, se retiran del medio y se agregan los extractos anteriormente mencionados.

Después de 24 horas, los pocillos se lavan dos veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS estéril). Se agrega 50 µl de MTT 1 mg/ml en DMEM a cada pocillo y se incuba durante 1 hora y 30 minutos a 37 °C. Se agrega alcohol isopropílico en cada pocillo para disolver los cristales de formazán formados. La absorbancia se cuantifica por espectrofotometría a 595 nm usando un lector Multiskan Spectrum microplate (ThermoScientific). Como control negativo de citotoxicidad (CN) se utiliza 100-extracto de polietileno de alta densidad (HDPE) (6 cm² superficie de HDPE/ml de DMEM) y como control positivo (CP) una solución de fenol 0,2 %. Todos los experimentos se llevaron a cabo por sextuplicado.

3.7.3 *Análisis de morfología celular*

Se estudia también la biocompatibilidad de los extractos a través del análisis de la morfología celular por microscopía. Para células Vero se utiliza un microscopio electrónico de barrido Carl Zeiss - Sigma. Las células se siembran a una densidad de 10000 células/cm² en cubreobjetos de vidrio y se incuban durante 4 días en presencia de 100-extractos o medio de cultivo DMEM suplementado. Después de la incubación, las muestras se lavan cuidadosamente con PBS y se fijan durante toda la noche en glutaraldehído al 4 % en PBS a 4 °C. La morfología de las células NIH 3T3 se analiza mediante microscopía óptica. Se siembran 10000 células en placas de 24 pocillos. Después de 24 h de incubación con DMEM suplementado, se retira el medio y se añaden 100-extracto de cada muestra. Se

analiza la morfología celular a los 2 y 5 días, se toman imágenes digitales con una cámara CCD (Modelo DSU1-5MP) montado en un microscopio NIKON ECLIPSE TE-U 2000 de contraste de fase.

3.7.4 *Evaluación de la adhesión celular*

Se cultivan células NIH 3T3 sobre la superficie de las muestras colocadas en placas de 24 pocillos. Las células se siembran a una densidad de 10000 células por pocillo en DMEM suplementado. Los controles consisten en células cultivadas sobre cubreobjetos de vidrio.

La adhesión de las células NIH 3T3 a las superficies de las muestras se evalúa a través de microscopía de fluorescencia mediante tinción con DAPI (4,6- diamino-2-fenilindol) para los núcleos. Cuando las células alcanzan la confluencia (luego del cultivo celular para 96 horas) se fijan con solución de paraformaldehído al 4 % y se permeabilizaron con 0,1 % Tritón X-100 en PBS a temperatura ambiente durante 10 min cada paso. Las muestras se incuban con DAPI durante 10 min a temperatura ambiente. Luego, se examinan las muestras en un microscopio de fluorescencia de fase inversa NIKON ECLIPSE TE-U 2000 usando filtros de 340/360 nm para DAPI. Debido a la opacidad de los discos, no hubo manera práctica para evaluar confluencia de los cultivos. Debido a esto, cuando las células alcanzaron la confluencia en los cubreobjetos de vidrio, se detuvieron los cultivos en todas las superficies.

La morfología de las células adheridas a la superficie de las muestras se examina por microscopía electrónica de barrido. Después del cultivo, las muestras se lavan cuidadosamente con PBS y se fijan con glutaraldehído al 4 % en PBS a 4 °C durante toda la noche. Después de lavar tres veces con PBS, las muestras se deshidratan en gradiente de etanol (10-100 %) durante 10 min en cada caso. Se realiza secado por punto crítico y recubrimiento con cromo. Las muestras son examinadas con un microscopio Sigma FE-SEM a 1 kVa y distintas magnificaciones (2000x y 5000x) en LAMARX, IFEG-FaMAF-UNC.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4 Resultados y Discusión

El objetivo de este trabajo se centra en obtener un método de fabricación de estructuras porosas de titanio, aptas para aplicaciones biomédicas, a través de técnicas pulvimetalúrgicas; que permitan obtener piezas con forma final (near net shape), con la posibilidad de generar estructuras con gradiente de porosidad, a fin de mejorar condiciones mecánicas, así como la capacidad de agregar elementos a su matriz, que mejoren las condiciones de biocompatibilidad, tal como lo es la hidroxiapatita (HAP).

En esta sección, se presentarán los resultados correspondientes a la caracterización completa de las estructuras Ti-Poros, Ti-GPoros y Ti-HAPoros descritas en el capítulo 3 y la discusión correspondiente, sobre la factibilidad de aplicación de esta técnica a los objetivos propuestos.

4.1 Estructuras de titanio con porosidad uniforme (Ti-Poros)

4.1.1 *Proceso de Gel-Casting*

4.1.1.1 *Materias Primas*

1. Resina acrílica (AR)

Para la fabricación de muestras por el proceso GCS se opta por la utilización de una resina acrílica en polvo, compuesta por polimetilmetacrilato, de la empresa "Cardent". Estos tipos de resinas son utilizadas dentro del área odontológica, para la confección de prótesis y aparatos removibles [95].

La Figura 4.1 muestra una imagen de microscopía SEM sobre las partículas de la resina acrílica. En la misma, se puede observar que las partículas poseen una morfología esférica, libre de aristas marcadas o facetadas, y que poseen tamaños inferiores a 88 μm . Esto último, se debe a que se realiza una tamización del polvo, con el objetivo de homogeneizar el tamaño de partícula para su posterior mezcla, como se detalla en 3.1.1.2.

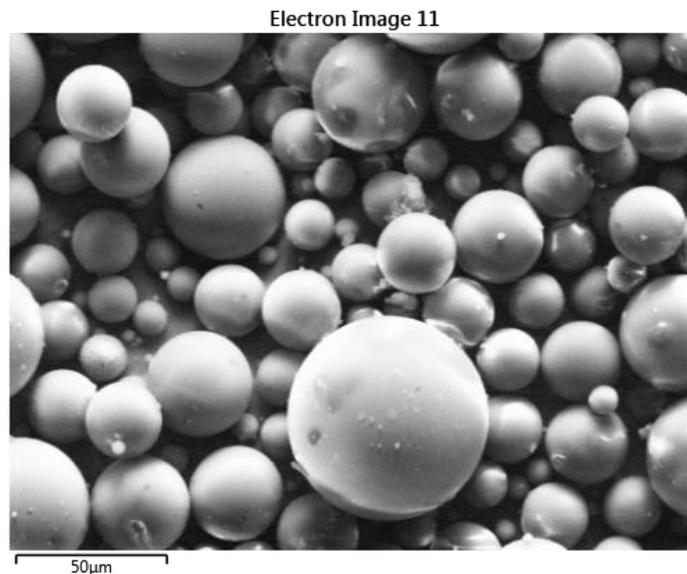


Figura 4.1 - Micrografía SEM de las partículas de polvo de la resina acrílica.

En cuanto a su composición química, se realiza una caracterización mediante microscopía SEM – EDS, las cuales se muestran en la Figura 4.2 y la Figura 4.3.

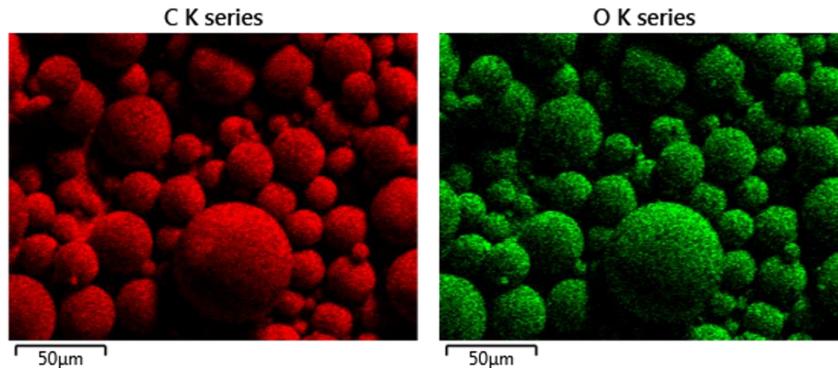


Figura 4.2 – Mapa de composición química SEM-EDS de las partículas de polvo de la resina acrílica.

El resultado nos informa que la resina está compuesta principalmente por carbono y oxígeno en una proporción aproximada de 70/30 % en peso. Además de estos elementos, la resina posee hidrógeno, pero el mismo no es detectable con la técnica utilizada.

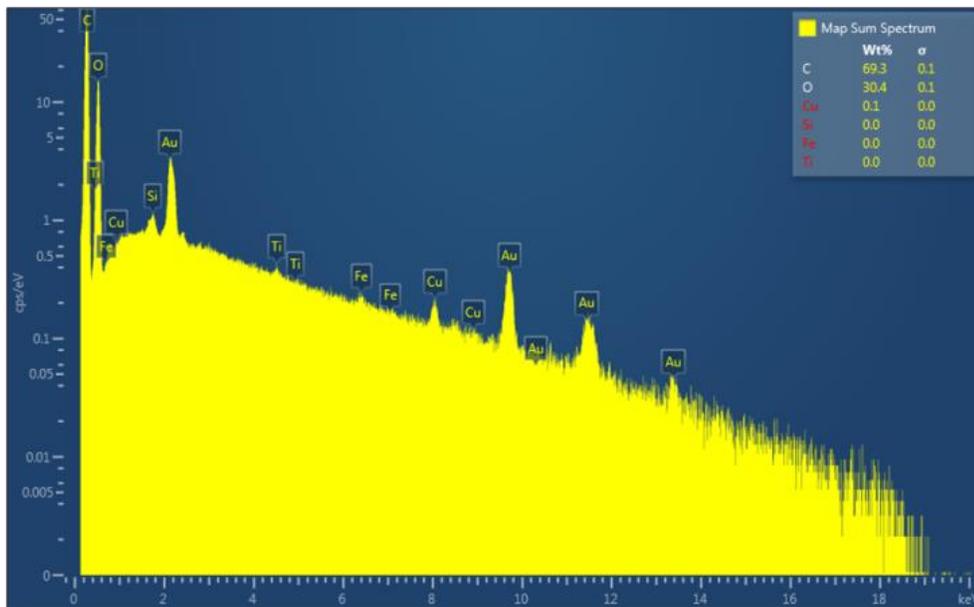


Figura 4.3 – Composición química de las partículas de resina acrílica.

2. Hidruro de titanio (TiH₂)

El material que se utiliza en este trabajo para la fabricación de las muestras es el hidruro de titanio (TiH₂). Éste, es suministrado en forma de polvo por la empresa Sigma Aldrich, con las características descritas en el apartado 3.1.1.1.

La Figura 4.4 muestra una imagen de microscopía SEM sobre las partículas de hidruro de titanio utilizadas para la fabricación de las muestras. Las partículas tienen formas poco definidas, con características angulares, aristas vivas y un tamaño menor a 44 µm, tal como especifica el fabricante.

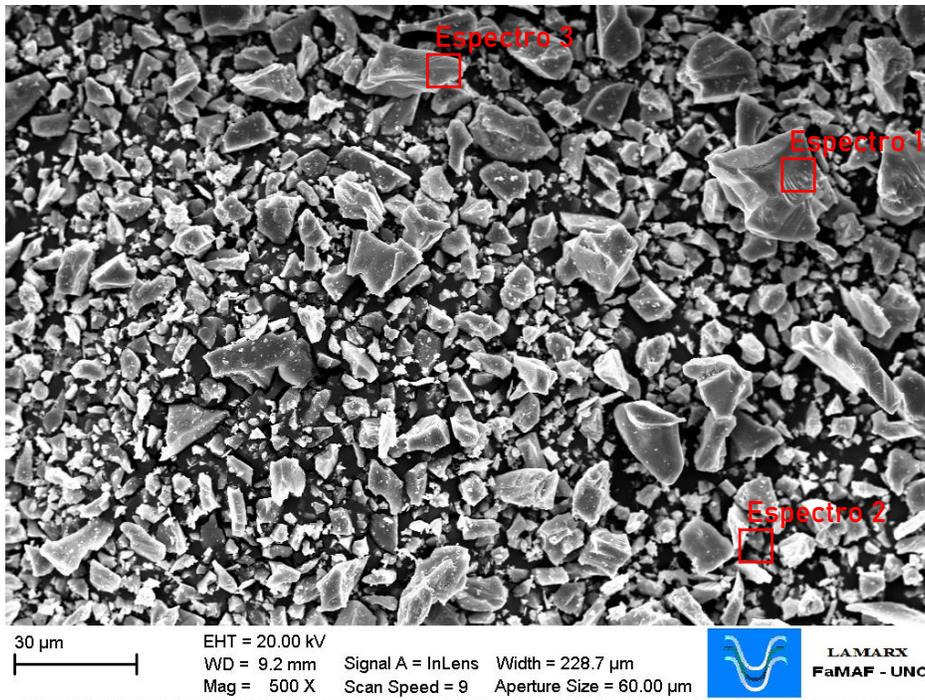


Figura 4.4 - Micrografía SEM de las partículas de polvo del hidruro de titanio.

El análisis químico de las partículas mediante SEM - EDS se puede observar en la Figura 4.5. Aquí se observa que las partículas poseen una concentración aparente de Ti alta, siendo el restante la cantidad de hidrógeno que los conforma:

- Espectro 1: 100 %.
- Espectro 2: 84,83 %.
- Espectro 3: 99,48 %.

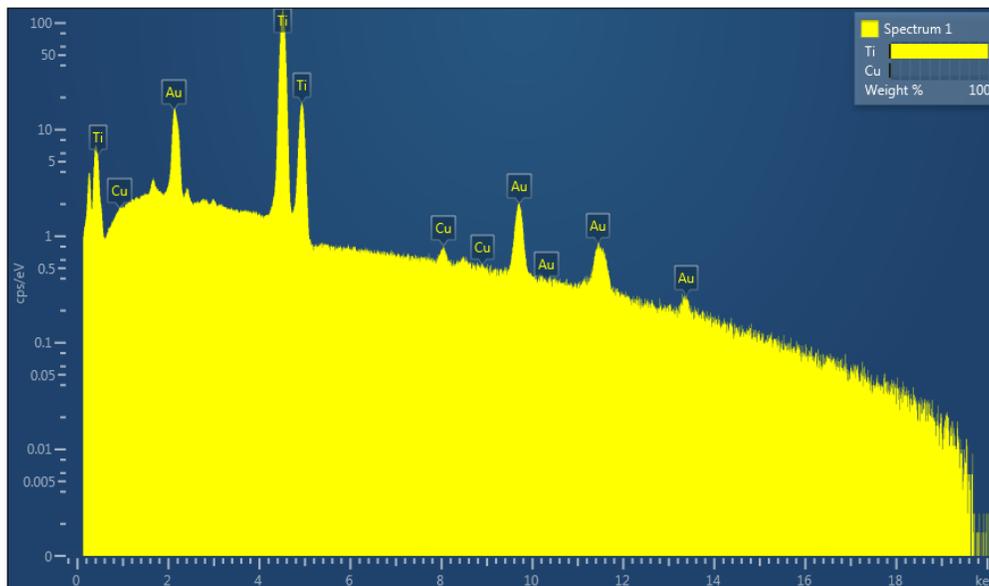


Figura 4.5 - Composición química de las partículas de hidruro de titanio.

4.1.1.2 Etapas del proceso

La técnica empleada para la fabricación de muestras en verde, busca una alternativa a la fabricación por pulvimetalurgia tradicional que emplea compresión de polvos en matrices. La técnica de Gel-Casting empleada, nos permite obtener piezas con una forma final definida, a través de la generación de un gel o barro y posterior colado en un molde [96]. En este trabajo, se obtienen muestras cilíndricas como la que se puede observar en la Figura 4.6.

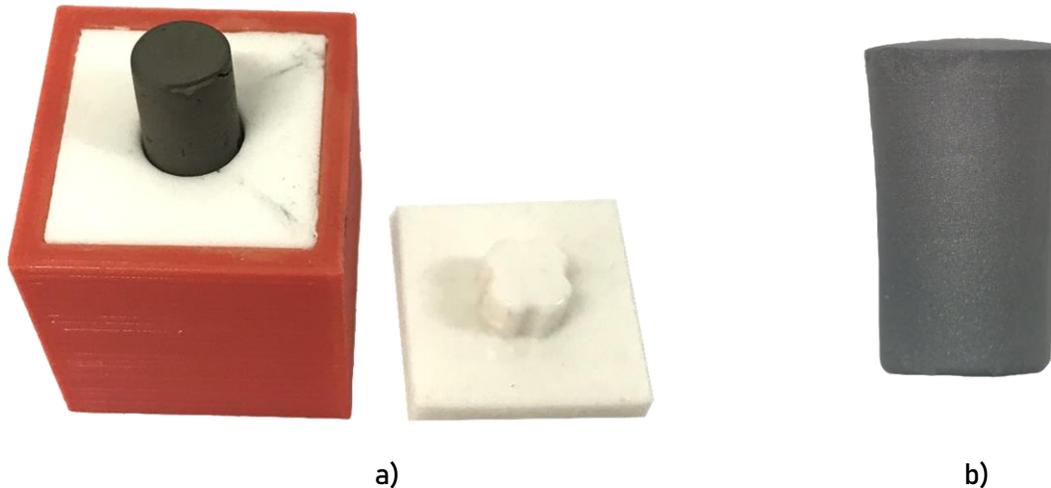


Figura 4.6 - Confección de muestra en verde. a) Desmolde de una muestra en verde. b) Muestra en verde desmoldada.

La Figura 4.6a muestra el molde utilizado, con la pieza en verde siendo desmoldada. El material utilizado para la fabricación del molde es caucho siliconado, el cual presenta un buen desempeño. En primera instancia, este material copia adecuadamente a la forma que se quiere replicar, obteniendo buenas terminaciones en la pieza final. Además, el barro no genera adherencia a su superficie, en la etapa de secado, y su flexibilidad facilita el desmolde de la pieza.

La Figura 4.6b muestra la superficie de una muestra en verde. En la misma se puede observar una buena terminación superficial, libre de defectos como fisuras o discontinuidades. Es posible que estos defectos aparezcan cuando el secado se realiza desde un estado líquido del barro y no desde un estado pastoso. Es importante realizar un buen mezclado en la etapa 3 (sección 3.1.1.2), para obtener un barro con una consistencia viscosa y no líquida como la que se puede ver en la Figura 4.7. Además, el secado desde un estado líquido puede generar mayores niveles de contracción que los esperados (sección 4.4.1.1).



Figura 4.7 - Consistencia del barro previo al colado.

La viscosidad, es el parámetro crítico que permite que el barro fluya adecuadamente, antes de que comience a endurecerse, durante el colado. YE *et al.* advierte que es posible tener una mayor carga sólida en la formación del barro con TiH_2 que con partículas de Ti, pudiendo llegar a un valor de 50 vol% y presentar una buena viscosidad para el colado [69]. LI *et al.* informa que con valores de un 40 vol% de carga sólida se obtienen valores de viscosidad adecuados para colar el barro en un molde, pero asegura tener los mejores resultados para un 46 % de carga sólida [97]. Este trabajo toma como referencia lo informado en bibliografía, obteniendo un barro con viscosidad adecuada para el llenado óptimo del molde.

La implementación de una mesa vibratoria durante el colado del barro, como la mostrada en la sección 3.1.1.2, permite eliminar oclusiones de aire que quedan atrapadas durante esta etapa (Figura 4.8). Lo que conlleva a mejorar la sanidad de las muestras. Además, ayuda a llenar completamente el molde, aunque la forma pueda ser compleja.



Figura 4.8 - Oclusión de aire en una muestra fabricada sin la implementación de la mesa vibratoria.

Si bien, la obtención del barro y posterior colado no generan mayores inconvenientes, las experiencias llevadas a cabo, permiten definir algunos aspectos a tener en cuenta:

- Se debe realizar una correcta mezcla de los polvos en la etapa 2 (sección 3.1.1.2), para obtener una distribución homogénea de las partículas que lo conforman. De caso contrario, es posible obtener concentraciones distintas de la AR en la pieza; lo que desencadenaría en una distribución heterogénea de la porosidad, luego de la sinterización.
- El tiempo de secado del barro suele demorar unos pocos minutos, hasta tomar una consistencia sólida. Esto se debe tener en cuenta, sobre todo, cuando se busca fabricar piezas de volúmenes grandes. Es posible controlar el tiempo de polimerización de la AR, a través de la manipulación de la concentración del peróxido de benzoilo en el iniciador de reacción [69]. En este trabajo, se utiliza al iniciador de reacción, tal como lo provee el fabricante.
- Se debe utilizar un dispositivo vibratorio con el fin de evitar posibles oclusiones de aire durante el colado del barro en el molde.

La Figura 4.9 muestra la superficie de una muestra en verde, luego del secado y desmolde, a magnificaciones de 100x. En la Figura 4.9 se observa una superficie continua, pero con una topografía irregular. Estos tipos de superficies suelen ser beneficiosas para la adhesión celular en la osteointegración [78], por eso son buscadas en la fabricación de dispositivos médicos.

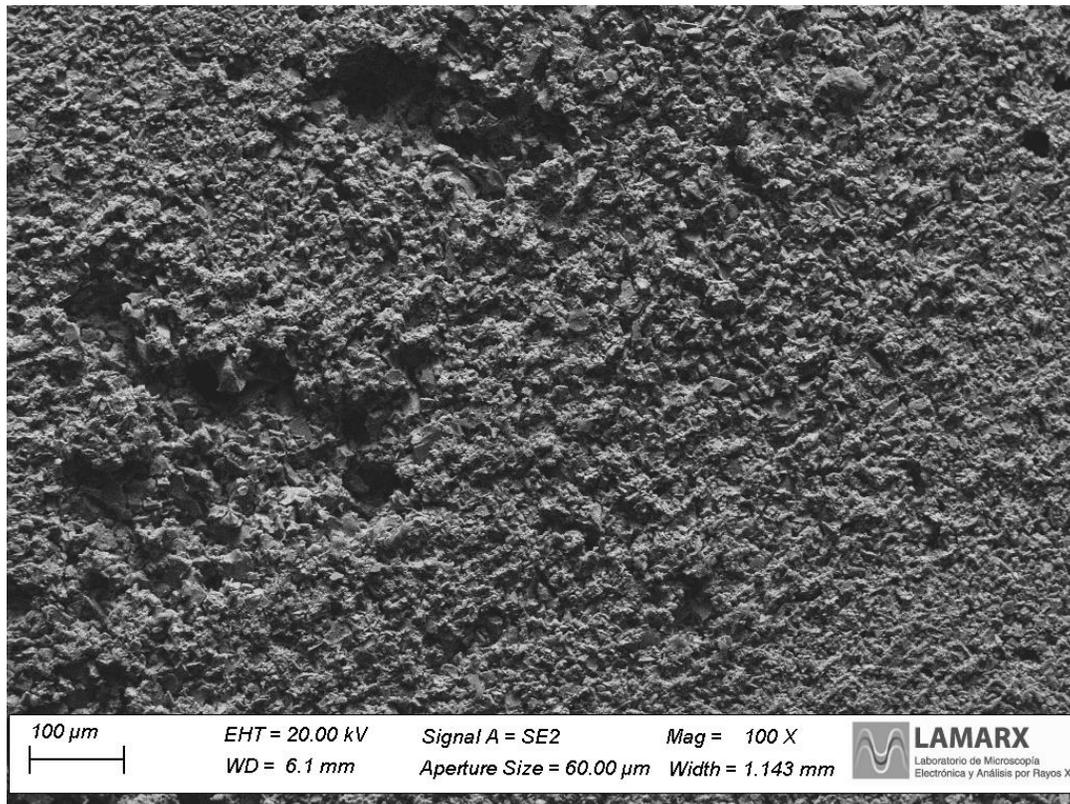


Figura 4.9 - Micrografía SEM de la superficie de una muestra en verde.

