

# **Desarrollo de estructuras de titanio con porosidad gradual y su estudio para aplicaciones como bioimplantes**



Proyecto final

Ingeniería Metalúrgica  
Universidad Tecnológica Nacional  
Facultad Regional Córdoba

## **Autores:**

Acosta, Diego Esteban  
García, Valentín Néstor

## **Tutor:**

Ing. Cantero, Santiago Marcelo

## **Co-tutor**

Ing. Roure, César Andrés

2021



## Indice de contenido

1	Agradecimientos.....	1
2	Resumen .....	2
3	Alcance del proyecto .....	3
3.1	Alcance.....	3
3.2	Objetivos .....	3
3.2.1	Objetivo general.....	3
3.2.2	Objetivos específicos.....	3
4	Introducción .....	4
4.1	Biomateriales .....	4
4.1.1	Generalidades .....	4
4.1.2	Clasificación.....	5
4.2	Titanio y sus aleaciones .....	6
4.2.1	Propiedades Físico – Químicas.....	6
4.2.2	Aplicaciones generales y biomédicas de Titanio .....	14
4.3	Procesos de fabricación de implantes de titanio .....	20
4.3.1	Procesos de forja y fundición .....	20
4.3.2	Procesos Pulvimetalúrgicos .....	21
4.3.3	Tratamientos superficiales .....	26
4.4	Tejido óseo .....	29
4.4.1	Clasificación del hueso .....	29
4.4.2	Histología del hueso.....	36
4.4.3	Propiedades mecánicas del hueso.....	43
4.5	Biocompatibilidad.....	50
4.5.1	Condiciones .....	50



4.5.2	Reacción Cuerpo – Implante.....	50
4.5.3	Osteointegración.....	52
4.5.4	Reacción como cuerpo extraño del titanio .....	54
4.6	Ensayos biológicos.....	61
4.6.1	Ensayo in vitro .....	61
4.6.2	Ensayo in vivo .....	64
4.6.3	Técnicas de análisis.....	67
5	Materiales y Métodos.....	72
5.1	Materiales .....	72
5.1.1	Materiales y equipamientos utilizados en la obtención de probetas con porosidad gradual: .....	72
5.1.2	Materiales utilizados para la fabricación de moldes: .....	80
5.1.3	Materiales y equipamientos utilizados para el ensayo in vitro .....	82
5.1.4	Ensayo in vivo .....	82
5.2	Métodos .....	83
5.2.1	Obtención de probetas con porosidad gradual.....	83
5.2.2	Caracterización de las estructuras porosas .....	90
6	Resultados y discusión.....	99
6.1	Obtención de probetas con porosidad gradual .....	99
6.1.1	Análisis de la contracción y pérdida de peso .....	99
6.1.2	Análisis macrográfico .....	99
6.1.3	Análisis por microscopía óptica y confocal .....	99
6.1.4	Análisis de porosidad mediante Matlab .....	105
6.2	Ensayo In Vitro – Citotoxicidad .....	107
6.3	Ensayo preliminar in vivo .....	108



6.3.1	Microscopía electrónica de barrido .....	108
7	Conclusión .....	111
7.1	Conclusión general .....	111
7.2	Conclusiones específicas .....	111
8	Bibliografía .....	113

## Indice de figuras

Figura 1	Estructuras cristalinas del titanio .....	7
Figura 2	típicos diagramas binarios de aleaciones de Titanio, (a) muestra un diagrama del sistema Ti - Al, en (b) y (c) muestran el inicio de la martensita (Ms), los elementos que favorecen a estos diagramas de fase son: (a) Al, O, N, C, Ga (b) Mo, W, V, Ta (c) Cu, Mn, Cr, Fe, Ni, Co, H. ....	9
Figura 3	Micrografía óptica dispersión de la fase Beta estabilizada con Fe en CP titanio grado 3 (0,15% Fe) .....	12
Figura 4	Microestructura martensítica del titanio cp de grado 3 .....	13
Figura 5	Microestructura Widmanstätten del titanio cp de grado 3 .....	13
Figura 6	Aplicación del titanio poroso según su densidad de poros .....	15
Figura 7	Implantes dentales con titanio poroso .....	15
Figura 8	(a) tubos y tuberías (b) cartuchos de filtro .....	16
Figura 9	ejemplos de implantes ortopédicos de titanio .....	17
Figura 10	Micrografía de una capa pasivante de titanio. ....	26
Figura 11	Superficie porosa de Ti Bioinerte .....	27
Figura 12	HAP superficial adherido en un implante de titanio. ....	27
Figura 13	Superficie de HAP adherida por ablación láser. ....	28
Figura 14	Sección del hueso .....	30
Figura 15	Estructura del Hueso .....	31
Figura 16	Estructura del hueso esponjoso .....	32
Figura 17	Estructura interna del fémur .....	33
Figura 18	Anatomía del hueso plano .....	34



Figura 19 Huesos cortos y huesos irregulares_____	34
Figura 20 Clases de hueso. a) Clase 1. b) Clase 2. c) Clase 3. d) Clase 4. ____	35
Figura 21 Estructura jerárquica del hueso desde la macroestructura del hueso compacto hasta la microestructura de las fibras de colágeno y cristales de apatita. _____	37
Figura 22 Procedencia de las distintas líneas celulares presentes en el hueso y descripción de su proceso de evolución. _____	40
Figura 23 Osteoblasto en una superficie de titanio con gran actividad dorsal. _	41
Figura 24 Curvas tensión-Deformación entre el hueso y metales. _____	44
Figura 25 a) Dependencia de la tasa de deformación del comportamiento del material óseo cortical. b) Dependencia del módulo y la resistencia máxima a la tracción del hueso cortical humano para la carga longitudinal en función de la tasa de deformación (Derecha). _____	46
Figura 26 Diagrama esquemático que muestra las tres etapas del comportamiento de fluencia del hueso cortical humano _____	47
Figura 27 Módulo de compresión en función de la densidad aparente del hueso trabecular_____	48
Figura 28 tensión-deformación por compresión del hueso trabecular y cortical	49
Figura 29 Etapas de la Osteointegración _____	52
Figura 30 Esquema de mojabilidad _____	53
Figura 31 Adhesión celular sobre la superficie del material _____	54
Figura 32 Condiciones de baja toxicidad de la capa de oxido _____	56
Figura 33 Reacción interfacial tejido vivo – capa pasivante _____	56
Figura 34 Representación del efecto de la rugosidad superficial sobre la morfología de los osteoblastos _____	57
Figura 35 Imagen histológica de la tibia de un conejo a 8 semanas luego de la implantación _____	60
Figura 36 Zonas de implantación_____	65
Figura 37 Estudio in vivo después de 2 semanas de implantación con Ti poroso en la rodilla de 4 conejos._____	66



Figura 38 Osteointegración por modificación química superficial de una estructura reticulada de titanio _____	67
Figura 39 Una vista simplificada de microscopía confocal. _____	68
Figura 40 Imagen confocal de un detalle de una moneda _____	69
Figura 41 Imágenes SEM correspondiente a un implante Ti6Al4V con un recubierto bioactivo (derecha) y adhesión celular en una estructura reticular de titanio (izquierda) _____	71
Figura 42 Polvo de hidruro de titanio. _____	72
Figura 43 Resina acrílica en polvo. _____	73
Figura 44 Monómero utilizado. _____	74
Figura 45 Horno eléctrico. _____	74
Figura 46 Bomba mecánica y bomba difusora _____	75
Figura 47 Bomba de paletas rotatorias. _____	76
Figura 48 Funcionamiento de la bomba de paletas rotatorias. _____	77
Figura 49 Bomba de paletas rotatorias de dos etapas. _____	78
Figura 50 Sección transversal de una bomba de difusión. (1) Sombrero enfriado para evitar que el vapor entre a la cámara, (2) heater para compensarla pérdida de calor en la parte superior de la chimenea, (3) superficie aerodinámica para evitar turbulencia, (4) etapas múltiples para obtener bajas presiones, (5) estuche alargado, (6) obstáculo para impedir que entre líquido al chorro de vapor, (7) heater para calentar el vapor, (8) etapa de ejetor lateral, (9) obstáculo cónico, (10) purificador de aceite, (11) drenaje de aceite altamente volátil, (12) obstáculos para evitar pérdidas de aceite, (13) chimeneas concéntricas que permiten el fraccionamiento del chorro de vapor de aceite. _____	79
Figura 51 Impresora 3D TRIDEO. _____	81
Figura 52 Diseños de los moldes negativos _____	84
Figura 53 Moldes de caucho de Silicona, molde 1 (izquierda), molde 2 (derecha) _____	85
Figura 54 mezcladora mecánica rotatoria "Y" _____	86
Figura 55 Ejemplo de un anillo exterior resultante del proceso _____	86
Figura 56 Ejemplo de muestra en verde resultante del proceso _____	87



Figura 57 Curva de calentamiento_____	88
Figura 58 Imagen micrográfica (Izquierda) e imagen filtrada (Derecha). ____	92
Figura 59 Tomografía de la extremidad de la rata _____	95
Figura 60 implante transcortical _____	96
Figura 61 Extremidad obtenida luego del sacrificio del animal _____	97
Figura 62 Imágenes de lupa estereoscópica 10X (izquierda) y 20X (derecha)	99
Figura 63 Imágenes de lupa estereoscópica 10X donde se observa discontinuidad en la interfase _____	102
Figura 64 imágenes de microscopía óptica 40X donde se pueden observar discontinuidades y grandes poros _____	102
Figura 65 Imágenes de microscopía confocal láser en titanio con porosidad gradual. (a) Sección transversal. (b) Sección longitudinal. Magnificación: 216X. _____	103
Figura 66 Imagen de microscopía confocal láser sobre la sección transversal de la muestra que presenta continuidad microestructural en la interfaz entre capas. _____	104
Figura 67 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. _____	107
Figura 68 Imagen de lupa estereoscópica de muestra de Titanio insertada 30X _____	108
Figura 69 Imágenes de microscopía electrónica de barrido sobre la unión implante-hueso. (a) Magnificación: 34X. (b) Magnificación: 50X. (c) Magnificación: 150X. _____	109
Figura 70 Imágenes micrográficas SEM-EDS en la unión implante-hueso. (a) Sección analizada y mapa de composición química. (b) Distribución de cada elemento químico en el área analizada. _____	110



Universidad Tecnológica Nacional  
Facultad Regional Córdoba  
Ingeniería Metalúrgica

ACOSTA, DIEGO ESTEBAN  
GARCÍA, VALENTÍN NÉSTOR

---





# 1 Agradecimientos

Principalmente queremos agradecer a nuestras familias y amigos que nos acompañaron en todo este trayecto, brindándonos su apoyo y cariño.

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Universidad Tecnológica Nacional-Facultad Regional de Córdoba por brindarnos los espacios y equipamientos. También, a los laboratorios LAMARX e INICSA de la Universidad Nacional de Córdoba por brindarnos su apoyo en el desarrollo experimental de nuestro proyecto.

Queremos agradecer a nuestro tutor Ing. Santiago M. Cantero y a nuestro Co-tutor Ing. César A. Roure que nos brindaron su total predisposición, nos han ayudado con las actividades realizadas dentro del Laboratorio. Además, agradecer al Dr. Ing. Roberto O. Lucci por brindarnos los conocimientos técnicos y académicos relacionados con el tema a desarrollar y por acompañarnos y apoyarnos, desde el principio de la carrera, para crecer tanto en lo profesional como en lo personal.

Agradecemos al jefe de laboratorio Ing. Oscar E. Marín por poner a disposición las instalaciones del Laboratorio del Departamento de Ingeniería Metalúrgica, y al Departamento de Ingeniería Metalúrgica junto con el Director Diego H. Suarez por brindarnos, a lo largo de la carrera, la capacitación académica de ingeniería para llegar a esta etapa final.



## 2 Resumen

Las tecnologías biomédicas actuales buscan modificar superficialmente los materiales de los implantes para garantizar una sanación más temprana en aquellos pacientes que sufren enfermedades degenerativas e inflamatorias en el hueso y articulaciones. Los biomateriales ortopédicos están destinados a ser implantados en el cuerpo humano como componentes o dispositivos diseñados para realizar ciertas funciones biológicas mediante la sustitución o la reparación de hueso, cartílago, ligamentos y tendones. La elección del titanio (Ti) como material de implante con fijación biológica se debe a sus principales características biomédicas. La generación de porosidad permitiría superar problemas en la fabricación de piezas en implantología, conduciendo al beneficio de disminuir la excesiva rigidez del Ti para aproximarse al hueso ( $E_{Ti} = 110 \text{ GPa}$  y el  $E_{hueso} = 4-30 \text{ GPa}$ ). Al mismo tiempo, la estructura ósea no es uniforme y el hueso cortical es más compacto que el hueso trabecular, de forma tal que conviene conseguir un material con gradiente de porosidad que permita compatibilizar la distribución de esfuerzos entre prótesis-hueso. Para este fin, se propone estudiar mediante la técnica de gel-casting con polvo de  $TiH_2$  y posterior sinterización aquellas condiciones que permitan obtener un material base Ti con estructura de porosidad controlada en forma gradual. Además, se abarcará una revisión y experimento preliminar de ensayos biológicos (in vitro e in vivo) para plantear la factibilidad de realizar un modelo experimental biológico y así definir las propiedades biológicas del titanio poroso obtenido por el proceso gel-casting.

Palabras claves: titanio; Gel casting; porosidad; osteointegración; in vitro; in vivo.



## 3 Alcance del proyecto

### 3.1 Alcance

Este trabajo investiga el desarrollo de biomateriales base titanio poroso que contribuyan a una mejora en la osteointegración. Debido a la porosidad.

Si bien el tema de investigación propuesto abarca campos de estudios muy diversos, nos enfocaremos principalmente en los aspectos de obtención de porosidad gradual estudiando aspectos de la pulvimetalúrgica del titanio, empleando la técnica de "Gel Casting" y posterior sinterización. Estableciendo la factibilidad mediante resultados por análisis metalográfico y confocal. Por último, nos enfocaremos también en estudiar la factibilidad de establecer un modelo experimental biológico mediante experimentos preliminares y revisión científica.

### 3.2 Objetivos

#### **3.2.1 Objetivo general**

Fabricación de estructuras de titanio con porosidad gradual y estudio de la factibilidad de establecer un modelo experimental biológico para titanio poroso.

#### **3.2.2 Objetivos específicos**

- Obtención de porosidad gradual mediante gel casting y sinterizado.
- Establecer la factibilidad de poder realizar un ensayo in vitro mediante una revisión y experimento preliminar.
- Establecer la factibilidad de poder realizar un ensayo in vivo mediante una revisión y experimento preliminar.



## 4 Introducción

### 4.1 Biomateriales

#### **4.1.1 Generalidades**

Los materiales biocompatibles se definen como aquellos materiales que no presentan rechazos como inflamación, infección, pérdida de tejido óseo, etc. por un tejido vivo cuando este interactúa con el sistema. Dichos materiales pueden convivir dentro del cuerpo, pudiéndose usar para la fabricación de implantes con una función específica, química, mecánica o funcional en el tejido donde se requiera (Colazo & Bocco, 2017) .

Las características de estos materiales, para su fabricación, conlleva un camino difícil y costoso, ya que la biocompatibilidad no solo está referido a la toxicidad del material al cuerpo sino también a las propiedades mecánicas en el caso de los implantes óseos. Dentro del cuerpo humano existen muchos fluidos que interactúan con el implante, por lo cual el material de este implante debe presentar buena resistencia a la corrosión debido a que los productos de corrosión del mismo generan enfermedades que perjudican la salud. Si las propiedades mecánicas no son compatibles, pueden generar desgaste óseo. Incluso hay materiales que deben tener un tamaño el cual se pueda alojar dentro de una arteria. Todos estos requerimientos producen que la fabricación de implantes sea costosa y exigente en su calidad (Lascano, 2013).

Actualmente dentro de la bioingeniería regenerativa, se busca que los biomateriales actúen como una matriz extracelular de "andamio" al igual que una estructura para retener poblaciones de células después de la implantación, con el fin, de guiar y ser modelo para que las células coloquen una nueva matriz celular. Sin embargo, con el tiempo, los biomateriales han evolucionado funcionalmente como un modelo donde las células pueden unirse y colocar su propia matriz extracelular para sistemas multifuncionales que activamente regulan varios aspectos del crecimiento de tejidos. Aparte de ser biocompatibles, y en algunos casos, biodegradables pueden incorporar señales biológicas y estructurales que



inducen la respuesta celular como una mejora de la unión celular y directa diferenciación celular para conseguir una respuesta particular (Jassal et al., 2019).

Comenzando por la clasificación tenemos biomateriales biológicos y artificiales. En el primer grupo abarcan ventajas como la reducción de toxicidad e inflamación luego de la implantación en el cuerpo, pero están limitados por su resistencia mecánica, posibilidad de respuesta inmunológica adversa y no hay posibilidad de controlar el rango de degradación en ensayos in vivo (Jassal et al., 2019).

#### 4.1.2 Clasificación

Los materiales biocompatibles se clasifican según su composición química pueden variar desde los cerámicos, plásticos, metálicos y compuestos; y por su estructura pueden ser compactos o porosos (Sansone et al., 2013).

Tabla 1 clasificación de biomateriales según su composición química

Clase	Subclase	Ejemplos
<b>Metales</b>		Aceros inoxidables Aleaciones Co – Cr Titanio y sus aleaciones Tantalio pureza comercial Oro Amalgama dental Grupo Platino
<b>Cerámicos</b>	No absorbibles	Alúmina      Carburos Circonio
	Biodegradables	Fosfato de Calcio Coral Fosfato tricálcico Fosfato de calcio y aluminio Fósforo de calcio férrico Óxidos cerámicos
	Bioactivos	Vidrios bioactivos Hidroxiapatita ceravital
<b>Polímeros</b>	No absorbibles	Polietileno Polipropileno Poliamida Poliuretano Polimetilmetacrilato Poliéster Silicona Cianoacrilatos
	Biodegradables	Ácido poliglicólico Polidioxanona Ácido poliláctico Poli (láctida-co-glicólido)
<b>Materiales compuestos</b>	Partículas	Resinas dentales compuestas Polietileno / HA PMMA/HA Almidón / HA
	Fibras	Grafito – epoxy PELA / Poliuretano UHMWPE reforzado con fibra de carbono PMMA / UHMWPE
<b>Materiales biológicos</b>		Colágeno Seda AlloDerm



## 4.2 Titanio y sus aleaciones

El Titanio forma parte de la tabla periódica hace más de 200 años pero la producción comercial del Titanio aumentó hace 60 años de una manera sorprendente. Su desarrollo industrial como un material estratégico inició aproximadamente en 1960 para aplicaciones aeronáuticas y aeroespaciales. Forma parte de los materiales innovadores con propiedades sin precedentes como su baja densidad, baja conductividad térmica, absorción de energía al impacto, permeabilidad al aire y al agua, y propiedades eléctricas (Pałka et al., 2019; James, 1998).

Las propiedades que exhibe el Titanio y sus aleaciones para su desarrollo industrial son: Su baja densidad (55 % menor que el acero), resistencia a la corrosión, alta resistencia mecánica y resistencia a la fluencia (Tabla 2) (James, 1998; Men & Pablo, 2019).

### **4.2.1 Propiedades Físico – Químicas**

El Titanio posee aplicaciones tanto como metal "puro" o aleado. Es miembro de los metales de transición en la 4ta columna y 4to grupo de la tabla periódica de los elementos. Es el noveno elemento más abundante de la superficie terrestre y se puede encontrar en la naturaleza en muchos minerales; el más común es Ilmenita ( $\text{FeTiO}_3$ ), posee un color negro o marrón oscuro, y rutila ( $\text{TiO}_2$ ), posee un color rojizo, amarillo a veces con una tonalidad más oscura. El Titanio posee un número atómico 22 y su configuración electrónica es  $[\text{Ar}]3d^24s^2$ , hay 5 tipos de isótopos del Titanio  $^{46}\text{Ti}$  (8,25 %),  $^{47}\text{Ti}$  (7,44 %),  $^{48}\text{Ti}$  (73,72 %),  $^{49}\text{Ti}$  (5,41 %) y  $^{50}\text{Ti}$  (5,18 %); y este existe en 2 estados alotrópicos (Alfa and Beta) (Gudima, 2017). La alta reactividad con el oxígeno conduce a la formación inmediata de una capa superficial de óxido estable y adherente cuando se expone a una atmósfera oxidante (como el aire), lo que resulta en una resistencia superior a la corrosión del titanio en varios tipos de ambientes agresivos, especialmente en ambientes ácidos acuosos. La temperatura de fusión del titanio es aproximadamente  $1650^\circ\text{C}$ , la alta reactividad del titanio con el oxígeno limita la

temperatura de uso máxima de las aleaciones de titanio a aproximadamente 600°C, a pesar de su elevada temperatura de fusión (Men & Pablo, 2019).

El Titanio casi puro existe en dos estructuras cristalográficas (Figura 1), a temperatura ambiente posee una estructura hexagonal compacta (HCP), que se denomina alfa; a 883°C, esta estructura se transforma a una estructura cúbica de cuerpo centrado que se denomina beta (Lucci & Aldet, 2020).

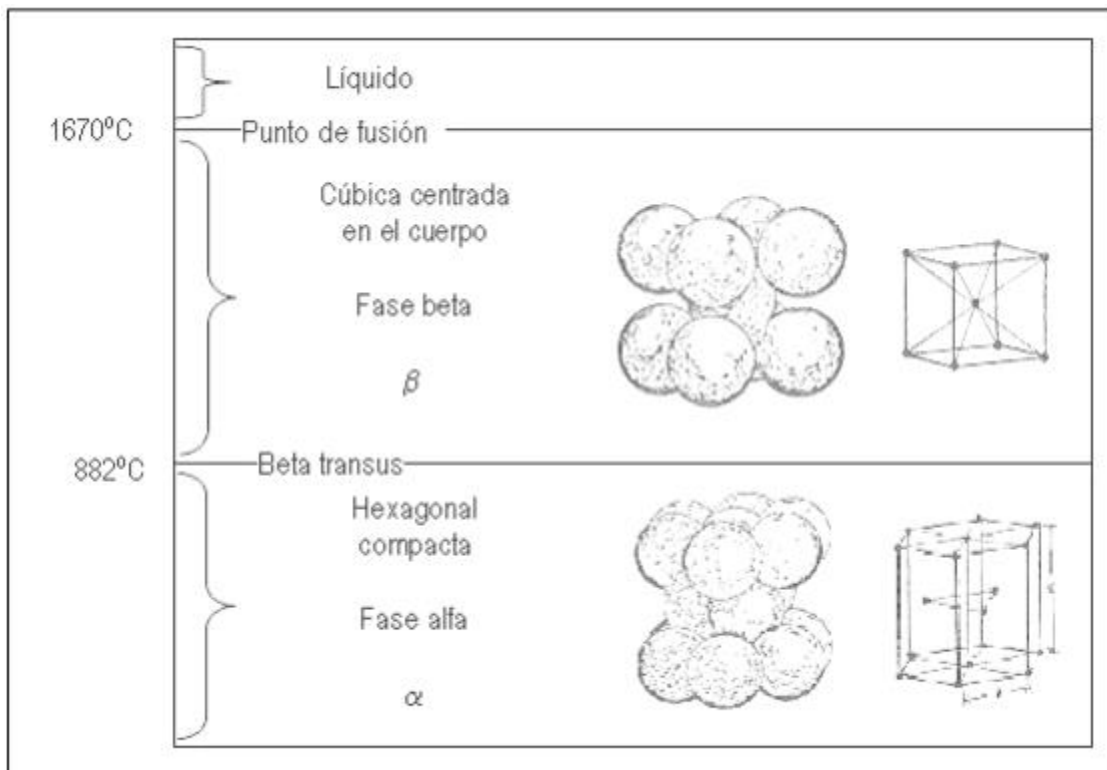


Figura 1 Estructuras cristalinas del titanio

Las aleaciones de Titanio se clasifican en:

- Aleaciones Alfa o casi Alfa
- Aleaciones Alfa + Beta
- Aleaciones Beta

Las diferentes categorías se diferencian en la microestructura que exhiben luego de su obtención, el cual sus estructuras cristalinas y modificación microestructural terminan definiendo las características para sus aplicaciones (Men & Pablo, 2019).



En las aleaciones completamente Alfa pertenecen las aleaciones de pureza comercial diferenciadas con distintos grados de titanio comercialmente puro (CP), tienen baja resistencia a la tracción pero buena estabilidad a altas temperaturas y no forman fase Beta durante el calentamiento. Las aleaciones casi Alfa contienen hasta el 2 % de elementos estabilizadores de la fase Beta, ya que estos introducen pequeñas cantidades de fase en la microestructura y mejoran su forjabilidad. Durante el calentamiento forman una cantidad limitada de fase Beta y a bajas temperaturas tienen una apariencia microestructural similar a una aleación Alfa (Lucci & Aldet, 2020).

Las aleaciones Alfa + Beta permiten la transformación completa a Beta durante el calentamiento, pero por sus composiciones forman una mezcla de fases Alfa y Beta abarcando entre 10 y 50 % de fase Beta a temperatura ambiente. Generalmente estas aleaciones tienen buena conformabilidad. Las propiedades de estas aleaciones pueden ser controladas mediante el tratamiento térmico, el cual es usado para ajustar las cantidades y tipos de fase Beta presente; el tratamiento de solución seguido por envejecimiento a 480 a 650 °C precipita Alfa, resultando en una mezcla fina de Alfa y Beta en una matriz de fase Beta retenida o transformada (Men & Pablo, 2019; Lucci & Aldet, 2020).

Con respecto a las aleaciones Beta, tienden a retener indefinidamente a bajas temperaturas la fase Beta formada a alta temperatura, pero son en realidad aleaciones Beta metaestables porque todas están ubicadas en la región de fase de equilibrio (Alfa + Beta) del diagrama de fases, contiene elementos de transición tal como Vanadio, Neodimio y Molibdeno, cual tiende a disminuir la temperatura de transición de la fase Alfa a Beta y así promover el desarrollo de la fase Beta (bcc). Tienen excelente forjabilidad sobre un mayor rango de temperatura de forja que las aleaciones Alfa y Alfa + Beta, y la chapa de aleación es conformable en frío en la condición de solubilizado-temple. Es común a todas las aleaciones Beta que el enfriamiento relativamente rápido desde el campo de fase Beta y el envejecido en la región de temperatura de aproximadamente 500-600°C provoque niveles de tensiones de fluencia superiores a 1200 MPa. (Men & Pablo, 2019)



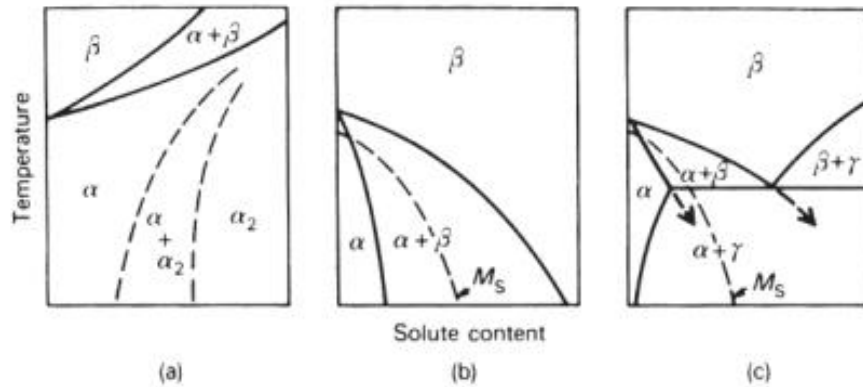


Figura 2 típicos diagramas binarios de aleaciones de Titanio, (a) muestra un diagrama del sistema Ti - Al, en (b) y (c) muestran el inicio de la martensita ( $M_s$ ), los elementos que favorecen a estos diagramas de fase son: (a) Al, O, N, C, Ga (b) Mo, W, V, Ta (c) Cu, Mn, Cr, Fe, Ni, Co, H.

Tabla 2 Asignación de aleaciones de Titanio y propiedades mecánicas

Alloy Designation (wt%)	Tensile Strength (MPa)	Yield Strength (MPa)	Elongation (%)	Elastic Modulus (GPa)
<b><math>\alpha</math>-type</b>				
CP Ti grade 1 (annealed)	240	170	24	102.7
CP Ti grade 2 (annealed)	345	275	20	102.7
CP Ti grade 3 (annealed)	450	380	18	103.4
CP Ti grade 4 (annealed)	550	485	15	104.1
<b><math>\alpha+\beta</math>-type</b>				
Ti-6Al-4V ELI (annealed)	860-965	795-875	10-15	101-110
Ti-6Al-4V (annealed)	895-930	825-869	6-10	110-114
Ti-6Al-7Nb (wrought)	900-1050	880-950	8.1-15	114
Ti-5Al-2.5Fe (cast)	1020	895	15	112
<b><math>\beta</math>-type</b>				
Ti-13Nb-13Zr (aged)	973-1037	836-908	10-16	79-84
Ti-12Mo-6Zr-2Fe (annealed)	1060-1100	1000-1060	18-22	74-85
Ti-15Mo (annealed)	874	544	21	78
Ti-15Mo-5Zr-3Al (solution treated/aged)	852-1100	838-1060	18-25	80
Ti-35Nb-7Zr-5Ta (annealed)	597	547	19	55
Ti-16Nb-10Hf (aged)	851	736	10	81
Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr (aged)	911	864	13.2	80
Ti-15Mo-2.8Nb-0.2Si (annealed)	979-999	945-987	16-18	83
Ti-24Nb-4Zr-7.9Sn (hot-rolled)	830	700	15	46
Ti-24Nb-4Zr-7.9Sn (hot-forged)	755	570	13	55
Ti-24Nb-4Zr-7.9Sn (selective laser melting)	665	563	14	53
Ti-35Nb-7Zr-5Ta-0.4O (annealed)	1010	976	19	66
Ti <sub>65.5</sub> Nb <sub>22.3</sub> Zr <sub>4.6</sub> Ta <sub>1.6</sub> Fe <sub>6</sub> (sintering/960 °C/0 min)	-	2425	6.91	52



#### 4.2.1.1 Aleaciones alfa y casi alfa

En nuestro presente trabajo, se desarrollará el Titanio poroso dentro de esta clasificación. Estas consisten en los diversos grados de titanio CP y aleaciones Alfa que al recocer muy por debajo de Beta-transus (Figura 2 (a)) contienen sólo pequeñas cantidades de fase Beta (2-5 % en volumen) estabilizadas principalmente con Hierro. La fase Beta es útil para controlar el tamaño de grano Alfa recristalizado y mejora la tolerancia al hidrógeno de estas aleaciones (Men & Pablo, 2019).

Estas aleaciones contienen elementos tales como Al y Sn. Estos elementos estabilizadores actúan ya sea inhibiendo cambios en la temperatura de transformación de fase o causando un incremento en la misma.

Las aleaciones Alfa generalmente tienen resistencia al creep superior a las aleaciones Beta, y son preferidas para aplicaciones de alta temperatura. También poseen ausencia de transición frágil-dúctil, el cual es una característica de las aleaciones que las hacen adecuadas para aplicaciones criogénicas.

Los cuatro grados diferentes de titanio CP difieren con respecto a su contenido de oxígeno de 0,18 % (grado 1) a 0,40 % (grado 4) para aumentar el nivel de tensión de fluencia (180-480 MPa, respectivamente).

Las aleaciones Alfa son caracterizadas por su satisfactoria resistencia, tenacidad, y soldabilidad, pero con peor forjabilidad que las aleaciones Alfa + Beta o Beta. Esta última característica resulta en una mayor tendencia a los defectos de forja, pequeñas reducciones y frecuente recalentamiento puede minimizar estos problemas. A diferencia de las aleaciones Alfa + Beta y Beta, las aleaciones Alfa no pueden ser endurecidas por tratamiento térmico. La mayoría de ellas son usadas en la condición de recocido o recristalización para eliminar la tensión residual causado por el trabajo (Men & Pablo, 2019; Lucci & Aldet, 2020).

##### *4.2.1.1.1 Características químicas de las aleaciones Alfa*

Todas las aleaciones de Titanio Alfa se basan en la forma alotrópica hexagonal de baja temperatura del Titanio. Los elementos que estabilizan esta fase son solubles en la fase hexagonal, ya sea como elementos de aleación sustitucionales (Al o Sn) o elementos intersticiales (O, N o C). Estas aleaciones también contienen



cantidades limitadas de elementos que tienen solubilidad limitada en dicha fase, como Fe, V y Mo, que estabilizan la fase Beta (Men & Pablo, 2019).

Tabla 3 Aleaciones de titanio Alfa y sus composiciones químicas

Grade or Alloy	O (max.)	Fe (max.)	Other Additions	$\sigma_{0.2}$ (MPa)
<b>CP Titanium</b>				
CP Titanium Grade 1	0.18	0.20		170
CP Titanium Grade 2	0.25	0.30		275
CP Titanium Grade 3	0.35	0.30		380
CP Titanium Grade 4	0.40	0.50		480
Ti-0.2Pd (Grade 7)	0.25	0.30	0.12-0.25Pd	275
Ti-0.2Pd (Grade 11)	0.18	0.20	0.12-0.25Pd	170
Ti-0.05Pd (Grade 16)	0.25	0.30	0.04-0.08Pd	275
Ti-0.05Pd (Grade 17)	0.18	0.20	0.04-0.08Pd	170
Ti-0.1Ru (Grade 26)	0.25	0.30	0.08-0.14Ru	275
Ti-0.1Ru (Grade 27)	0.18	0.20	0.08-0.14Ru	170
<b><math>\alpha</math> Titanium Alloys</b>				
Ti-0.3Mo-0.9Ni (Grade 12)	0.25	0.30	0.2-0.4Mo, 0.6-0.9Ni	345
Ti-3Al-2.5V (Grade 9)	0.15	0.25	2.5-3.5Al, 2.0-3.0V	485
Ti-3Al-2.5V-0.05Pd (Grade 18)	0.15	0.25	2.5-3.5Al, 2.0-3.0V, (+Pd)	485
Ti-3Al-2.5V-0.1Ru (Grade 28)	0.15	0.25	2.5-3.5Al, 2.0-3.0V, (+Ru)	485
Ti-5Al-2.5Sn (Grade 6)	0.20	0.50	4.0-6.0Al, 2.0-3.0Sn	795
Ti-5Al-2.5Sn ELI	0.15	0.25	4.75-5.75Al, 2.0-3.0Sn	725

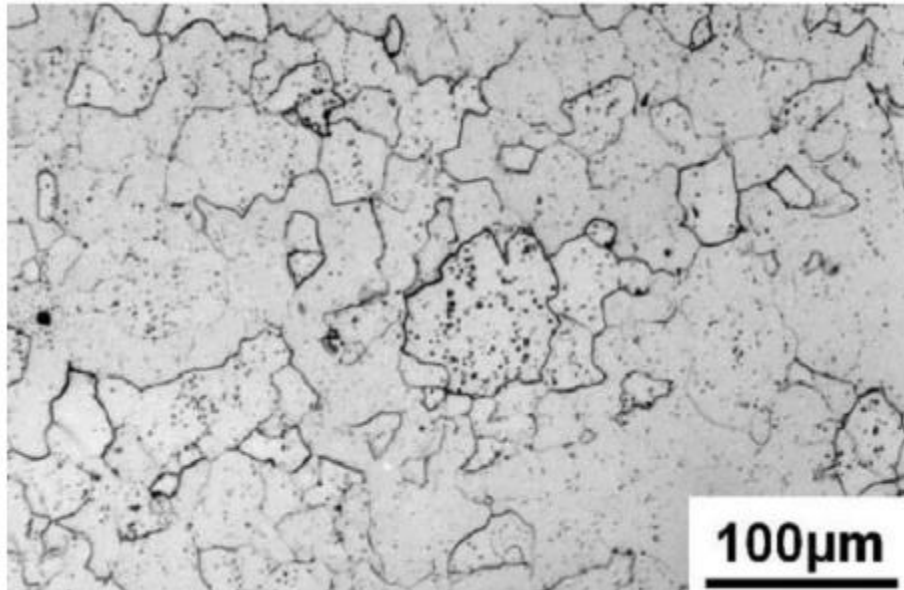
\*For all grades shown, typical values of C and N are 0.08-0.10 and 0.03-0.05, respectively

Las aleaciones de Titanio de pureza comercial (Ti-CP) exhiben una resistencia a la corrosión sobre las otras aleaciones, cuyas aplicaciones en procesos químicos o petroquímicos derivan de esta cualidad, en cambio, en términos de resistencia, es una característica secundaria en aspectos de selección (James, 1998; Men & Pablo, 2019).

#### 4.2.1.1.2 Características micrográficas de aleaciones Alfa

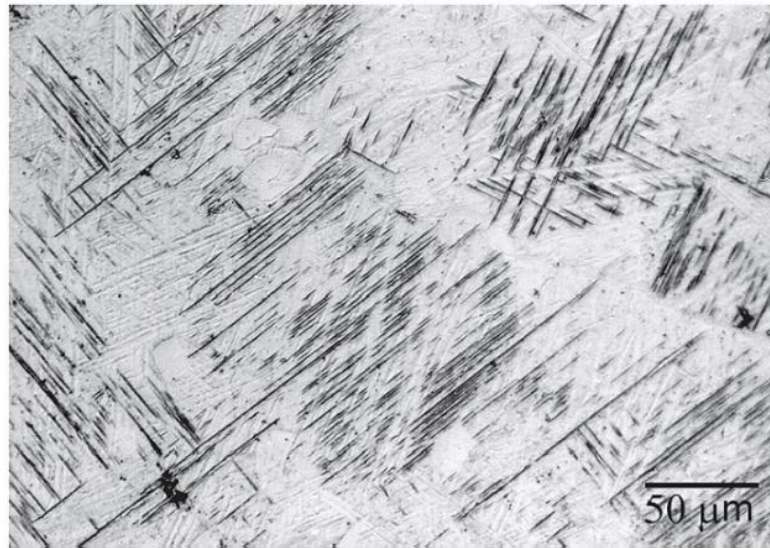
La microestructura de las aleaciones Alfa después del procesamiento consiste en granos Alfa recristalizados con fase Beta dispersa (Figura 3). Esta fase Beta está presente porque siempre hay una pequeña cantidad de Fe presente en todos los grados de Ti-CP. El Fe tiene una solubilidad muy baja en la fase Alfa y, por lo tanto, es expulsada para formar la fase Beta, ya sea durante la solidificación o en enfriamiento posterior. Esta fase Beta permanece estable hasta temperatura ambiente. El contenido típico de Fe depende del grado de Ti-CP y aumenta a medida que aumenta el número de grado. El Fe está presente como una adición

aleante deliberada porque la fase Beta fija los límites del grano Alfa y ayuda a controlar el tamaño del grano durante la recristalización (Men & Pablo, 2019).



*Figura 3 Micrografía óptica dispersión de la fase Beta estabilizada con Fe en CP titanio grado 3 (0,15 % Fe)*

Un enfriamiento rápido desde temperaturas superiores a la temperatura de Beta-transus producen una microestructura martensítica con celda hexagonal (Figura 4), denominada fase Alfa', en la que los granos originales de fase Beta quedan perfectamente delimitados. La martensita se forma por una transformación masiva, por lo que, si bien la densidad de dislocaciones es elevada, casi no hay presencia de maclas. A diferencia de los aceros, el efecto de endurecimiento producido por la martensita es reducido, debido al gran tamaño de grano y a la inexistencia de supersaturación por átomos intersticiales (Cantero & Roure, 2017).



*Figura 4 Microestructura martensítica del titanio cp de grado 3*

La tercera microestructura (Figura 5) se obtiene por enfriamiento lento desde temperaturas superiores a la de Beta-transus, lo que da lugar a que la fase alfa se forme en forma de placas llamadas placas Widmanstätten. En titanio de alta pureza esta estructura se conoce como fase Alfa cerrada, mientras que la presencia de impurezas produce un efecto de placas en forma de cesta (James, 1998; Lucci & Aldet, 2020).



*Figura 5 Microestructura Widmanstätten del titanio cp de grado 3*



### **4.2.2 Aplicaciones generales y biomédicas de Titanio**

Las aplicaciones que se destacan en el titanio, son las aeroespaciales, principalmente para la fabricación de componentes estructurales, motores jet o turbinas.

- Por su resistencia a la corrosión, se lo utiliza para procesos químicos, industria de la pulpa, y del papel, aplicaciones marinas y en la producción y almacenaje de energía.
- Aplicaciones especiales que utilizan propiedades únicas, tal como su superconductibilidad (aleado con niobio) y el efecto memoria de forma (aleado con Ni).
- Nuevas áreas de aplicación donde la alta resistencia específica del metal es importante, tales como industria del automóvil y el transporte en general.
- Aplicaciones de consumo masivo tales como cámaras fotográficas, joyas, relojes, instrumentos musicales e implementos deportivos.

*Tabla 4 aplicaciones generales del Titanio*

Área de aplicación	Usos típicos
<b>Aeroespacial</b>	Carcasas de motores de cohetes, tanques de combustible
<b>Fuselajes</b>	Accesorios, pernos, vigas del tren de aterrizaje, cajas de ala, marcos de fuselaje, pistas de aletas, pistas de listones, conjuntos de frenos, paneles de fuselaje, soportes de soporte del motor, componentes del tren de aterrizaje, álabes de guía de entrada, orejetas de pivote de ala, quillas, cortafuegos, carenados, tubería hidráulica, conductos de deshielo, piezas SPF
<b>Motores</b>	Discos y palas de compresor, discos y palas de ventilador, carcasas, carenados de postcombustión, anillos de brida, espaciadores, pernos, tubería hidráulica, conductos de aire caliente, cubos de rotor de helicóptero
<b>Procesos químicos</b>	Tanques de almacenamiento, agitadores, bombas, columnas, marcos, cribas, mezcladores, válvulas, reactores presurizados, filtros, tuberías, intercambiadores de calor, electrodos y cestas de ánodos para electrólisis de metales y cloro-álcali
<b>Biomedicina</b>	Prótesis de articulaciones de cadera y rodilla, placas óseas, tornillos y clavos para fracturas, carcasas de marcapasos, válvulas cardíacas, instrumentos, dentaduras postizas, audífonos, separadores centrífugos de sangre de alta velocidad, sillas de ruedas, bombas de insulina
<b>Industria automotriz</b>	Bielas, válvulas, resortes y retenedores de válvulas, cigüeñales, árboles de levas, ejes de transmisión, barras de torsión, conjuntos de suspensión, resortes helicoidales, componentes de embrague, cubos de rueda, sistemas de escape, juntas de rótula, engranajes
<b>Superconductores</b>	Alambrón de aleaciones Ti-Nb para la fabricación de potentes electroimanes, rotores para generadores superconductores

#### 4.2.2.1 Aplicaciones del Titanio poroso

Un material poroso es aquel que posee, de manera medida, en su volumen espacios vacíos para disminuir peso, rigidez, mejorar la absorción de líquidos o gases, etc.

El Titanio poroso posee muchas aplicaciones, y éstas se diferencian con el tamaño de poro y densidad de poros que se necesitan para dicha aplicación (Figura 6). Esta estructura se obtiene mediante procesos pulvimetalúrgicos, como impresión 3D o gel casting (Pałka et al., 2019).

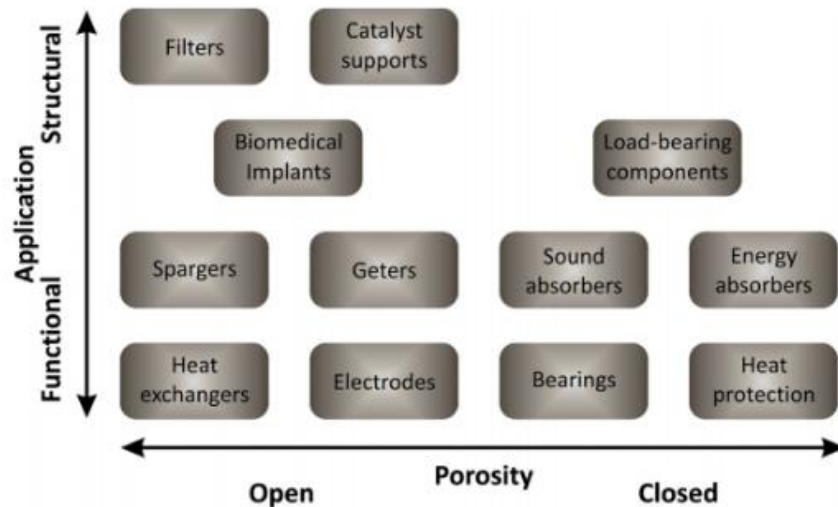


Figura 6 Aplicación del titanio poroso según su densidad de poros

- En la medicina, se utiliza Titanio poroso para mejorar las reacciones superficiales que garantizan el crecimiento óseo y la estabilidad mecánica (Figura 7).