La AR, cumple correctamente su función de aglutinante, generando una estructura “soporte” de las partículas de TiH_2 . Esta estructura posee una resistencia mecánica apta para su manipulación y para mantener de manera correcta la forma de la pieza que se fabrica y luego debe someterse al proceso de sinterización. El tipo de técnica empleada nos da la posibilidad de obtener piezas de geometrías complejas, con dimensiones o tolerancias finales y/o próximas a las mismas.

En nuestro país, autores como Grinschpun *et al.*, López padilla *et al.* y Oldani *et al.* han desarrollado procesos pulvimetalúrgicos de fabricación de estructuras porosas a partir de la mezcla de polvos de titanio y espaciadores a través de compresión mecánica de estos y posterior sinterización [13], [77], [91], [98]. Todos informan obtener las estructuras buscadas, pudiendo manipular las propiedades de porosidad mediante el manejo de los espaciadores agregados. Sin embargo, también informan ciertas limitaciones. Una de ellas, es la limitación que poseen dichos desarrollos para la obtención de piezas con forma final.

El proceso de compresión de polvos no es adecuado cuando se requiere compactación axial en formas complejas, como ocurre en la mayoría de los implantes biomédicos. Sin embargo, la implementación de la técnica GCS propuesta, no se limitaría en dichos aspectos y pueden desarrollarse implantes o prótesis a medida con forma final [99]. Algunos autores, sugieren que su aplicación quedaría limitada a la fabricación de piezas simétricas o con formas relativamente sencillas. Sin embargo, ello dependerá de la evolución en las tecnologías de manufactura de moldes y matrices, que puedan producir mejoras y/o mayores posibilidades de desarrollar piezas complejas [15], [51].

Por otra parte, luego del proceso de sinterizado con los métodos convencionales de compactación de polvos, pueden aparecer tamaños y distribución heterogéneas de poros, debido a los gradientes de presión generados en la etapa de compresión. Esto afectaría a la microestructura y por ende, dificulta obtener propiedades isotrópicas en los implantes [91]. Estos inconvenientes, no se presentan con la técnica GCS propuesta, debido a que la fabricación de la muestra en verde es independiente de una etapa de compresión. Siempre que se garanticen condiciones adecuadas de mezclado de polvos, secado y sinterización; se podrá garantizar una distribución homogénea de poros y las características finales para una aplicación determinada.

Otro aspecto reportado durante el empleo de la compresión de polvos, para la introducción de un de gradiente de porosidad radial, se vincula a la dificultad de fabricación de las matrices de compactación. Por otro lado, la unión entre las distintas capas es dependiente de la presión de compresión que se ejerza, siendo recomendable presiones bajas que rondan los 140 MPa y generan piezas en verde con inadecuadas propiedades para su posterior manipulación y sinterización [98], [100]. Por su parte, el método GCS propuesto, se introduce una mayor versatilidad para la obtención de este tipo de estructuras, independientemente que se busque gradualidad en sentido longitudinal o en sentido radial. Estos aspectos se detallan en la sección 4.2.2.1.

A nivel global, autores como Wen *et al.*, Thieme *et al.* y Chen *et al.* entre otros, proponen distintos métodos de fabricación basándose en técnicas pulvimetalúrgicas [101]. Algunos de estos procesos son mediante filtración por presión, fabricación sólida de forma libre, colada múltiple en cinta, compactación de polvos, utilización de espaciadores, etc. Estos métodos poseen la desventaja de que es difícil el control de la porosidad final obtenida, o bien, no es sencilla la confección de la muestra o pieza a realizar [51], [101].

Lascano *et al.* menciona también, los altos costos y la dificultad de obtener reproducibilidad y versatilidad en la utilización de nuevos métodos como lo son: la sinterización por láser, el desbaste por haz de iones, la sinterización de tecnología asistida por campo, etc. [102].

Por otro lado, en la literatura se encuentran distintos métodos que posibilitan la obtención de piezas con forma final. Las tecnologías de manufactura aditiva (MA), suelen utilizar polvos metálicos, y en algunos casos también materiales aglutinantes, para fabricar piezas de base titanio [103]. Es interesante comparar las ventajas y desventajas que dichos métodos poseen en comparación al propuesto en este trabajo.

Las técnicas “Selective laser melting” (SLM) y “Laser engineered net shaping” (LENS) son de las tecnologías “Powder bed fusion” (PBF) o fusión de lecho de polvo más comunes para fabricar biomateriales metálicos por MA. Autores como Cai *et al.* y Dadbakhsh *et al.* advierten que la técnica SLM posee una alta precisión y exactitud lo cual la postulan como buena competidora en la fabricación de biomateriales metálicos [42], [44]. Sin embargo, requiere un sistema avanzado del manejo de polvo para reciclar y reutilizar las mezclas de polvos. En algunos casos, además necesita un paso posterior para eliminar las partículas de polvo no unidas o no fundidas [42], [44]. Por otro lado, según los autores Hu *et al.* y Sahasrabudhe *et al.* la técnica LENS permite fabricar estructuras con gradiente en la composición de su estructura [43], [104]. Esto resulta de interés, ya que es posible el agregado de partículas que promueven el crecimiento óseo como lo es la HAP, otros materiales para adecuar las propiedades mecánicas, de biocompatibilidad o dar propiedades antibacterianas, o bien el agregado de partículas espaciadoras para obtener una estructura porosa con gradualidad [43]. Sin embargo, a diferencia del método anterior, este posee limitaciones en la fabricación de estructuras finas debido a la falta de precisión de la técnica [43]. Ambas técnicas requieren de un equipamiento costoso y complejo para su manipulación, como así la necesidad de un proceso de recuperación y recirculación de los polvos utilizados [43], [104].

La técnica GCS propuesta, presenta la ventaja de utilizar equipamientos económicos y menos complejos que las técnicas SLM y LENS. Al igual que estas técnicas, nos permite fabricar piezas con forma final definida de gran precisión, mediante el diseño del mismo en un software CAD [99]. A diferencia de estas técnicas, la pieza final no se fabrica de manera completa en un único equipo; es necesaria la fabricación de moldes en máquinas de impresión 3D de plásticos, luego el uso de mezcladoras de polvo y finalmente la sinterización en hornos con atmósferas de alto vacío o atmósferas inertes [99].

Por otro lado, con la técnica GCS, no es posible la fabricación de estructuras del tipo “andamio”, como si es posible con las técnicas SLM y LENS. La dispersión de poros en la estructura con esta técnica no es ordenada, pero si es posible su manipulación en cuanto a tamaño y dispersión como se explica en la sección 4.4.1.2.

La técnica GCS permite, al igual que la técnica LENS, la obtención de estructuras con gradualidad en su composición. Lo que es una gran ventaja con relación a la técnica SLM, debido a que es posible el agregado de elementos que mejoren o adecuen las propiedades mecánicas o bien la biocompatibilidad de la estructura final. Esto se expone en las secciones 4.2 y 4.3 respectivamente.

4.1.2 *Proceso de sinterización*

4.1.2.1 *Variables del proceso*

El objetivo principal tras el proceso de sinterización se centra en la obtención de una matriz metálica continua, en donde las partículas se unen entre sí por difusión en estado sólido. Por lo tanto, los parámetros involucrados en este proceso (temperatura y tiempo) son críticos para una sinterización exitosa.

La consolidación de las partículas en la muestra se rige por la difusión en estado sólido, que depende principalmente de la temperatura y de los diferentes elementos que se encuentran en la superficie de las partículas [105]. Las partículas de titanio suelen estar cubiertas por una capa de óxido que reduce la cinética del proceso de difusión. Los óxidos se descomponen debido al calentamiento durante la etapa de sinterización, pero es importante resaltar que, mediante el ciclo de sinterizado propuesto, las partículas se calientan gradualmente desde la superficie hasta el núcleo, protegidas en atmósfera de alto vacío. Por lo tanto, si la temperatura o el tiempo no son los adecuados, las partículas no podrán unirse entre sí y el proceso de sinterización no será exitoso.

La Figura 4.10 muestra imágenes de microscopía SEM de dos muestras, que se fabrican aplicando los ciclos térmicos propuestos TC1 y TC2, descritos en 3.1.2. Las Figura 4.10 a y b muestran imágenes de una muestra 12R, tomada con una magnificación de 500x y 2000x, respectivamente. Para la elaboración de esta muestra, se aplica el ciclo térmico TC1. A pesar de que en la bibliografía muchos autores obtienen resultados adecuados con sinterizados a temperaturas entre los 1100 °C y 1200 °C [69], [77], [106]; las partículas no alcanzan una unión efectiva entre sí para las condiciones propuestas del método GCS y ciclo térmico TC1, como podemos apreciar en las Figura 4.10 a y b. Además, es posible diferenciar la forma de las partículas primitivas de TiH₂. En consecuencia, los parámetros propuestos en TC1 no son óptimos para obtener una difusión adecuada en estado sólido y lograr una matriz metálica continua.

Por otra parte, las Figura 4.10 c y d presentan imágenes de una muestra 9R. Para la elaboración de esta muestra, se aplica el ciclo térmico TC2. Basalah *et al.* [107] reporta que el cuello de sinterización se comienza a formar a temperaturas de sinterización de 1100 °C, produciendo una leve unión entre partículas; mientras que a temperaturas de 1400 °C se obtienen cuellos de sinterización más extensos con una óptima unión entre partículas. En concordancia a lo informado por Basalah, aplicando el ciclo térmico TC2, se observa una unión efectiva entre las partículas y se distinguen cuellos de sinterización extensos. Además, su forma primitiva no es fácilmente diferenciable entre ellas. En la Figura 4.10d se muestra un cuello de sinterización, en donde es posible apreciar la unión entre las dos partículas. En consecuencia, los parámetros estudiados en TC2 resultan óptimos para obtener suficiente difusión de estado sólido y lograr una matriz metálica continua, mediante el método GCS propuesto.

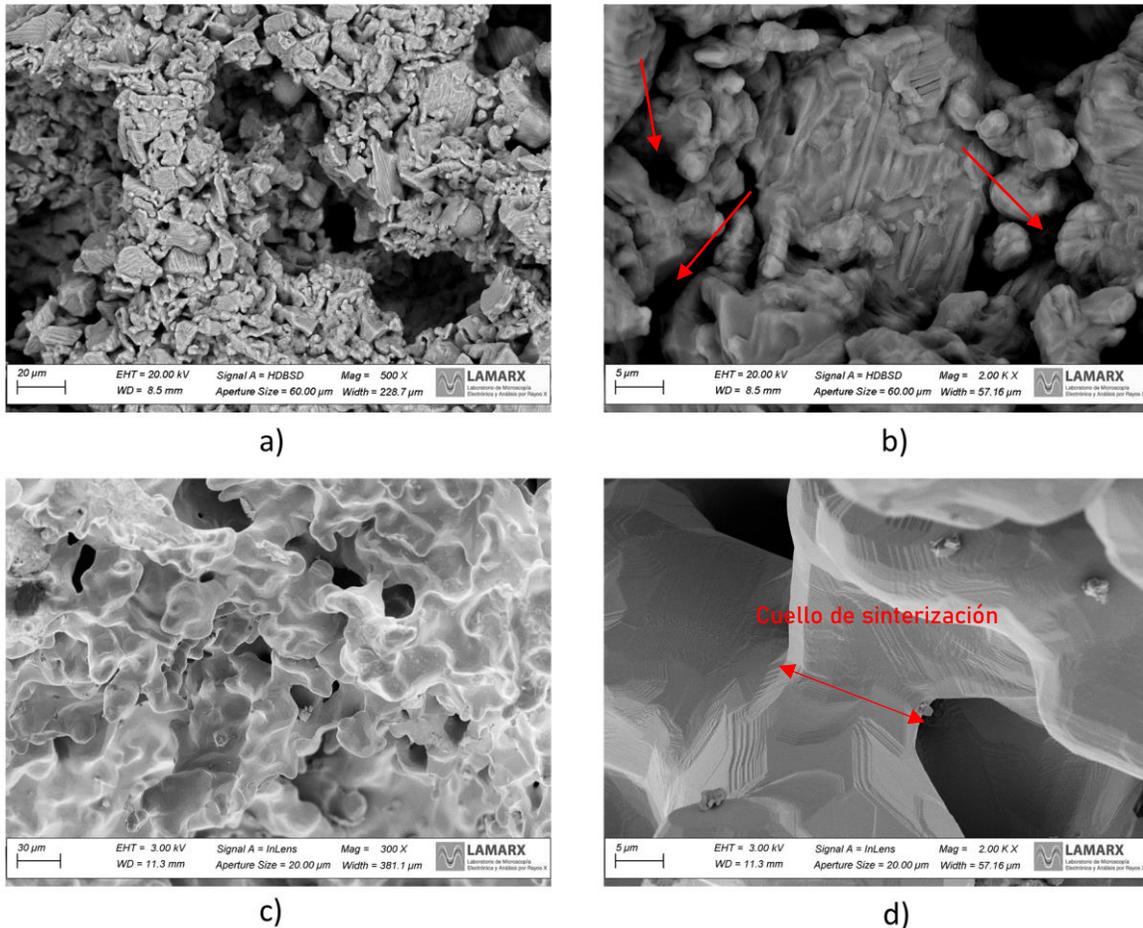


Figura 4.10 - Micrografías SEM del cuello de sinterización entre partículas de polvo de titanio a diferentes temperaturas. a) Muestra 12R sinterizada a 1150 °C. b) Muestra 12R sinterizada a 1150 °C. c) Muestra 9R sinterizada a 1300 °C. d) Muestra 9R sinterizada a 1300 °C.

4.2 Estructuras de titanio con gradiente de porosidad (Ti-GPoros)

4.2.1 Proceso de Gel-Casting

4.2.1.1 Materias primas

Las materias primas utilizadas para la confección de estructuras Ti-GPoros son AR y TiH₂, cuyo análisis se detalla en el apartado 4.1.1.1.

4.2.1.2 Etapas del proceso

En base a lo desarrollado para la obtención de estructuras con porosidad uniforme, se lleva a cabo el proceso para la elaboración de muestras con gradiente de porosidad en sentido radial. Se toma como base la metodología propuesta para el proceso GCS en 3.2.

Para la confección de las muestras se utilizan las mezclas 3R, 6R, 9R y 12R, cuya caracterización de la estructura porosa se muestra en la sección 4.4, por lo que en esta sección no se analizan sus propiedades. Su elección tiene como fin, obtener una estructura en donde sea posible diferenciar los niveles de porosidad entre los estratos elegidos; sin buscar una estructura porosa en particular o bien condiciones mecánicas determinadas.

Se enfatiza en el estudio de la factibilidad de la técnica propuesta en poder obtener las estructuras con gradiente de porosidad mencionadas.

Debido a que la fabricación de las estructuras con porosidad gradual se realiza en etapas, según se explica en la sección 3.1.1.2, la confección de cada anillo o bien de la zona central de la muestra es similar a confeccionar una muestra con porosidad uniforme. Consecuentemente, lo detallado en la sección 4.1.1.2 en cuanto a aspectos de la aplicación de la técnica de Gel-Casting para estructuras con porosidad uniforme también aplica para las desarrolladas en este apartado.

En la Figura 4.11 se observa una muestra en verde, en donde se puede diferenciar el relleno que corresponde a la zona central (3R) y la que corresponde a la periferia (9R). Las mismas no presentan defectos como fisuras superficiales, zonas sin relleno y tampoco una discontinuidad aparente entre las capas. Poseen una resistencia mecánica adecuada para la manipulación de la misma y una buena terminación superficial.

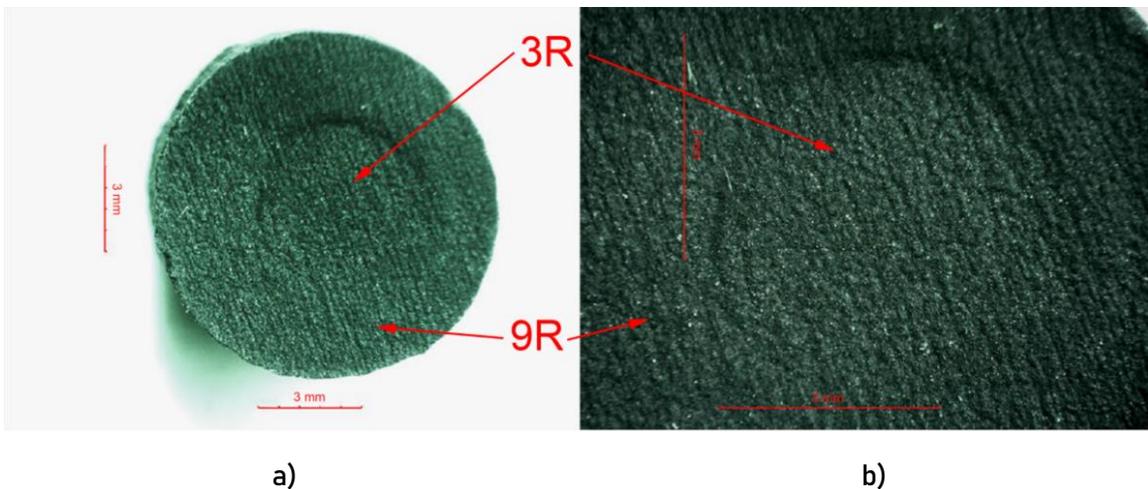


Figura 4.11 - Muestra en verde con gradiente de porosidad. a) Vista transversal de la muestra. b) Vista transversal de la muestra a mayor magnificación.

El llenado del molde en cada etapa se realiza de la misma manera que para las muestras de porosidad uniforme. En la realización de las primeras experiencias, se detecta una problemática en la unión entre las capas 3R y 9R. Entre ellas, se encuentran zonas con discontinuidades, detectadas luego del proceso de sinterizado, como puede observarse en la Figura 4.12. La discontinuidad, es ocasionada por la falta de adhesión entre las capas de las mezclas utilizadas durante el proceso de fabricación de la muestra en verde, previo a la sinterización. Al colar la mezcla en la zona central, la cual entra en contacto con la periferia interna del anillo previamente confeccionado, no logra generar una unión continua en todo su perímetro.

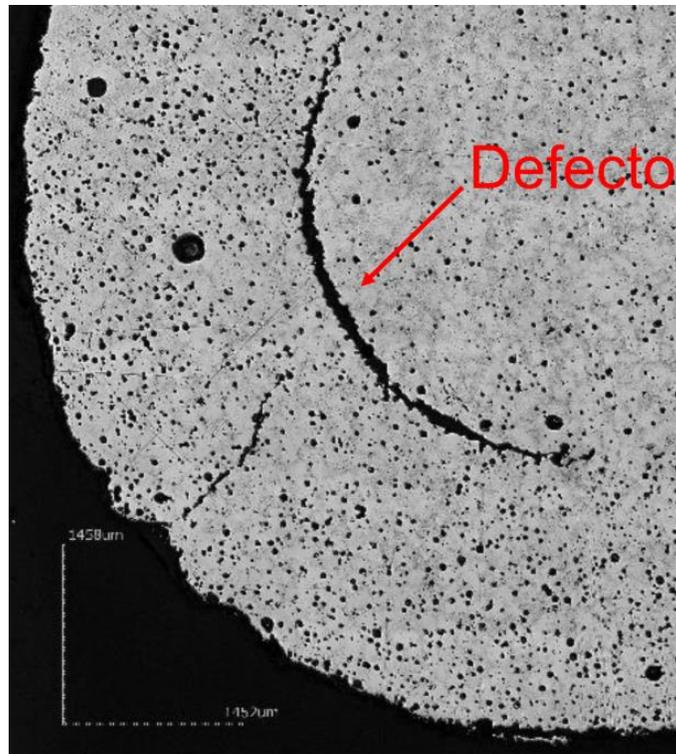


Figura 4.12 - Micrografía confocal láser de una discontinuidad entre capas en una muestra con gradiente de porosidad.

Dicha problemática, se soluciona mediante el mojado previo de la cara interna del anillo con monómero líquido. Al mojar dicha cara, la misma se ablanda generando un mejor contacto con el barro que es colado en la zona central. De esta manera, no se genera una interfase sin unión entre el barro y la cara del anillo previamente polimerizada, resultando en una unión continua entre ambas mezclas, como se desarrolla en el siguiente apartado.

4.2.2 *Proceso de Sinterización*

4.2.2.1 *Variables del proceso*

El proceso de sinterización de estructuras con porosidad gradual se realiza de igual manera que para las estructuras con porosidad uniforme. Es por ello, que el ciclo térmico adecuado para obtener estructuras metálicas continuas es el TC2, debido a las razones fundamentadas en el apartado 4.1.2.1.

En la Figura 4.13 podemos observar un corte longitudinal (figuras a, b y c) y un corte transversal (figuras d, e y f), en las zonas periféricas, de interfase y centro de una muestra con porosidad gradual. En las Figura 4.13 b y e, se visualiza que la interfase presenta continuidad metálica, sin la aparición de defectos o discontinuidades entre capas. Esto confirma una mejora en la adhesión de las capas, con el mojado de la cara interna del anillo previo a la colada del barro en el centro del anillo, como se propone en 3.2.1.2.

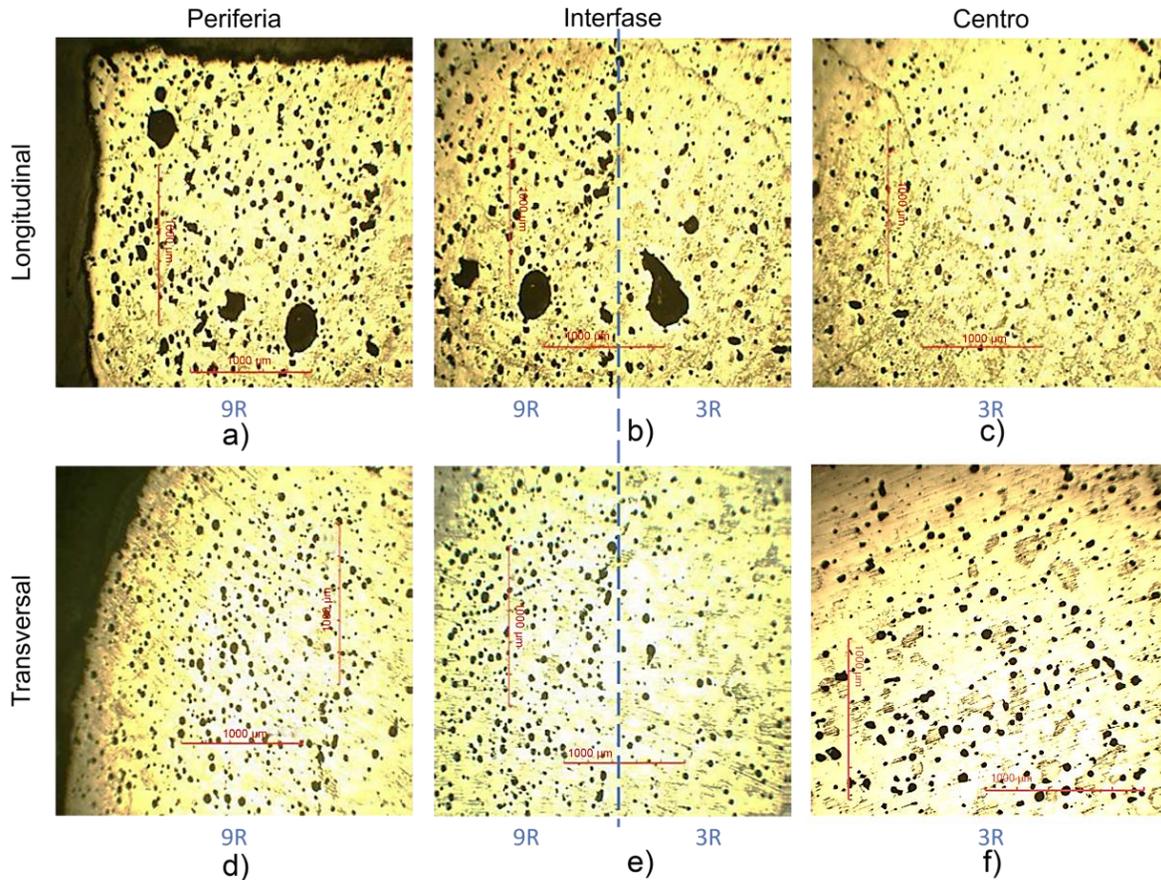


Figura 4.13 - Micrografía longitudinal y transversal de una muestra con porosidad gradual a 40x. a) Corte longitudinal de la periferia. b) Corte longitudinal de la interfase. c) Corte longitudinal del centro. d) Corte transversal de la periferia. e) Corte transversal de la interfase. f) Corte transversal del centro.

El método GCS presenta ventajas en relación a las técnicas de fabricación a través de la compactación de polvos; por un lado, es más sencillo obtener estructuras con gradualidad en su estructura, ya sea en sentido longitudinal como radial. Asimismo, no se encuentran problemas de falta de continuidad entre capas debido a una incorrecta elección de la presión de compresión utilizada. Problemática que se discute en la sección 4.1.1.2.

En la Figura 4.14, se presenta la sección transversal de una muestra con porosidad gradual, obtenida mediante microscopía confocal láser. Aquí, se puede observar la continuidad entre las dos capas, sin la aparición de discontinuidades como la de la Figura 4.12. También es posible observar la gradualidad de la estructura porosa, aumentando desde el centro hacia su periferia. Se diferencian los niveles de porosidad de la estructura correspondiente al centro (3R) y la periferia (9R), citados en la Tabla 4.3.

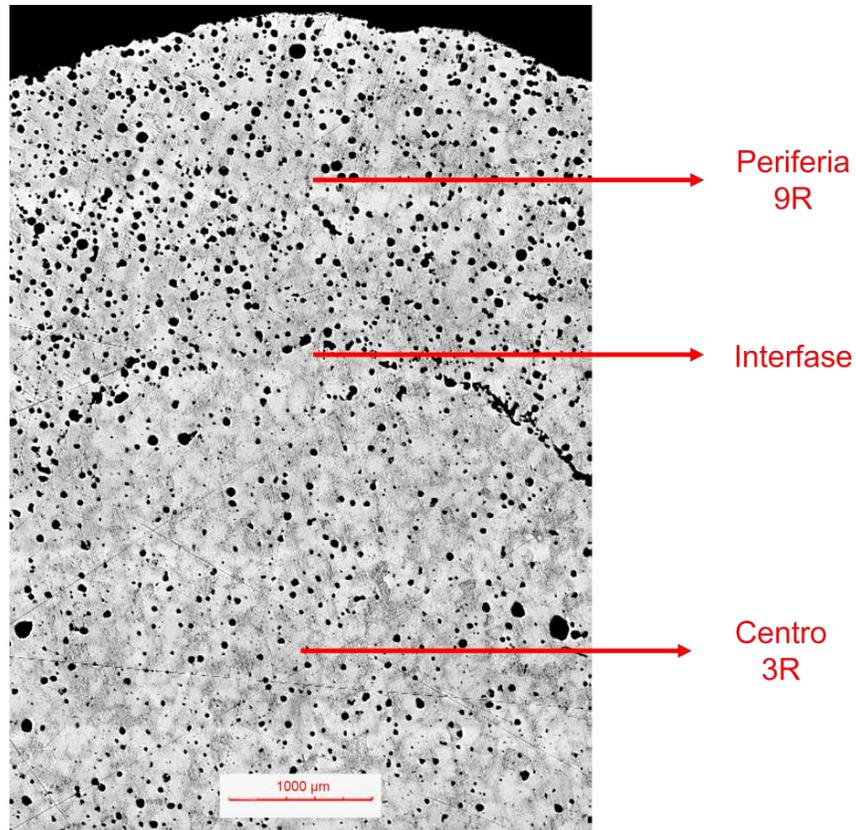


Figura 4.14 - Micrografía confocal láser de la sección transversal de una muestra con porosidad gradual de dos capas a 50x.

De esta manera, mediante el agregado de mayor número de capas, es posible obtener una gradualidad aún mayor de la estructura como se puede observar en la Figura 4.15. En la misma, se observa una estructura de tres capas: la estructura central conformada por la mezcla 3R, la estructura de la zona media conformada por la mezcla 6R y finalmente la estructura periférica conformada por la mezcla 12R. Aquí, tampoco se observan discontinuidades entre las distintas capas.

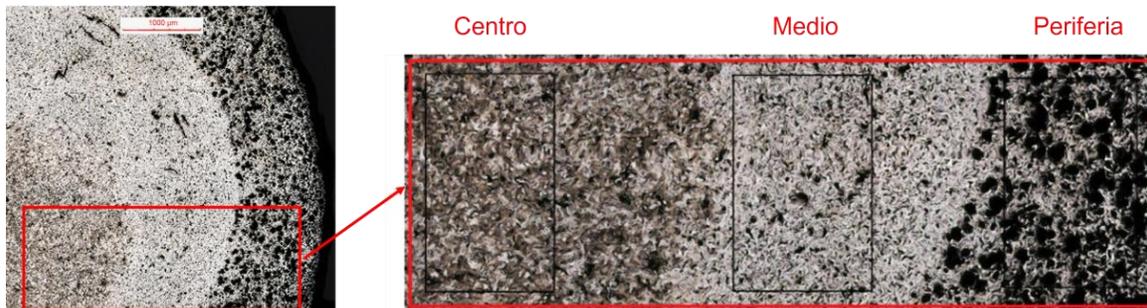


Figura 4.15 - Microscopía confocal láser de la sección transversal de una muestra con porosidad gradual de tres capas a 50x.

Estos tipos de estructuras resultan de interés debido a que un material con una estructura uniforme no suele cumplir de manera simultánea con características como: poseer las propiedades mecánicas necesarias para soportar los esfuerzos a los que se lo

ve afectado un implante, así como poseer una rigidez similar a la del hueso en donde se encuentra alojado, con el objetivo de evitar el fenómeno del apantallamiento de tensiones [108]. Además, como se discute en 4.4.1.2 y en 4.4.2, las estructuras porosas necesarias para obtener una buena osteointegración devienen en estructuras con cualidades mecánicas bajas, que no soportan las condiciones mecánicas a las que se encuentren afectadas. Es importante destacar que el cuerpo humano en sí mismo, posee una organización altamente gradual, como sucede en el caso de los huesos [108]. Es por esto, que se hace énfasis en obtener estructuras con gradualidad en sus propiedades estructurales.

4.3 Estructuras titanio-hidroxiapatita porosas (Ti-HAPoros)

4.3.1 *Proceso de Gel-Casting*

4.3.1.1 *Materias primas*

Las materias primas utilizadas para la confección de estructuras Ti-HAPoros son AR, TiH_2 e HAP. El análisis de la AR y el TiH_2 se detalla en el apartado 4.1.1.1.

1. Hidroxiapatita (HAP)

La HAP es un compuesto que se descompone al ser sometido a temperatura, por lo que es importante medir la relación Ca/P previo y post sinterizado, tal y como se explica en la sección 3.4.3. Los resultados del análisis de composición química se obtienen por SEM-EDS. Para ello, se analizan distintas partículas de HAP suministradas por el fabricante, previo al sinterizado (Figura 4.16).

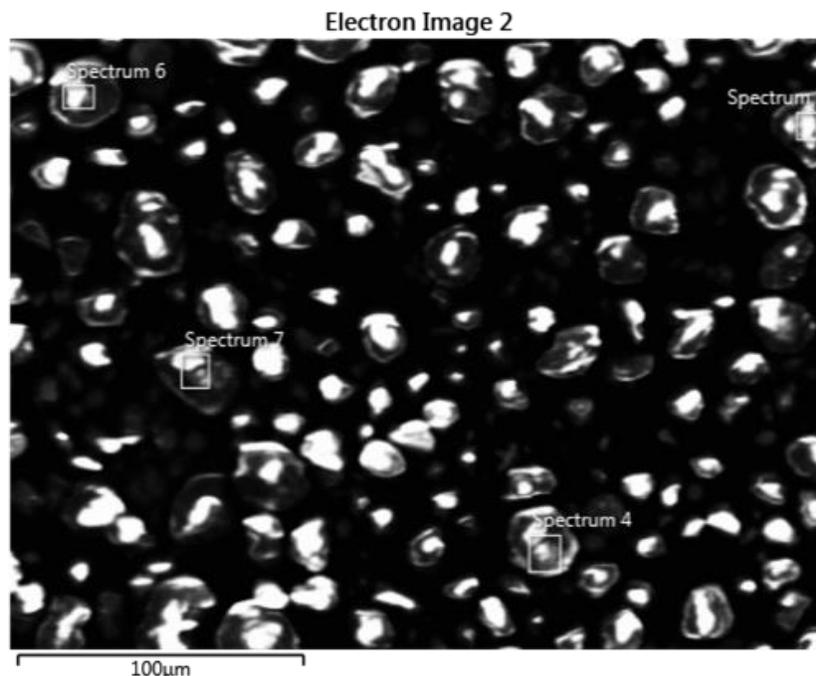


Figura 4.16 - Micrografía SEM de las partículas de HAP previo al sinterizado. Zonas de análisis de los espectros de composición química en las partículas de HAP.

La Figura 4.17 muestra un espectro de composición química de una de las partículas de HAP analizadas. En la misma podemos observar la presencia de O, Ca y P.

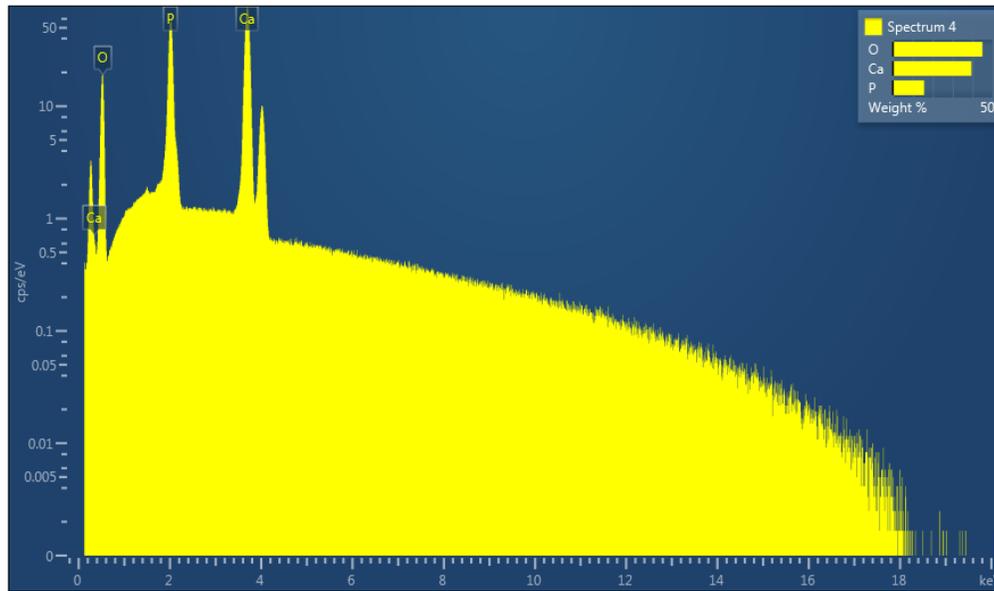


Figura 4.17 - Composición química de una partícula de HAP.

Los resultados del estudio estadístico de la relación Ca/P para partículas de HAP previo al sinterizado, se muestran en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1 - Estudio de la relación Ca/P para partículas de HAP previo a la sinterización.

| VARIABLE | N | VALOR MEDIO | CV | MIN | MAX | RANGO |
|----------|---|-------------|------|------|------|-------|
| Ca/P | 7 | 2,28 | 8,11 | 2,10 | 2,55 | 0,46 |

Este valor se toma como referencia para ser comparado con el análisis químico de las partículas de HAP post sinterizado, como se muestra en el apartado 4.3.2.1.

4.3.1.2 Etapas del proceso

En base a lo desarrollado para la obtención de estructuras con porosidad uniforme, se lleva a cabo el proceso para la elaboración de muestras con agregados de HAP en su composición. Se toma como base la metodología propuesta para el proceso GCS en 3.3.

Debido a que el proceso de fabricación de muestras en verde para estructuras con porosidad uniforme es el mismo que para estructuras porosas uniformes con agregados de HAP, lo detallado en la sección 4.1.1.2 también aplica para este apartado.

4.3.2 Proceso de Sinterización

4.3.2.1 Variables del proceso

El objetivo del proceso de sinterización es unir las partículas metálicas a través de un proceso difusional. A diferencia de lo que se desarrolla en el apartado 4.1.2.1, para estructuras Ti-Poros, no solo se tienen partículas de Ti, sino que también partículas de HAP en la composición de las muestras en verde. Como se explica en el apartado 3.4.3, es posible que temperaturas superiores a los 800 °C se genere una descomposición de la HAP, reduciendo así el efecto bioactivo buscado. Es por ello, que la aplicación de los ciclos TC1 y TC2 se ven limitados.

Para evitar la descomposición de la HAP, se plantea la utilización del ciclo térmico TC3 (sección 3.3.2). Se obtienen estructuras con matriz metálica continua, libre de defectos y con la presencia de poros y partículas de HAP, como se puede observar en la Figura 4.18.

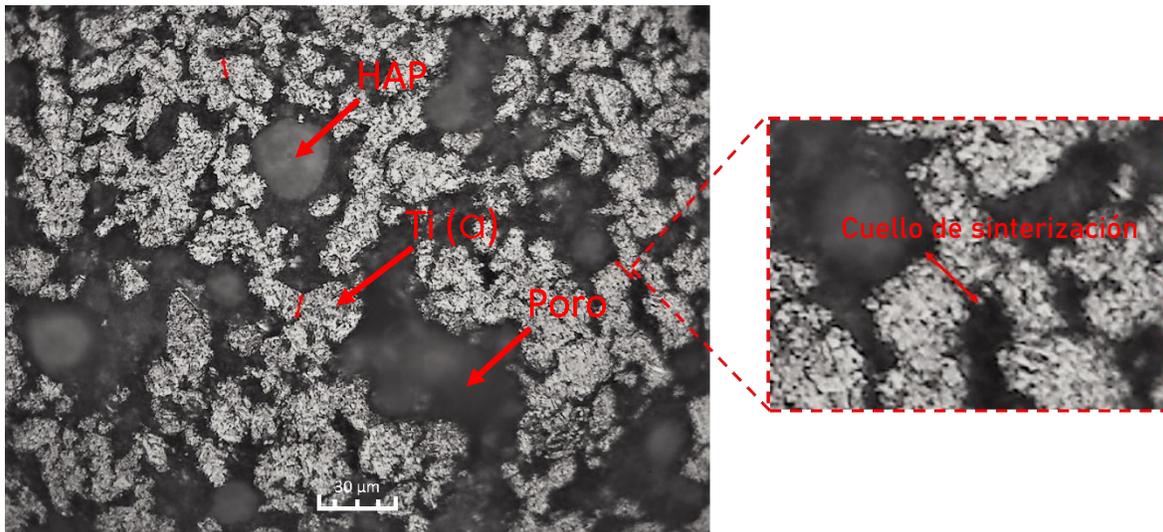


Figura 4.18 – Micrografía óptica de una muestra 12-5 RH sinterizada. Identificación de cuellos de sinterización.

Si bien, autores como Basalah *et al.* afirman que los cuellos de sinterización comienzan a tener una unión significativa desde temperaturas de 1100 °C y siendo recomendadas temperaturas de 1300 °C para obtener una óptima unión entre partículas [107]; otros autores como Grinschpun, confirman que es posible obtener uniones efectivas entre las partículas de titanio desde temperaturas de 500 °C, obteniéndose buenos resultados para temperaturas cercanas a los 800 °C [98]. Si bien, se obtiene una matriz con microporosidad en la matriz resultante del sinterizado, se consigue apreciar una unión efectiva entre las partículas a través de los cuellos de sinterización, como se indica en la Figura 4.18. Por lo que el ciclo térmico TC3 con una temperatura de 780 °C durante la sinterización, es apta. La utilización de una temperatura menor en la sinterización es compensada con el aumento del tiempo de sinterizado, tal como se puede ver al comparar los parámetros entre TC2 y TC3 en las secciones 3.1.2 y 3.3.2, respectivamente.

4.3.2.2 Estudio de la relación Ca/P en las partículas de HAP, previo y post sinterizado

En el apartado anterior, se analiza la factibilidad de obtener estructuras metálicas aptas a bajas temperaturas de sinterización. Sin embargo, otro aspecto importante es analizar si la temperatura y tiempo empleado genera la descomposición de la HAP. A continuación, se realiza la comparativa entre los valores obtenidos de las mediciones de la relación Ca/P previo y post sinterizado:

El análisis de la composición química de la HAP, previo al sinterizado, nos da un valor de la relación Ca/P = 2,28 (Tabla 4.1). Este, es un valor que se encuentra por encima del valor estequiométrico de Ca/P = 1,67 encontrado en el diagrama binario del sistema CaO – P₂O₅, propuesto por Ducheyne y cols. [88], [89]. Hay que tener en cuenta que cuando Ca/P > 1,67 se tiende a producir CaO en calentamientos superiores a los 850 - 900 °C, lo que conlleva a la descomposición de la HAP [90]. Es por esto, que se debe trabajar a

temperaturas inferiores que las mencionadas para evitar la descomposición, acompañando, además, con una atmósfera controlada.

El estudio de las muestras sinterizadas de Ti-poro-HAP se realiza mediante Microanálisis con Sonda de Electrones (EPMA) como se observa en la Figura 4.19 y Figura 4.20.

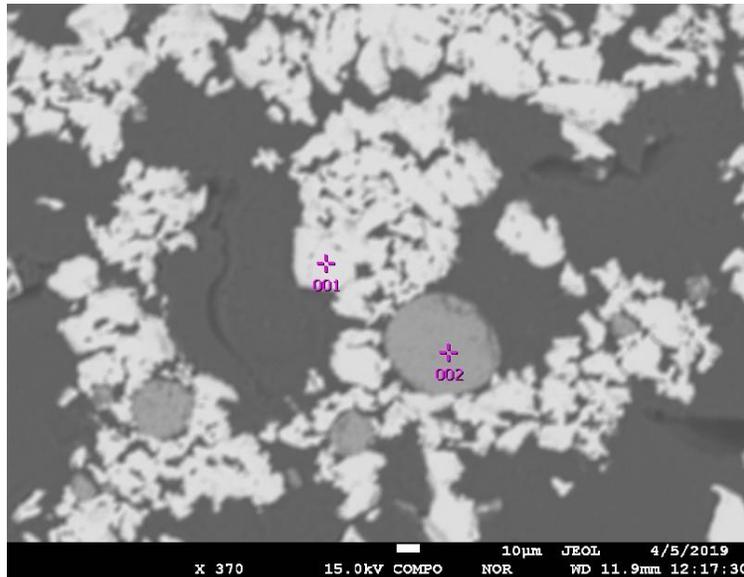


Figura 4.19 - Análisis de composición química por microanálisis con sonda de electrones (EPMA). La zona de análisis 001 corresponde a la matriz de Ti, mientras que la 002 a una partícula de HAP post sinterizado.

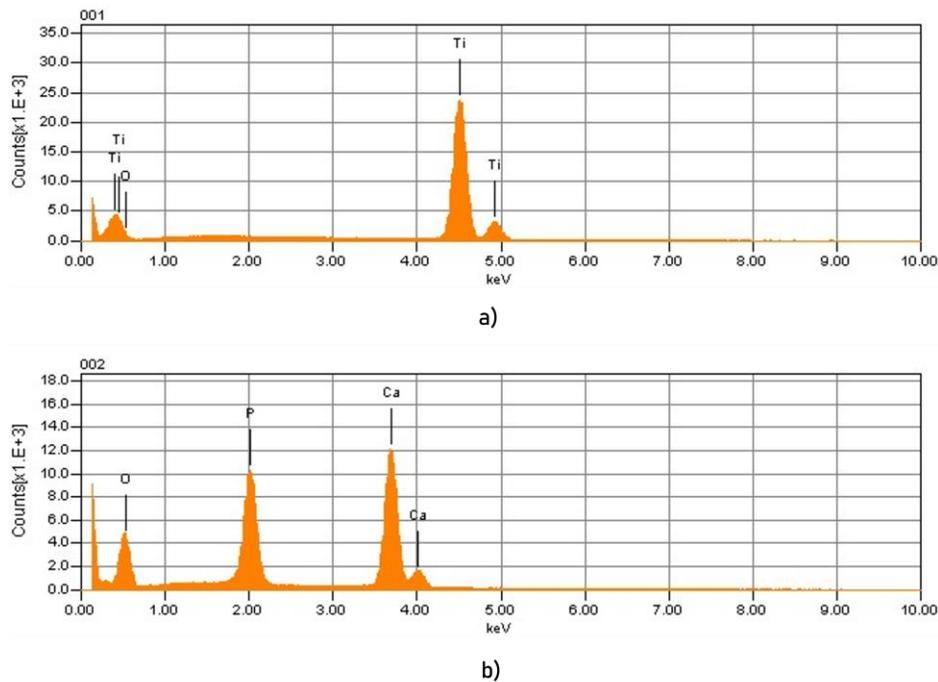


Figura 4.20 - Análisis de composición química por microanálisis con sonda de electrones (EPMA). a) Espectro de la zona 001 correspondiente a una región metálica de Ti. b) Espectro de la zona 002 correspondiente a una partícula de HAP post sinterizado.

La Figura 4.19 muestra las zonas de análisis dentro de la muestra post sinterizado. La zona 001 corresponde a la matriz metálica de titanio, mientras que la zona 002 a una partícula de HAP. En la Figura 4.20 se observan los espectros correspondientes a cada zona. La Figura 4.20a muestra el espectro correspondiente a la zona 001, y en ella podemos observar los picos característicos del Ti. La Figura 4.20b muestra el espectro correspondiente a la zona 002, en la que se diferencian los picos característicos del O, P y Ca; elementos que conforman a la HAP estudiada.

Los resultados del estudio estadístico de la relación Ca/P para partículas de HAP post sinterizado, se muestran en la Tabla 4.2. Se observa que el valor promedio obtenido es cercano al informado para partículas de HAP, previo a la sinterización. Esto deja entrever que no ha ocurrido una descomposición considerable de la HAP con el ciclo térmico TC3 aplicado.

Tabla 4.2 - Estudio de la relación Ca/P para partículas de HAP post sinterizado.

| VARIABLE | N | VALOR MEDIO | CV | MIN | MAX | RANGO |
|----------|---|-------------|------|------|------|-------|
| Ca/P | 8 | 2,13 | 4,20 | 2,01 | 2,30 | 0,29 |

Además, los espectros de composición química, como así los mapas de composición química no detectan trazas de P o Ca disgregados o diseminados en la matriz de Ti. Tampoco se observa difusión de Ti dentro de las partículas de HAP, como se puede observar en la Figura 4.21.