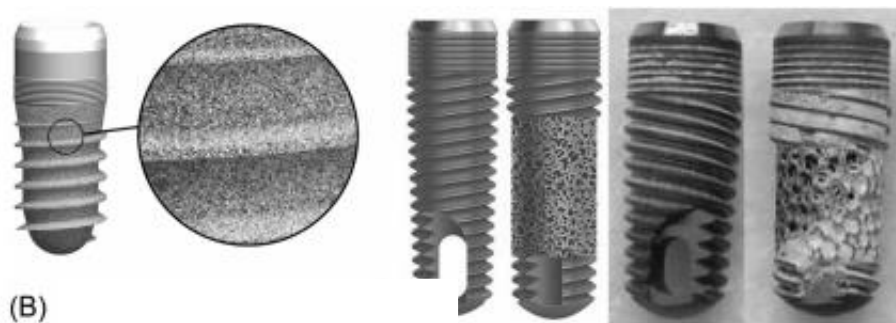


Figura 7 Implantes dentales con titanio poroso

- En la industria aeroespacial, los materiales porosos tienen una alta capacidad para absorber la energía del impacto debido a la deformación plástica de las paredes y puntales de la estructura. Aprovechando también la baja densidad del Titanio y resistencia a la corrosión.
- Para la industria automotriz, con una idea similar a la aplicación aeroespacial, se utiliza principalmente para la reducción de peso, reducción de vibraciones y de sonido. Pero resulta más económico utilizar Aluminio que Titanio.
- Para filtros (Figura 8), dispositivos de detección de gases, rociadores, aireadores, y captadores de gases debido a su resistencia a la corrosión.

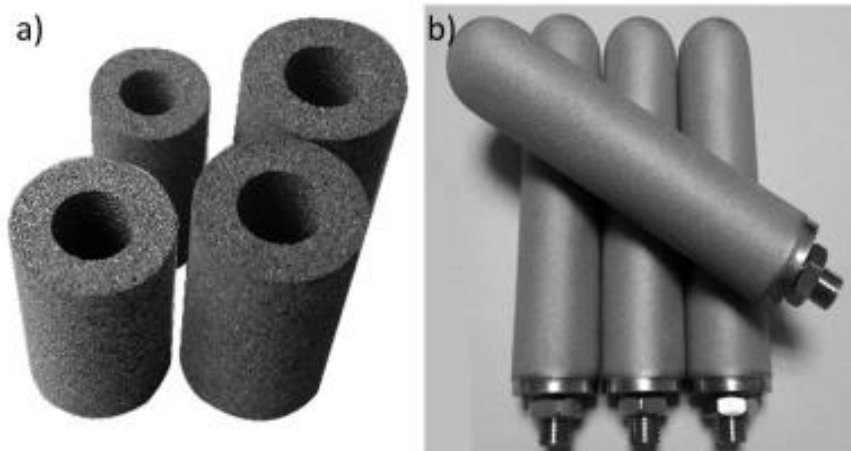


Figura 8 (a) tubos y tuberías (b) cartuchos de filtro

- Portadores de catalizador, se los utilizan para procesos electroquímicos o reactores foto electroquímicos.



#### 4.2.2.2 Aplicaciones biomédicas del titanio

El titanio y sus aleaciones presentan excelente biocompatibilidad (la mejor de los metales), osteointegración, balance de propiedades mecánicas, resistencia a la corrosión y baja densidad, características destacables como material biomédico (Colazo & Bocco, 2017). Su resistencia a la corrosión, provista por una capa pasiva adherente de óxido de titanio ( $TiO_2$ ), que excede significativamente las del acero inoxidable y de las aleaciones de cobalto. La corrosión uniforme en soluciones salinas es extremadamente limitada y la resistencia a la corrosión al picado, la intergranular y la de rendija son excelentes (Lascano, 2013). El óxido se distribuye en una densa película de entre 5-10 nm que protege al metal de los ataques químicos, incluyendo el de los agresivos fluidos corporales. Actualmente tiene alta relevancia la utilización de aleaciones de titanio en la fabricación de implantes ortopédicos (Figura 9) por ejemplo, prótesis artificiales de cadera y de rodilla, dispositivos de osteosíntesis como placas para unir fracturas de huesos y como implantes dentales y coronas, puentes y dentaduras postizas (Gil Mur, 2018).

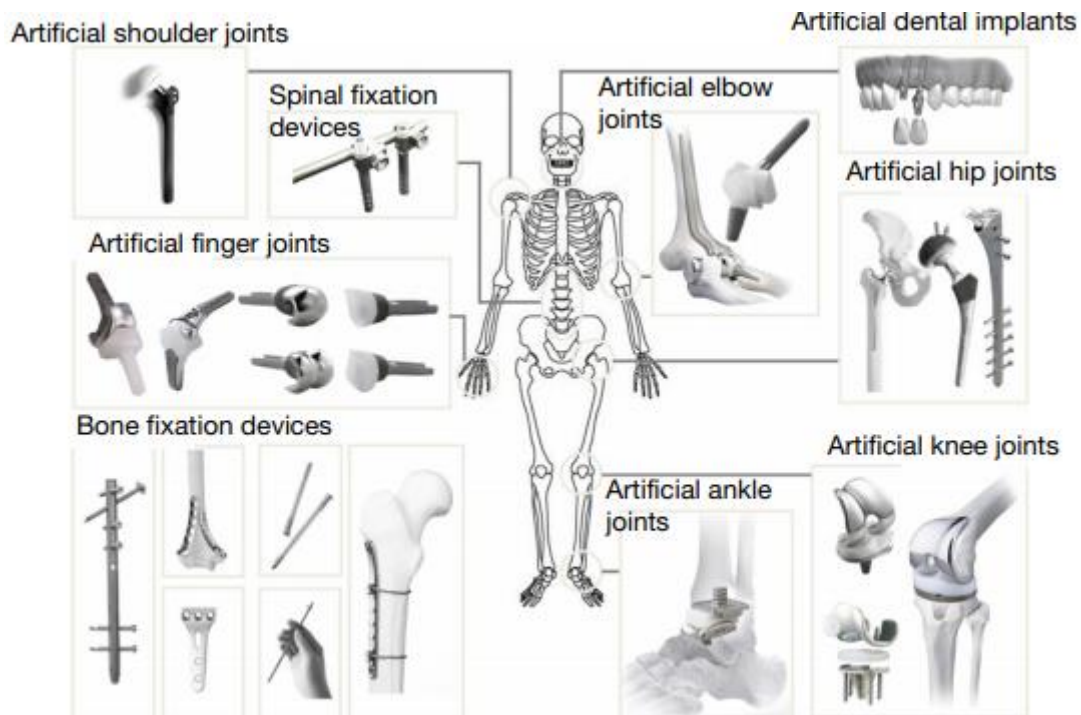


Figura 9 ejemplos de implantes ortopédicos de titanio



El Nitinol para una composición equiatómica (50 % at. Ni-50 % at.Ti) la fase es la que da lugar a la transformación martensítica involucrada en los efectos de memoria de forma y Superelástico, se aplica para la fabricación de stents y brackets (Gil Mur, 2018). El titanio-CP (ASTM F67) es usado muy extensivamente en implantes dentales, pero es usado primariamente en cirugía ortopédica para formar revestimientos porosos que son sinterizados sobre los componentes de aleaciones de titanio para los reemplazos articulares (Colazo & Bocco, 2017).

Las aplicaciones biomédicas de Titanio (Tabla 5) estaban dadas por su estabilidad mecánica y biológica con el cuerpo humano. La aleación de Titanio más común que se utilizaba en aplicaciones ortopédicas fue la aleación de titanio-aluminio-vanadio (ASTM F136). Los elementos primarios de la aleación son el aluminio y el vanadio que están limitados a 5,5-6,5 % en peso y 3,5-4,5 % en peso, respectivamente, de modo que la aleación es frecuentemente llamada Ti-6Al-4V o simplemente Ti-6-4 (Colazo & Bocco, 2017). Esta aleación se dejó de utilizar por la presencia del Aluminio y el Vanadio, estos elementos son tóxicos y producen irritación, por lo tanto se fueron reemplazando estos aleantes por otros elementos por ejemplo el vanadio fue reemplazado por Hierro, Niobio o Molibdeno, y en el caso del Aluminio se reemplazó por Tantalio, Hafnio o Zirconio (Pałka et al., 2019).

Con el paso del tiempo, se fue reemplazando primero el Vanadio y luego el Aluminio hasta obtener aleaciones libre de Vanadio y Aluminio, las aleaciones que se aplican son, en general, aleaciones Alfa + Beta por ejemplo Ti - 15Sn - 4Nb - 2Ta - 0.2Pd, Ti - 15Zr - 4Nb - 2Ta - 0.2Pd, etc; y Titanio de pureza comercial Alfa (Niinomi, 2019).

Una desventaja de la aleación de titanio es su sensibilidad a las muescas. Una concentración de tensión producida por la ralladura o por el uso de pinzas reduce la vida útil de la componente causada por fatiga (Colazo & Bocco, 2017).



Tabla 5 aplicaciones biomédicas del titanio

Campo médico	Ejemplos	
<b>Implantes ortopédicos</b>	Vástagos femorales de cadera Carcasa acetabular con respaldo de metal Tornillos y placas de fijación de fracturas	Componentes espinales Clavos intramedulares Implantes maxilofaciales
<b>Implantes cardiovasculares</b>	Válvulas cardíacas protésicas Marcapasos y desfibriladores Puerto de acceso vascular Filtros de vena cava	Anillo de anuloplastia Dispositivos de asistencia ventricular izquierda Stents vasculares Clips para recipientes
<b>Aplicaciones dentales</b>	Implantes cigomáticos Soportes Implantes dentales	Estructura dental de metal fundido Casquillos de titanio Arcos de ortodoncia
<b>Implantes neurológicos y sensoriales</b>	Dispositivo auditivo anclado al hueso Neuroestimuladores	
<b>Implantes respiratorios</b>	Laringe artificial Reparación del tabique nasal	
<b>Implantes gastrointestinales</b>	Sistema de gestión de reflujo LINX	
<b>Otros implantes</b>	Bombas de infusión de fármacos implantables	



## 4.3 Procesos de fabricación de implantes de titanio

Los métodos tradicionales de fabricación del titanio y sus aleaciones están basados en la fusión (procesos de microfusión). La reactividad del titanio y de sus elementos de aleación hace que las técnicas de fundición y colada sean muy complejas y la incorporación de impurezas debidas al contacto con el crisol y con el molde cuando el metal está aún en estado líquido, hacen necesario la utilización de equipamiento muy especial (James, 1998; Lucci & Aldet, 2020).

Con respecto a los procesos de forja, el estado de colada de los lingotes es sensible a las fracturas por lo que la deformación inicial se realiza normalmente por un forjado en caliente. El titanio CP y la mayoría de sus aleaciones al estado recocido, tienen limitada capacidad para la deformación en frío, pero esta cualidad mejora a medida que aumentamos el contenido Beta en las aleaciones, ya que la estructura cristalina cúbica centrada en el cuerpo exhibe mejor conformabilidad que la estructura hexagonal (Lucci & Aldet, 2020).

También, sobre los 550 °C el titanio puede absorber oxígeno y formar incrustaciones de óxidos y capas subsuperficiales frágiles que podrían constituir el inicio de fracturas superficiales. El titanio también absorbe hidrógeno por lo que debería asegurarse que la atmósfera del horno debe ser al vacío o libre de hidrógeno y oxígeno (James, 1998).

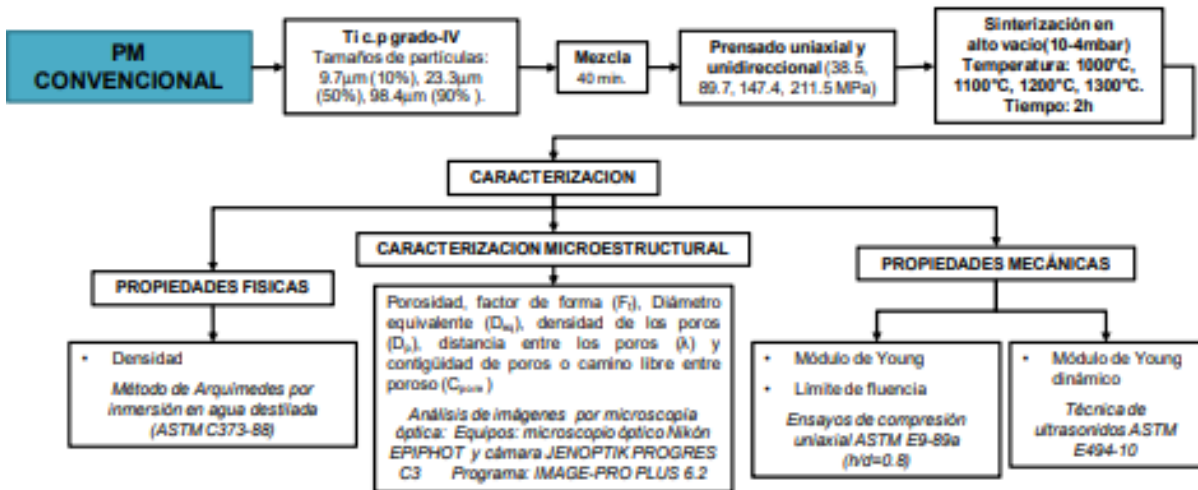
### **4.3.1 Procesos de forja y fundición**

Los procesos de fabricación involucrados para implantes son varios, pueden ser obtenidos por forja, fundición o por pulvimetalurgia. Dentro de los procesos de forja tenemos el forjado preciso en caliente, se lo utiliza principalmente para obtener formas precisas con tolerancias estrechas, se obtienen piezas de Titanio y aleaciones Cr-Co-Mo (ASTM F-90, ASTM F-799 y ASTM F-562); y luego tenemos forjado isotérmico para implantes de Titanio (Shah Sanjay, 1996). En los procesos de fundición tenemos el proceso de fundición por poliestireno expandible, se utiliza para obtener implantes o componentes de acero quirúrgico o aleaciones de Cr-

Co-Mo; y el proceso de fundición por cera perdida, que nos da un buen acabado superficial (Oltra, 2015).

### 4.3.2 **Procesos Pulvimetalúrgicos**

Estos métodos se emplean para la fabricación de implantes cerámicos, metálicos o cerámicos-metálicos, permitiendo obtener así piezas de dimensiones con tolerancias exigentes, buena terminación superficial y formas complejas. En detalles generales, consiste en comprimir un polvo en un molde con la forma del implante o pieza buscada. El comprimido que se obtiene tiene forma propia y características mecánicas pobres, aunque las suficientes para poder ser manipulado. Seguidamente se le debe efectuar el sinterizado que permite obtener, de los polvos compactados, un cuerpo sólido gracias a la unión de las partículas a través del mecanismo de difusión entre ellas. La selección del polvo de inicio constituye una etapa crítica porque de su calidad dependerán las propiedades mecánicas finales del implante (Pasche, 1996).



Esquema 1 Proceso pulvimetalúrgico convencional

En la actualidad, las nuevas tecnologías de impresión 3D permiten la fabricación de implantes a dimensiones acorde al paciente que requiera el reemplazo, evitando pérdidas de calidad que provienen de los métodos convencionales de forja o fundición y luego mecanizado. La impresión 3D incluye



un buen número de tecnologías de fabricación por adición como deposición de hilo, sinterizado láser, fusión por haz de electrones, etc. Y se utilizan materiales plásticos como ABS o Nylon, y metálicos como acero inoxidable, aleaciones de cromo-cobalto o de titanio (Duffo, 2011; Muñoz, 2012).

#### 4.3.2.1 Proceso Gel - Casting

Los materiales avanzados, como los cerámicos y superaleaciones, muestran algunas propiedades superiores en comparación con los tradicionales metales y sus respectivas aleaciones. Sin embargo, el mayor costo y la limitación de la forma dificultan un mayor desarrollo y una aplicación más amplia de la cerámica. Debido a estas limitaciones, se ha desarrollado un nuevo proceso de fabricación de piezas de materiales avanzados para obtener geometrías complejas y a menores costos, la cual se lo denomina Gel-Casting y ha sido desarrollado por el Laboratorio Nacional de Oak Ridge (ORNL) (Guo, 2011).

Este proceso consiste en la dispersión de un polvo, ya sea metálico o cerámico, en una solución acuosa de monómero para formar un fluido en suspensión, moldeable que posteriormente se gelifica en el molde. El resultado es un cuerpo homogéneo húmedo con densidad y propiedades químicas uniformes, que contiene un bajo porcentaje de aglutinante orgánico. Después del secado, tienen lugar la eliminación del aglomerante y luego la sinterización. Las propiedades del material, después de la sinterización, son constantes en todo el cuerpo (Cantero & Roure, 2017).

Una cuestión importante es el contenido de sólidos en la suspensión de polvos, en donde un mayor contenido de sólidos en la misma puede proporcionar muchas más posibilidades de obtener una mayor densidad de los productos cerámicos finales. Además, la carga de sólidos se puede controlar al nivel deseado. Por lo tanto, el método para obtener productos finales con buen desempeño es producir una suspensión de polvos con baja viscosidad de manera que la misma sea fluida y con la mayor carga de sólidos posible. De esta manera, al tener una mayor carga de sólidos puede reducir la contracción del cuerpo verde durante el secado y la sinterización, que, a su vez, una contracción más baja



disminuirá la posibilidad de problemas de agrietamiento y deformación del componente. En general, se desea una alta carga de sólidos en Gel-Casting.

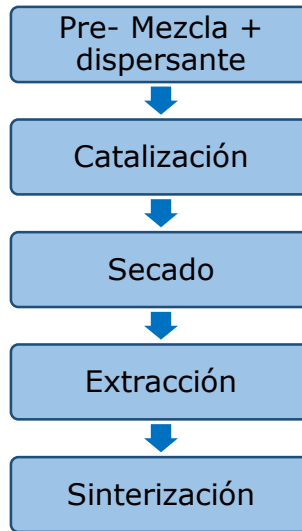
Sin embargo, la suspensión de polvos con una carga de sólidos demasiado alta normalmente conduce a una viscosidad más alta, lo que provoca dificultades para verter la misma en el molde y para que adopte la geometría del mismo. La suspensión de polvos con al menos 50 % en volumen de carga sólida debe tener una buena fluidez, por lo que para obtener una suspensión de polvos fluida con una alta carga de sólidos, se requiere un sistema dispersante apropiado (Guo, 2011).

El proceso de producción mediante la técnica de Gel-Casting cuenta con 3 principales etapas, las cuales se desarrollan a continuación:

- 1- Mezcla del aglutinante para formar la pre-mezcla. En el comienzo del proceso se cuenta con el polvo que se quiere sinterizar junto con el aglutinante o polímero, que va a ser el encargado de conferirle la resistencia adecuada a la muestra en verde. Estos dos polvos se mezclan mediante agitación mecánica o bien manual, de manera tal que queden homogéneamente mezclados, para luego agregarlos al medio líquido y formar la pasta buscada.
- 2- Agregado del líquido o monómero en cuestión para lograr obtener una suspensión. Luego de obtener la pre-mezcla, se procede a mojar la misma y generar que queden en suspensión. Una vez obtenida la suspensión (en forma de pasta), se la coloca en un molde con la forma deseada y se deja secar.
- 3- Obtención de la pieza. Como se ha mencionado anteriormente, una vez obtenida la pasta en el proceso anterior, se procede a colarla en un molde con la forma adecuada, donde la misma va a ser solidificada. Se le suele insuflar gas nitrógeno para desairear la muestra previamente a ésto. Luego se la deja secar a temperatura ambiente. Una vez que se encuentre seca completamente la pieza, se procede a desmoldarla, ya con la forma requerida para ser posteriormente sinterizada (Cantero & Roure, 2017).



Los métodos de fabricación por Gel-Casting pueden ser de diversas maneras, por lo que las tres etapas desarrolladas anteriormente son generales. En el siguiente Esquema 2, se puede apreciar la metodología de fabricación por Gel-Casting.



*Esquema 2 Metodología de fabricación por Gel-Casting.*

Existen algunos puntos diferentes entre el proceso de Gel-Casting y otros procesos de fabricación tradicionales. Estas diferencias le permiten obtener varias ventajas en la producción con respecto a los demás procesos de fabricación, las cuales tenemos (Cantero & Roure, 2017; Guo, 2011):

- Capacidad de producir piezas complejas, lo que elimina la limitación en cuanto al diseño de las piezas a producir.
- Bajo costos de inversión. Como este proceso no está muy lejos de la fabricación tradicional de cerámica, significa que el equipo necesario para el Gel-Casting no necesita uno nuevo. Los equipos para la técnica de conformado convencional se pueden utilizar en el mismo.
- Uso de materiales económicos para moldes.
- Capacidad de producción masiva.
- La alta resistencia en verde y la buena maquinabilidad en verde dan un punto fuerte en competencia con otros procesos de conformado
- Propiedades homogéneas.





- Fácil remoción del aglutinante (debido a su bajo contenido).
- Permite su aplicación tanto para cerámicos como para metales.

En la siguiente tabla se realiza una comparación entre el proceso de Gel-Casting y otros procesos de fabricación, pudiendo así remarcar las diferencias que poseen y, además, por qué dicho proceso presenta una gran ventaja (Cantero & Roure, 2017; Guo, 2011).

Tabla 6 Comparación de las propiedades del proceso Gel-Casting con otros procesos de fabricación

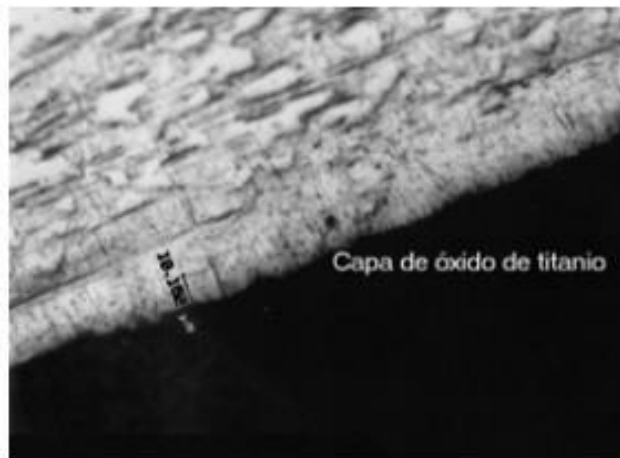
Propiedades	Gel-Casting	Slip-Casting	Injection Molding	Pressure casting
<b>Tiempo de moldeo</b>	5-60 min	1-10 horas	10-60 segundos	10 min - 5 horas
<b>Resistencia en seco</b>	Muy alta	Baja	-----	Baja
<b>Quemado del aglutinante</b>	2-3 horas	2-3 horas	7 días	2-3 horas
<b>Defectos de moldeo</b>	Mínimos	Mínimos	Significativos	Mínimos
<b>Tamaño máximo</b>	> 1 metro	> 1 metro	Aprox. 30 cm (1 dimensión debe ser igual o menor a 1 cm)	Apróx. 1 metro
<b>Deformación durante el secado/quemado del aglutinante</b>	Mínimo	Mínimo	Severo	Mínimo
<b>Materiales del molde</b>	Metal, vidrio, plástico, etc.	Yeso	Metal	Plástico poroso
<b>Secciones gruesas/finas</b>	Ambas normas	Secciones gruesas necesitan mayor tiempo de secado	Problemas con la remoción del aglutinante para secciones gruesas	Secciones gruesas necesitan mayor tiempo de secado

### **4.3.3 Tratamientos superficiales**

Los procesos de recubrimiento se llevan a cabo para mejorar la rugosidad superficial de los implantes y, así, mejorar la adherencia ósea sobre el implante.