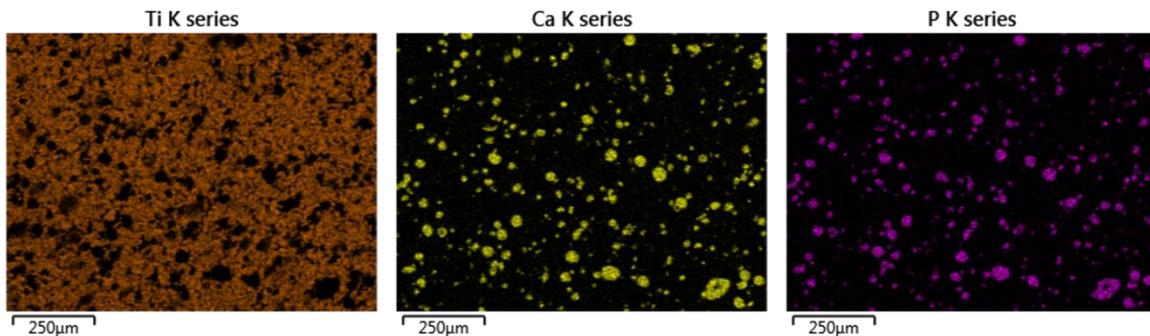


Figura 4.21 - Mapas de composición química de una muestra de Ti-poro-HAP.

Es por esto, que las partículas de HAP se mantienen estables a temperaturas de 780 °C en atmósferas de vacío de 1×10^{-6} mmHg; conservando así sus propiedades físicas, dimensionales, químicas y de biocompatibilidad.

4.4 Caracterización metalográfica

4.4.1 Estructuras Ti-Poros y Ti-GPoros

En esta sección, se detallan de manera conjunta, los resultados de la caracterización metalográfica de las estructuras Ti-Poros y Ti-GPoros obtenidas. El agrupamiento de los resultados se debe a que las estructuras porosas son similares, por lo que las técnicas de estudio utilizadas aplican para ambos casos.

4.4.1.1 Caracterización visual y macrográfica

El proceso de difusión de Ti obtenido en TC2, genera una matriz metálica continua, libre de defectos de sinterización. La Figura 4.22 muestra la superficie externa de una muestra metálica de titanio, luego del proceso de sinterizado. Se observa una muestra de titanio metálico poroso, libre de macrodefectos superficiales.

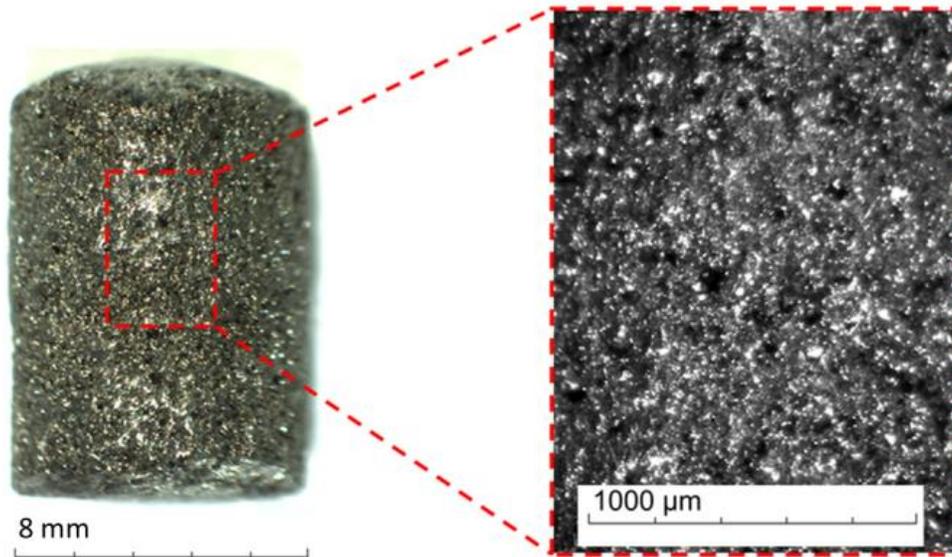


Figura 4.22 - Superficie de una muestra sinterizada. Magnificación 25x.

La estructura porosa superficial, es de interés para la mejora de la regeneración del crecimiento óseo. Sin embargo, aunque las muestras no presentan defectos superficiales como fisuras en la superficie, en algunos casos se encuentran oclusiones de aire en el interior de las muestras sinterizadas, como se expuso en la Figura 4.8.

Como es esperable, luego del proceso de sinterización, las dimensiones de las muestras se ven afectadas mediante una reducción de las mismas por contracción térmica y los procesos difusionales de unión entre partículas. Los valores de contracción en diámetro y altura se representan en la Figura 4.23 como líneas azules y rojas, respectivamente. Las contracciones registradas para el diámetro son de aproximadamente un 20 % para todas las mezclas, con excepción de la 12R, que es cercana al 15 %. En cuanto a la contracción en altura, los valores son levemente inferiores, respecto al diámetro. Éstos, rondan el 18 % para todas las mezclas, excepto la 12R, cuyo valor ronda el 13 %.

Los valores de contracción toman importancia en el momento de diseñar el molde de la pieza a fabricar, para evitar la obtención de una pieza de dimensión o tolerancias erróneas al final del proceso. Es importante señalar, que las muestras tienen una forma regular, por lo que las contracciones son prácticamente uniformes en todo el volumen de la muestra. Por otro lado, las muestras con dimensiones de forma variable pueden presentar contracciones no uniformes y deben ser analizadas, por ejemplo, para la fabricación de un implante biomédico.

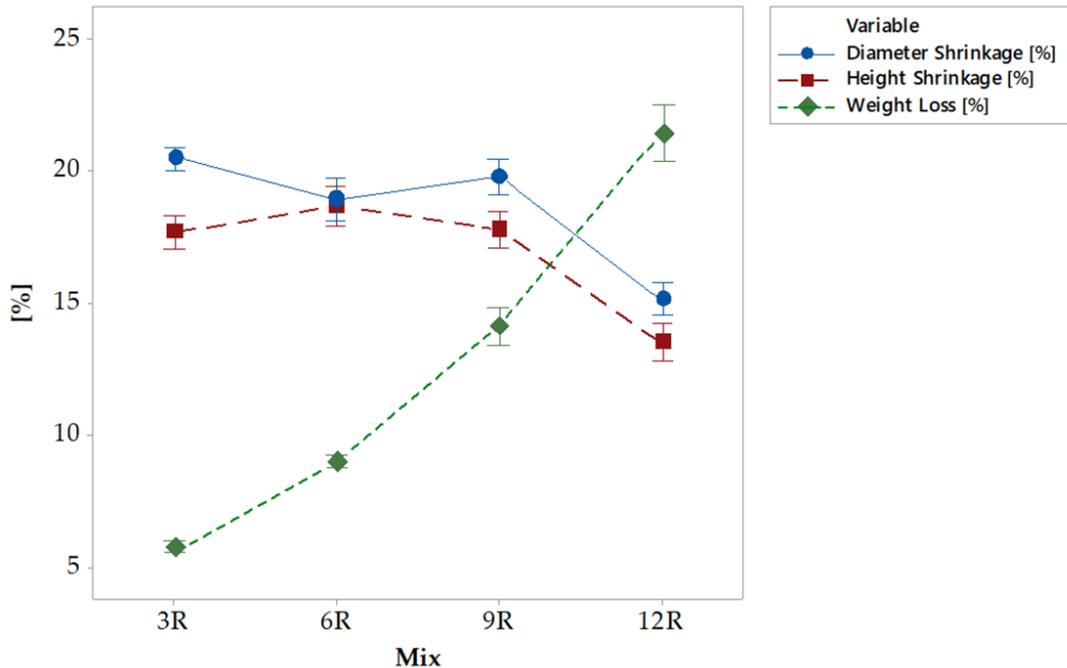


Figura 4.23 - Análisis estadístico de las contracciones en diámetro, altura y pérdida en peso.

La pérdida de peso está representada por la curva verde de la Figura 4.23. Se observa una relación de mayor pérdida en peso a medida que aumenta la cantidad de la AR en las muestras. Este comportamiento es esperado, ya que, la cantidad de polímero que se volatiliza es mayor a medida que la AR aumenta. El valor mínimo se encuentra para 3R con un 5 % y el valor máximo corresponde a 12R, con un 21 % de pérdida de peso. Los errores estándares se calculan para todas las mezclas y para cada parámetro, como se representa en la Figura 4.23.

4.4.1.2 Caracterización metalográfica por microscopía óptica

4.4.1.2.1 Porosidad

Para cada mezcla analizada, la Tabla 4.3 presenta las variables descriptivas (Pm, CV, Min, Max y R), junto a la microestructura representativa después del proceso de sinterización. Para cada mezcla, la microestructura presenta una matriz metálica de titanio (color blanco), libre de microfisuras o falta de sinterización. La Pm aumenta a medida que aumenta la FAR, donde el valor mínimo de porosidad se encuentra para 3R (11 %) y el valor máximo de porosidad para 18R y 21R (91 %).

Los poros (color negro) pierden su forma regular por encima del 12 % de AR (mezcla 12R). Esto, puede explicarse debido a que la porosidad es mayor al área de la matriz de Ti. En este caso, un poro definido se ha unido a otros, obteniendo una aglomeración de ellos entre sí. La forma y los límites de los poros primitivos no son posibles de diferenciar, lo que conlleva a la imposibilidad de analizar sus características mediante la técnica empleada y a raíz de ello, fueron empleados para experiencias de caracterización y descartados para aplicaciones con gradiente de porosidad o agregado de HAP.

Los valores de porosidad para cada una de las mezclas, junto con su intervalo de confianza al 95 %, son representados en la Figura 4.24. Se aprecia una relación no lineal

entre Pm y la FAR. Los valores de porosidad aumentan en forma exponencial cuando aumenta la FAR. Cuando la FAR alcanza el 18 % y 21 %, los valores de porosidad dejan de incrementarse, llegando a sus valores máximos.

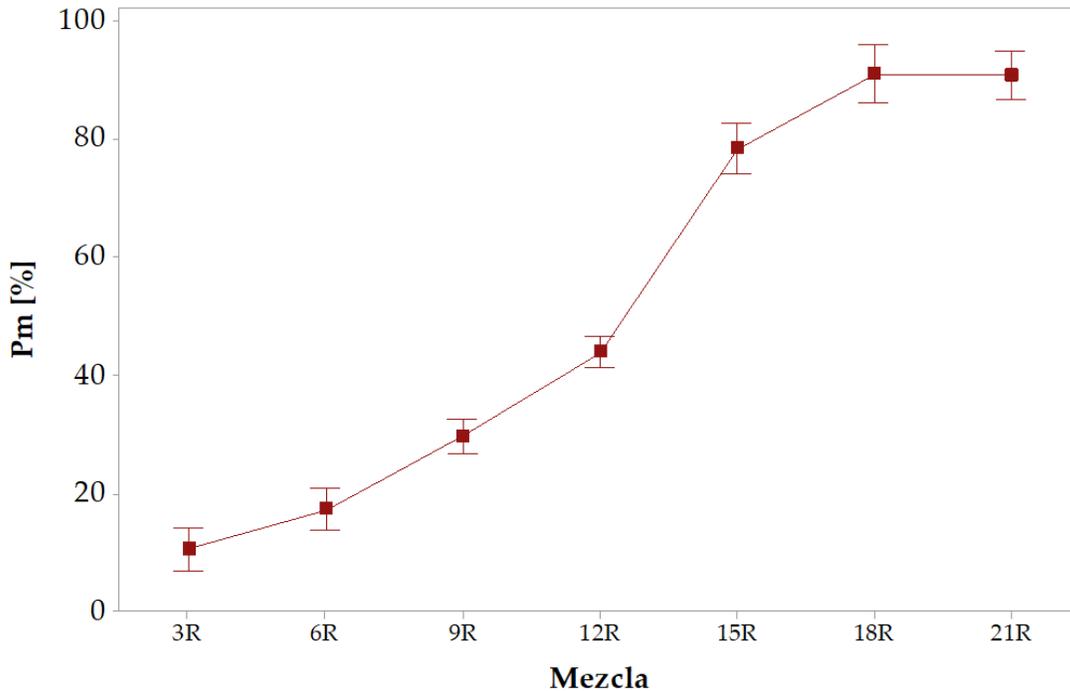
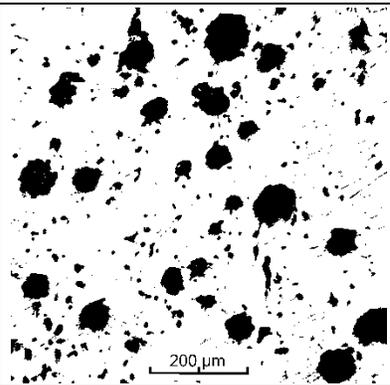
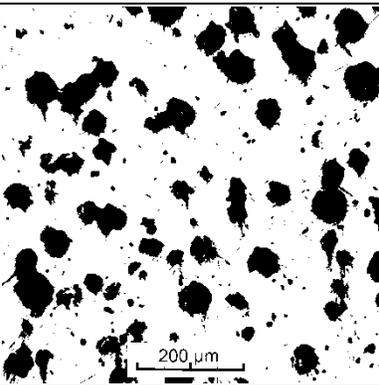
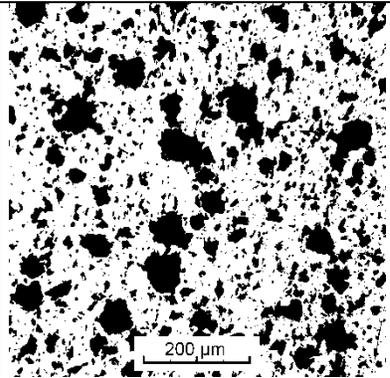
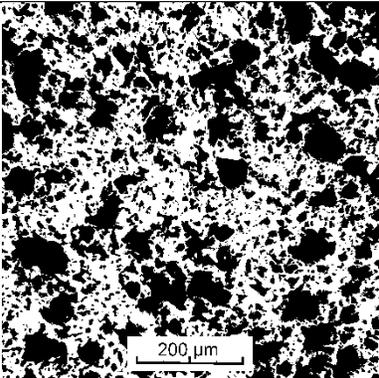
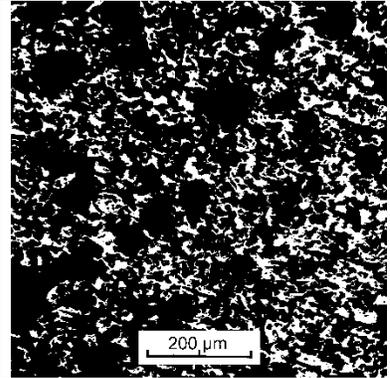
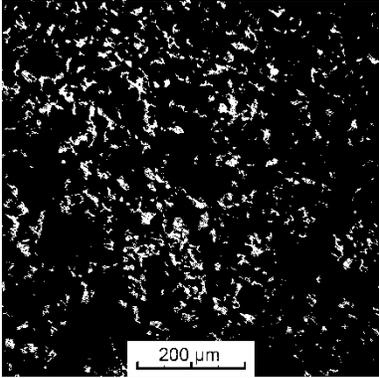
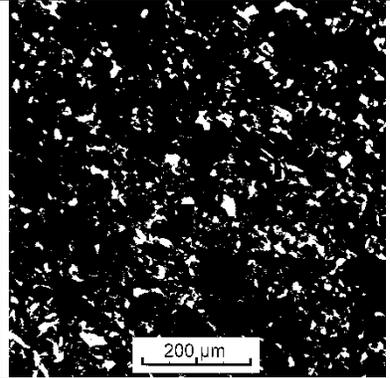


Figura 4.24 - Porosidad en función de la FAR.

Es importante resaltar que, cuando la FAR aumenta de 9 % a 15 %, ocurre un incremento elevado en los valores de porosidad, lo cual se observa en la Tabla 4.3 y en la Figura 4.24. Un incremento de 6 % en la FAR provoca un incremento de hasta un 60 % en la Pm. De acuerdo con la revisión de la literatura, algunos autores como Basalah *et al.* y Domínguez *et al.* proponen que es posible obtener propiedades mecánicas (rigidez y resistencia a la compresión) similares a las del hueso humano con porosidades que rondan entre el 30 % y el 50 % [107], [109]. Otros autores como Bram *et al.* y Taniguchi *et al.* informan que se requieren valores de porosidad dentro del rango del 50 % al 70 % para estimular el crecimiento interno de hueso nuevo y disminuir el fenómeno de apantallamiento de tensiones [35], [79]. Como se muestra, estos valores de porosidad se pueden obtener utilizando cantidades de la FAR entre el 12 % al 15 %. Dado que la variación de porosidad es alta en el rango mencionado, en trabajos futuros, se estudiarán nuevas mezclas con la FAR en el rango de 12 % a 15 %.

Para valores bajos de la FAR (3 % y 6 %), se observa una variación de hasta 16 % en la Pm, que no es tan elevada como la descrita anteriormente. Por otro lado, para valores altos de la FAR (18 % y 21 %), la Pm no presenta una variación significativa (18R alcanza el valor máximo de Pm).

Tabla 4.3 - Caracterización micrográfica de las diferentes mezclas estudiadas.

| 3R | | | 6R | | |
|---|---------|----|--|---------|----|
|  | Pm [%] | 11 |  | Pm [%] | 17 |
| | CV [%] | 31 | | CV [%] | 20 |
| | Min [%] | 6 | | Min [%] | 14 |
| | Max [%] | 14 | | Max [%] | 22 |
| | R [%] | 8 | | R [%] | 8 |
| 9R | | | 12R | | |
|  | Pm [%] | 30 |  | Pm [%] | 44 |
| | CV [%] | 12 | | CV [%] | 8 |
| | Min [%] | 26 | | Min [%] | 39 |
| | Max [%] | 38 | | Max [%] | 49 |
| | R [%] | 12 | | R [%] | 10 |
| 15R | | | 18R | | |
|  | Pm [%] | 78 |  | Pm [%] | 91 |
| | CV [%] | 7 | | CV [%] | 5 |
| | Min [%] | 71 | | Min [%] | 83 |
| | Max [%] | 86 | | Max [%] | 96 |
| | R [%] | 15 | | R [%] | 13 |
| 21R | | | | | |
|  | Pm [%] | 91 | | | |
| | CV [%] | 4 | | | |
| | Min [%] | 86 | | | |
| | Max [%] | 95 | | | |
| | R [%] | 9 | | | |

Para determinar si existe una diferencia estadística significativa, entre los valores de porosidad obtenidos, se realiza las pruebas de análisis de varianza a una vía (ANOVA One-way) y la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD). Ambas son desarrolladas a continuación:

4.4.1.2.2 Análisis estadístico de porosidad

Con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas en los valores de P_m entre las diferentes mezclas, es fundamental la aplicación de un análisis estadístico. Se realiza un análisis de varianza de una vía (ANOVA), para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros. Los datos iniciales utilizados en el análisis ANOVA fueron los mismos que se utilizaron para preparar la Tabla 4.3.

Hipótesis:

H_0 = Todos los grupos de relación AR/TiH₂ son iguales.

H_1 = Al menos uno de los grupos de relación AR/TiH₂ es diferente.

Significancia:

$\alpha = 0,05$.

Resultado de ANOVA:

$p_{value} = 0,000$

Ajuste del modelo = 98,22 %

Para poder aplicar el análisis ANOVA, los datos de la muestra deben ajustarse a la distribución normal, que ocurre como se muestra en la prueba de normalidad de datos presente en este apartado.

Como p_{value} es menor que α , se rechaza H_0 . Esto significa que al menos uno de los grupos analizados es diferente. Para saber cuál o cuáles son diferentes, se aplican intervalos de confianza del 95 %.

La Tabla 4.4 muestra los resultados de la Prueba LSD. Se muestra que la mayoría de las mezclas son diferentes excepto 18R y 21R, donde sus medias son similares.

Tabla 4.4 - Prueba de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD).

| MEZCLA | MEDIA | GRUPO |
|--------|-------|-------|
| 21R | 90,80 | A |
| 18R | 91,01 | A |
| 15R | 78,39 | B |
| 12R | 43,97 | C |
| 9R | 29,76 | D |
| 6R | 17,24 | E |
| 3R | 10,58 | F |

Como se observa, los resultados de las pruebas ANOVA y LSD están en concordancia con los resultados de la Figura 4.24.

4.4.1.2.3 Prueba de normalidad de datos

Se aplicó la prueba de normalidad de Anderson-Darling para corroborar si los datos iniciales están correctamente modelados por una distribución normal.

Hipótesis:

H_0 = distribución normal de ajuste de datos.

H_1 = Los datos no se ajustan a la distribución normal.

Significancia:

$\alpha = 0,05$.

Resultado de la prueba de Anderson-Darling:

$p_{\text{valor}} = 0,373$

Como p_{valor} es mayor que α , se acepta H_0 . Los resultados gráficos se muestran en la Figura 4.25.

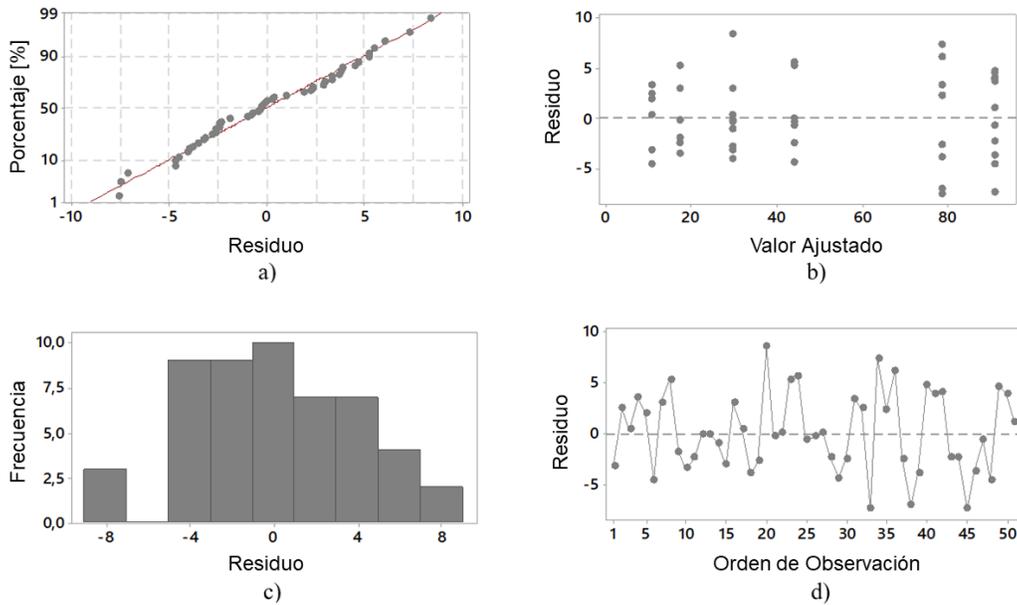


Figura 4.25 - Resultados de la prueba de Anderson-Darling. a) Gráfico de probabilidad residual. b) Residuos vs valores ajustados. c) Gráfico de frecuencia. d) Residuo vs orden de observación.

4.4.1.2.4 Tamaño, cantidad y distribución de poros

Esta sección, incluye los resultados de la caracterización de poros para las mezclas 3R, 6R, 9R y 12R. Es importante advertir que no se incluyen en el análisis a las mezclas con valores de porosidad superiores al 50 %. Las mezclas restantes 15R, 18R y 21R poseen poros con formas y tamaños que no consiguen ajustarse con elipses para su procesamiento y medición (Tabla 4.3).

La Tabla 4.5 muestra un análisis descriptivo del tamaño de los poros medidos para cada mezcla. Los tamaños de poro comienzan en valores desde 3 μm hasta 195 μm , y el tamaño máximo de poro aumenta a medida que aumenta la FAR.