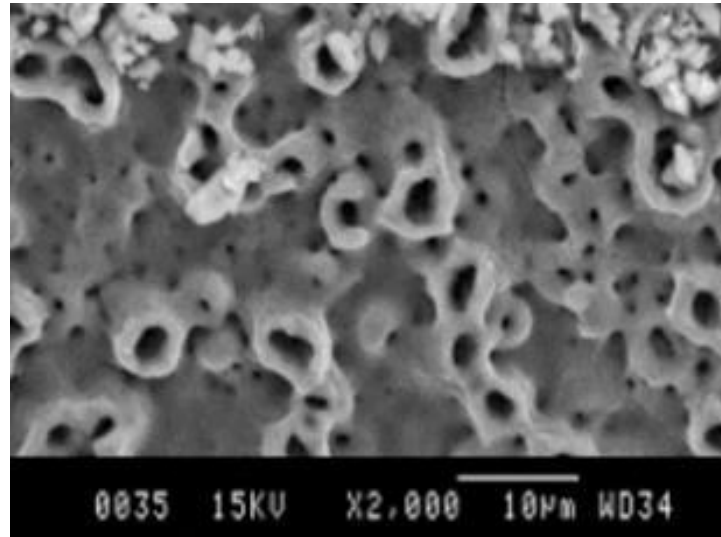
Un método comercial es el "Conexao", que consiste en un ataque ácido al titanio dando una rugosidad superficial levemente mejorada para dicha propiedad, pero no da buenos resultados.

El anodizado es otro método, puede ser químico o electroquímico, y se realiza la inmersión del metal en un ácido oxidante. Por ejemplo, el titanio se sumerge en ácido nítrico, sulfúrico, clorhídrico, entre otros, a una determinada concentración, lo que provoca el crecimiento de la capa de óxido formada en la superficie (Figura 10). Este proceso puede ser ayudado mediante paso de corriente eléctrica en una celda electroquímica que permite tener capas estables de óxido. Este método se aplica para los implantes dentales de Titanio, para otros metales su oxidación en los medios corrosivos por los fluidos de la boca pueden traer enfermedades por la liberación de iones producto de la corrosión (Gil Mur, 2018).



*Figura 10 Micrografía de una capa pasivante de titanio.*

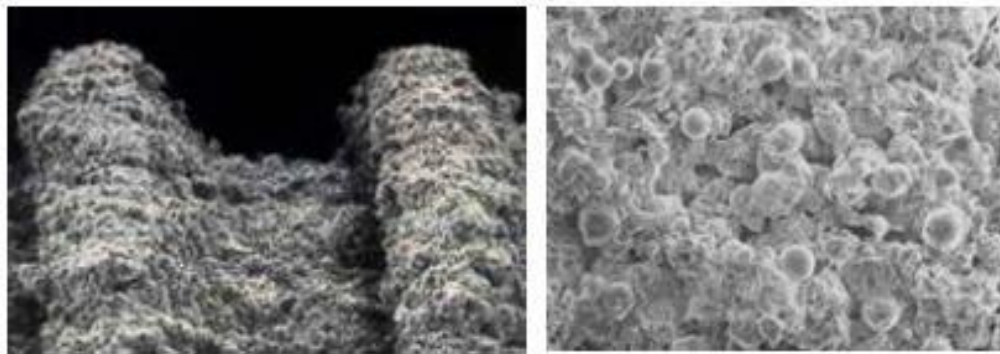
El anodizado electroquímico, con una aplicación muy elevada y súbita del potencial eléctrico para crear una capa de pasivado rugosa (Figura 11), donde se aprecia poros en la estructura. Estos poros son debidos al escape del hidrógeno formado en la reacción electroquímica de alto potencial formando una capa bio-inerte.



*Figura 11 Superficie porosa de Ti Bioinerte*

El método plasma spray y ablación láser se basa en realizar una proyección de plasma de hidroxiapatita sobre el implante dándole una superficie bioactiva (Figura 12). Este proceso se basa en la inyección de polvo de hidroxiapatita en un plasma o chorro de gas ionizado (10.000°C). El chorro de gas lanza el fosfato de calcio hacia el implante, donde se solidifica en la superficie.

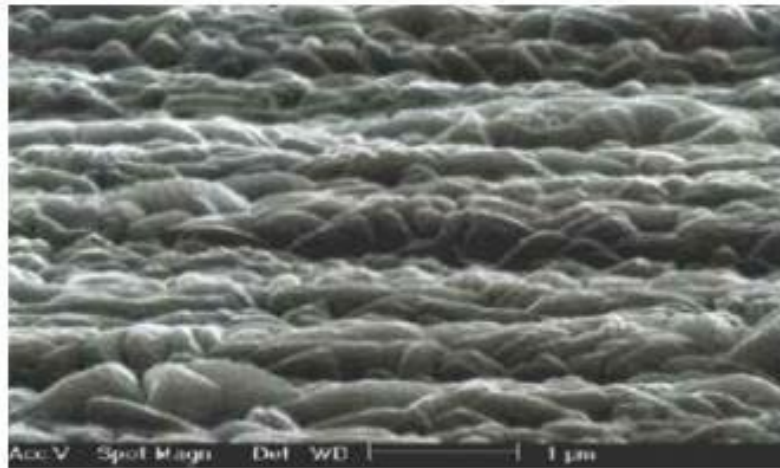
El anclaje del fosfato de calcio es por unión mecánica a la superficie y por ello es necesario realizar un arenado en el implante para tener una rugosidad previa que favorezca la unión (Gil Mur, 2018).



*Figura 12 HAP superficial adherido en un implante de titanio.*



La ablación láser utiliza la radiación láser como fuente de energía para evaporar hidroxiapatita y depositar capas delgadas en el sustrato metálico. La composición química, el grosor de la capa y la cristalinidad son controladas por la energía de la fuente láser. En este procedimiento la velocidad de depósito es menor y se logra una mayor cristalinidad en el fosfato de calcio y, en consecuencia, más insoluble. Asimismo, el recubrimiento se hace a una velocidad más lenta y existe una mayor unión entre la capa bioactiva y el titanio (Figura 13) (Gil Mur, 2018).



*Figura 13 Superficie de HAP adherida por ablación láser.*



## 4.4 Tejido óseo

El hueso es un tejido conectivo especializado que constituye, junto al cartílago, el sistema esquelético. El mismo cuenta con tres funciones principales:

- Función mecánica, donde se constituye como soporte y lugar de inserción de los músculos.
- Función protectora, siendo el tejido de protección para los órganos vitales y la médula ósea.
- Función metabólica, participando en la homeostasis y ejerciendo de reservorio de iones importantes en la misma, como el calcio y el fósforo (Gil Mur, 2018).

### 4.4.1 **Clasificación del hueso**

El hueso puede clasificarse de diferentes maneras, ya sea desde el punto de vista macroscópico estructural, anatómico o de calidad.

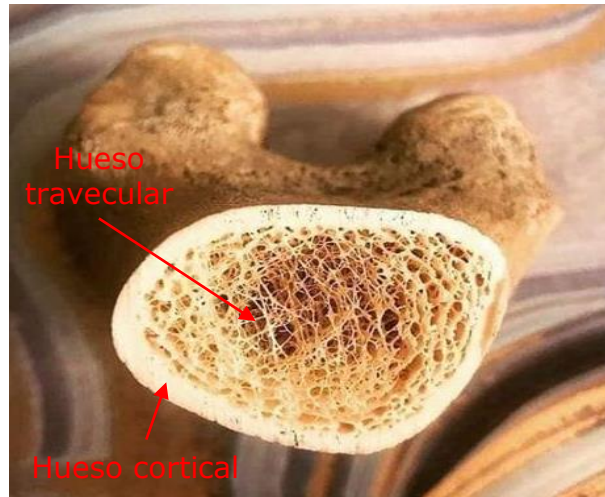
#### 4.4.1.1 Estructura macroscópica

El hueso presenta una estructura compleja conformada por una fase mineral, una fase orgánica y agua, en proporciones que pueden cambiar apreciablemente de un hueso a otro. Esta combinación de fases brinda al hueso tanto dureza como elasticidad.

Al examinar la sección de cualquier hueso, ésta parece compuesta de dos tipos de tejido distintos (Figura 14). Uno es denso en su textura y se denomina hueso cortical o compacto. El otro consiste en finas fibras y laminillas que se unen formando una estructura reticulada denominado hueso trabecular o esponjoso (Gil Mur, 2018).

El hueso cortical se encuentra siempre situado en el exterior de los huesos, mientras que el hueso trabecular en su interior. La relativa cantidad de ambos tipos de tejido varía en función del tipo de hueso y en diferentes partes del mismo según si la fuerza o la ligereza son el requisito principal. Una observación más detallada del hueso cortical, muestra que este tejido es realmente poroso, por lo que la diferencia entre el hueso cortical y el hueso trabecular depende solamente

de la cantidad de materia sólida, y del tamaño y del número de espacios en cada uno.



*Figura 14 Sección del hueso*

Las principales funciones del hueso cortical son mecánicas y de protección. Está calcificado en un 80-90 % de su volumen y representa el 75 % de la masa esquelética total. La sustancia mineralizada se deposita en forma de capas o laminillas. Las fibras de colágeno están muy ordenadas de forma que en cada laminilla todas las fibras de colágeno son paralelas, pero su orientación cambia de una laminilla a la siguiente. Las cavidades lenticulares, llamadas lagunas (Figura 15), están repartidas de forma más o menos regular y albergan cada una un osteocito. De cada laguna surgen canalículos en todas direcciones atravesando las laminillas llegándose a unir con los canalículos de las lagunas vecinas. Estos canalículos permiten la difusión y el intercambio de metabolitos (Gil Mur, 2018; Lacroix, 2019).

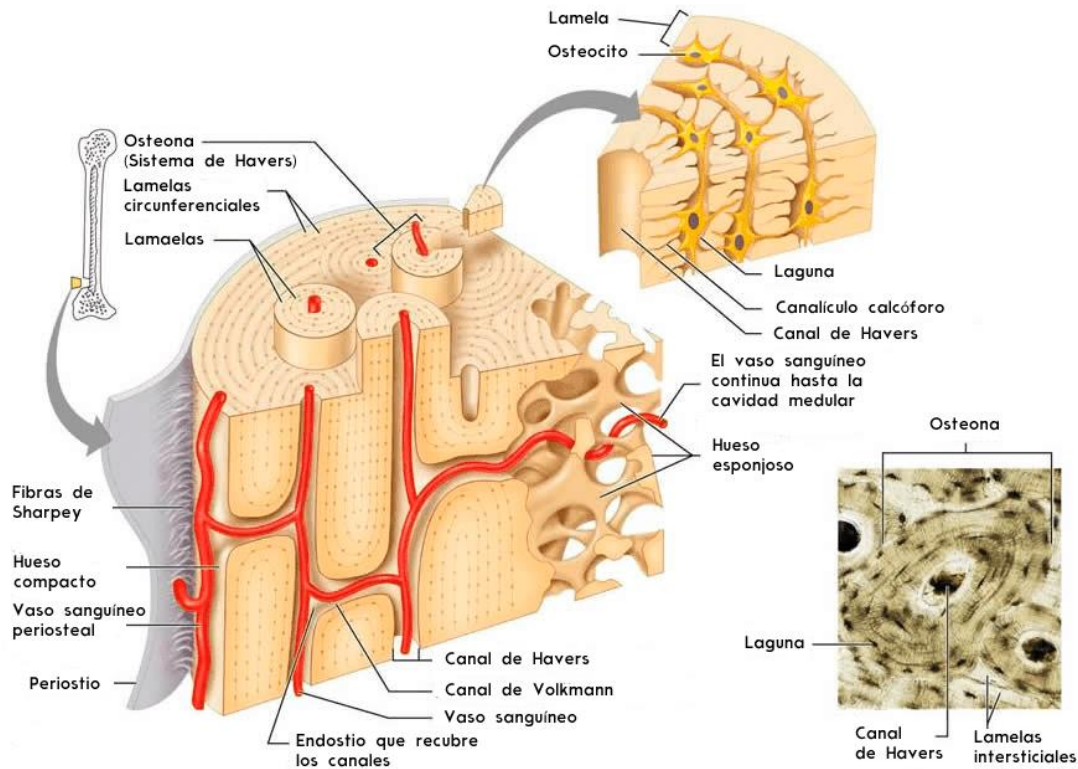


Figura 15 Estructura del Hueso

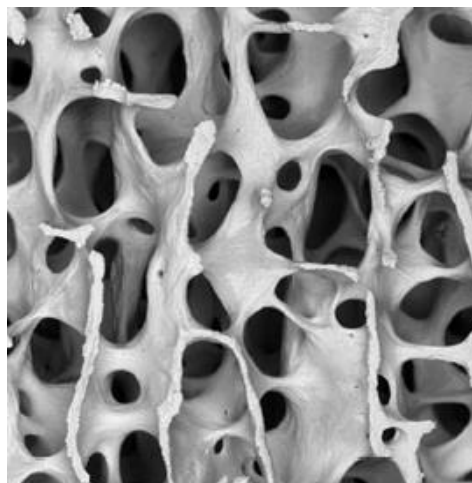
Las laminillas se disponen de tres formas distintas, donde la gran mayoría están dispuestas concéntricamente alrededor de un canal vascular del interior del hueso, formando unidades estructurales cilíndricas llamadas sistemas Haversianos u osteonas. Entre estos sistemas haversianos, hay fragmentos de hueso laminar de forma y tamaño irregular que son los sistemas intersticiales que corresponden a restos de antiguas osteonas. Como consecuencia de la continua reabsorción y deposición de hueso, las osteonas más jóvenes que están en crecimiento fagocitan a las más viejas adyacentes, menos activas. Algunos sistemas de Havers pueden llegar a perder su estructura y aparecen laminillas que no rodean a un canal central. Ambos sistemas están separados por unas líneas nítidamente marcadas llamadas líneas de cemento, compuestas principalmente por sustancia básica calcificada y una cantidad escasa de fibras de colágeno. En la superficie externa del hueso cortical, inmediatamente por debajo del periosteo y sobre su superficie interna, por debajo del endosteo, se encuentran las laminillas circunferenciales externas e internas. Son similares a los sistemas



intersticiales, pero ocupan zonas limitantes del hueso. Su origen se debe a la actividad osteogénica del periosteo y endosteo.

En el hueso compacto se distinguen dos tipos de conductos que contienen vasos y nervios para nutrir a los osteocitos. Los canales de Havers son longitudinales (con un diámetro de 20 a 40  $\mu\text{m}$ ), contienen uno o dos vasos sanguíneos y pasan por el centro de los sistemas haversianos y nutren a los osteocitos de la osteona. Los conductos de Volkmann son canales transversales u oblicuos comunicando los canales haversianos entre sí y también con la cavidad medular. Los vasos sanguíneos se comunican desde el endosteo, y en menor medida desde el periosteo, con los sistemas haversianos a través de los canales de Volkmann.

El hueso trabecular (Figura 16) es el otro tipo histológico de hueso y está constituido por una red delgada de trabéculas. Aporta una cuarta parte de la masa esquelética total, pero dos tercios de su superficie. La principal función del hueso trabecular es metabólica. También tiene laminillas con lagunas ocupadas por osteocitos. La diferencia reside en que, al ser delgadas las trabéculas óseas, los vasos no penetran en ellas y no hay verdaderos sistemas de Havers. Los osteocitos se nutren de los vasos próximos del conjuntivo hematopoyético a través de canalículos (Gil Mur, 2018).



*Figura 16 Estructura del hueso esponjoso*



#### 4.4.1.2 Anatomía

En la mayoría de los vertebrados se distinguen tres tipos de huesos, de los cuales tenemos los huesos largos, huesos planos, y huesos cortos e irregulares.

- Huesos largos: Tienen ambos extremos, denominados epífisis, con formas variables y una zona central, diáfisis, de forma cilíndrica. La transición entre las dos se denomina metáfisis y es de forma cónica. Las epífisis están constituidas por una fina capa de hueso cortical, siendo el interior hueso trabecular con médula ósea roja. La diáfisis consiste en una gruesa capa de hueso cortical en cuyo interior hay inicialmente hueso esponjoso que desaparece con la remodelación, durante el desarrollo del hueso, quedando tejido adiposo que constituye la médula amarilla o tuétano del hueso. Un ejemplo típico son los huesos principales de las extremidades, como el fémur (Figura 17) (Gil Mur, 2018; Colazo & Bocco, 2017).

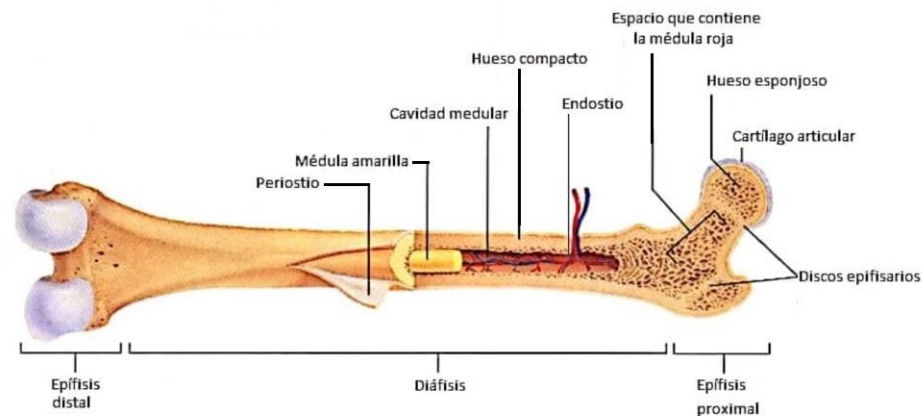


Figura 17 Estructura interna del fémur

- Huesos planos: Formados por dos finas capas de hueso compacto entre las que se encuentra una capa de hueso esponjoso en una estructura tipo sándwich (Figura 18). Se caracterizan por la ausencia de epífisis o de

diáfisis. Ejemplos de huesos planos tenemos las costillas, cráneo, esternón y escápula (Gil Mur, 2018).

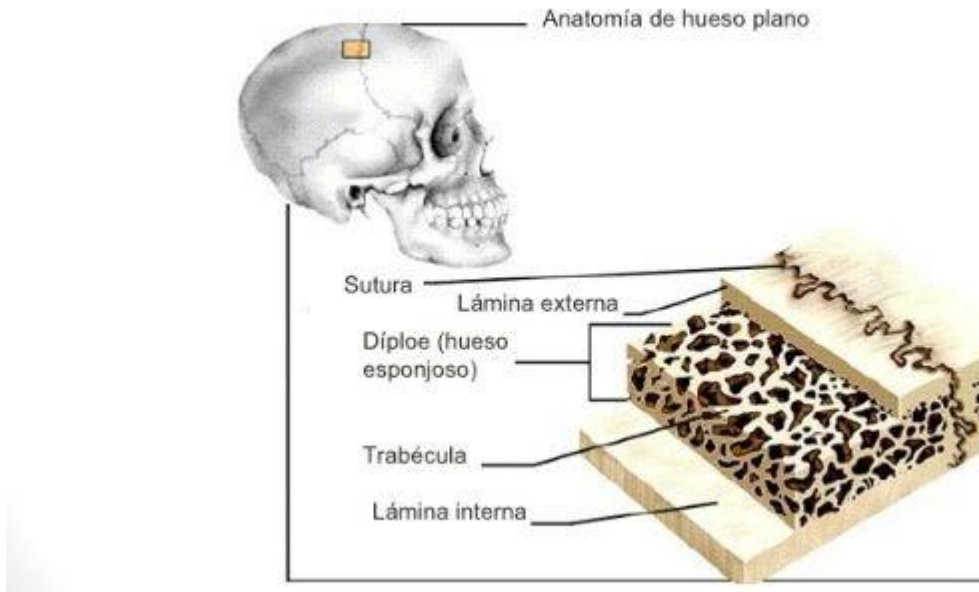


Figura 18 Anatomía del hueso plano

- Huesos cortos y huesos irregulares (Figura 19): La capa externa o cortical es de hueso compacto que rodea una zona central compuesta por hueso trabecular o esponjoso en una estructura similar a la epífisis en los huesos largos. Ejemplos de huesos cortos tenemos los huesos del tarso y carpo. Ejemplos de huesos irregulares son las vértebras y huesos de la cara (Gil Mur, 2018).



Figura 19 Huesos cortos y huesos irregulares

#### 4.4.1.3 Calidad

En este caso, se considera una clasificación respecto a la calidad del hueso del paciente que tenga en consideración el grosor del hueso cortical y su dureza, así como la profundidad hasta la que se debe fresar. Existen múltiples clasificaciones en cuanto a la calidad (Figura 20), donde una de las más utilizadas es la clasificación de Lekholm y Zarb de 1985 (Gil Mur, 2018; Lacroix, 2019).

- Clase 1: El hueso se compone casi exclusivamente de hueso compacto homogéneo.
- Clase 2: El hueso compacto ancho rodea el hueso esponjoso denso.
- Clase 3: La cortical delgada rodea el hueso esponjoso denso.
- Clase 4: La cortical delgada rodea al hueso esponjoso poco denso.

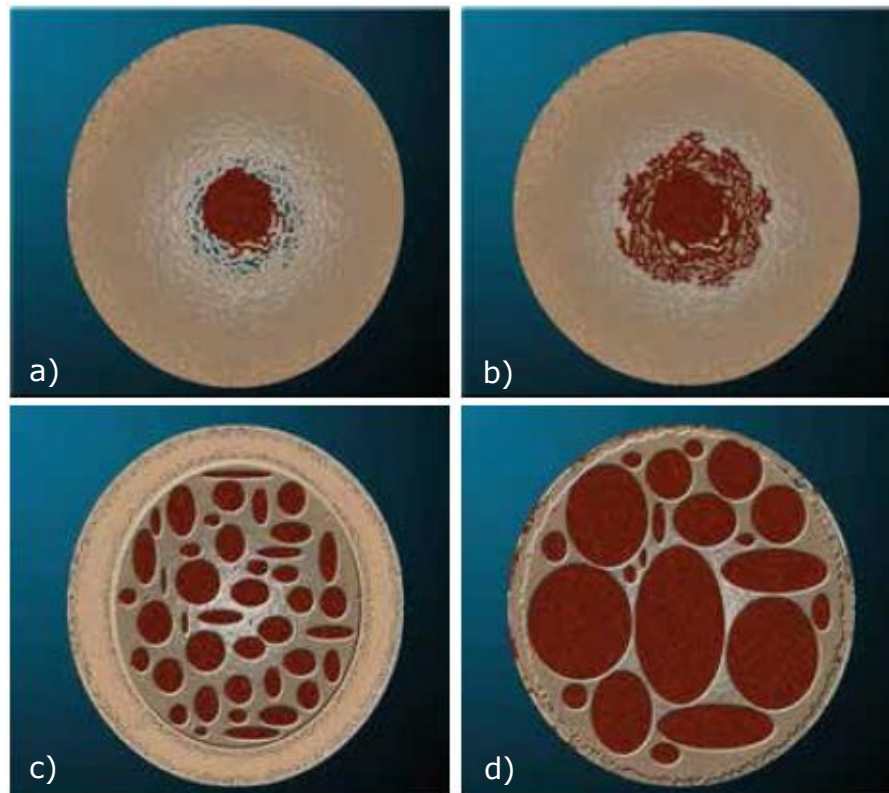
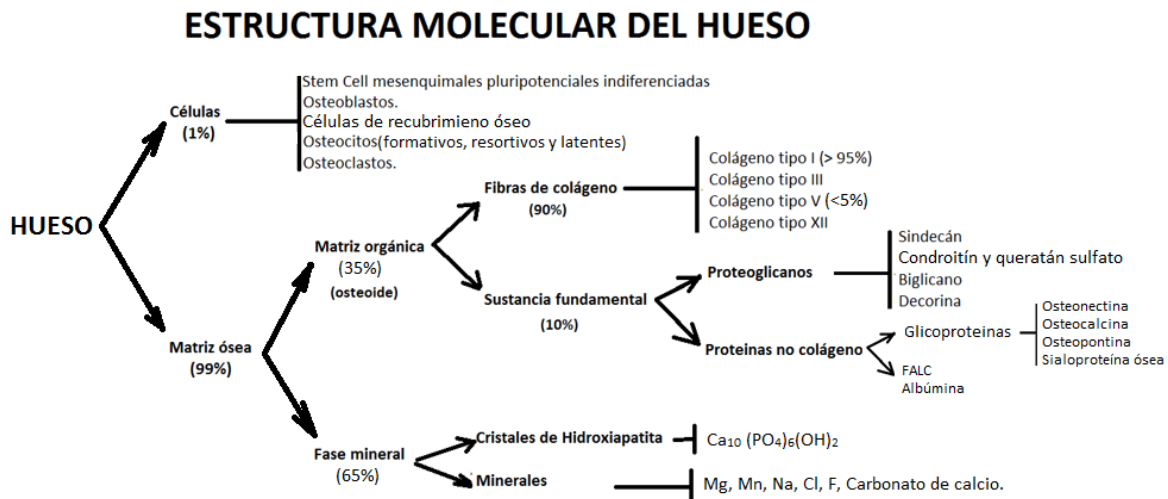


Figura 20 Clases de hueso. a) Clase 1. b) Clase 2. c) Clase 3. d) Clase 4.

#### 4.4.2 Histología del hueso

El hueso es una estructura compleja a nivel microscópico. Las células se encuentran en una matriz ósea. Dicha matriz está compuesta por un componente orgánico en el cual se encuentra embebida la fase mineral formada por cristales de apatita. Las proporciones de las distintas fases pueden variar apreciablemente de un hueso a otro y la combinación de ambas fases es la que brinda al hueso sus especiales propiedades mecánicas de dureza y elasticidad en una estructura relativamente ligera. En el siguiente Esquema 3 se puede apreciar cómo está constituida la microestructura del hueso, yendo desde lo macro a lo micro (Gil Mur, 2018).



Esquema 3 Estructura molecular del hueso

##### 4.4.2.1 Matriz orgánica

La misma constituye el 35 % en peso del hueso y consiste principalmente en un 90 % de fibras de colágeno y otras proteínas no colágenas. El colágeno es la proteína más abundante en el cuerpo. Tal como se observa en la Figura 21 las fibras de colágeno se componen de subunidades denominadas tropocolágeno de 300 nm de longitud y 1,5 nm en diámetro. A su vez, el tropocolágeno está formado por tres hélices levóginas de polipéptidos. La composición de estas hélices es una secuencia con la fórmula Glicina-X-Y, donde X e Y son principalmente prolina e hidroxiprolina respectivamente. El tropocolágeno se ensambla según un patrón

organizado en el interior de la matriz orgánica y regula los sitios de nucleación de la fase mineral del hueso tal como refleja la imagen (Gil Mur, 2018).

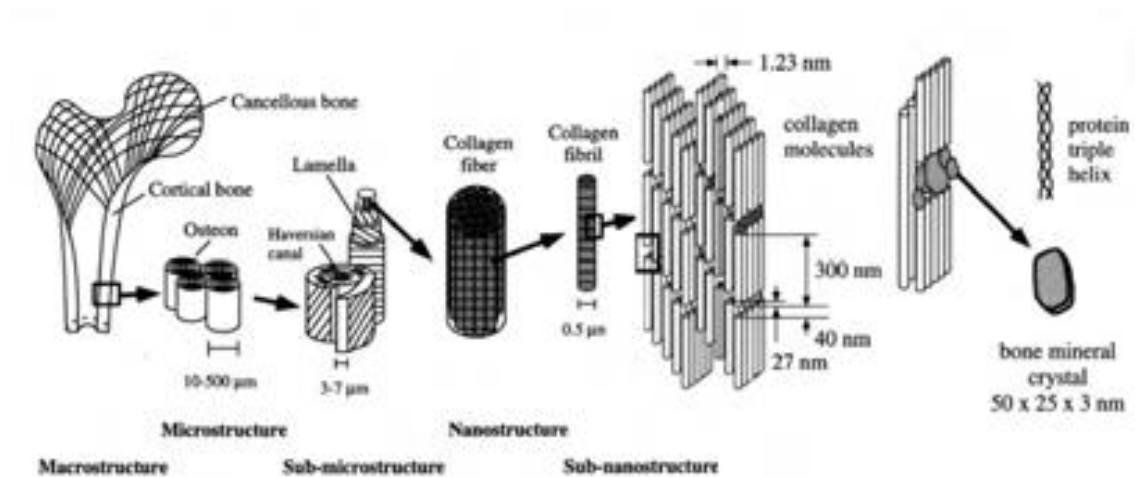


Figura 21 Estructura jerárquica del hueso desde la macroestructura del hueso compacto hasta la microestructura de las fibras de colágeno y cristales de apatita.

Las proteínas no colágenas tienen un papel muy importante en la remodelación ósea, en la osteogénesis e incluyen factores de crecimiento, citoquinas, osteonectina, osteopontina, osteocalcina, sialoproteína, ácido hialurónico, trombospondina, proteoglicanos, fosfolípidos y fosfoproteínas. En la siguiente tabla se describe la principal función de algunas de ellas (Gil Mur, 2018).



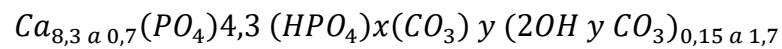
Tabla 7 Proteínas y factores del hueso

Proteína/Factor	Función
<b>Osteopontina</b>	Unión celular, regulación de la mineralización
<b>Sialoproteína</b>	Unión celular, iniciación de la mineralización
<b>Osteonectina</b>	Unión al Ca, interacción fase mineral-colágeno, regulación de la forma de la célula, regulación de la migración celular
<b>Tetranectina</b>	Regulación de la deposición mineral
<b>Trombospontina</b>	Modulación del metabolismo celular, unión al colágeno
<b>Osteopontina</b>	Unión celular, regulación de la mineralización
<b>Sialoproteína</b>	Unión celular, iniciación de la mineralización
<b>Osteonectina</b>	Unión al Ca, interacción fase mineral-colágeno, regulación de la forma de la célula, regulación de la migración celular
<b>Tetranectina</b>	Regulación de la deposición mineral
<b>Trombospontina</b>	Modulación del metabolismo celular, unión al colágeno
<b>Osteocalcina</b>	Regulación de la maduración minera
<b>Fibromodulina</b>	Interactúa con el colágeno del tipo I y II, unión a factores de crecimiento
<b>Osteoglicanos</b>	Unión a TGF- $\beta$
<b>Trombomodulina</b>	Interactúa con el colágeno del tipo I y II, unión a factores de crecimiento
<b>Fibrilina</b>	Anclaje de fibras de elastina
<b>Vitronectina</b>	Adhesión celular
<b>Tenacina</b>	Diferenciación temprana de la mesénquima
<b>Fibronectina</b>	Interacción matriz célula
<b>Prostaglandina</b>	Reabsorción
<b>TGF- <math>\alpha</math> y <math>\beta</math></b>	Diferenciación y síntesis de proteínas
<b>BMP 2-7</b>	Diferenciación y Maduración
<b>Vitamina A</b>	Diferenciación
<b>Vitamina D</b>	Diferenciación, reabsorción, síntesis de proteínas
<b>Albúmina</b>	Trasporte de proteínas, inhibición del crecimiento de la apatita



#### 4.4.2.2 Matriz inorgánica

La fase mineral está constituida principalmente por cristales de apatita deficiente en calcio carbonatada integrados en la matriz de fibras de colágeno del hueso. Los cristales de apatita tienen forma de placa, con un tamaño que varía entre 30-50 nm de longitud por 15-30 nm de ancho. La composición química de la apatita puede ser representada aproximadamente por la siguiente fórmula (Colazo & Bocco, 2017):



#### 4.4.2.3 Matriz ósea

La matriz ósea es la responsable de las propiedades biomecánicas del hueso. Las fibras colágenas le proporcionan flexibilidad y resistencia a la tensión, mientras que las sales minerales le confieren dureza, rigidez y resistencia a la compresión. Así, si el hueso se descalcifica conserva su forma original volviéndose tan flexible que se puede doblar como una pieza de caucho. Si se extrae el componente orgánico del hueso, el esqueleto mineralizado conservará su forma original y cierta resistencia mecánica en compresión, pero se volverá muy frágil fracturándose con facilidad.

En general, el tejido óseo tiene la capacidad de regenerarse y restablecer la continuidad de una zona dañada, sin la presencia de una cicatriz de tejido fibroso a diferencia de otros tejidos. El tejido óseo está sujeto a una continua evolución, siendo reestructurado considerablemente por las células que conforman el tejido óseo para satisfacer adecuadamente las funciones de soporte específicas de dicha zona si es necesario.

Los principales tipos de células que conforman el tejido óseo son los osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. En la Figura 22 se puede observar la procedencia y evolución de las distintas líneas celulares presentes en el hueso (Gil Mur, 2018).

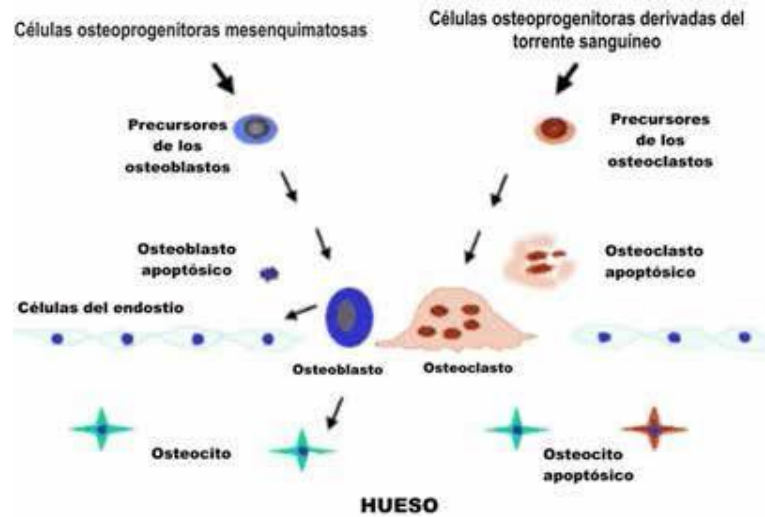


Figura 22 Procedencia de las distintas líneas celulares presentes en el hueso y descripción de su proceso de evolución.

#### 4.4.2.4 Células principales

**Los osteoblastos** son las células responsables de la síntesis de los componentes de la matriz ósea, así como de distintos factores autocrinos y paracrinos. Los osteoblastos se encuentran en las superficies óseas (endosteo y periosteo) y en las áreas de crecimiento, remodelación o desarrollo del hueso. Además, derivan de células progenitoras de origen mesenquimal (MSC).

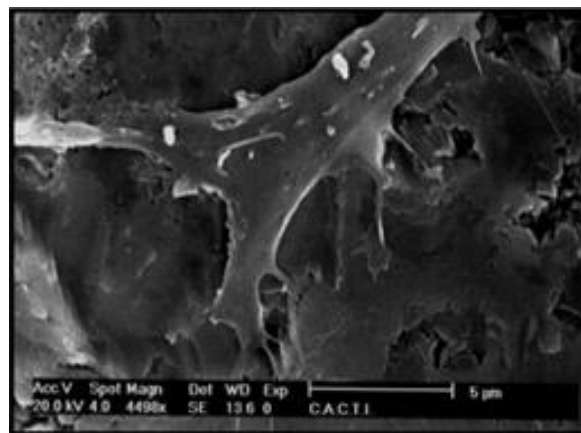
Se hallan en contacto directo con las superficies óseas en crecimiento, formando grupos compactos de una sola capa de espesor. Morfológicamente son células grandes con forma redonda a poligonal. De manera característica, el núcleo de estas células se sitúa en el extremo opuesto a la superficie ósea sobre la que se asientan. Su alta capacidad de síntesis proteica se observa por la presencia de un retículo endoplasmático bien desarrollado, uniforme y granular, característico de las células que sintetizan proteínas (Gil Mur, 2018).

Las funciones principales son:

- Proliferación celular y síntesis de los componentes orgánicos de la matriz ósea
- Maduración de la matriz ósea
- Depósito de mineral



Cuando cesa la neoformación ósea, los osteoblastos pueden quedar englobados en la matriz osteoide, pasando a convertirse en osteocitos, adquiriendo una morfología estrellada. O bien permanecer en las superficies óseas, una vez que finaliza la síntesis de la matriz. En este caso adquieren una morfología aplanada, pasando a ser osteoblastos inactivos o células del revestimiento (células del endostio). Estas células, a través de la producción de factores locales, parecen desarrollar un importante papel en el control del remodelado óseo (Figura 23) (Gil Mur, 2018).



*Figura 23 Osteoblasto en una superficie de titanio con gran actividad dorsal.*

**Los osteocitos** son las células principales del hueso completamente formado, residen en las lagunas situadas en la matriz ósea calcificada. Presentan un aspecto fusiforme y se hallan en contacto entre sí y con las células de la superficie (células de revestimiento, osteoblastos) mediante finas prolongaciones tubulares de su citoplasma que recorren la matriz ósea en diversas direcciones. A través de estas uniones comunicantes o de intersticio, se produce el paso directo de iones inorgánicos y pequeñas moléculas hidrosolubles (aminoácidos, azúcares, nucleótidos y vitaminas) de una célula a otra célula, posibilitando la comunicación química y eléctrica.

Son células con una menor actividad metabólica en la síntesis de proteínas, pero no son células inactivas. Presentan una población estable. Están orientados uniformemente en el hueso con respecto a los ejes longitudinal y radial de las laminillas que lo conforman. No se dividen y tienen un papel muy importante en



la preservación de la matriz ósea y en la regulación del remodelado óseo en respuesta a las señales mecánicas (Gil Mur, 2018).

**Los osteoclastos** son las células encargadas de la resorción ósea. Son células móviles, redondeadas, multinucleadas (hasta 20 núcleos) y con un citoplasma acidófilo. Debido a su gran especialización han perdido su capacidad de división.

Estas células se observan adosadas a la superficie de reabsorción ósea en unas cavidades poco profundas, llamadas lagunas de Howship o bahías de reabsorción, que se producen por la degradación del hueso por parte de los osteoclastos presentes en las lagunas adyacentes. Colaboran en la reabsorción ósea y poseen los mecanismos necesarios para la destrucción ósea mediante la disolución del hueso calcificado bajando localmente el pH mediante la producción de protones. El pH bajo incrementa la disolución de los cristales de apatita.

Una vez eliminada la fase mineral, la fase orgánica es digerida. Además, en el proceso de degradación del tejido óseo, los osteoclastos son capaces de fagocitar los restos de osteocitos, colágeno y mineral (Gil Mur, 2018).



#### **4.4.3 Propiedades mecánicas del hueso**

Dada la amplia gama de movimientos del cuerpo, los huesos pueden estar sometidos a diversos tipos de fuerza, ya sea de compresión, tracción o cizalladura. El hueso cortical es el responsable de resistir la mayor parte de la carga a la que se ven sometidos los huesos, y trabaja tanto a compresión, a tracción y como a cizalladura. El hueso trabecular, que tiene entre otras características la de proporcionar ligereza a los huesos sin detrimento de su solidez, trabaja fundamentalmente a compresión.

Los huesos pueden ser analizados de distintas formas, por ejemplo, analizando el hueso en su totalidad o analizando sus componentes macroscópicos, es decir, analizando el hueso cortical y el hueso trabecular. Debido a su tamaño, ciertos huesos sólo se pueden analizar en su totalidad mientras que en otros casos, como el del fémur, se pueden analizar también sus componentes por separado. Los huesos han sido analizados mediante ensayos tradicionales de sus propiedades mecánicas, las cuales son el de compresión y tensión uniaxial, y el de flexión en tres o cuatro puntos. También han sido analizados mediante técnicas de ultrasonido.

Factores que influyen en las propiedades mecánicas del hueso son la localización concreta del hueso, la edad del espécimen o si éste sufría algún tipo de enfermedad. Los valores registrados en los ensayos mecánicos vienen influidos por las condiciones experimentales, tales como temperatura, grado de humedad o si ha sido congelado para su conservación, entre otras. En la Tabla 8 se muestran valores indicativos de las propiedades mecánicas del hueso (Gil Mur, 2018).

El hueso tiene una gran ventaja sobre los materiales estructurales de ingeniería, en la que se auto-repara y puede alterar sus propiedades y geometría en respuesta a cambios en la demanda mecánica y metabólica. Las propiedades óseas también cambian de una especie a otra. Las propiedades físicas de los huesos difieren de una persona a otra, pero también dentro de un individuo de un lugar a otro. Debido a su diferente porosidad aparente, las propiedades mecánicas

del hueso trabecular y del hueso cortical son claramente diferentes (Lacroix, 2019).

Tabla 8 Valores indicativos de las propiedades mecánicas del hueso

Tipo de carga		Resistencia máxima (MPa)	Módulo de Young
<b>Hueso Cortical</b>			
Compresión	Longitudinal	131-224	17-20
	Transversal	106-133	6-13
Tracción	Longitudinal	79-151	17-20
	Transversal	51-56	6-13
Torsión		53-80	3,3
<b>Hueso Trabecular</b>			
Compresión		3 - 20	0,2 - 5
Tracción		1,5 - 5,0	0,1 - 3
Torsión		6,6	-

#### 4.4.3.1 *Hueso cortical*

El hueso cortical representa aproximadamente el 80 % de la masa esquelética. El hueso cortical y el hueso trabecular poseen módulos de Young de aproximadamente 17 GPa y 1 GPa respectivamente (también depende de la especie y del tipo de hueso). Por lo tanto, la mayoría de los metales utilizados en aplicaciones ortopédicas son de un orden de magnitud más rígidos que el hueso cortical (Figura 24) (Lacroix, 2019; Gil Mur, 2018).

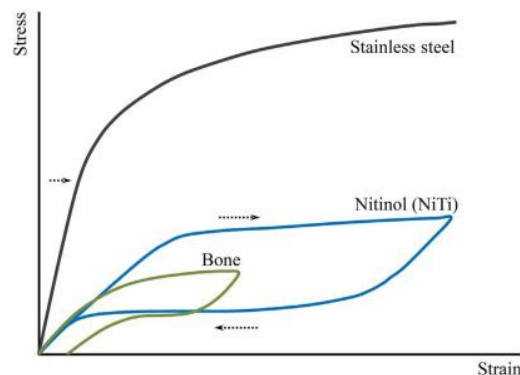


Figura 24 Curvas tensión-Deformación entre el hueso y metales.



El hueso cortical humano, generalmente, se lo considera isotrópico transversalmente con propiedades mecánicas diferentes en la dirección longitudinal (paralela al eje de las osteonas) que en las direcciones radial o circunferencial, pero tiene propiedades similares en las direcciones radial y circunferencial. El módulo del hueso cortical en la dirección longitudinal es aproximadamente 1,5 veces su módulo en la dirección transversal. Las propiedades del material medidas pueden diferir según las técnicas de medición.

El hueso cortical tiene una mayor resistencia a la compresión que a la tensión y es más fuerte en la dirección longitudinal que en la dirección transversal. Para la carga longitudinal, el hueso cortical es un material resistente porque puede absorber una energía sustancial antes de la fractura. Además, el hueso cortical puede clasificarse como un material relativamente dúctil para carga longitudinal, ya que su deformación final para carga longitudinal es sustancialmente mayor que su deformación de fluencia. Sin embargo, es relativamente frágil para cargas transversales.

El hueso cortical presenta un comportamiento viscoelástico, es decir, es sensible tanto a la velocidad de deformación como a la duración de las cargas aplicadas ( Figura 25 izquierda). El módulo elástico y la resistencia tienen una correlación de ley de potencia con la tasa de deformación con un coeficiente de 0.06 aproximadamente. La tasa de deformación in vivo del hueso puede variar de 0,001 a 0,01 por segundo durante las actividades diarias. Por lo tanto, en este rango de velocidad de deformación, el módulo de Young aumenta aproximadamente un 15 % mientras que es aproximadamente un 20 % más fuerte (Figura 25 derecha) (Lacroix, 2019).