Tabla 4.5 - Tamaños de poros expresados como diámetros equivalentes [μm].

| VARIABLE | MEZCLA | N | VALOR MEDIO | CV | MIN | MAX | RANGO |
|----------------------------|--------|-------|-------------|-----|-----|-----|-------|
| d_{eq} [μm] | 3R | 1042 | 16,4 | 96 | 5 | 114 | 109 |
| | 6R | 1316 | 18,8 | 94 | 5 | 125 | 120 |
| | 9R | 11253 | 9,2 | 117 | 3 | 166 | 163 |
| | 12R | 11967 | 9,6 | 142 | 3 | 195 | 192 |

Para realizar un análisis más detallado, los poros obtenidos tras el proceso de sinterización se pueden clasificar según su tamaño en: microporos ($d_{eq} < 10 \mu\text{m}$), mesoporos ($10 \mu\text{m} < d_{eq} < 100 \mu\text{m}$) y macroporos ($d_{eq} > 100 \mu\text{m}$) [23]. Esta clasificación, facilita la segmentación y análisis de los poros en función de su tamaño. Los microporos se atribuyen al proceso de sinterización y es posible que no alteren las propiedades de la matriz. La mayoría de los mesoporos y macroporos aparecen por volatilización de la resina acrílica y se generan de manera intencional para aplicaciones biomédicas. El análisis expuesto en la Tabla 4.5 revela que las estructuras porosas incluyen microporos, mesoporos y macroporos.

Con el objetivo de caracterizar el tamaño y la distribución de los poros, se calculan los siguientes parámetros:

$$C_p [1/\text{mm}^2] = \sum \frac{N^{\circ} \text{ de poros}}{1 \text{ mm}^2} \quad (4.1)$$

C_p es el conteo de poros por mm^2 que se encuentra en cada rango de la clasificación anterior, y se calcula como se muestra en la ecuación (4.1).

$$P_p [\%] = \left(\frac{R_{\text{poros}}}{T_{\text{poros}}} \right) \times 100 \quad (4.2)$$

P_p es el porcentaje correspondiente de poros contados por cada rango, calculado como se muestra en la ecuación (4.2). R_{poros} es el conteo de poros por rango, y T_{poros} es el conteo total de poros en todos los rangos presentes.

$$A_{\text{per}} [\%] = \sum \left(\frac{A_{p_{\text{rango}}}}{A_t} \right) \times 100 \quad (4.3)$$

A_{per} es el valor medio del cociente entre la suma de las áreas de los poros individuales contenidos en el rango respectivo ($A_{p_{\text{rango}}}$), y el área total de la imagen analizada (A_t), expresado en porcentaje.

$$A_{ip} [\mu\text{m}^2] = \sum \left(\frac{A_{pi}}{n} \right) \times 100 \quad (4.4)$$

A_{ip} es el valor medio del área de poros que se encuentra en un rango determinado. A_{pi} es el área de un poro individual.

Un análisis estadístico de los parámetros propuestos se expone en la Figura 4.26. Se calculan C_p , P_p , A_{per} y A_{ip} ; y se clasifican en macroporo, mesoporo y microporo.

De acuerdo con los resultados presentados en Figura 4.26a, para las mezclas 3R y 6R, el número de poros se distribuyen prácticamente en la misma proporción entre

microporos y mesoporos; pero se evidencia un crecimiento en la cantidad de microporos para las mezclas 9R y 12R. Las mezclas 3R y 6R contienen una densidad o relación de microporos del orden de 130 poros/mm² y 150 poros/mm², respectivamente, mientras que las mezclas 9R y 12R presentan 1400 poros/mm² y 1500 poros/mm², respectivamente. El número de microporos representa más del 45 % del total de poros en las mezclas 3R y 6R y más del 75 % para 9R y 12R (Figura 4.26b), pero el área total cubierta por ellos representa menos del 1 % para 3R y 6R y menos del 4 % para 9R y 12R del área total analizada (Figura 4.26c). Los valores medios del tamaño del área de los microporos son 43 μm² para 3R y 6R y 23 μm² para 9R y 12R (Figura 4.26d).

Los mesoporos abarcan prácticamente el número restante de poros, se encuentran 130 poros/mm² para 3R, 175 poros/mm² para mezclas 6R y 460 poros/mm² para mezclas 9R y 12R (Figura 4.26a). Las mezclas 3R y 6R engloban del 50 % al 55 % del total de poros de la mezcla, mientras que las mezclas 9R y 12R solo alcanzan el 25 %, como se muestra en la Figura 4.26b. Los valores del porcentaje de área cubierta por mesoporos son los más altos para todas las mezclas. Representan aproximadamente el 9 % para 3R; 16 % para 6R; 24 % para 9R y 28 % para 12R del área total analizada. La Figura 4.26d muestra que los valores medios del tamaño del área de los mesoporos son 724 μm² para 3R, 925 μm² para 6R y 550 μm² para 9R y 12R.

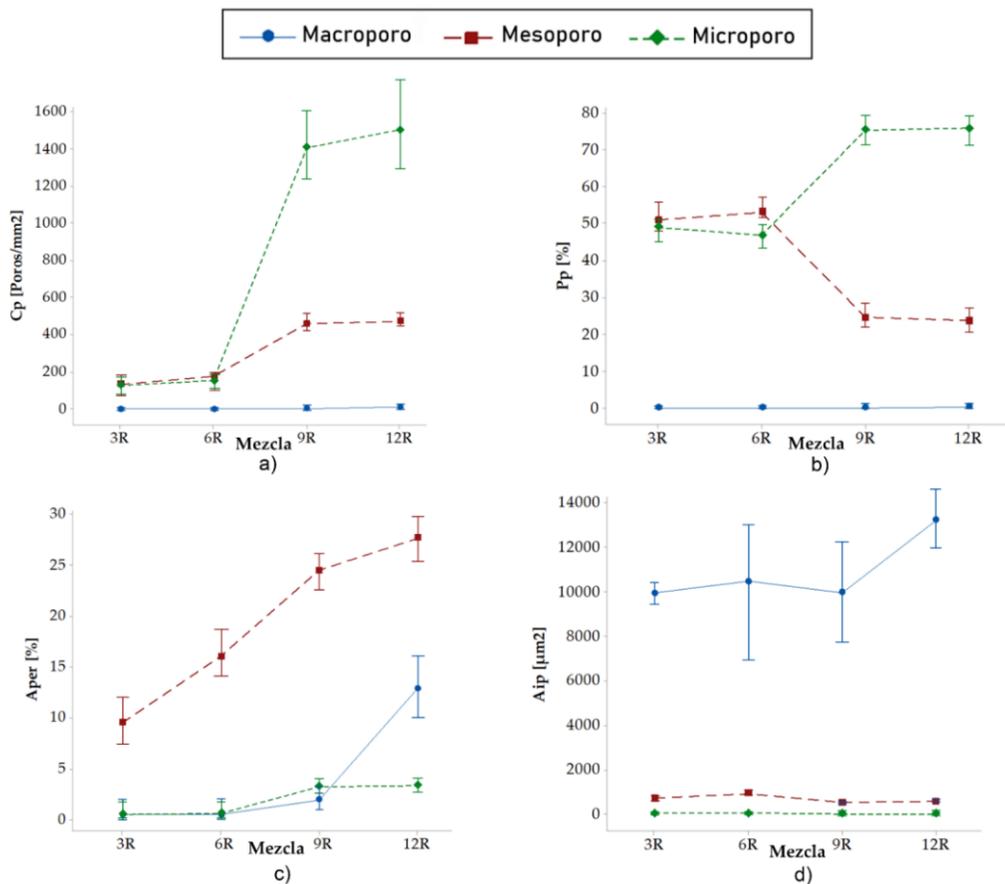


Figura 4.26 - Análisis estadístico de: a) El conteo de poros por mm² encontrado en un rango; b) Porcentaje de poros contados por rango; c) Valor medio del cociente entre la suma de las áreas de poros individuales contenidos en un rango y el área total de la imagen y d) Valor medio del área de poros encontrado en un rango determinado.

Finalmente, los macroporos tienen menor cantidad de poros en todas las mezclas. Presentan menos de 10 poros/mm² (Figura 4.26a), no alcanzan el 1 % del total de poros de cada mezcla (Figura 4.26b), pero el área cubierta por macroporos abarca aproximadamente del 1 % al 13 % del área total analizada, como se muestra en la Figura 4.26c. Los valores medios del tamaño del área de los macroporos están por encima de 9900 μm², como se muestra en la Figura 4.26d. Para 3R es 9920 μm², para 6R es 10500 μm², para 9R es 9950 μm² y 13210 μm² para 12R.

Para todas las mezclas, el número de poros se reduce a medida que aumenta el tamaño de los poros.

Actualmente, no hay un tamaño de poro óptimo definido para un correcto crecimiento óseo, pero se tiene un consenso de que es necesario un tamaño de poro de entre 100 y 400 μm para optimizar el crecimiento del mismo [106]. Aunque Bobyn *et al.* [63] e Itä Lää *et al.* [64] demostraron tener un crecimiento óseo adecuado en poros con tamaños menores a 50 μm. Este tamaño de poro, clasificado como mesoporo, se lo obtiene para todas las mezclas realizadas, como puede observarse en la Tabla 4.5. Además, las mezclas 9R y 12R presentan la mayor densidad de estos, con valores de 460 poros/mm², como puede observarse en la Figura 4.26a.

A pesar de lo demostrado por Bobyn e Itä Lää, se sabe que un crecimiento óseo adecuado depende de dos mecanismos diferentes: la adhesión y la migración celular [78]. Estos mecanismos suceden de manera simultánea, y cada uno se desarrolla mejor según sus propias condiciones.

Para la adhesión celular, se recomienda un tamaño de poro de 100 μm a 150 μm [78]. Los poros que tienen esta condición se encuentran en las mezclas estudiadas, como se muestra en la Tabla 4.5. También, se observa en la Figura 4.26c que los valores de A_{per} aumentan para mesoporos y macroporos, cuando aumenta la FAR. Por lo tanto, se espera que se promueva el crecimiento óseo para valores altos de la FAR (mezclas 9R y 12R).

Por otro lado, para promover la migración celular se recomiendan tamaños de poro desde 300 μm hasta 800 μm [78]. No se encuentran valores en este rango para las mezclas estudiadas. Trabajos futuros abordarán: a) el análisis del crecimiento óseo para mezclas de 15R, 18R y 21R que tienen poros más grandes con formas irregulares y b) el incremento del tamaño de los poros modificando el tamaño de las partículas de la AR en la técnica de Gel-Casting empleada.

4.4.1.2.5 Forma de los poros

La Figura 4.27 muestra el valor medio de los factores de forma (FF) de los macroporos, mesoporos y microporos para las mezclas 3R, 6R, 9R y 12R. Se observa que la mayoría de los valores del FF están contenidos en un pequeño segmento comprendido entre 0,6 a 0,7. Aunque el FF disminuye para mesoporos y microporos cuando la FAR aumenta (la forma se vuelve ligeramente menos esférica), los macroporos mantienen su forma con valores del FF entre 0,63 y 0,68 cuando la FAR aumenta.

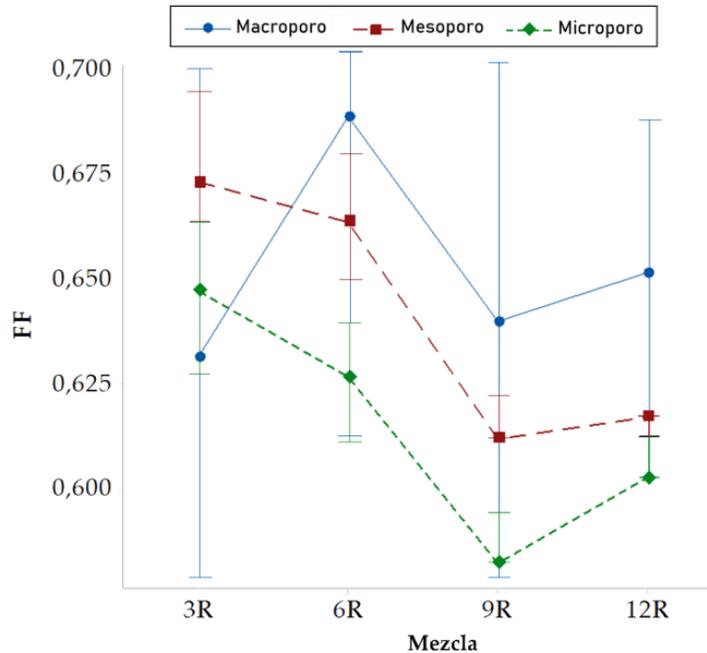


Figura 4.27 - Factor de forma para las mezclas 3R, 6R, 9R y 12R.

4.4.1.2.6 Tamaño de grano

Con el objetivo de revelar el grano de la estructura obtenida posterior al proceso de sinterización (TC2) a 1300 °C, ésta se ataca con reactivo Kroll durante un lapso de entre 5 a 7 minutos a temperatura ambiente. La Figura 4.28 muestra una micrografía del resultado obtenido luego del ataque a una magnificación de 100x, en donde se diferencia una estructura compuesta por poros, microporos y bordes de los granos de la matriz de titanio. Se observa una distribución regular en cuanto a tamaño de grano, en donde se tomaron mediciones para dimensionar los mismos, los cuales rondan en un tamaño aproximado de 50 µm.

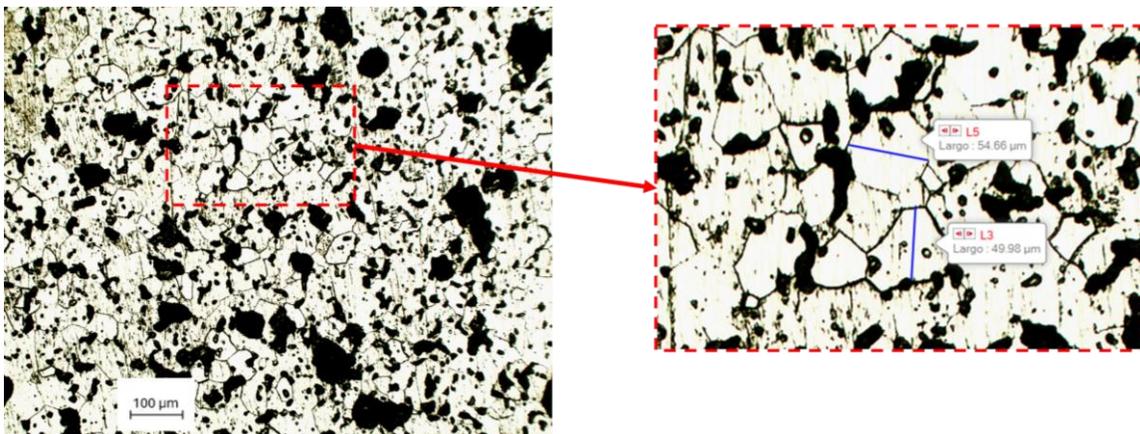


Figura 4.28 - Micrografía del tamaño de grano de las estructuras obtenidas post sinterización a 1300 °C.

También se observa que gran cantidad de los poros se ubican en el borde de grano de la estructura, así como informan otros autores [91].

4.4.1.3 Caracterización micrográfica por microscopía electrónica de barrido (SEM)

4.4.1.3.1 Interconectividad de los poros

La fijación de las prótesis e implantes ocurre cuando el hueso crece sobre la superficie de estos. El agregado de poros en la superficie permite obtener un aumento en la superficie efectiva de contacto con el nuevo hueso y una topografía irregular, que mejora la fijación con este. Si los poros introducidos de manera intencional en la estructura logran una conexión entre ellos, es posible que el nuevo hueso crezca en el interior de las estructuras logrando una fijación aún más efectiva [78].

Para determinar esto, se toman imágenes por microscopía electrónica de barrido como se observa en la Figura 4.29. La Figura 4.29a muestra una zona, demarcada por un rectángulo rojo, en donde se observa interconectividad de los poros ubicados en la superficie hasta una profundidad de aproximadamente 80 μm . Esta interconectividad permite una migración celular hacia el interior de la estructura, posibilitando un proceso de adhesión celular y consecuente crecimiento óseo. En la misma figura, se observa que parte de los poros internos se encuentran de manera aislada, sin interconexión con los demás; otros, por su parte, presentan nuevos poros en su interior que advierten la presencia de conductos que permitirían una interconexión de los mismos (flecha roja de la Figura 4.28a).

La Figura 4.29b muestra un corte de un poro interno de la estructura estudiada a una magnificación de 1000x. Sobre el fondo del poro, pueden advertir aberturas o ductos, identificadas con flechas rojas. Estas aberturas pueden comunicar internamente la estructura con otros poros, produciendo interconectividad.

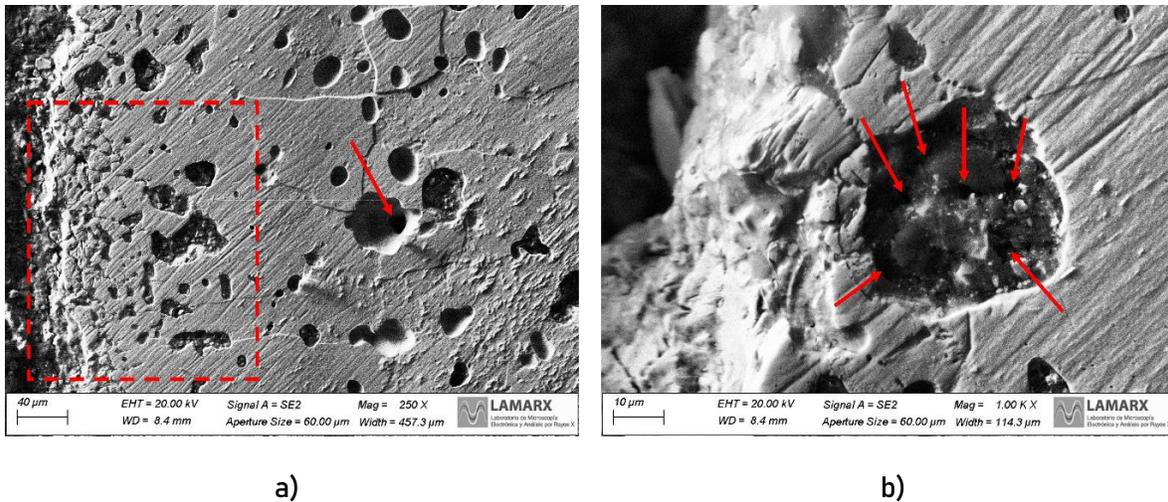


Figura 4.29 – Identificación de porosidad interconectada en micrografías SEM de una muestra 9R sinterizada. a) Zona de interconectividad superficial. b) Zona de interconectividad interna a mayor magnificación.

Por último, se realiza un estudio en superficies de muestras fracturadas, como muestra en la Figura 4.30. Aquí, se evidencia la formación de conductos entre poros de la estructura, señalados con flechas en la imagen.

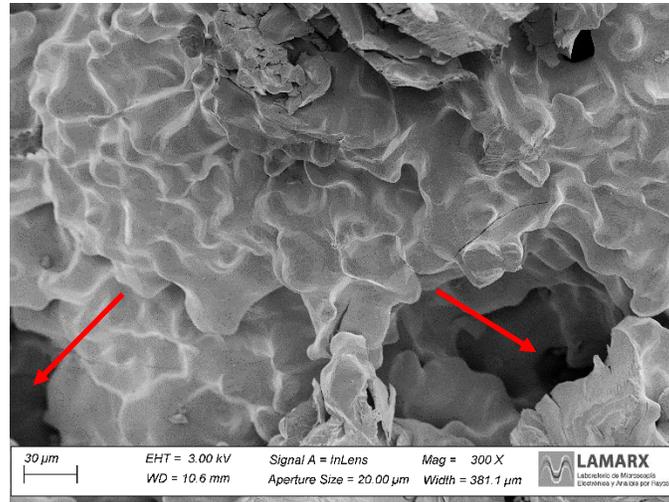


Figura 4.30 - Micrografía SEM de una zona de fractura de una muestra 6R sinterizada. Detección de interconectividad de poros.

4.4.1.3.2 Composición química

A fin de corroborar estabilidad en la composición química de la matriz de titanio, se realizan ensayos de composición química por SEM-EDS. La Figura 4.31 muestra las zonas de los distintos espectros tomados para esta muestra.

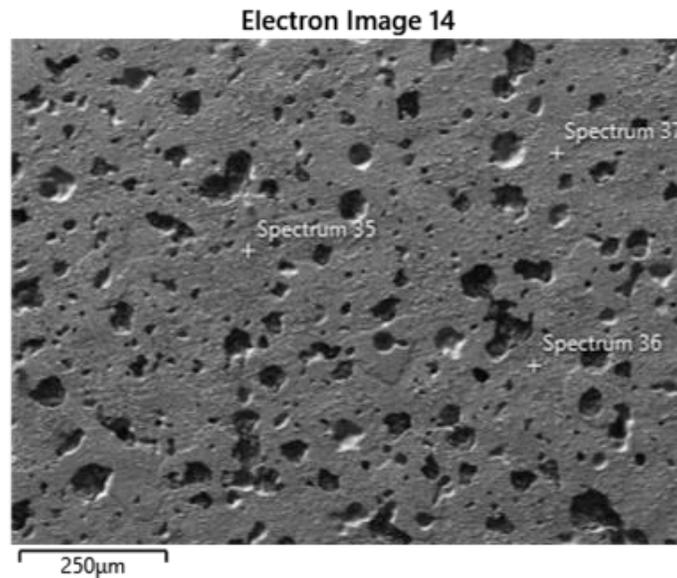


Figura 4.31 - Micrografía SEM de una muestra 9R sinterizada. Zonas de análisis de los espectros de composición química en la estructura.

En la Figura 4.32 se observa un espectro de composición química. Los resultados de la composición química para todos los espectros son próximos al 100 % de Ti. Si bien existen picos adicionales en el espectro de rayos X, la concentración de dichos elementos se encuentra por debajo de los límites de detección del instrumento de medición empleado. Considerando dicho aspecto, no hay formación de compuestos como óxidos, residuos de AR, elementos exógenos o contaminantes.

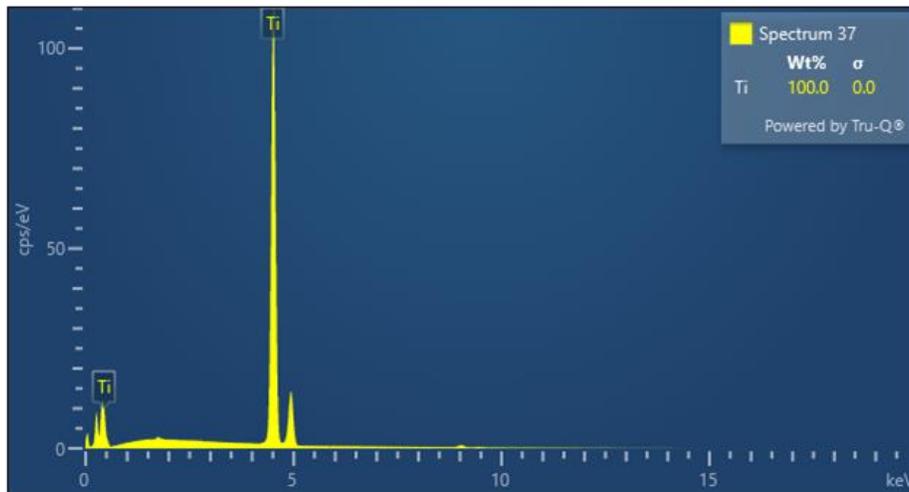


Figura 4.32 – Espectro de composición química de una muestra 9R sinterizada.

4.4.1.4 Caracterización 3D por microtomografía computarizada

Se obtienen modelos tridimensionales de las estructuras porosas ensayadas mediante microtomografía computarizada. En la Figura 4.33a podemos observar un ejemplo de una imagen renderizada de una muestra 9R, previo al proceso de segmentación. En la Figura 4.33b se aprecia la segmentación o modelo tridimensional de la misma muestra, la cual será posteriormente analizada.