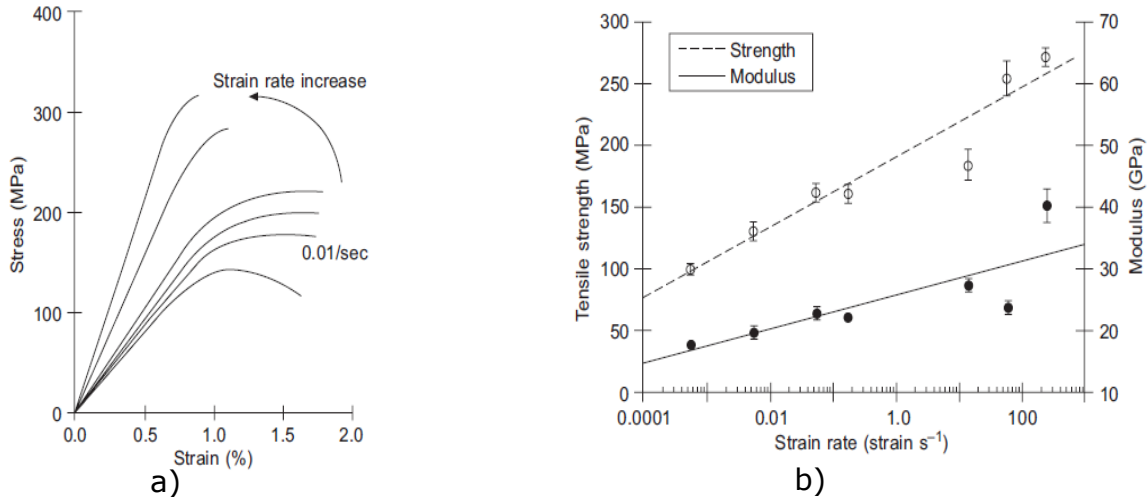
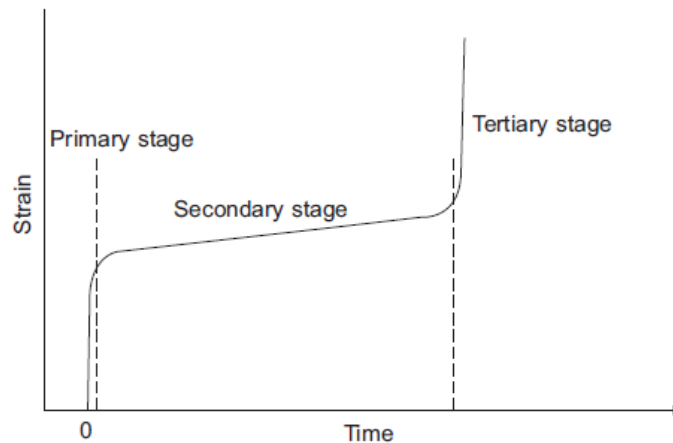


Figura 25 a) Dependencia de la tasa de deformación del comportamiento del material óseo cortical. b) Dependencia del módulo y la resistencia máxima a la tracción del hueso cortical humano para la carga longitudinal en función de la tasa de deformación (Derecha).

A tasas de deformación muy altas, que representan un trauma de alto impacto, el hueso cortical se vuelve más frágil. Por tanto, el hueso cortical presenta una transición de dúctil a frágil a medida que aumenta la tasa de deformación. Las tres etapas características del comportamiento de fluencia, como se describe en muchos materiales de ingeniería convencionales, también se observan en el hueso cortical (Figura 26). Las propiedades mecánicas del hueso cortical se deterioran progresivamente con el envejecimiento tanto en hombres como en mujeres. Durante el envejecimiento hay una fragilización del hueso cortical con una reducción en la absorción de energía (área bajo la curva de tensión-deformación) debido a una reducción en la deformación final y, por lo tanto, el hueso cortical se vuelve más frágil (Lacroix, 2019; Gil Mur, 2018).



*Figura 26 Diagrama esquemático que muestra las tres etapas del comportamiento de fluencia del hueso cortical humano*

Como en cualquier material de ingeniería convencional, el hueso cortical está sujeto a fallas por fatiga. Sin embargo, debido a su capacidad de remodelación, la falla por fatiga se puede reducir significativamente. Las grietas que se han formado durante actividades extenuantes pueden cerrarse y repararse mediante una actividad de remodelación ósea.

El mecanismo de fatiga del hueso cortical se puede describir en tres etapas características de la fractura por fatiga, correspondientes al inicio de la fisura, el crecimiento de la fisura (propagación) y la fractura final. En la etapa primaria, la fisura se inicia debido a la concentración de tensión local dada por los canales, lagunas o canalículos de Havers. En la etapa secundaria, la propagación de grietas da como resultado una disminución adicional lenta pero constante de la rigidez y la resistencia. Estas microfisuras se propagan y tienden a unirse una vez que avanzan más allá de la etapa de iniciación. En la etapa terciaria, la fractura es precedida por una rápida disminución de la capacidad de soportar la carga. Las grietas más grandes desembocan en interfaces de material débiles (líneas de cemento) entre los ostiones y pueden provocar el desprendimiento de los mismos. Sin embargo, las imperfecciones en la microestructura ósea, como la línea de cemento, tienden a detener la progresión de las grietas al cambiar la dirección de propagación de las grietas de perpendicular, a la dirección de carga, a paralela, a

la dirección de carga. La etapa final de la fractura por fatiga ocurre porque las grietas se fusionan y se vuelven tan grandes que las interfaces débiles ya no pueden absorberlas. Por lo tanto, las grietas pueden atravesar el hueso e inducir un fallo óseo (Lacroix, 2019).

#### 4.4.3.2 Hueso trabecular

Las propiedades materiales del hueso trabecular varían ampliamente dependiendo de la ubicación anatómica y la edad, para lo cual la densidad aparente y la arquitectura pueden ser marcadamente diferentes. El hueso trabecular se describe mejor como una espuma porosa de células abiertas. Dado que el hueso trabecular está formado por una serie de trabéculas interconectadas, se puede idealizar como una combinación de estructuras celulares básicas varilla-varilla, placa de varilla o placa-placa donde las varillas y las placas representan trabéculas delgadas y gruesas, respectivamente. Las propiedades mecánicas pueden variar en un factor de 10 según el tipo y la orientación de estas estructuras celulares básicas (Figura 27) (Lacroix, 2019; Colazo & Bocco, 2017).

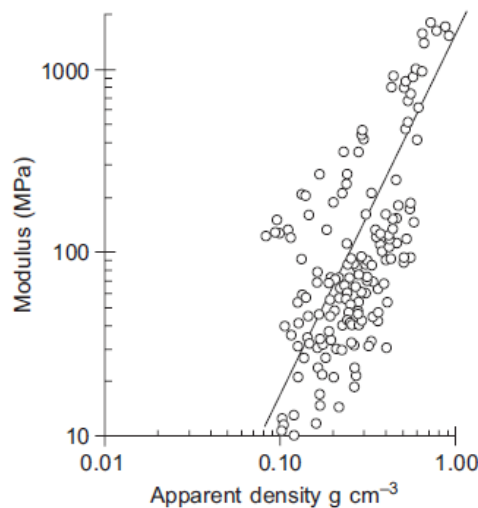


Figura 27 Módulo de compresión en función de la densidad aparente del hueso trabecular

La arquitectura del hueso trabecular depende del grosor de las trabéculas individuales y del espacio entre las mismas. La arquitectura del hueso trabecular



da como resultado propiedades elásticas anisotrópicas que se encuentran en la columna lumbar anciana. Sin embargo, a diferencia del hueso cortical, el hueso trabecular es casi isotrópico en algunos sitios anatómicos como el húmero proximal. Para huesos isotrópicos, el módulo de elasticidad y la resistencia última del hueso trabecular en cualquier dirección están relacionados con su densidad aparente  $\rho$  por una relación de ley de potencia de la forma:

$$E = a + b\rho^c$$

Donde  $a$ ,  $b$  y  $c$  son constantes que dependen de la arquitectura del tejido. En general, el exponente  $c$  tiene un valor de aproximadamente 2.

El hueso trabecular bajo compresión tiene características similares a los materiales de espuma porosa. En la primera etapa, el hueso se deforma en la región elástica lineal, en la que las trabéculas individuales se doblan y comprimen a medida que se comprime el tejido en masa (Figura 28). En la segunda etapa, algunas trabéculas fallan o se combinan sin que aumente la carga. A medida que fallan más trabéculas, la tensión aumenta hasta que las trabéculas rotas comienzan a llenar los poros, lo que hace que la muestra se endurezca. Por lo tanto, el hueso trabecular tiene una capacidad única para resistir una gran carga de compresión con una masa mínima. Esta absorción de energía permite deformaciones por compresión superiores al 50 %. Como en el hormigón reforzado con fibra, el comportamiento de tracción del hueso trabecular es peor (Lacroix, 2019).

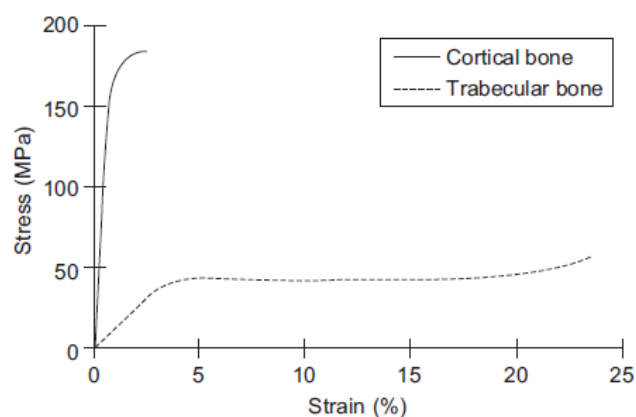


Figura 28 tensión-deformación por compresión del hueso trabecular y cortical



## 4.5 Biocompatibilidad

### **4.5.1 Condiciones**

Un material es biocompatible cuando es aceptado por el organismo y no provoca en este, patologías producto del rechazo. Los factores que intervienen para que el organismo no rechace a un implante son muchos, y característicos del material y estos son:

- No ser tóxico, no generar patologías y no ser carcinógeno.
- Ser químicamente estable e inerte (no se degrade con el tiempo).
- Tener una resistencia mecánica adecuada, tener un tiempo de fatiga adecuado, tener densidad y peso adecuados.
- El diseño del implante (tamaño y forma) también debe de ser adecuado para su función (Stieglitz & Schuettler, 2013).

*Tabla 9 Reacciones con el tejido según su clasificación*

Propiedades del implante	Reacción con el tejido
<b>Toxico</b>	Necrosis tisular
<b>Inerte</b>	El tejido forma una cápsula fibrosa no adherente alrededor del implante
<b>Bioactivo</b>	El tejido se enlaza con la superficie del material
<b>Biodegradable</b>	El tejido reemplaza el implante

### **4.5.2 Reacción Cuerpo – Implante**

Las características de la superficie del implante son factores importantes que afectan a la compatibilidad y determinarán la interacción del implante con las bacterias y su capacidad de colonizar su superficie, puesto que éste es el primer contacto con el cuerpo que va a determinar el proceso de asimilación o rechazo del implante, así como la velocidad del proceso curativo y finalmente el fallo o éxito de su implementación (Cantero & Roure, 2017).

La biocompatibilidad de un material es gobernada por la inicial y continúa cadena de reacciones que surgen entre la superficie del material y el tejido involucrado, y estas son: absorción de moléculas y de proteínas, adhesión celular



y bacteriana, activación de macrofases, formación de tejidos, inflamación, etc. (Hanawa, 2019). Estas reacciones tienen mayor relevancia en ensayos in vitro que en un ensayo in vivo o estudio clínico, aunque estos son necesarios pero no suficientes. Estas reacciones están directamente relacionadas con la energía, química y morfología de la superficie (Rhodes, 2019). Es por esto que las características superficiales son demandadas principalmente cuando se requiere una rápida sanación o cuando la calidad y/o cantidad de hueso es pobre. Muchas estrategias son puestas en práctica para este propósito y pueden ser divididas utilizando un enfoque bioactivo para estimular el crecimiento de HAP o los basados en estímulos topográficos de los osteoblastos a través de la rugosidad a medida como porosidad o estructura reticulada (Spriano et al., 2018).

Los procesos que están asociados a la reacción de cuerpo extraño después de la implantación son complejos y determinados por muchas variables. Comienzan inmediatamente después de la implantación. La primera etapa se llama "carrera por la superficie" porque las proteínas, lípidos y otros componentes de la matriz extracelular intentan establecer uniones específicas e inespecíficas con la superficie del implante. La energía superficial del material, su composición química y polaridad definen en esta primera etapa que componente del fluido corporal se adhiere primero.

Muchos sistemas de implante estarán 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 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 un mejor soporte de cargas después de la integración bioactiva del hueso (Stieglitz & Schuettler, 2013). La formación de hueso ocurre entre el periodo de inflamación, período de inducción de osteoblastos y período de formación ósea (Hanawa, 2019).

El diseño para la formación de una interfase entre el implante y el tejido va depender de la función que se requiera lograr, el cual marca la diferencia entre un sensor y un implante, con el tejido vivo. La interfase entre el tejido y la

superficie del implante es la más buscada en los implantes ortopédicos (Stieglitz & Schuettler, 2013). La interfase de unión entre el implante y tejidos blandos es importante cuando se tratan de implantes dentales, de ortodoncia o tornillos fijadores externos. Una insuficiente unión del tejido blando con el implante produce la posible invasión de bacterias que genera inflamación, luego aflojamiento, movimiento y caída del implante (Hanawa, 2019).

### **4.5.3 Osteointegración**

La osteointegración se define como la formación de una interfase entre el hueso y el implante sin la intervención de tejidos blandos. El cual la interacción entre la superficie del implante y el hueso se puede verificar mediante técnicas de análisis por microscopio (Hanawa, 2019).

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 (Figura 29), estas etapas son:



*Figura 29 Etapas de la Osteointegración*

1. **Mojabilidad de la sangre:** De manera inmediata se produce la mojabilidad de la sangre en la superficie del biomaterial. La mojabilidad es una característica importante 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 importantes aspectos para la osteointegración (Figura 30).

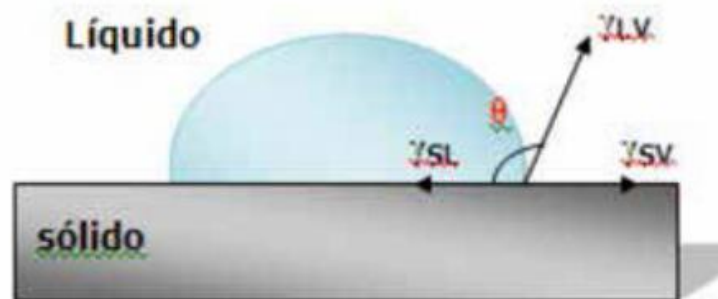
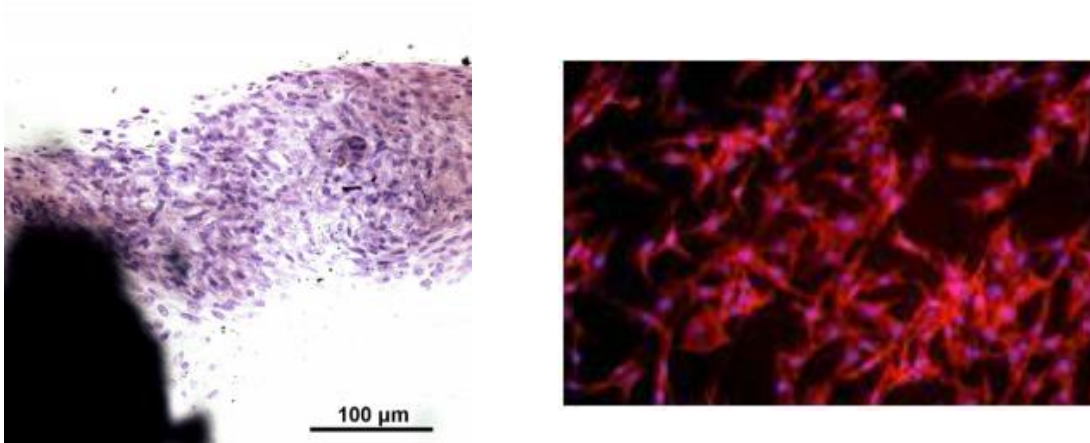


Figura 30 Esquema de mojabilidad

2. **Absorción de proteínas:** Adsorción inespecífica de proteínas que se produce con mucha rapidez de segundos a horas, formándose una capa de proteínas inespecíficas que se absorben en la superficie. Esta etapa será una de las críticas para la buena osteointegración. Esta etapa está ligada directamente con la topografía y la físico química de la superficie del biomaterial, ya que así se puede garantizar una absorción específica de proteínas para la formación de hueso e inhibir las que son precursoras del tejido blando.
3. **Migración de células:** Cuando haya una capa de proteínas sobre la superficie habrá una migración de células que se adherirá a la superficie del biomaterial, hecho que ocurre de minutos a días dependiendo de la superficie.



*Figura 31 Adhesión celular sobre la superficie del material*

4. Proliferación y formación del tejido: Después de la adhesión ya se producirá la proliferación y diferenciación celular que dará lugar a la formación del tejido. Esta etapa dura desde días hasta semanas (Gil Mur, 2018).

#### **4.5.4 Reacción como cuerpo extraño del titanio**

El titanio y sus aleaciones están ubicados dentro de la categoría de materiales "biotolerantes", es decir, ante la caracterización de viabilidad celular no presenta toxicidad y actividad alérgica (Niinomi, 2019). Como ya se había mencionado posee una mejor biocompatibilidad que las aleaciones inoxidables y aleaciones Cr - Co - Mo. El titanio presenta una buena unión con el tejido blando en una completa implantación (Hanawa, 2019).

El titanio presenta una excelente compatibilidad con el tejido duro debido a la formación de fosfato de calcio (hidroxiapatita) en la superficie, esto se confirmó mediante experiencias in vitro con fluidos simulados, evaluación de la actividad de osteoblastos y calcificación; y experiencias in vivo en animales mediante evaluación histológica y biológico - molecular en animales, como la formación de hueso, tasa de contacto del hueso, anclaje del hueso y estudios clínicos (Hanawa, 2019). También se detectan menos macrófagos y más baja inflamación comparado con los aceros inoxidables o poliéter éter cetona. En general el titanio es bien tolerado por el cuerpo siempre que el implante sea



bioestable tanto mecánica y químicamente, y no genere infección. Si alguna de las últimas condiciones no es cumplido, en el implante puede aparecer síntomas asociados con una reacción inflamatoria aguda / crónica, osteólisis, aflojamiento y falla (Spriano et al., 2018). La superficie del implante de titanio y la reacción de interfaz del titanio - hueso es una característica importante para explicar la importancia de la morfología, mojabilidad y energía para la osteointegración (Figura 29) (Hanawa, 2019).

El titanio presenta una capa pasivante de óxido de titanio que provoca una capa amorfa de proteoglicanos (20 - 50 nm espesor), una capa celular delgada, débil calcificación y tejido óseo. La resistencia a la corrosión no es condición suficiente para la biocompatibilidad porque la capa pasivante del titanio protector previene la habilidad de formación de hueso por lo tanto la compatibilidad del tejido duro no es inducido por la resistencia a la corrosión. En resumen la resistencia a la corrosión no es suficiente pero necesaria para la biocompatibilidad (Hanawa, 2019). Los osteoclastos humanos pueden corroer el acero inoxidable, aleaciones de cobalto; y en aleaciones de titanio conducen a la producción de iones metálicos responsables de reacciones inflamatorias (Figura 32). La corrosión inducida por células inflamatorias es el resultado del sellado de las células sobre las superficies metálicas y la liberación de especies reactivas de oxígeno. El titanio presenta mayor inflamación que los cerámicos como la zirconia pero menor que los demás metales (Spriano et al., 2018).

La interacción de los glóbulos rojos y plaquetas, mojabilidad e hidrofiliidad aumentan con la osteogénesis (formación de hueso), angiogénesis (formación de arterias), y neurogénesis (formación de tejido neuronal) asociado a la expresión del gen para la "sanación" y balance inmunológico en el estado inflamatorio (Hanawa, 2019).



Figura 32 Condiciones de baja toxicidad de la capa de óxido

#### 4.5.4.1 Grupos de hidroxilos de superficie

La reacción interfacial entre el titanio y el tejido vivo está gobernada por la capa pasivante que cubre el sustrato de titanio (Figura 33), esta capa de óxido forma grupos de hidroxilos en sí mismo debido a la reacción con la humedad del aire. Estos grupos en solución acuosa, como fluidos corporales, forman cargas eléctricas, estas cargas dependen del pH de la solución en cuestión. Este pH es definido como el punto cero de la carga.

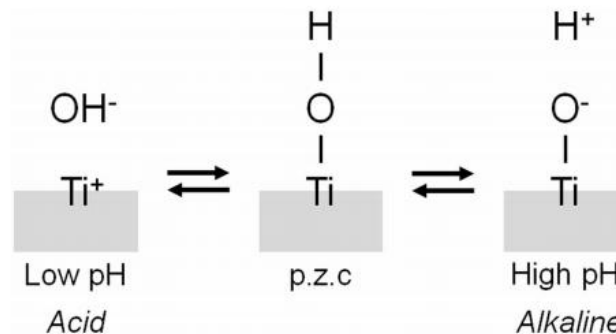


Figura 33 Reacción interfacial tejido vivo – capa pasivante



El óxido de titanio no presenta un comportamiento ácido o básico, más bien neutro. Las concentraciones de grupos hidroxilo en la superficie puede variar desde 4,9 - 12,5 nm (Hanawa, 2019).

#### 4.5.4.2 Modificación superficial

Es muy importante mencionar los aspectos superficiales, ya que, la modificación de la rugosidad del titanio o la obtención de porosidad garantiza una mejor sanación y remodelación del tejido duro. Experiencias in vitro demuestran que los osteoblastos se adhieren mejor en una superficie rugosa o porosa, y esto produce la aceleración de la producción de colágeno y calcificación (Hanawa, 2019). El titanio poroso o reticular el cual son fabricados para obtener características similares al hueso o tejido duro, permiten el crecimiento celular. En adición el crecimiento de osteoblastos y osteocitos promueven la formación de hueso (Anida-maria et al., 2020). Esta modificación topográfica mejora en la respuesta osteoblástica in vitro y la fijación mecánica in vivo. De hecho, las superficies de los implantes de titanio c.p. comerciales, en la mayoría de los casos, poseen topografías superficiales especialmente diseñadas y manufacturadas optimizadas con la respuesta osteoblástica y evitando la rugosidad que pueda favorecer la formación de placa bacteriana (Gil Mur, 2018). En conclusión, una superficie rugosa o porosa en el implante de titanio incide directamente en la adhesión celular (Figura 34), su proliferación y diferenciación; promoviendo una mejor unión interfacial celular lo que aumenta el anclaje biomecánico del hueso (Civantos et al., 2017).