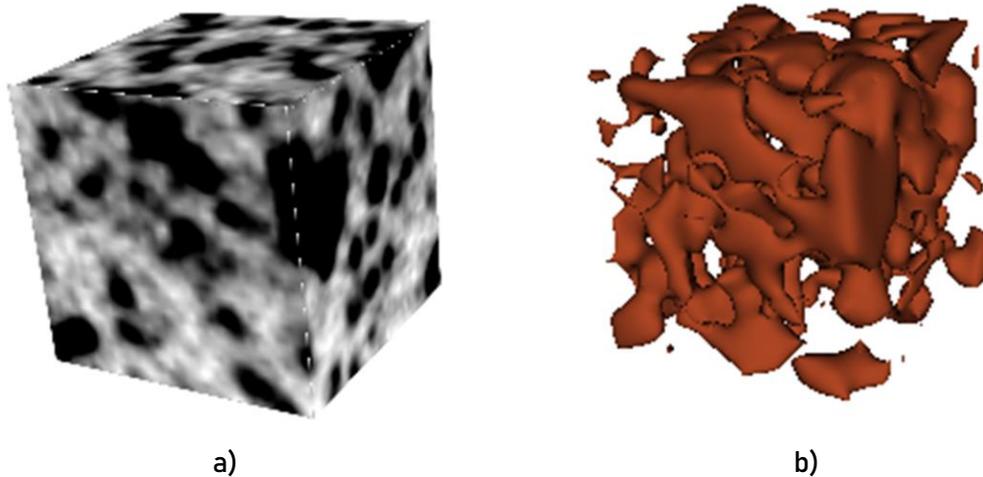


Figura 4.33 - Microtomografía computarizada de una muestra 9R. a) Imagen renderizada de un ROI de la muestra. b) Modelo tridimensional de la segmentación de los poros de la estructura mostrada en a).

Como el objetivo es medir la porosidad volumétrica que poseen las estructuras, se segmenta el volumen que ocupan los poros en la ROI definida. Obtenidas todas las segmentaciones de las estructuras estudiadas y conociendo el volumen de la ROI definida, se procede a calcular su porosidad. La Tabla 4.6 muestra el análisis estadístico descriptivo de los resultados obtenidos del ensayo por microCT.

Tabla 4.6 - Porosidad volumétrica expresada como porcentaje.

| VARIABLE | MEZCLA | N | VALOR MEDIO | CV | MIN | MAX | RANGO |
|---------------|--------|---|-------------|-----|-----|------|-------|
| Porosidad [%] | 3R | 5 | 12 | 20 | 9,6 | 16 | 6,4 |
| | 6R | 5 | 22 | 16 | 16 | 24,8 | 8,8 |
| | 9R | 5 | 33 | 2,8 | 32 | 34,4 | 2,4 |
| | 12R | 5 | 44 | 6,7 | 40 | 48 | 8 |

En la Tabla 4.6 se observa que se obtienen valores de porosidad que van desde 12 % a 44 % a medida que aumenta la cantidad de AR en la estructura. Estos resultados conciden con lo informado en la Tabla 4.3. Con estos resultados, se pone de manifiesto que no se encuentran diferencias significativas en las mediciones de porosidad realizadas en dos dimensiones, por la técnica de microscopía óptica, con las realizadas en tres dimensiones por microCT. La Figura 4.34 muestra lo mencionado anteriormente, en donde se observa la comparativa entre las mediciones realizadas de manera bidimensional (Sup) con microscopía óptica (OM) y las mediciones realizadas volumétricamente (Vol) por microtomografía computarizada (microCT).

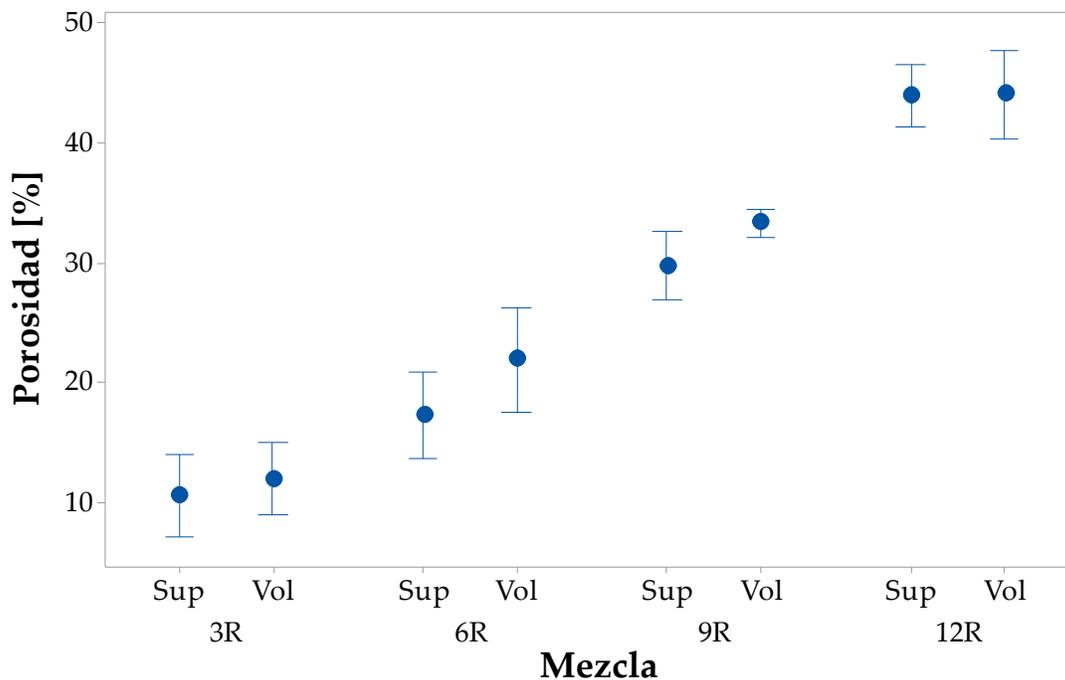


Figura 4.34 - Medidas de porosidad para las distintas muestras, ensayadas superficialmente (OM) y ensayadas volumétricamente (microCT).

En el procesamiento de las microCT se detecta una limitación en la segmentación de las microtomografías, debido a la falta de nitidez de las imágenes, causadas por la falta de resolución para la magnitud de la medición que se quiere realizar. Los poros por medir son relativamente pequeños, por lo que los voxels no llegan a delimitar de manera precisa el contorno del mismo, como informa el autor Lima *et al.* [110]. La Figura 4.35 muestra lo mencionado.

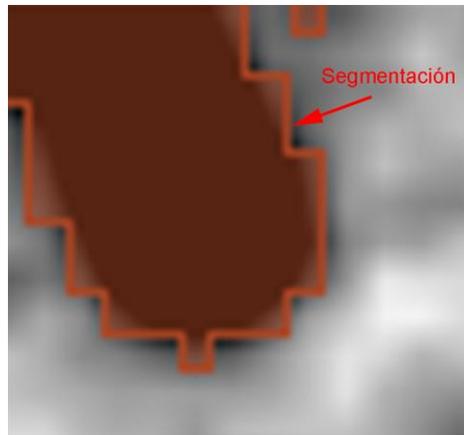


Figura 4.35 - Segmentación de un poro pequeño por microCT.

A pesar de ello, es posible realizar mediciones confiables, debido a que el error que genera esta limitación es pequeño.

4.4.2 Estructuras Ti-HAPoros

4.4.2.1 Caracterización metalográfica por microscopía óptica

Mediante el método GCS propuesto y aplicando el ciclo térmico 3 (TC3), se obtienen muestras con estructuras porosas como muestra la Figura 4.36. En la misma se aprecia en negro a los poros, en blanco a la estructura de titanio metálico y en gris a las partículas de HAP.

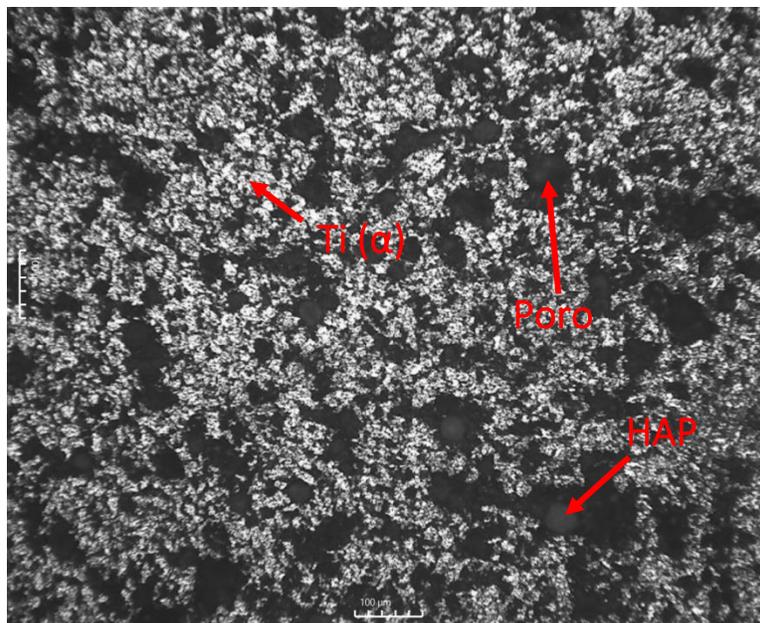


Figura 4.36 - Micrografía de una muestra Ti-poro-HAP.

Los resultados de la caracterización de la estructura porosa se muestran en la Tabla 4.7 y se esquematizan en los histogramas en la Figura 4.37. Se evidencia que la estructura tiene una porosidad promedio del 37 % con un rango de tamaño de poro variable de 4 a 114 μm y diferentes formas de estos (0,14 a 0,97).

Tabla 4.7 - Caracterización de la estructura porosa obtenidas en muestras de Ti - poro - HAP con cantidades de 12 % en peso de AR.

| PROPIEDADES | N | VALOR MEDIO | CV | MIN | MAX | RANGO |
|----------------------|-----|-------------|-----|------|------|-------|
| Pm [%] | 692 | 37 | 72 | 33 | 39 | 6 |
| d _{eq} [μm] | 692 | 12,3 | 103 | 4 | 114 | 110 |
| FF | 692 | 0,55 | 31 | 0,14 | 0,97 | 0,83 |

En la Figura 4.37a podemos observar que la mayoría de los poros se concentran en un rango de tamaño de entre 10 a 30 μm; y los restantes en tamaños que van desde los 45 a 75 μm. La formación de poros de tamaños menores a los 10 μm, son atribuidos al proceso de sinterización y son una consecuencia de los procesos difusionales que ocurren en dicha etapa [111]. La formación del resto de poros es atribuida a la volatilización de la AR, y son los poros que se buscan generar de forma intencional. En la Figura 4.37b se puede observar que la forma que adoptan los poros es variada y no respetan una tendencia definida.

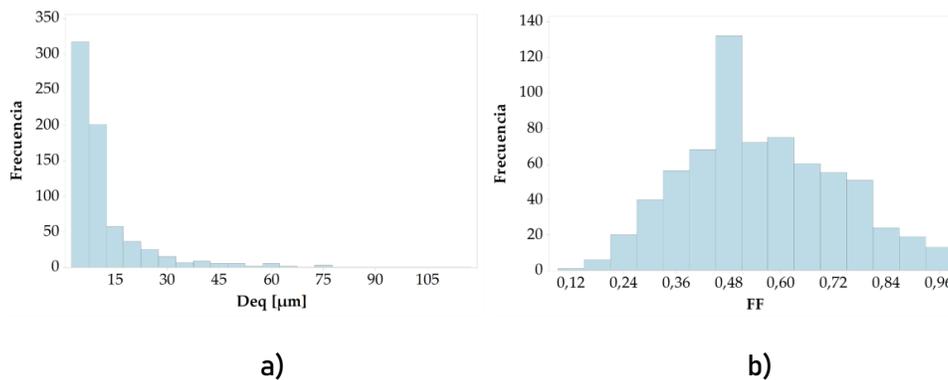


Figura 4.37 - Histogramas de distribución de: a) Tamaño de poro. b) Factor de forma de los poros.

4.4.2.2 Caracterización metalográfica por microscopía electrónica de barrido (SEM)

4.4.2.2.1 Tamaño y forma de las partículas de HAP post sinterizado

El estudio de las muestras sinterizadas de Ti-HAPoros, se realiza mediante la toma de imágenes con microsonda de electrones (EPMA), en donde es posible diferenciar las distintas fases por cambio en la tonalidad de grises, según la composición química, como se puede observar en la Figura 4.38. De esta manera, es posible segmentar a las partículas de HAP y caracterizar su tamaño y forma como se explica en la sección 3.4.5.

El análisis estadístico descriptivo de los resultados de la caracterización de las partículas de HAP se muestran en la Tabla 4.8.

Tabla 4.8 - Caracterización de las partículas de HAP en muestras sinterizadas de Ti - poro - HAP con cantidades de 12 % en peso de AR.

| PROPIEDADES | N | VALOR MEDIO | CV | MIN | MAX | RANGO |
|----------------------|-----|-------------|----|------|------|-------|
| d _{eq} [μm] | 687 | 17,2 | 55 | 5,1 | 70,3 | 65,2 |
| FF | 687 | 0,66 | 27 | 0,10 | 1 | 0,90 |

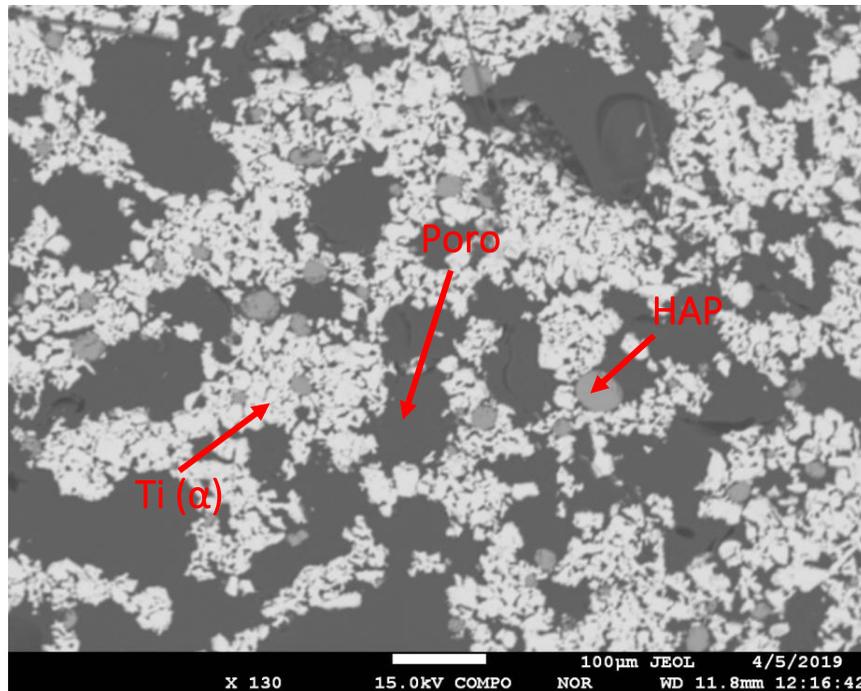


Figura 4.38 - Micrografía por microsonda de electrones (EPMA) de una muestra Ti-poro-HAP.

El tamaño de partícula promedio de la HAP, luego del proceso de sinterizado, es de 17,2 μm . Este valor se corresponde con el tamaño inicial de la misma ($< 30 \mu\text{m}$), según especificación del fabricante. En la Figura 4.39a podemos notar que la concentración de los tamaños de partículas se encuentra en el rango $5 \mu\text{m} < d_{eq} < 20 \mu\text{m}$; por lo que se intuye que las partículas no han tenido variación por descomposición u otro fenómeno, en cuanto a su tamaño.

Por otro lado, el FF promedio de las partículas de HAP es de 0,66; teniendo la mayor cantidad de partículas dentro del rango $0,60 < FF < 0,90$ (Figura 4.39b). Esto nos da la pauta, de que las partículas mantienen su esfericidad luego del proceso de sinterizado. Por lo tanto, las partículas de HAP no varían, tanto en forma, como en tamaño luego del proceso de sinterizado con las condiciones propuestas en TC3.

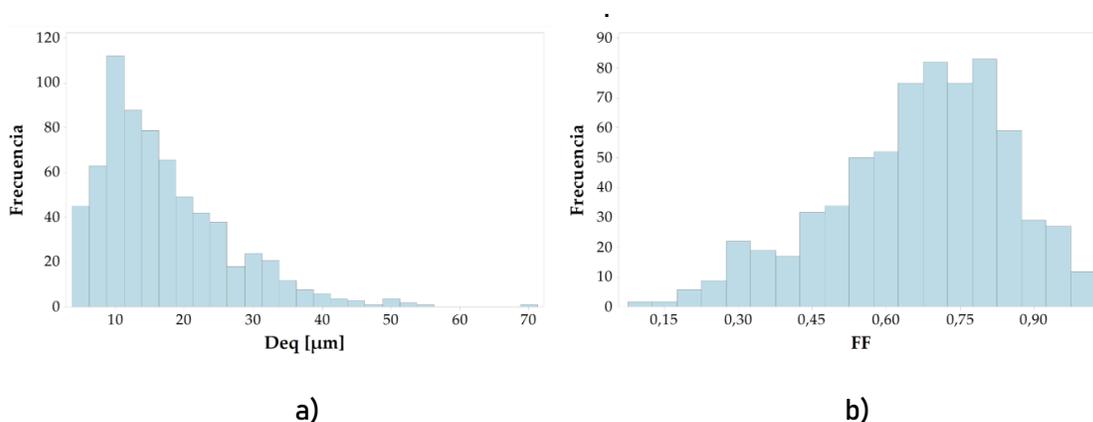


Figura 4.39 - Histogramas de distribución de: a) Tamaño de partícula de HAP. b) Factor de forma de las partículas de HAP.

4.4.2.2.2 Composición química

El análisis y presentación de los resultados correspondientes a la composición química de las estructuras Ti-HAPoros se realiza en la sección 4.3.2.1.

4.5 Caracterización mecánica

En esta sección se detallan los resultados de la caracterización realizada a las estructuras con porosidad uniforme Ti-Poros. No se exponen resultados correspondientes a las estructuras Ti-GPoros y Ti-HAPoros, los cuales corresponderán a trabajos futuros.

4.5.1 Ensayo de compresión mecánica

Se determina la rigidez de las estructuras obtenidas mediante la medición de los valores del módulo de Young, a partir del ensayo de compresión mecánica. El análisis estadístico de los resultados obtenidos de este ensayo se detalla en la Tabla 4.9. Se observa una significativa reducción del módulo de elasticidad teórico del titanio libre de porosidad ($E_{Ti} = 110$ GPa).

Tabla 4.9 - Caracterización de la rigidez, expresado en GPa, de las estructuras porosas obtenidas.

| MUESTRA | N | VALOR | | | | |
|---------|----|-------------|------|------|------|-------|
| | | MEDIO [GPa] | CV | MIN | MAX | RANGO |
| 3R | 20 | 7,36 | 22,5 | 5,45 | 9,84 | 4,39 |
| 6R | 20 | 6,41 | 12 | 5,33 | 7,82 | 2,5 |
| 9R | 20 | 5,67 | 12,1 | 4,23 | 6,7 | 2,47 |
| 12R | 12 | 5,65 | 22,7 | 4,21 | 7,77 | 3,57 |

La Figura 4.40 muestra los valores del módulo de elasticidad versus la porosidad media para cada tipo de muestra. Se aprecia una disminución de la rigidez desde 7,36 GPa para 3R a 5,65 GPa para 12R a medida que aumenta la porosidad de la estructura. La misma decae un 30 % al aumentar la porosidad de la estructura de un 11 % a un 44 %. También se puede observar que no se encuentra una diferencia significativa entre el módulo de elasticidad obtenidos para 9R y 12R, siendo estos prácticamente iguales.

Distintos autores como Wang *et al.* [112], Muñoz *et al.* [113], Fujii *et al.* [114] o El-Hajje *et al.* [115]; han fabricado estructuras de Ti poroso a través de técnicas basadas en espaciadores y sinterización o bien, mediante técnicas de impresión 3D y han informado una reducción en la rigidez de las estructuras porosas con respecto a las macizas.

Wang *et al.* informa que obtuvo valores del módulo de elasticidad que varían de 2,7 GPa a 18 GPa con porosidades de 36 % a 63 % [112]. Muñoz *et al.* obtuvo valores del módulo de elasticidad que van de 2,6 GPa a 9 GPa con porosidades entre 28 % y 66 % [113]. Fujii *et al.* también advierte una disminución del módulo de elasticidad a valores de 4 GPa a 9,6 GPa para porosidades que van desde el 52 % al 67% [114]. Finalmente, El-Hajje *et al.* informa que los módulos para muestras porosas obtenidas por métodos aditivos van desde 0,9 GPa hasta 2,5 GPa para un rango de porosidades de 32,2 % a 52,7 %.

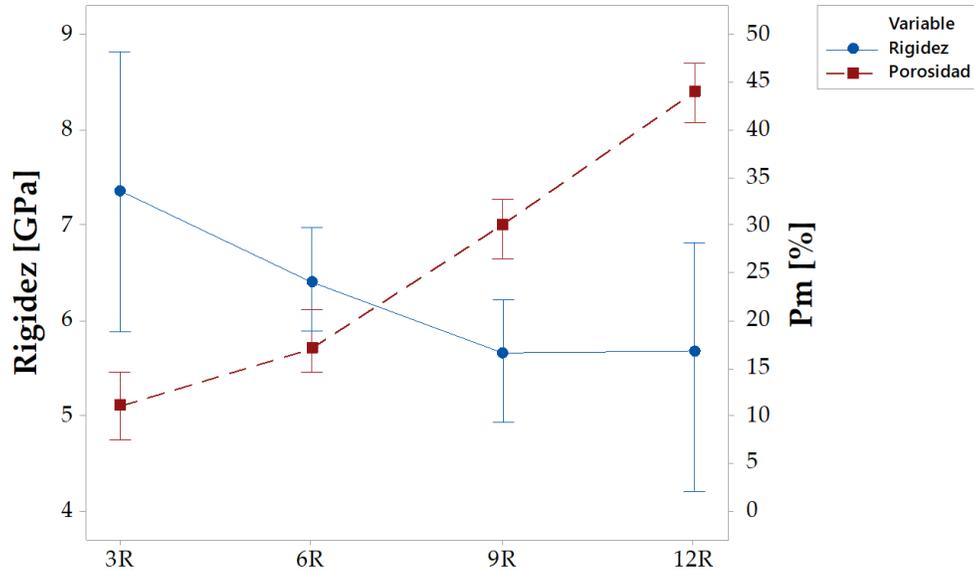


Figura 4.40 - Rigidez de las estructuras porosas obtenidas vs. porosidad.

Los valores de los módulos de elasticidad obtenidos en este trabajo se asemejan a los informados en la bibliografía, como puede observarse en la Tabla 4.9 y en la Figura 4.40. Independientemente del método de fabricación utilizado, se encuentra que los módulos de elasticidad para las porosidades informadas se corresponden entre los distintos autores. Wang *et al.* advierte que la resistencia a la compresión y el módulo elástico se ven afectados por la porosidad, siendo lineal esta relación; pero que el tamaño de poro tiene poco efecto en las propiedades mecánicas [112]. Muñoz *et al.*, Fujii *et al.* y El-Hajje *et al.* atribuyen que la reducción del módulo de elasticidad es consecuencia directa del aumento de poros en la estructura, sin encontrar una correlación determinante con respecto al tamaño o forma de los poros [114], [116], [117].

Lo mencionado en el párrafo anterior, nos permite inferir que, conociendo la porosidad de nuestra muestra, es posible predecir el módulo de elasticidad de la misma. Esto nos resulta de utilidad, debido a que la Tabla 4.3 nos informa los valores de porosidad correspondientes a todas las muestras estudiadas. Es decir, que conociendo la proporción en peso que se incorporará en la muestra entre la AR y el TiH₂, podremos conocer cuál será la rigidez que tendrá dicha estructura una vez sinterizada. Todo esto, se encuentra resumido en la Figura 4.40.

Por otro lado, se encuentra que las estructuras de titanio poroso desarrolladas, poseen un módulo de elasticidad cercanas a los del hueso humano trabecular, el cual ronda entre 1 y 10,5 GPa [118], lo que lo convierte a este desarrollo, como un método prometedor para obtener un material apto para aplicaciones biomédicas. Es decir, sería posible la aplicación de estas estructuras para disminuir el fenómeno del stress-shielding para estos tipos de huesos.

Es importante mencionar que, el uso de estructuras con gradiente de porosidad, es efectivo para obtener propiedades mecánicas deseables, como un módulo elástico bajo y una resistencia adecuada. Fujii *et al.* informa que estructuras con porosidad gradual, con una porosidad promedio del 50 %, exhiben una resistencia a la flexión mucho mayor y una rigidez ligeramente mayor en comparación a estructuras con porosidad uniforme y una

porosidad del 50 % [114]. Es por lo que una correcta combinación de las diferentes estructuras porosas en una única estructura nos permite adecuarnos al reemplazo de una estructura ósea específica, como se comenta en la sección 4.2.

4.5.2 Ensayo de dureza Vickers

Se realizan mediciones de la dureza de las estructuras obtenidas, en 5 zonas distintas por cada muestra estudiada. El análisis estadístico descriptivo de los resultados de las mediciones, se resumen en la Tabla 4.10.

Tabla 4.10 - Caracterización de la dureza, expresada en Hv, de las estructuras porosas obtenidas.

| MUESTRA | N | VALOR | | | | RANGO |
|---------|---|------------|------|-----|-----|-------|
| | | MEDIO [HV] | CV | MIN | MAX | |
| 3R | 5 | 395 | 3,9 | 374 | 415 | 41 |
| 6R | 5 | 350 | 10,5 | 308 | 401 | 93 |
| 9R | 5 | 352 | 7,2 | 344 | 379 | 35 |
| 12R | 5 | 326 | 7,5 | 322 | 356 | 34 |

Como se observa, para todas las mezclas, los valores de dureza se encuentran cercanos. Otros autores informan resultados similares a los obtenidos, por lo que la dureza no es una propiedad que es afectada directamente por la adición de poros a la estructura; sino que las condiciones de tiempo y temperatura en la sinterización pueden generar un mayor efecto en el mismo [119].

4.6 Caracterización biológica

4.6.1 Ensayo de citotoxicidad

De acuerdo con la Norma ISO 10993-5, las muestras se consideran no citotóxicas si la viabilidad es mayor al 70 % en las células cultivadas en presencia de un 100-extracto [120].

La Figura 4.41 muestra la viabilidad de células Vero cultivadas en presencia de diluciones seriadas de cuatro extractos de Titanio y el control negativo (CN) y positivo (CP). El porcentaje de viabilidad de células Vero incubadas en presencia del control negativo es del $98,50 \pm 1,44$ y los valores observados para los extractos de dichas muestras son $98,7 \pm 0,81$ % (m1), $98,83 \pm 1,84$ % (m2), $100,11 \pm 1,35$ % (m3) y $97,9 \pm 0,76$ (m4). La viabilidad celular para el CP es inferior al 70 % ($9,60 \pm 0,89$ %) como se esperaba.

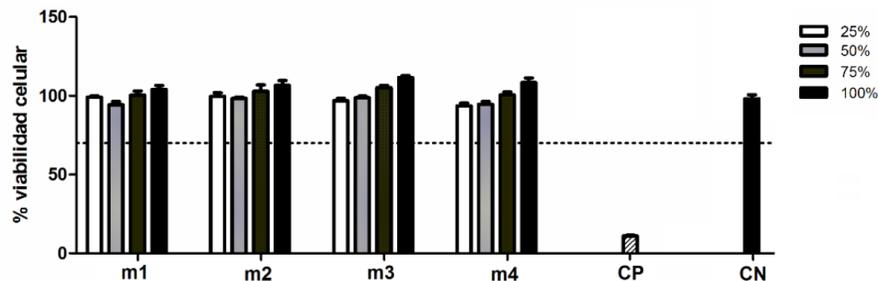


Figura 4.41 - Porcentaje de viabilidad de células incubadas en presencia de diluciones de 25, 50, 75 y 100 % de cuatro extractos de titanio después de 24 hs de cultivo.

4.6.2 Análisis de morfología celular

Se realiza un análisis de la morfología celular para evaluar los efectos de los extractos de las muestras en células Vero y células NIH 3T3. Se utiliza microscopía electrónica de barrido y micrografías ópticas. En el caso de las células Vero, expuestas al extracto de las muestras durante 4 días, se observa que la morfología y la densidad celular son similares a las células cultivadas en DMEM suplementado, que se utiliza como condición de control (Figura 4.42 c y d). Además, la confluencia celular alcanzada después de 4 días de cultivo es similar en las muestras y en el DMEM suplementado. El tamaño celular tampoco se ve afectado por el extracto de los composites.

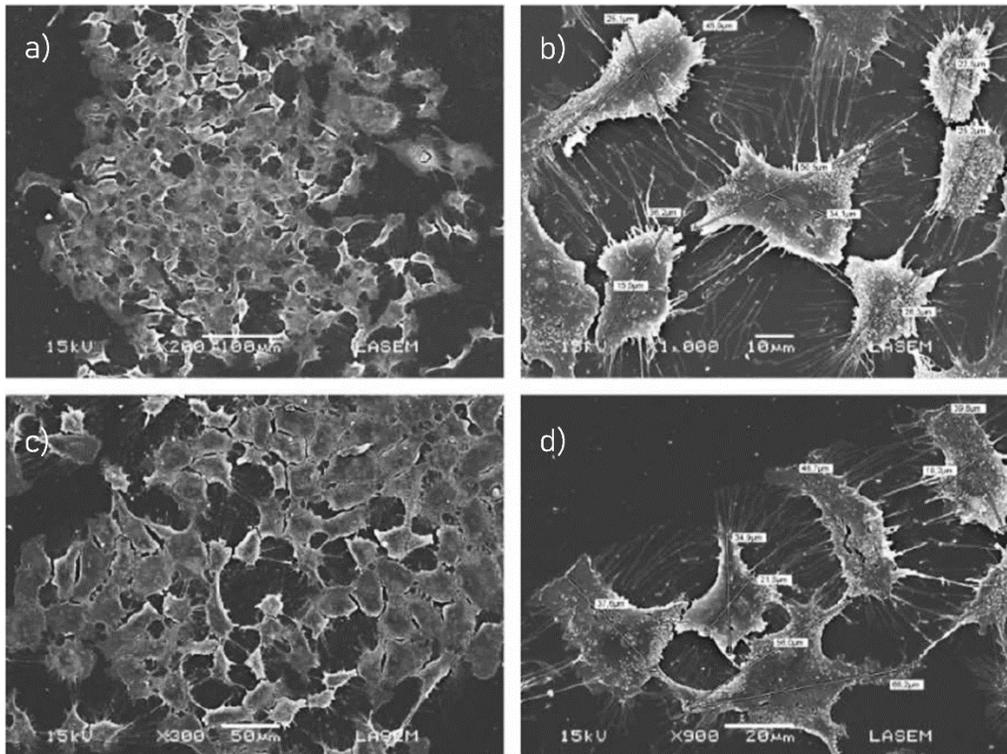


Figura 4.42 - Micrografías electrónicas de barrido de células Vero, expuestas a 100-extracto de los composites durante 4 días. a y b) Muestra de titanio poroso. c y d) DMEM.

Asimismo, se analiza el efecto de las muestras en la densidad y morfología de células NIH 3T3. En la Figura 4.43 se muestran las micrografías ópticas obtenidas después de 2 y 5 días de cultivo en presencia del extracto. Las células NIH 3T3 exhiben una morfología similar al grupo de control (Figura 4.43 a). Además, estas células proliferan ampliamente entre el día 2 y el día 5 de cultivo, alcanzando la confluencia en el día 5 (Figura 4.43 b). Estos hallazgos en la morfología celular concuerdan con los resultados obtenidos en el análisis de citotoxicidad.

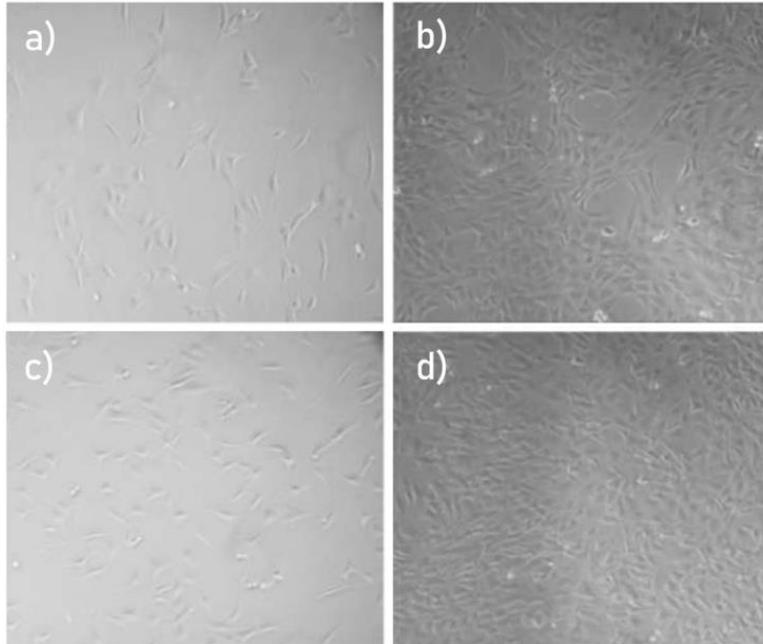


Figura 4.43 - Imágenes de contraste de fase representativas de células NIH 3T3 cultivadas en presencia de: 100-extracto de Ti-P (a y b) y DMEM suplementado (c y d). Las figuras a y c corresponden a más de 2 días de cultivo. Las figuras b y d a después de 5 días de cultivo.

4.6.3 Análisis de la adhesión celular

Se analiza la capacidad de células NIH 3T3 para adherirse a la superficie de las muestras a través de microscopía de fluorescencia (Figura 4.44). La tinción con DAPI muestra que las células NIH 3T3 son capaces de unirse y proliferar sobre la superficie, alcanzando una densidad celular similar al cuarto día de cultivo (Figura 4.44 b). Esto sugiere que las estructuras son inocuas para las células.

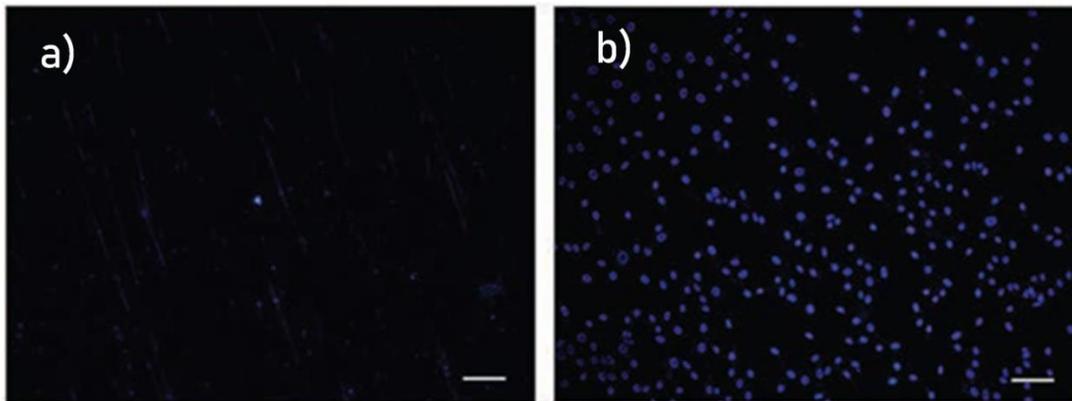


Figura 4.44 - Microscopía de fluorescencia de las células NIH 3T3 cultivadas durante 96 h sobre la superficie de los composites. a) Muestras sin células. b) Muestras con células.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

5 Conclusiones

El estudio y desarrollo para la obtención de nuevos materiales con propiedades determinadas ha sido una constante en la historia de la humanidad; tanto así, como la búsqueda en la mejora y optimización de sus procesos de elaboración. Esta tesis doctoral, representa un avance significativo en la obtención de estructuras porosas de titanio mediante el uso de la técnica de gel-casting y sinterización. Los resultados obtenidos, aportan importantes conocimientos que pueden tener un impacto significativo en la sociedad, especialmente en el campo de la biomédica y la ingeniería de materiales.

5.1 Conclusiones generales

Se logra desarrollar un método de fabricación de estructuras porosas de titanio a través de la técnica de gel-casting y posterior sinterización. Permitiendo controlar a partir del diseño de los poros en la estructura, características como la cantidad, tamaño, forma y distribución, así como las propiedades mecánicas y químicas de interés. Además, se logra la obtención de estructuras con gradiente de porosidad, como aquellas compuestas con hidroxiapatita.

5.2 Conclusiones específicas

5.2.1 *Estructuras de titanio con porosidad uniforme (Ti-Poros)*

Se logran obtener estructuras en verde, con propiedades aptas para su manipulación previo a la sinterización. Las mismas poseen una buena terminación superficial, copiando de manera efectiva la forma del molde correspondiente. Lo que deja en evidencia la viabilidad del método de gel-casting propuesto, para fabricar con precisión piezas con forma finales de implantes biomédicos.

Se determina un proceso de sinterización parametrizado a temperatura de 1300 °C durante un tiempo de permanencia de 240 minutos en una atmósfera de alto vacío de 10^{-6} mbar. De esta manera, el proceso permite fabricar estructuras sinterizadas con una matriz metálica continua, esencial para la funcionalidad y durabilidad de las estructuras porosas.

Luego del proceso de sinterización, las estructuras presentan contracciones de diámetro que van desde el 15 al 20 % y en altura del 13 al 18 %. Lo cual permite predecir las tolerancias necesarias para el diseño del molde de un implante a fabricar.

Se determina una relación no lineal entre la fracción de resina acrílica empleada y las características de la estructura porosa obtenida. Es posible obtener estructuras porosas con valores de porosidad de 11 % a 91 % de fracción de poro, con tamaños de 3 μm a 195 μm . En cuanto a la forma de los poros se concluye que no se encuentra una variación significativa a medida que se modifica la fracción de resina acrílica. Por ende, se encuentra que ciertos valores de cantidad y tamaño de poro, están dentro de los rangos recomendados para aplicaciones biomédicas, como promover el crecimiento óseo, la adhesión y migración celular.

Se logra reducir la rigidez del titanio de manera controlada hasta valores de 5 a 8 GPa. Estos valores resultan de interés, debido a que son similares a los del hueso trabecular humano (1 a 10,5 GPa). Por lo tanto, aporta un gran avance como posible método

para reducir el fenómeno de stress shielding y obtener estructuras con una mayor biocompatibilidad.

Las estructuras de titanio porosas obtenidas, cumplen con los estándares de biocompatibilidad in vitro del material. Destacando la viabilidad celular, la morfología similar a las células en el medio de cultivo suplementado, y la capacidad de adhesión y proliferación celular tanto en la superficie del composite como en los poros. Estos resultados, sugieren que las estructuras porosas desarrolladas en esta investigación tienen un gran potencial para inducir la fijación biológica del implante, permitiendo el crecimiento de tejido en los poros presentes en la superficie.

5.2.2 Estructuras de titanio con gradiente de porosidad (Ti-GPoros)

Es posible la obtención de estructuras con porosidad gradual formadas por 2 o 3 capas de porosidad variables, empleando el método propuesto para estructuras con porosidad uniforme. Además, se obtiene continuidad en la matriz metálica entre las distintas capas que la componen.

5.2.3 Estructuras de titanio-hidroxiapatita porosas (Ti-HAPoros)

El método desarrollado (GCS), logra obtener estructuras de titanio porosas, compuestas con agregados de hidroxiapatita.

Se consigue parametrizar un proceso de sinterización con un ciclo térmico de sinterización de 420 minutos a 780 °C. Asimismo, se demuestra que las condiciones de sinterización son las adecuadas para evitar la descomposición de la hidroxiapatita, arrojando valores de calcio y fósforo que se encuentran dentro de los recomendados para promover una correcta oseointegración, esencial para el éxito de los implantes biomédicos.

En general, el aporte de este trabajo contribuye al área de la ingeniería y de los materiales, particularmente, dentro del campo de los procesos pulvimetalúrgicos y la biomedicina. Proporciona un nuevo enfoque para obtener estructuras porosas de titanio con propiedades controladas. Estas estructuras porosas, podrían tener una amplia gama de aplicaciones, incluyendo implantes biomédicos, dispositivos médicos, y otras aplicaciones que requieran materiales con propiedades específicas de porosidad y biocompatibilidad. Asimismo, los hallazgos de esta investigación abren nuevas oportunidades para futuras investigaciones y desarrollos en el campo de los materiales porosos y sus aplicaciones en beneficio de la sociedad.

Bibliografía

- [1] A. M. Wu *et al.*, "Global, regional, and national burden of bone fractures in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2019," *Lancet Healthy Longev*, vol. 2, no. 9, pp. e580–e592, Sep. 2021, doi: 10.1016/S2666-7568(21)00172-0.
- [2] "Población, total | Data." Accessed: Jun. 06, 2022. [Online]. Available: <https://datos.bancomundial.org/indicador/SP.POP.TOTL?end=2020&start=1990>
- [3] "Esperanza de vida al nacer, total (años) | Data." Accessed: Jun. 07, 2022. [Online]. Available: <https://datos.bancomundial.org/indicador/SP.DYN.LE00.IN?end=2020&start=1990>
- [4] S. Williamson *et al.*, "Costs of fragility hip fractures globally: a systematic review and meta-regression analysis," *Osteoporosis International*, vol. 28, no. 10. Springer London, pp. 2791–2800, Oct. 01, 2017. doi: 10.1007/s00198-017-4153-6.
- [5] J. A. Kanis *et al.*, "The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women," *Osteoporosis International*, vol. 18, no. 8, pp. 1033–1046, Aug. 2007, doi: 10.1007/s00198-007-0343-y.
- [6] T. Järvinen, H. Sievänen, and K. Khan, "Shifting the focus in fracture prevention from osteoporosis to falls," *BMJ*, vol. 336, no. 7636, pp. 124–126, 2008, doi: 10.1136/bmj.39428.470752.AD.
- [7] F. Borgström, O. Johnell, J. A. Kanis, B. Jönsson, and C. Rehnberg, "At what hip fracture risk is it cost-effective to treat? International intervention thresholds for the treatment of osteoporosis," *Osteoporosis International*, vol. 17, no. 10, pp. 1459–1471, Oct. 2006, doi: 10.1007/s00198-006-0107-0.
- [8] K. Pałka and R. Pokrowiecki, "Porous Titanium Implants: A Review," *Advanced Engineering Materials*, vol. 20, no. 5. Wiley-VCH Verlag, May 01, 2018. doi: 10.1002/adem.201700648.
- [9] J. D. Enderle and J. D. Bronzino, "INTRODUCTION TO BIOMEDICAL ENGINEERING THIRD EDITION," Connecticut, 2006.
- [10] C. Oldani, "El camino del titanio como material de reemplazo óseo," *Revista de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, vol. 1, no. 1, p. 67, 2014, [Online]. Available: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/FCEFYN/article/view/6969/8046>
- [11] C. E. Wen, Y. Yamada, and P. D. Hodgson, "Fabrication of novel TiZr alloy foams for biomedical applications," *Materials Science and Engineering C*, vol. 26, no. 8, pp. 1439–1444, Sep. 2006, doi: 10.1016/j.msec.2005.08.006.
- [12] H. J. Rack and J. I. Qazi, "Titanium alloys for biomedical applications," *Materials Science and Engineering C*, vol. 26, no. 8, pp. 1269–1277, 2006, doi: 10.1016/j.msec.2005.08.032.

- [13] C. Oldani, "El camino del titanio como material de reemplazo óseo," *Revista de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, vol. 1, no. 1, p. 67, 2014, [Online]. Available: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/FCEFYN/article/view/6969/8046>
- [14] I. H. Oh, N. Nomura, N. Masahashi, and S. Hanada, "Mechanical properties of porous titanium compacts prepared by powder sintering," *Scr Mater*, vol. 49, no. 12, pp. 1197–1202, 2003, doi: 10.1016/j.scriptamat.2003.08.018.
- [15] R. López Padilla, "Development of porous structures of biocompatible titanium, obtained by powder metallurgy," 2013.
- [16] V. Chalkia, E. Marathoniti, N. Vourdas, P. Pandis, A. Gypakis, and V. Stathopoulos, "Application of gel-casting method in ceramics shaping," in *10th Panhellenic Conference of Chemical Engineering*, At Patra, Greece, 2015.
- [17] C. A. Roure, S. M. Cantero, R. O. Lucci, G. A. Giménez, and R. L. Padilla, "Development of porous structures for titanium-based implants," in *Journal of Chemical Information and Modeling*, Córdoba, Argentina, 2016. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- [18] M. Geetha, A. K. Singh, R. Asokamani, and A. K. Gogia, "Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review," *Prog Mater Sci*, vol. 54, no. 3, pp. 397–425, May 2009, doi: 10.1016/j.pmatsci.2008.06.004.
- [19] M. Long and H. J. Rack, "Titanium alloys in total joint replacement—a materials science perspective," *Biomaterials*, vol. 19, no. 18, pp. 1621–1639, Sep. 1998, doi: 10.1016/S0142-9612(97)00146-4.
- [20] M. Abdel-Hady Gepreel and M. Niinomi, "Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation," *J Mech Behav Biomed Mater*, vol. 20, pp. 407–415, Apr. 2013, doi: 10.1016/j.jmbbm.2012.11.014.
- [21] M. Navarro, A. Michiardi, O. Castaño, and J. A. Planell, "Biomaterials in orthopaedics," *J R Soc Interface*, vol. 5, no. 27, pp. 1137–1158, Oct. 2008, doi: 10.1098/rsif.2008.0151.
- [22] L. C. Zhang, D. Klemm, J. Eckert, Y. L. Hao, and T. B. Sercombe, "Manufacture by selective laser melting and mechanical behavior of a biomedical Ti–24Nb–4Zr–8Sn alloy," *Scr Mater*, vol. 65, no. 1, pp. 21–24, Jun. 2011, doi: 10.1016/j.scriptamat.2011.03.024.
- [23] S. Kurtz, K. Ong, E. Lau, F. Mowat, and M. Halpern, "Projections of Primary and Revision Hip and Knee Arthroplasty in the United States from 2005 to 2030," *J Bone Joint Surg*, vol. 89, no. 4, pp. 780–785, Apr. 2007, doi: 10.2106/JBJS.F.00222.
- [24] K. L. Ong, E. Lau, J. Suggs, S. M. Kurtz, and M. T. Manley, "Risk of Subsequent Revision after Primary and Revision Total Joint Arthroplasty," *Clin Orthop Relat Res*, vol. 468, no. 11, pp. 3070–3076, Nov. 2010, doi: 10.1007/s11999-010-1399-0.
- [25] A. Biesiekierski, J. Wang, M. Abdel-Hady Gepreel, and C. Wen, "A new look at biomedical Ti-based shape memory alloys," *Acta Biomater*, vol. 8, no. 5, pp. 1661–1669, May 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2012.01.018.