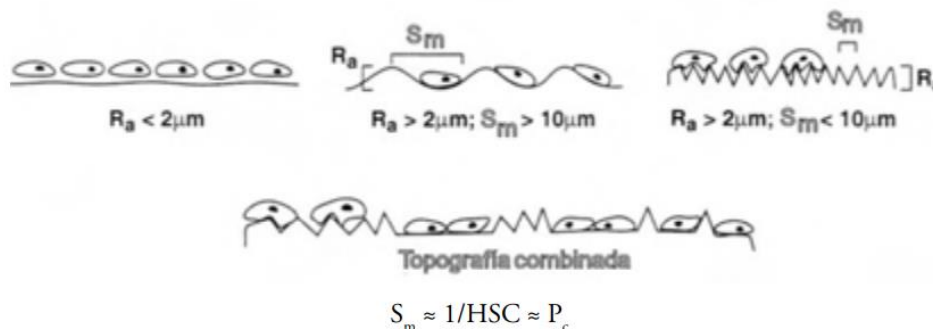


Figura 34 Representación del efecto de la rugosidad superficial sobre la morfología de los osteoblastos



Tabla 10 Incidencia biológica según la modificación superficial del titanio

Tipo de modificación	Descripción	Efecto biológico
<b>Mecanizado</b>	El proceso se puede realizar por torneado, fresado o pulido. Dando un incremento de la superficie y rugosidad del material, alcanzando un valor topográfico superficial de $S_a = 0,9$ .	In vitro: los métodos de pulido pueden prevenir la colonización bacteriana o fúngica. In vivo: las imperfecciones a lo largo de las superficies mecanizadas permiten que las células osteogénicas se adhieran y depositen hueso. Mejora en la interfaz hueso-implante.
<b>Granallado</b>	Consiste en bombardear la superficie del implante con partículas de diversas composiciones. La rugosidad lograda (valores $R_a$ de 0,5 a 6 $\mu\text{m}$ ) depende del medio de granallado, el tamaño y la forma de las partículas y otras características (presión, distancia, etc.)	In vitro: Esta técnica también regula la adhesión bacteriana. In Vivo: incremento en la osteogénesis y el contacto entre hueso - implante.
<b>Grabado</b>	Se aplica generalmente en implantes dentales. Se realizan generalmente a altas temperaturas utilizando ácidos (ácido fluorhídrico, clorhídrico, nítrico o sulfúrico) ( $S_a = 1 \mu\text{m}$ ).	In vitro: Aumenta la adhesión celular, acelera la proliferación celular y estimula la diferenciación celular. In vivo: Aumenta la formación de hueso mejorando la osteointegración y crecimiento óseo.
<b>Spray térmico Ti</b>	Se realiza una deposición de Ti fundido sobre el sustrato mediante thermal spray, incrementando la rugosidad $R_a = 4-5 \mu\text{m}$ .	In vivo: alto nivel de osteointegración.
<b>Ablación láser</b>	Esta técnica permite obtener micro - nanocanales alrededor del implante.	In vivo: promueve la integración con el tejido circundante. Los microcanales actúan como un sello biológico al provocar la unión del tejido conectivo e inhibir el crecimiento epitelial descendente.
<b>Tratamiento UV</b>	Este fototratamiento altera la distribución del dióxido de titanio en la superficie, reduce el grado de hidrocarburos de la superficie y aumenta la energía y la humectabilidad de la superficie.	In vitro: aumenta el nivel de absorción de proteínas y la adhesión celular a la superficie del implante. In vivo: acelera fases de la Osteointegración a etapas más tempranas.
<b>Anodizado</b>	Se utiliza esta técnica electroquímica para aumentar el espesor de la capa de óxido de titanio. Por lo general, produce microestructuras o nanoestructuras porosas (con tamaños de poro desde submicrones -0,4 $\mu\text{m}$ - hasta varios micrones) y moderados grados de rugosidad superficial ( $S_a = 0,9 \mu\text{m}$ ).	In vitro: mejora la absorción de proteínas, biocompatibilidad y biocorrosión. In vivo: mejora el contacto entre implante - hueso y la capacidad osteoconductor.



#### 4.5.4.3 Absorción de proteínas

Los valores de ángulo de contacto para el titanio son entre 55 y 100°, son valores hidrofílicos pero también con un cierto carácter hidrofóbico (Gil Mur, 2018). La mojabilidad produce un fuerte efecto sobre la absorción de proteínas, y se demostró que en superficies de titanio hidrofílicas se reduce la actividad pro-inflamatoria de las citosinas (Spriano et al., 2018). La rugosidad también condicionará la adsorción proteica ya que no sólo cambia la topografía sino también y por causa de ello, propiedades fisicoquímicas superficiales muy importantes, como la tensión superficial. Por lo tanto, la rugosidad modulará la adsorción de proteínas y, en consecuencia, la adhesión celular (Gil Mur, 2018).

La fuerza electrostática de las proteínas en la superficie del titanio es gobernada por la permitividad del óxido de titanio, al tener una gran permitividad la fuerza electrostática disminuye. La permitividad de este óxido (82,1) es similar al del agua (80) pero mayor que otros óxidos. Por lo tanto el cambio conformacional de la proteína absorbida es baja en el óxido de titanio. La absorción de proteínas en el fibrinógeno es más espesa. La conformación de proteínas en titanio es menor que en el oro, las proteínas absorbidas en titanio son menos susceptibles (Hanawa, 2019).

#### 4.5.4.4 Formación de Fosfato de Calcio (HAP)

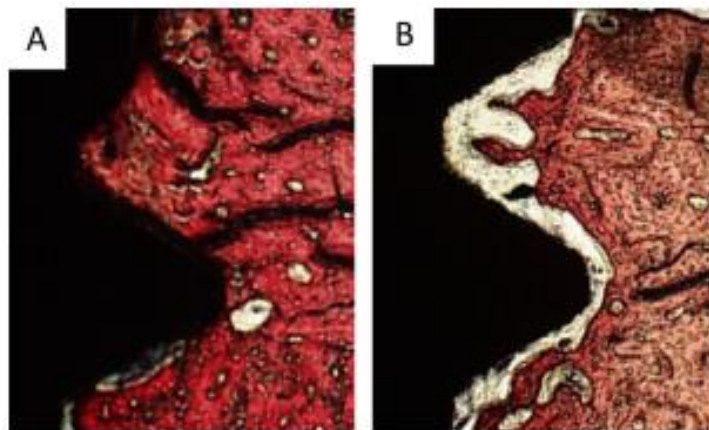
Como se sabe que el titanio y sus aleaciones son biocompatibles, no hay una conexión directa entre el tejido duro o hueso con la superficie del titanio, sino, existe una película de hidroxiapatita que se forma entre estas dos superficies que estimula el alojamiento, multiplicación y diferenciación de osteoblastos y osteocitos, por lo tanto fomenta a la formación de huesos (Anida-maria et al., 2020).

Desde un punto de vista microscópico, la capa pasivante mantiene un proceso continuo de parcial disolución y precipitación. La composición de la superficie cambia constantemente debido al ambiente en el que convive. El titanio permite la formación de fosfato de calcio fácilmente en un entorno biológico,

incluso sulfatos o sulfuros, que se demuestran en un cultivo celular (Hanawa, 2019).

La adhesión celular mejora con la rugosidad de la retícula, con una carga positiva superficial y una hidrofiliidad moderada. La actividad del metabolismo celular está influenciada con el grado de adhesión (Anida-maria et al., 2020).

La rigidez, el tamaño del poro, la rugosidad superficial y la elasticidad tienen una incidencia directa con la regeneración del hueso y la integración del implante. Una moderada elasticidad y una rugosidad superficial (2–4  $\mu\text{m}$ ) reducen la actividad de los osteoclastos y promueven una curación más temprana. Una elasticidad en una arquitectura similar a hueso esponjoso y dimensiones de poro entre 450–650  $\mu\text{m}$  son necesarios para asegurar la interconectividad y la actividad angiogénica y metabólica (Anida-maria et al., 2020).



*Figura 35 Imagen histológica de la tibia de un conejo a 8 semanas luego de la implantación*

En la imagen histológica (Figura 35) se puede apreciar el tejido óseo de una tibia de conejo extraída 8 semanas después de la implantación de un tornillo quirúrgico. La zona oscura de la imagen es el Titanio del implante, la zona blanca es hueso interaccionando con el tejido. En la imagen A podemos observar el implante osteointegrado con contacto directo entre los huesos del huésped y la superficie del implante. Y en la imagen B podemos observar el implante no integrado con falta de contacto directo hueso-implante (Civantos et al., 2017).



## 4.6 Ensayos biológicos

La norma ISO 10993 establece los procedimientos y requerimientos para una evaluación biológica para materiales o dispositivos médicos. El primer paso a destacar con respecto a esta norma es establecer o determinar, mediante un ensayo in vitro con cultivos celulares o soluciones orgánicas estandarizadas, la toxicidad del material antes de modelar un ensayo in vivo en animales (Stieglitz & Schuettler, 2013). El ensayo in vitro y la selección de animales deben ser acorde al tipo de función que llevará el dispositivo, implante o biomaterial (Anderson & Jiang, 2019).

Como habíamos mencionado, la forma del implante, peso, flexibilidad, tamaño y el movimiento relativo con respecto al tejido afectan las propiedades biológicas del material, el cual se evalúan a través de la cantidad de reacción tisular (fibrosa) después de la implantación. Los efectos que provocan la toxicidad de un material son sus mecanismos de corrosión y degradación, estos tienen que ser evaluados tanto in vitro como in vivo, ya que las enzimas y la actividad celular tienen una influencia tanto positiva como negativa en la estabilidad del material. Por lo tanto los rangos de corrosión y degradación del material deben ser determinados para definir la estabilidad, fiabilidad y seguridad para el paciente sobre la vida útil establecida del implante (Stieglitz & Schuettler, 2013).

### **4.6.1 Ensayo in vitro**

Los ensayos in vitro son estudios que se realizan fuera del organismo, por lo que no hay ningún tipo de daño en el organismo del individuo. Los mismos se pueden realizar en un tubo de ensayo, en una bandeja de cultivo celular, en una mufla, entre otros; pero siempre fuera del organismo intacto. En cualquier caso, el material o el extracto del material se ponen en contacto con algún sistema biológico.

Con respecto a estos tipos de ensayos podemos decir que el nivel de sensibilidad es bajo en relación con los ensayos in vivo, pero tampoco se puede dejar de lado que la principal ventaja de los ensayos in vitro es la seguridad que



le brinda al ser vivo. Además, estos tipos de ensayos son rápidos de realizar, económicos y son fácilmente estandarizados.

La función específica de los ensayos in vitro es medir la muerte o crecimiento celular, para así poder determinar el funcionamiento de la célula, al poner en contacto el material a analizar con el sistema biológico de interés. Además, se pueden controlar las condiciones más asequibles para el estudio pero no se puede contar con la coordinación de aquellos sistemas que posee el mismo organismo (Galeano & Gutierrez, 2009).

Estos ensayos son efectivos para la selección inicial de la biocompatibilidad de materiales. Para la evaluación de la biocompatibilidad de un determinado material, se deben tener en cuenta los cambios morfológicos y muerte celular inducidos por el mismo. Generalmente, los procedimientos que suelen realizarse son de citotoxicidad, toxicidad reproductiva y de desarrollo, genotoxicidad y hemocompatibilidad (Galeano & Gutierrez, 2009; Cameo, 2010).

#### 4.6.1.1 Procedimiento y variables

Los ensayos de citotoxicidad son simples de realizar, rápidos y económicos que proporcionan una valiosa información de los materiales que deben ser descartados o aquellos que deben ser sometidos a más estudios.

En el momento de realizar los ensayos in vitro para evaluar la biocompatibilidad de un determinado material, se requiere de las normas ISO. La norma que cubre los requisitos para todos los tipos de dispositivos a la hora de realizar las pruebas de citotoxicidad es la ISO 10993-5, donde describe los métodos de ensayos para evaluar la citotoxicidad in vitro de productos sanitarios; estos métodos especifican la incubación de células cultivadas en contacto con un dispositivo y/o partes de un dispositivo, ya sea de forma directa o indirecta, determinando la respuesta biológica de esas mismas células usando los parámetros biológicos como referencia (Galeano & Gutierrez, 2009).

En la misma norma se detalla el uso de una evaluación cualitativa o cuantitativa. En una evaluación cualitativa, donde se la utiliza para fines de detección, se examinan las células microscópicamente para evaluar cambios en,



por ejemplo, morfología general, desprendimiento, entre otros. En una evaluación cuantitativa, que es la más utilizada para determinar la citotoxicidad, consiste en medir la muerte celular, la inhibición del crecimiento celular, la proliferación celular o la formación de colonias. El número de células, cantidad de proteína, liberación de enzimas, liberación de colorante vital, reducción de colorante vital o cualquier otro parámetro medible puede cuantificarse por medios objetivos (International Organization for Standardization, 2009).

Uno de los protocolos más utilizados para la determinación de la citotoxicidad in vitro, de acuerdo a la norma ISO 10993-5, es el MTT que consiste en la medición de la viabilidad de las células a través de la actividad metabólica. El mismo utiliza un colorante amarillo soluble en agua, derivado de sales de tetrazolio, que es reducido por las células viables a un producto de formazán de color azul violeta e insoluble en soluciones acuosas. La cantidad de formazán generado es directamente proporcional al número de células viables, por lo que el número de células viables se correlaciona con la intensidad del color determinada por mediciones fotométricas después de disolver el formazán en alcohol (Galeano & Gutierrez, 2009; International Organization for Standardization, 2009).

Cabe aclarar que en el ensayo MTT, para el control de calidad del ensayo, se incluyen controles positivos, negativos y blancos. El propósito del control positivo (CP) es demostrar una respuesta apropiada del sistema de prueba usando un material que, cuando se prueba de acuerdo con esta parte de la norma ISO 10993, proporciona una respuesta citotóxica reproducible. El propósito del control negativo (CN) es demostrar la respuesta de fondo de las células, usando un material que, cuando se prueba de acuerdo con esta parte de la norma ISO 10993, no produce una respuesta citotóxica. El blanco consiste en un vehículo de extracción que no contiene la muestra de ensayo, retenido en un recipiente idéntico al que contiene la muestra de ensayo y sometido a condiciones idénticas a las que se somete la muestra de ensayo durante su extracción. El objetivo del blanco es evaluar los posibles efectos de confusión debidos al recipiente de



extracción, el vehículo y el proceso de extracción (International Organization for Standardization, 2009).

Con respecto al análisis de datos en el ensayo MTT, una disminución del número de células viables da como resultado una disminución en la actividad metabólica en la muestra, donde esta disminución se correlaciona directamente con la cantidad de formazán azul violeta formado. Para calcular la reducción de la viabilidad en comparación con el blanco se utiliza la ecuación:

$$\text{Viab \%} = 100 \text{ OD570e/OD570b}$$

Donde OD570e es el valor medio de la densidad óptica medida de los extractos al 100 % de la muestra de ensayo; y OD570b es el valor medio de la densidad óptica medida de los espacios en blanco. Cuanto menor sea el valor de Viab. %, mayor será el potencial citotóxico del elemento de prueba (International Organization for Standardization, 2009).

#### **4.6.2 Ensayo in vivo**

Un ensayo in vivo es una experimentación para definir las propiedades biológicas de un material, en un tejido vivo de un organismo vivo. Es un componente necesario para llegar al estudio clínico en humanos. Los estudios en animales son aplicados comúnmente para determinar la biocompatibilidad de un biomaterial o dispositivo médico en desarrollo. Estos ensayos son una importante etapa del proceso regular que establece la eficiencia de los dispositivos o implantes antes del estudio clínico. Todos estos experimentos deben realizarse de acuerdo con la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud y ser aprobados por un comité institucional de cuidado y de uso de animales. Según la ISO 10993 establece que ante cualquier ensayo con animales se requiere de un estudio preliminar in vitro, ya que es necesario disminuir cualquier riesgo para el animal. Por lo tanto se requiere conocer de las condiciones de toxicidad del material antes de establecer un modelo de experimentación in vivo.



#### 4.6.2.1 Procedimientos y variables

En nuestro presente trabajo, la información que nos brindarán estos experimentos, radicará sobre las incidencias directas o indirectas del proceso de fabricación y diseño del implante sobre los mecanismos biológicos de osteointegración, y finalmente la biocompatibilidad. Los defectos que se podrían analizar en un ensayo in vivo son reacciones biológicas adversas como inflamación, encapsulación, proliferación de bacterias, etc. Es importante destacar que este experimento se realiza en elementos de prueba como muestras del biomaterial o prototipos, y no sobre un producto final, para una aplicación prevista (Anderson & Jiang, 2019).

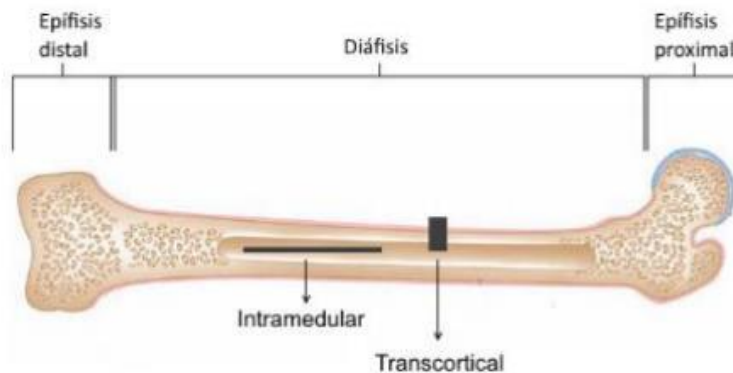


Figura 36 Zonas de implantación

Para analizar la oseointegración se utilizan técnicas de análisis SEM o microscopía óptica midiendo el espesor de la nueva capa ósea sobre la superficie del implante, como así también el crecimiento de hueso entre los poros de la superficie del implante (Figura 37).

Los animales que se utilizan para experimentar son cualquier vertebrado vivo no humano (International Organization for Standardization, 2004). Se clasifican en modelos de animales grandes (Perro, cerdo, oveja, cabra, etc) o modelos de animales pequeños (ratón, rata y conejos). La selección de qué animal utilizar depende de la factibilidad quirúrgica, biológica, económica y ética (Anderson & Jiang, 2019).

Los animales que se utilizan se resaltan en la Tabla 11:

Tabla 11 Uso de animales según del dispositivo médico a experimentar

Clasificación de dispositivo	Animal
<b>Cardiovascular</b>	
Válvulas cardíacas	Ovejas
Injertos vasculares	Cerdos, perros
Stents	Cerdos, conejos, perros
Dispositivos de asistencia ventricular	Terneros
Corazones artificiales	Terneros
Derivaciones ex vivo	Babuinos, perros
<b>Ortopédicos/hueso</b>	
Regeneración ósea / sustitutos	Conejos, perros, cerdos, ratones, ratas
Total articulaciones / caderas, rodillas	Perros, cabra, primate no humano
Implantes vertebrales	Ovejas, cabras, babuinos
Implantes craneofaciales	Conejos, cerdos, perros, primate no humano
Cartílagos	Conejos, perros
Sustitutos de tendón y ligamentos	Perros, ovejas
<b>Neurológico</b>	
Regeneración de nervios periféricos	Ratas, gatos, primate no humano
Estimulación eléctrica	Ratas, gatos, primate no humano
<b>Oftalmológico</b>	
Lentes de contacto	Conejos
Lentes intraoculares	Conejos, monos

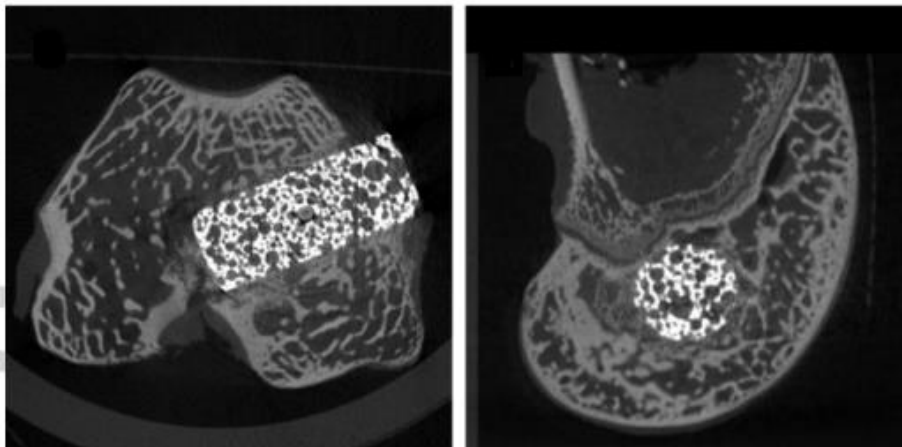


Figura 37 Estudio in vivo después de 2 semanas de implantación con Ti poroso en la rodilla de 4 conejos.

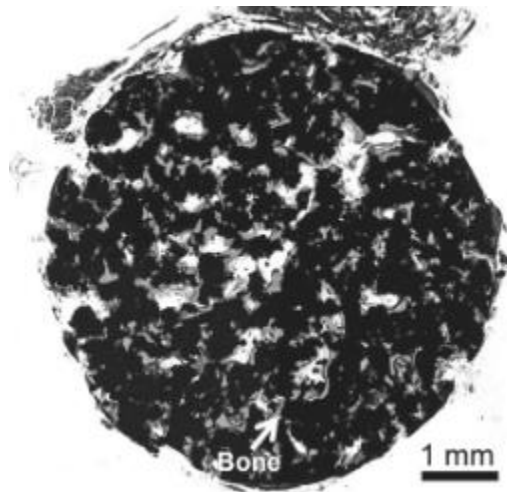
### **4.6.3 Técnicas de análisis**

#### **4.6.3.1 Técnica de análisis por microscopía óptica**

##### **4.6.3.1.1 Teoría**

Es una técnica simple y directa que se utiliza para visualizar materiales amorfos o cristalinos con estructuras homogéneas o heterogéneas. El equipamiento posee filtros especiales, ubicados entre el espejo dicroico, que permiten separar y detectar las longitudes de onda de emisión y excitación. (Bacani, 2019) Se pueden utilizar objetivos con aumentos de 10X hasta 1500X, lo cual lo limita ver hasta objetos de 700 nm (Deshayes & Béchou, 2016).