- [26] Y. Li, C. Yang, H. Zhao, S. Qu, X. Li, and Y. Li, "New Developments of Ti-Based Alloys for Biomedical Applications," *Materials*, vol. 7, no. 3, pp. 1709–1800, Mar. 2014, doi: 10.3390/ma7031709.
- [27] L. C. Zhang and L. Y. Chen, "A Review on Biomedical Titanium Alloys: Recent Progress and Prospect," *Advanced Engineering Materials*, vol. 21, no. 4. Wiley-VCH Verlag, Apr. 01, 2019. doi: 10.1002/adem.201801215.
- [28] C. Leyens and M. Peters, Eds., *Titanium and Titanium Alloys*. Wiley, 2003. doi: 10.1002/3527602119.
- [29] T. Nakano, "Metals for biomedical devices," 2019.
- [30] G. Lütjering and J. C. Williams, *Titanium matrix composites*. Springer, 2007.
- [31] S. M. Cantero and C. A. Roure, "Fabricación y caracterización de estructuras de titanio porosas," Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Córdoba, 2017.
- [32] Y. Li, C. Wong, J. Xiong, P. Hodgson, and C. Wen, "Cytotoxicity of Titanium and Titanium Alloying Elements," *J Dent Res*, vol. 89, no. 5, pp. 493–497, May 2010, doi: 10.1177/0022034510363675.
- [33] M. Piattelli, A. Scarano, M. Paolantonio, G. Iezzi, G. Petrone, and A. Piattelli, "Bone Response to Machined and Resorbable Blast Material Titanium Implants: An Experimental Study in Rabbits," *Journal of Oral Implantology*, vol. 28, no. 1, pp. 2–8, Mar. 2002, doi: 10.1563/1548-1336(2002)028<0002:BRTMAR>2.3.CO;2.
- [34] L. M. R. Vasconcellos, "Evaluation of bone ingrowth into porous titanium implant: histomorphometric analysis in rabbits," *Braz Oral Res.*, vol. 24, no. 4, pp. 399–405, 2010.
- [35] M. Bram, H. Schiefer, D. Bogdanski, M. Köller, H. P. Buchkremer, and D. Stöver, "Implant surgery: How bone bonds to PM titanium," *Metal Powder Report*, vol. 61, no. 2, pp. 26–28, Feb. 2006, doi: 10.1016/S0026-0657(06)70603-8.
- [36] S. J. Hollister, "Scaffold Design and Manufacturing: From Concept to Clinic," *Advanced Materials*, vol. 21, no. 32–33, pp. 3330–3342, Sep. 2009, doi: 10.1002/adma.200802977.
- [37] L. H. Nguyen *et al.*, "Vascularized Bone Tissue Engineering: Approaches for Potential Improvement," *Tissue Eng Part B Rev*, vol. 18, no. 5, pp. 363–382, Oct. 2012, doi: 10.1089/ten.teb.2012.0012.
- [38] C. Leyens and M. Peters, *Titanium and Titanium Alloys*. Wiley, 2003. doi: 10.1002/3527602119.
- [39] K. C. Nune, S. Li, and R. D. K. Misra, "Advancements in three-dimensional titanium alloy mesh scaffolds fabricated by electron beam melting for biomedical devices: mechanical and biological aspects," *Sci China Mater*, vol. 61, no. 4, pp. 455–474, Apr. 2018, doi: 10.1007/s40843-017-9134-x.
- [40] D. Laughlin and K. Hono, *Physical metallurgy*, vol. Vol. 2. Elsevier, 2014.

- [41] M. M. Shbeh and R. Goodall, "Open Celled Porous Titanium," *Advanced Engineering Materials*, vol. 19, no. 11. Wiley-VCH Verlag, Nov. 01, 2017. doi: 10.1002/adem.201600664.
- [42] S. Dadbakhsh, R. Mertens, L. Hao, J. Van Humbeeck, and J. Kruth, "Selective Laser Melting to Manufacture 'In Situ' Metal Matrix Composites: A Review," *Adv Eng Mater*, vol. 21, no. 3, p. 1801244, Mar. 2019, doi: 10.1002/adem.201801244.
- [43] H. Sahasrabudhe and A. Bandyopadhyay, "In situ reactive multi-material Ti6Al4V-calcium phosphate-nitride coatings for bio-tribological applications," *J Mech Behav Biomed Mater*, vol. 85, pp. 1–11, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.jmbbm.2018.05.020.
- [44] C. Cai *et al.*, "In-situ preparation and formation of TiB/Ti-6Al-4V nanocomposite via laser additive manufacturing: Microstructure evolution and tribological behavior," *Powder Technol*, vol. 342, pp. 73–84, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.powtec.2018.09.088.
- [45] T. Hanawa, "Titanium–Tissue Interface Reaction and Its Control With Surface Treatment," *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 7, Jul. 2019, doi: 10.3389/fbioe.2019.00170.
- [46] T. Stieglitz and M. Schuettler, "Material–tissue interfaces in implantable systems," in *Implantable Sensor Systems for Medical Applications*, Elsevier, 2013, pp. 39–67. doi: 10.1533/9780857096289.1.39.
- [47] S. Spriano, S. Yamaguchi, F. Baino, and S. Ferraris, "A critical review of multifunctional titanium surfaces: New frontiers for improving osseointegration and host response, avoiding bacteria contamination," *Acta Biomater*, vol. 79, pp. 1–22, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.actbio.2018.08.013.
- [48] J. Gil Mur, "Avances Tecnológicos en Implantología Oral: hacia los implantes dentales inteligentes," 2018.
- [49] M. Pegueroles, C. Tonda-Turo, J. A. Planell, F.-J. Gil, and C. Aparicio, "Adsorption of Fibronectin, Fibrinogen, and Albumin on TiO₂: Time-Resolved Kinetics, Structural Changes, and Competition Study," *Biointerphases*, vol. 7, no. 1, Dec. 2012, doi: 10.1007/s13758-012-0048-4.
- [50] D. V. Kilpadi, G. N. Raikar, J. Liu, J. E. Lemons, Y. Vohra, and J. C. Gregory, "Effect of surface treatment on unalloyed titanium implants: Spectroscopic analyses," *J Biomed Mater Res*, vol. 40, no. 4, pp. 646–659, Jun. 1998, doi: 10.1002/(SICI)1097-4636(19980615)40:4<646::AID-JBM17>3.0.CO;2-D.
- [51] L. Salvador Grinschpun and R. López Padilla, "Obtención de compuesto de titanio con gradiente de porosidad mediante técnica pulvimetalúrgica," 2022.
- [52] L. S. Castleman, S. M. Motzkin, F. P. Alicandri, V. L. Bonawit, and A. A. Johnson, "Biocompatibility of nitinol alloy as an implant material," *J Biomed Mater Res*, vol. 10, no. 5, pp. 695–731, Sep. 1976, doi: 10.1002/jbm.820100505.
- [53] F. Forriol, "Respuesta ósea a las solicitaciones mecánicas en condiciones fisiológicas," *Rev Esp Cir Ortop Traumatol*, vol. 45, no. 3, pp. 258–265, 2001, [Online]. Available: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-espanola-cirurgia-ortopedica-traumatologia-129-articulo-respuesta-osea-solicitaciones-mecanicas-condiciones-13015932>

- [54] M. Geetha, A. K. Singh, R. Asokamani, and A. K. Gogia, "Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review," *Prog Mater Sci*, vol. 54, no. 3, pp. 397–425, May 2009, doi: 10.1016/j.pmatsci.2008.06.004.
- [55] M. Niinomi, "Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications," *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol. 1, no. 1, pp. 30–42, Jan. 2008. doi: 10.1016/j.jmbbm.2007.07.001.
- [56] A. Civantos, E. Martínez-Campos, V. Ramos, C. Elvira, A. Gallardo, and A. Abarrategi, "Titanium Coatings and Surface Modifications: Toward Clinically Useful Bioactive Implants," *ACS Biomater Sci Eng*, vol. 3, no. 7, pp. 1245–1261, Jul. 2017, doi: 10.1021/acsbomaterials.6b00604.
- [57] S. B. Goodman, Z. Yao, M. Keeney, and F. Yang, "The future of biologic coatings for orthopaedic implants," *Biomaterials*, vol. 34, no. 13, pp. 3174–3183, Apr. 2013, doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.01.074.
- [58] J. Li *et al.*, "Biological performance in goats of a porous titanium alloy–biphasic calcium phosphate composite," *Biomaterials*, vol. 28, no. 29, pp. 4209–4218, Oct. 2007, doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.05.042.
- [59] S. V. Nadezhdin *et al.*, "Influence of Implants Surface Properties on Bone Tissue Formation in the Ectopic Osteogenesis Test," *Bull Exp Biol Med*, vol. 162, no. 6, pp. 812–814, Apr. 2017, doi: 10.1007/s10517-017-3719-9.
- [60] B. Chang *et al.*, "Influence of pore size of porous titanium fabricated by vacuum diffusion bonding of titanium meshes on cell penetration and bone ingrowth," *Acta Biomater*, vol. 33, pp. 311–321, Mar. 2016, doi: 10.1016/j.actbio.2016.01.022.
- [61] P. G. Coelho, R. Jimbo, N. Tovar, and E. A. Bonfante, "Osseointegration: Hierarchical designing encompassing the micrometer, micrometer, and nanometer length scales," *Dental Materials*, vol. 31, no. 1, pp. 37–52, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.dental.2014.10.007.
- [62] M. Mour *et al.*, "Advances in Porous Biomaterials for Dental and Orthopaedic Applications," *Materials*, vol. 3, no. 5, pp. 2947–2974, Apr. 2010, doi: 10.3390/ma3052947.
- [63] J. D. Boby, R. M. Pilliar, H. U. Cameron, and G. C. Weatherly, "The optimum pore size for the fixation of porous-surfaced metal implants by the ingrowth of bone," *Clin Orthop Relat Res*, no. 150, p. 263–270, 1980, [Online]. Available: <http://europepmc.org/abstract/MED/7428231>
- [64] A. I. Itä-Lä, H. O. Ylä, C. Ekholm, K. H. Karlsson, and H. T. Aro, "Pore Diameter of More Than 100 μ m Is Not Requisite for Bone Ingrowth in Rabbits," 2001.
- [65] X. Chen *et al.*, "In vitro studying corrosion behavior of porous titanium coating in dynamic electrolyte," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 70, pp. 1071–1075, Jan. 2017, doi: 10.1016/j.msec.2016.03.044.
- [66] M. Takemoto, S. Fujibayashi, M. Neo, J. Suzuki, T. Kokubo, and T. Nakamura, "Mechanical properties and osteoconductivity of porous bioactive titanium,"

- Biomaterials*, vol. 26, no. 30, pp. 6014–6023, Oct. 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.03.019.
- [67] Y. Li *et al.*, “Improving Osteointegration and Osteogenesis of Three-Dimensional Porous Ti6Al4V Scaffolds by Polydopamine-Assisted Biomimetic Hydroxyapatite Coating,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 7, no. 10, pp. 5715–5724, Mar. 2015, doi: 10.1021/acsami.5b00331.
- [68] A. Scislowska-Czarnecka, E. Menaszek, B. Szaraniec, and E. Kolaczowska, “Ceramic modifications of porous titanium: Effects on macrophage activation,” *Tissue Cell*, vol. 44, no. 6, pp. 391–400, Dec. 2012, doi: 10.1016/j.tice.2012.08.002.
- [69] Q. Ye *et al.*, “Gelcasting of titanium hydride to fabricate low-cost titanium,” *Rare Metals*, vol. 34, no. 5, pp. 351–356, 2015, doi: 10.1007/s12598-015-0478-5.
- [70] D. W. González, A. O. Castañeda, S. C. Esparza, L. I. López, and A. Sáenz-Galindo, “POLI(METACRILATO DE METILO): UN TERMOPLÁSTICO BIOCOMPATIBLE. DIVERSAS APLICACIONES,” 2021.
- [71] Department of health and senior services, “Hoja informativa sobre substancias peligrosas.” Department of health and senior services, New Jersey, 2002.
- [72] Sigma Aldrich, “Product Specification of TiH₂.” Saint Louis. Accessed: Nov. 02, 2023. [Online]. Available: <https://www.sigmaaldrich.com/AR/es/product/sigald/209279>
- [73] N. Peillon, J. B. Fruhauf, S. Gourdet, J. Feraille, S. Saunier, and C. Desrayaud, “Effect of TiH₂ in the preparation of MMC Ti based with TiC reinforcement,” *J Alloys Compd*, vol. 619, pp. 157–164, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.jallcom.2014.09.014.
- [74] S. Dong *et al.*, “Comparative Study on Cold Compaction Behavior of TiH₂ Powder and HDH-Ti Powder,” *Advances in Materials Science and Engineering*, vol. 2021, 2021, doi: 10.1155/2021/9999541.
- [75] I. M. Robertson and G. B. Schaffer, “Comparison of sintering of titanium and titanium hydride powders,” *Powder Metallurgy*, vol. 53, no. 1, pp. 12–19, Mar. 2010, doi: 10.1179/003258909X12450768327063.
- [76] S. Lascano *et al.*, “Porous titanium for biomedical applications: Evaluation of the conventional powder metallurgy frontier and space-holder technique,” *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 9, no. 5, 2019, doi: 10.3390/app9050982.
- [77] R. López Padilla, R. Lucci, and C. Oldani, “Titanium structures with porosity gradient-space holder manufacturing and characterization,” *Revista Materia*, vol. 23, no. 2, 2018, doi: 10.1590/S1517-707620180002.0422.
- [78] C. M. Murphy and F. J. O’Brien, “Understanding the effect of mean pore size on cell activity in collagen-glycosaminoglycan scaffolds,” *Cell Adh Migr*, vol. 4, no. 3, pp. 377–381, 2010, doi: 10.4161/cam.4.3.11747.
- [79] N. Taniguchi *et al.*, “Effect of pore size on bone ingrowth into porous titanium implants fabricated by additive manufacturing: An in vivo experiment,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 59, pp. 690–701, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2015.10.069.

- [80] G. Ryan, A. Pandit, and D. P. Apatsidis, "Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications," *Biomaterials*, vol. 27, no. 13. pp. 2651–2670, May 2006. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.12.002.
- [81] M. Niinomi, "Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications," *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol. 1, no. 1. pp. 30–42, Jan. 2008. doi: 10.1016/j.jmbbm.2007.07.001.
- [82] M. E. Londoño, A. Echavarría, and F. De La Calle, "CARACTERÍSTICAS CRISTALOQUÍMICAS DE LA HIDROXIAPATITA SINTÉTICA TRATADA A DIFERENTES TEMPERATURAS," 2006.
- [83] Sigma Aldrich, "Product Specification of Hydroxyapatite." 2022. Accessed: Nov. 02, 2023. [Online]. Available: <https://www.sigmaaldrich.com/AR/es/product/aldrich/289396>
- [84] M. Londoño, A. Echavarría, and F. Calle, "CARACTERÍSTICAS CRISTALOQUÍMICAS DE LA HIDROXIAPATITA SINTÉTICA TRATADA A DIFERENTES TEMPERATURAS," *Revista EIA*, pp. 109–118, Jun. 2006.
- [85] Á. Pereira G and P. Oliva M, "Eficacia de la Hidroxiapatita en la Cicatrización de Injertos Oseos e Implantes Dentales: Una Revisión Sistemática de la Literatura," *International journal of odontostomatology*, vol. 10, no. 3, pp. 373–380, Dec. 2016, doi: 10.4067/S0718-381X2016000300001.
- [86] J. C. Vanegas A., N. S. Landinez P, and D. A. Garzón-Alvarado, "Generalidades de la interfase hueso-implante dental," *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, vol. 28, pp. 130–146, 2009.
- [87] G. Vander Voort, *Metallography and Microstructures*, vol. 9. ASM International, 2004. doi: 10.31399/asm.hb.v09.9781627081771.
- [88] J. M. Villora, P. Callejas, and M. F. Barba, "Cerámica y Vidrio Métodos de síntesis y comportamiento térmico del Hidroxiapatito," Madrid, Oct. 2002.
- [89] N. Henríquez Távaran *et al.*, "Análisis semicuantitativo del calcio y fósforo en los tejidos calcificados de la mandíbula," 2002.
- [90] K. Tõnsuaadu, K. A. Gross, L. Pluduma, and M. Veiderma, "A review on the thermal stability of calcium apatites," in *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Nov. 2012, pp. 647–659. doi: 10.1007/s10973-011-1877-y.
- [91] I. Roger Marcio López Padilla Director and C. Rodolfo Oldani, "Desarrollo de estructuras porosas de titanio biocompatible, obtenidas por pulvimetalurgia," Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, 2013.
- [92] "ASTM E9-89a - Standard Test Methods of Compression." ASTM International, 2000.
- [93] "Biological evaluation of medical devices-Part 1: Evaluation and testing," 2003.
- [94] International Organization for Standardization, "Biological evaluation of medical devices - Part 5: Test for in vitro cytotoxicity," 2009.

- [95] C. M. Gotusso, "Estudio comparativo de las propiedades físico-mecánicas de resinas acrílicas sometidas a diferentes métodos de curado y pulido," Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, 2017.
- [96] Y. Li, Z. M. Guo, J. J. Hao, and S. B. Ren, "Gelcasting of porous titanium implants," *Powder Metallurgy*, vol. 51, no. 3, pp. 231–236, Sep. 2008, doi: 10.1179/174329007X223965.
- [97] F. Li, X. Zhang, Y. Jiang, L. Yang, C. Qi, and B. Sun, "Study on the fabrication of porous TiAl alloy via non-aqueous gel casting of a TiH₂ and Al powder mixture," *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 9, no. 8, Apr. 2019, doi: 10.3390/app9081569.
- [98] L. Salvador Grinschpun and R. López Padilla, "Obtención de compuesto de titanio con gradiente de porosidad mediante técnica pulvimetalúrgica," 2022.
- [99] C. A. Roure, C. R. Oldani, and R. O. Lucci, "Desarrollo de Estructuras Osteointegrables Base Titanio para Implantes Biomédicos mediante tecnologías de impresión 3D y pulvimetalurgia," *AJEA*, no. 4, Oct. 2019, doi: 10.33414/ajea.4.387.2019.
- [100] Y. Torres, P. Trueba, J. Pavón, I. Montealegre, and J. A. Rodríguez-Ortiz, "Designing, processing and characterisation of titanium cylinders with graded porosity: An alternative to stress-shielding solutions," *Mater Des*, vol. 63, pp. 316–324, 2014, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2014.06.012>.
- [101] Y. Chen *et al.*, "Manufacturing of graded titanium scaffolds using a novel space holder technique," *Bioact Mater*, vol. 2, no. 4, pp. 248–252, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.07.001.
- [102] S. Lascano *et al.*, "Porous titanium for biomedical applications: Evaluation of the conventional powder metallurgy frontier and space-holder technique," *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 9, no. 5, 2019, doi: 10.3390/app9050982.
- [103] N. E. Putra, M. J. Mirzaali, I. Apachitei, J. Zhou, and A. A. Zadpoor, "Multi-material additive manufacturing technologies for Ti-, Mg-, and Fe-based biomaterials for bone substitution," *Acta Biomater*, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.actbio.2020.03.037.
- [104] Y. Hu, F. Ning, H. Wang, W. Cong, and B. Zhao, "Laser engineered net shaping of quasi-continuous network microstructural TiB reinforced titanium matrix bulk composites: Microstructure and wear performance," *Opt Laser Technol*, vol. 99, pp. 174–183, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.optlastec.2017.08.032.
- [105] S. Raynova, Y. Collas, F. Yang, and L. Bolzoni, "Advancement in the Pressureless Sintering of CP Titanium Using High-Frequency Induction Heating," *Metall Mater Trans A Phys Metall Mater Sci*, vol. 50, no. 10, pp. 4732–4742, Oct. 2019, doi: 10.1007/S11661-019-05381-Z.
- [106] G. Ryan, A. Pandit, and D. P. Apatsidis, "Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications," *Biomaterials*, vol. 27, no. 13, pp. 2651–2670, May 2006, doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.12.002.
- [107] A. Basalah, Y. Shanjani, S. Esmaili, and E. Toyserkani, "Characterizations of additive manufactured porous titanium implants," *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, vol. 100 B, no. 7, pp. 1970–1979, Oct. 2012, doi: 10.1002/jbm.b.32764.

- [108] X. Miao and D. Sun, "Graded/gradient porous biomaterials," *Materials*, vol. 3, no. 1, pp. 26–47, 2010, doi: 10.3390/ma3010026.
- [109] C. Domínguez-Trujillo *et al.*, "Improvement of the balance between a reduced stress shielding and bone ingrowth by bioactive coatings onto porous titanium substrates," *Surf Coat Technol*, vol. 338, no. December 2017, pp. 32–37, 2018, doi: 10.1016/j.surfcoat.2018.01.019.
- [110] I. Lima, L. N. Giraldez, L. C. Pereira, M. V. Oliveira, and R. T. Lopes, "Characterization of titanium implant through Micro CT," *Nucl Instrum Methods Phys Res A*, vol. 579, no. 1, pp. 309–312, Aug. 2007, doi: 10.1016/j.nima.2007.04.067.
- [111] D. W. Lee, H. S. Lee, J. H. Park, S. M. Shin, and J. P. Wang, "Sintering of Titanium Hydride Powder Compaction," *Procedia Manuf*, vol. 2, pp. 550–557, 2015, doi: 10.1016/j.promfg.2015.07.095.
- [112] X. H. Wang, J. S. Li, R. Hu, H. C. Kou, and L. Zhou, "Mechanical properties of porous titanium with different distributions of pore size," *Transactions of Nonferrous Metals Society of China (English Edition)*, vol. 23, no. 8, pp. 2317–2322, Aug. 2013, doi: 10.1016/S1003-6326(13)62735-1.
- [113] S. Muñoz, J. Pavón, J. A. Rodríguez-Ortiz, A. Civantos, J. P. Allain, and Y. Torres, "On the influence of space holder in the development of porous titanium implants: Mechanical, computational and biological evaluation," *Mater Charact*, vol. 108, pp. 68–78, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.matchar.2015.08.019.
- [114] T. Fujii, R. Murakami, N. Kobayashi, K. Tohgo, and Y. Shimamura, "Uniform porous and functionally graded porous titanium fabricated via space holder technique with spark plasma sintering for biomedical applications," *Advanced Powder Technology*, vol. 33, no. 6, Jun. 2022, doi: 10.1016/j.appt.2022.103598.
- [115] A. El-Hajje *et al.*, "Physical and mechanical characterisation of 3D-printed porous titanium for biomedical applications," *J Mater Sci Mater Med*, vol. 25, no. 11, pp. 2471–2480, Oct. 2014, doi: 10.1007/s10856-014-5277-2.
- [116] S. Muñoz, J. Pavón, J. A. Rodríguez-Ortiz, A. Civantos, J. P. Allain, and Y. Torres, "On the influence of space holder in the development of porous titanium implants: Mechanical, computational and biological evaluation," *Mater Charact*, vol. 108, pp. 68–78, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.matchar.2015.08.019.
- [117] A. El-Hajje *et al.*, "Physical and mechanical characterisation of 3D-printed porous titanium for biomedical applications," *J Mater Sci Mater Med*, vol. 25, no. 11, pp. 2471–2480, Oct. 2014, doi: 10.1007/s10856-014-5277-2.
- [118] J. Caeiro, P. González, and D. Guede, "Biomechanics and bone (& II): Trials in different hierarchical levels of bone and alternative tools for the determination of bone strength," 2013.
- [119] C. Tojal, J. Devaud, V. Amigó, and J. A. Calero, "Caracterización mecánica de aleaciones porosas, base Ti, producidas mediante la técnica de sinterización con espaciador," *Revista de Metalurgia*, vol. 46, no. Extra, pp. 26–32, Dec. 2010, doi: 10.3989/revmetalmadrid.02.2XIIPMS.

- [120] International Organization for Standardization, "Biological evaluation of medical devices - Part 5: Test for in vitro cytotoxicity," 2009.