Este tipo de técnica es utilizada por la ventaja de observar o diferenciar morfologías en muestras biológicas Figura 38 (Bacani, 2019). El método para la preparación de muestras consiste en realizar un corte longitudinal al componente para revelar su estructura interna, luego al extracto se incorpora en resina epoxy para generar una buena sujeción para el desbaste y pulido (Deshayes & Béchou, 2016).



*Figura 38 Osteointegración por modificación química superficial de una estructura reticulada de titanio*

##### **4.6.3.1.2 Limitaciones**

Su aplicación está limitada a imágenes directas coloreadas, morfologías 2D, fracturas micromecánicas, borde de grano, fibras y tamaños micrométricos. Posee una resolución de  $10^{-6}$  micrones (Bacani, 2019).

### 4.6.3.2 Técnica de análisis por microscopía confocal

#### 4.6.3.2.1 Teoría

Tanto la microscopía convencional como la confocal pueden usar luz reflejada o luz fluorescente para obtener imágenes de la muestra. Sin embargo, en la microscopía confocal, un rayo de luz entrante se enfoca a través del objetivo del microscopio en un pequeño punto dentro de la muestra, que puede tener un diámetro casi tan pequeño como la longitud de onda de la luz misma, alrededor de  $0.5 \mu\text{m}$ . El mismo objetivo recoge la luz reflejada o fluorescente que proviene de la muestra, pero a diferencia de la microscopía óptica convencional, esta luz se proyecta (como un proyector de diapositivas) y no se ve directamente. En la microscopía de luz convencional, aunque solo se ilumina un pequeño campo de la muestra a la vez, parte de la luz reflejada o fluorescente se dispersa, lo que podría difuminar u oscurecer la imagen (Nwaneshiudu et al., 2012).

La microscopía confocal resuelve este problema utilizando una pequeña abertura en una pantalla que permite que pase solo la luz emitida desde el punto focal deseado. La pantalla bloquea cualquier luz fuera del plano focal (la luz dispersa). Se utiliza un detector de luz sensible, como un tubo fotomultiplicador, en el otro lado del orificio para detectar la luz confocal (Figura 39). Esta técnica permite obtener imágenes de la muestra de un "punto" a la vez (Nwaneshiudu et al., 2012).

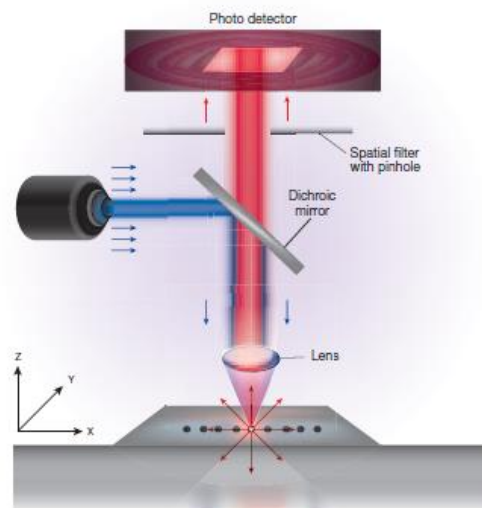
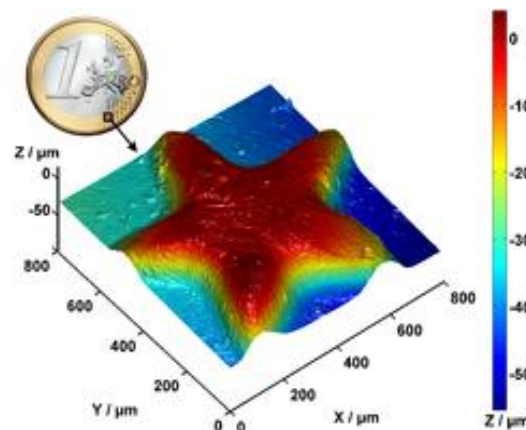


Figura 39 Una vista simplificada de microscopía confocal.

Para crear una imagen de la muestra, el punto focal se escanea rápido y en serie en el plano X-Y, razón por la cual los microscopios confocales producen imágenes horizontales de sección virtual. A medida que avanza el escaneo, la señal del detector se envía a una computadora que recopila todas las "imágenes puntuales" de la muestra y construye en serie la imagen, un píxel a la vez. Debido a que la muestra no está realmente seccionada, es posible obtener imágenes de una "pila" de planos de imágenes confocales virtuales que luego se pueden usar para hacer imágenes tomográficas, similares a las reconstrucciones de imágenes por resonancia magnética o escáneres de tomografía computarizada en medicina (Figura 40). Las imágenes se muestran en un monitor de video y el resultado es una imagen nítida y de alto contraste que no se puede obtener con un microscopio óptico convencional (Nwaneshiudu et al., 2012).



*Figura 40 Imagen confocal de un detalle de una moneda*

La microscopía confocal tiene muchas ventajas, incluido el aumento de la resolución óptica y el contraste de una imagen de una muestra; facilitar la reconstrucción de imágenes tridimensionales; permitir la recolección de secciones ópticas en serie a partir de muestras gruesas; y permitir la creación de imágenes in vivo sin el artefacto inducido por el procesamiento de tejidos. Las limitaciones de la microscopía confocal incluyen la profundidad de las imágenes dentro de muestras gruesas y el costo en comparación con los microscopios convencionales. Los problemas del fotoblanqueo de la sonda fluorescente y la fototoxicidad inherentes a la microscopía de fluorescencia convencional también están presentes con la microscopía confocal (Nwaneshiudu et al., 2012).



#### 4.6.3.2.2 *Práctica*

La microscopía confocal es una técnica en la obtención de imágenes ópticas que utiliza la iluminación puntual a través de un orificio espacial para eliminar las señales fuera de foco. La luz de excitación en microscopía confocal generalmente es proporcionada por un láser para generar altas intensidades de fluorescencia o reflectancia desde el punto focal (Nwaneshiudu et al., 2012).

Dicha técnica al permitir obtener imágenes de la muestra con un mejor contraste y calidad, en comparación con la microscopía convencional, se utiliza justamente para poder hacer una observación más detallada de la superficie de las muestras de titanio.

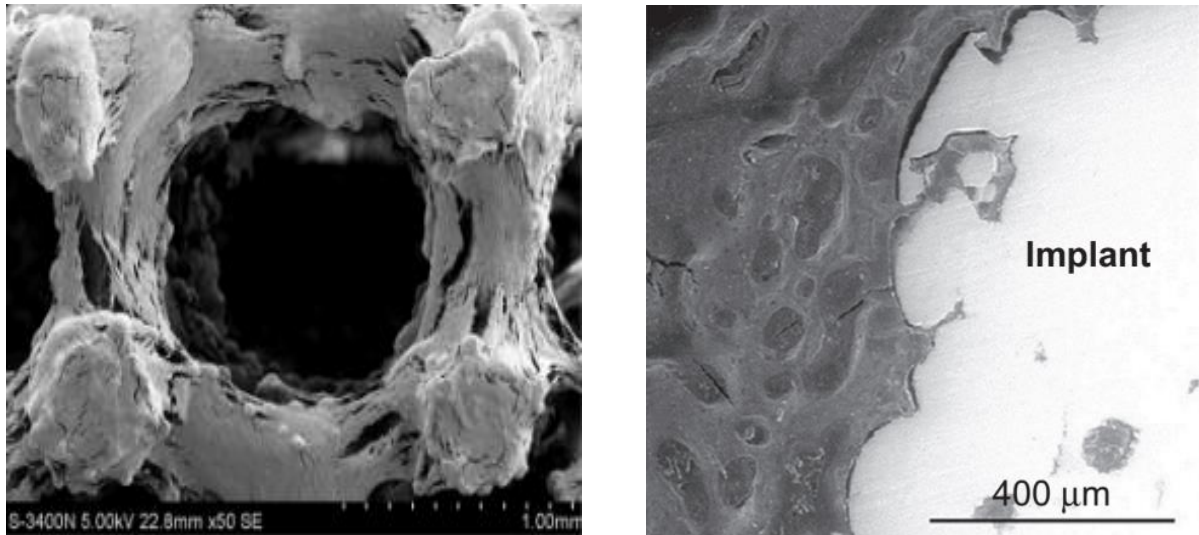
#### 4.6.3.3 Técnica de análisis por microscopía por barrido de electrones (SEM)

##### 4.6.3.3.1 *Teoría*

SEM es la primera opción elegida para estudiar la superficie de un material, además requiere de simples preparaciones en una atmósfera bajo vacío. SEM funciona enfocando y escaneando un haz de electrones de energía relativamente alta (generalmente 15-30 keV), la ventaja que presenta esta técnica es el uso de la baja energía secundaria de electrones para producir imágenes con una profundidad de enfoque alta, esto se debe porque estos electrones secundarios provenientes de la interacción en la superficie, escapan y son detectados. Otra ventaja del uso de SEM, en lugar de la microscopía óptica de transmisión, reside en el hecho de que, con SEM, no es necesario el corte de rodajas muy finas (Vanzillotta et al., 2004).

Esta técnica de análisis es utilizada para la caracterización de propiedades biológicas, por ejemplo el porcentaje de osteointegración con la longitud de contacto de la interfaz hueso-implante, adhesión celular o bacteriana en implantes o dispositivos médicos (Grin et al., 2011). Cabe destacar que no establece un criterio cuantitativo sino describe cualitativamente la superficie topográfica del material, únicamente puede analizar cuantitativamente la composición química. Las imágenes resultantes pueden ser interpretadas intuitivamente, ya que contienen información tridimensional (Figura 41) como una fotografía

convencional (Vanzillotta et al., 2004). La resolución de la imagen creada en el detector es del orden de 10 nm para un haz incidente de diámetro 30 Å (Deshayes & Béchou, 2016).



*Figura 41 Imágenes SEM correspondiente a un implante Ti6Al4V con un recubierto bioactivo (derecha) y adhesión celular en una estructura reticular de titanio (izquierda)*

#### 4.6.3.3.2 Limitaciones

Para esta operación, la columna de electrones y la cámara portamuestras deben estar a un vacío de aproximadamente  $10^{-5}$  a  $10^{-7}$  torr. Las muestras con tejido biológico deben fijarse, deshidratarse y se deben recubrir, por pulverización catódica, con una fina capa de metal; esto sirve para garantizar la conductividad y aumentar la señal (Grin et al., 2011).



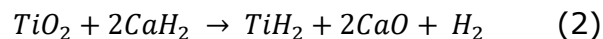
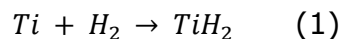
## 5 Materiales y Métodos

### 5.1 Materiales

#### **5.1.1 Materiales y equipamientos utilizados en la obtención de probetas con porosidad gradual:**

##### 5.1.1.1 Polvo de Hidruro de Titanio

El polvo de Hidruro de Titanio (Figura 42) que se utilizó se obtiene mediante la reacción directa del Hidrógeno (1) con el Titanio, o por reducción con Hidrógeno del Dióxido de Titanio usando Hidruro de Calcio (2). De esta manera se puede trabajar con el Titanio en condiciones atmosféricas evitando la formación de óxido de Titanio. La marca del Polvo de Hidruro de Titanio utilizado fue Sigma Aldrich, con una pureza del 98 % y tamaño de partícula menor a 43  $\mu\text{m}$ .



Propiedades:

- Punto de descomposición: 400 °C, en vacío 600 °C;
- Densidad relativa: 3,76
- Insoluble en agua
- Alta estabilidad química en aire
- Frágil



Figura 42 Polvo de hidruro de titanio.



### 5.1.1.2 Resina acrílica

La resina acrílica que se utilizó es de polímeros a base de poli-metacrilato de metilo (Figura 43). Son plásticos derivados del etileno, que contienen un grupo vinilo. Las resinas acrílicas que más se utilizan 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 marca de la resina acrílica que se utilizó fue CARDENT, con un tamaño de partícula menor a  $88 \mu\text{m}$  compuesta por: gránulos de polimetil-metacrilato (polímero), peróxido de benzoilo (iniciador) y sales de cadmio, hierro o pigmentos orgánicos (pigmentos).

Estos acrílicos en general tienen 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).



Figura 43 Resina acrílica en polvo.

### 5.1.1.3 Monómero

El monómero que se utilizó es metacrilato de metilo (Figura 44), es un compuesto uímico de fórmula  $C_5H_8O_2$ . Cuando el monómero de metacrilato de metilo se polimeriza, da lugar al PMMA que es un plástico amorfo, conocido cotidianamente como acrílico. Es tóxico e inflamable. La marca del Monómero que se utilizó fue Subiton autocurable.

### Propiedades:

- Alta resistencia al impacto
- Higroscópico
- Resistencia al envejecimiento
- Aislante térmico
- Acústico y eléctrico
- Inflamable
- Autocurable

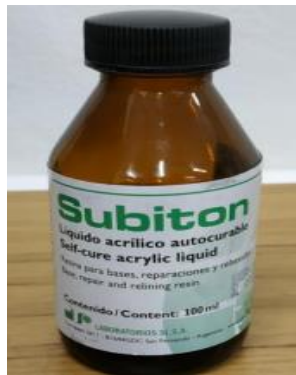


Figura 44 Monómero utilizado.

#### 5.1.1.3.1 Horno eléctrico

Se utilizó un horno tubular horizontal (Figura 45) el cual puede obtener temperaturas que rondan entre los 1300 °C y 1500 °C. El mismo se lo utiliza acoplado a una bomba de alto vacío, la cual permite obtener las condiciones atmosféricas necesarias dentro del horno para el correcto sinterizado del titanio.



Figura 45 Horno eléctrico.

Los controles de configuración de temperatura vs tiempo se encuentran situados en la base del horno (1). Uno de los extremos del tubo de trabajo se conecta al sistema de vacío a través de un tubo flexible de acero inoxidable (2). El acceso al interior del tubo es a través del extremo opuesto, cuyo sistema de cierre está formado por una brida desmontable de aluminio (3). Las serpentinas anti-radiaciones están montadas en ambos extremos del horno, para garantizar la uniformidad de la temperatura máxima con pérdida mínima de velocidad de evacuación del aire (4).

El tubo central del horno está fabricado de alúmina y está recubierto exteriormente para proporcionar un aislamiento al medio. Es calentado a través de resistencias de carburo de tungsteno, que se ubican en la periferia del mismo, proporcionando temperaturas hasta aproximadamente 1500 °C.

#### 5.1.1.3.2 Bomba de alto vacío

Se utilizó una bomba de vacío de marca EDWARDS, para generar atmósferas al vacío. La misma posee 2 módulos (Figura 46):

1. Bomba mecánica rotativa  $10^{-2}Pa$ .
2. Bomba difusora de alto vacío  $10^{-8}Pa$ .

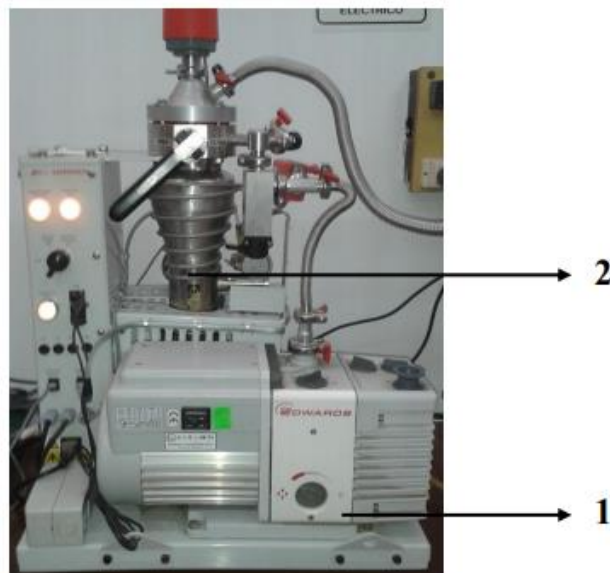


Figura 46 Bomba mecánica y bomba difusora

## 1. Bomba mecánica rotativa:

El principio de las bombas mecánicas consiste en aislar una cantidad de gas de un recipiente, comprimirlo y trasladarlo al exterior. Existen varios tipos de bombas mecánicas, según la geometría del sistema compresor: de paletas rotatorias, de pistón rotatorio y las llamadas bombas de raíces. Discutiremos aquí sólo las bombas de paletas rotatorias.

La Figura 47 muestra el esquema de una bomba de paletas rotatorias. Consiste de dos cilindros excéntricos. El externo o estator, que es hueco, y el interno o rotor. A lo largo del diámetro del rotor hay una ranura en la cual se han insertado dos paletas radiales separadas en el centro por un resorte. La cavidad del cilindro estator está conectado por una abertura a la cámara de vacío (entrada) y por otra abertura al ambiente externo (salida). Las aberturas de entrada y salida están a uno y otro lado de la línea de contacto entre estator y rotor separados por una pequeña distancia angular.

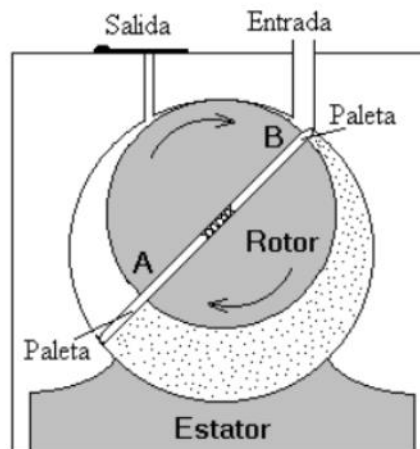


Figura 47 Bomba de paletas rotatorias.

El funcionamiento de este tipo de bombas puede entenderse con ayuda de la (Figura 48) cuando la paleta A pasa por la abertura de entrada la cámara de vacío entra en contacto con el espacio entre rotor y estator (Fig. 48 a). El volumen de este espacio aumenta cuando la paleta continúa su barrido produciendo así una disminución en la presión de la cámara. Esto continúa hasta que la paleta B pasa por la abertura de entrada, instante en el cual una porción de gas queda aislada en el espacio entre rotor, estator y paletas (Fig. 48 b). Puesto que el

barrido continua, el gas aislado se comprime (Fig. 48 c) y es expulsado cuando la paleta B llega a la abertura de salida (Fig. 48 d). La velocidad angular del rotor es usualmente entre 400 y 1500 rpm y la temperatura del sistema en funcionamiento normal es entre 60 y 80°C.

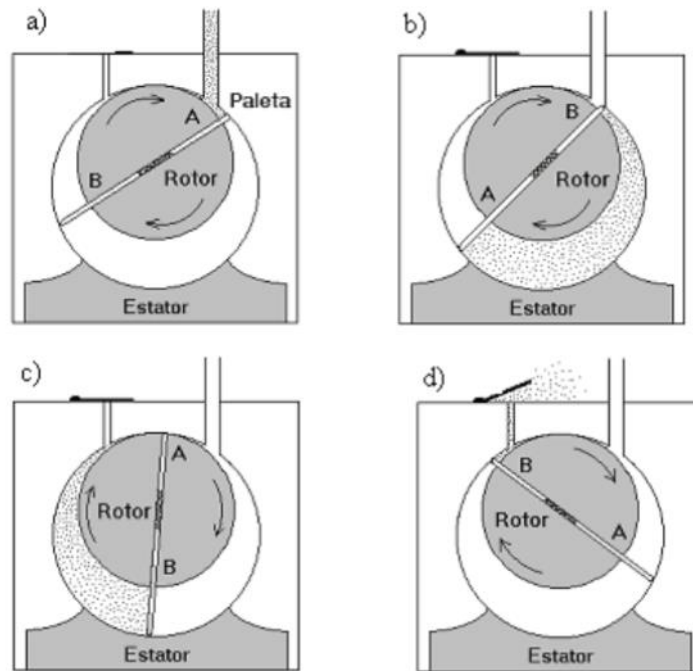


Figura 48 Funcionamiento de la bomba de paletas rotatorias.

Las características más importantes de las bombas son dos:

- La presión última o presión mínima obtenida cuando la bomba sólo se evacua a sí misma
- La velocidad de bombeo.

Para mejorar estas características algunas veces se usan bombas de paletas rotatorias de dos etapas. La (Figura 49) muestra un esquema de este tipo de bombas. Con bombas de paletas rotatorias es posible alcanzar presiones del orden de  $10^{-2}$  Pa.

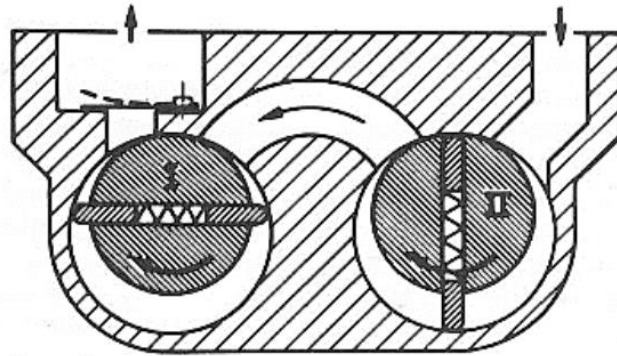


Figura 49 Bomba de paletas rotatorias de dos etapas.

## 2. Bomba difusora de alto vacío:

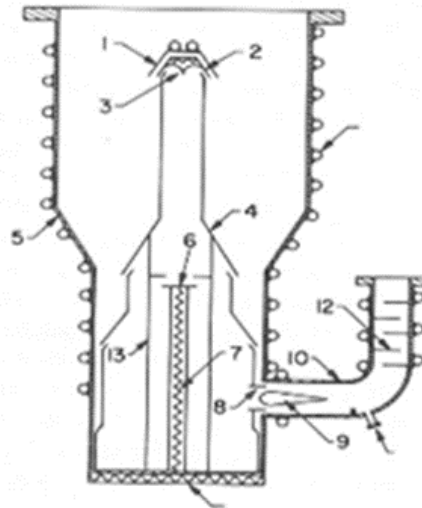
Las bombas de difusión siempre funcionan entre la cámara a evacuar y una bomba mecánica. Cuando una bomba mecánica ha evacuado la cámara y la bomba de difusión hasta una presión de 100 Pa o menos, puede ponerse en funcionamiento la bomba de difusión para obtener presiones de hasta  $10^{-8}$  Pa. El principio de las bombas de difusión es la compresión de un gas por transferencia de momentum en una dirección determinada desde un chorro de vapor.

La Figura 50 muestra la sección transversal de una bomba de difusión. En el fondo, un líquido de baja presión de vapor (mercurio o aceite) es calentado. Un chorro de ese vapor sube por la chimenea y regresa al chocar en el techo de ésta y en las paredes de las boquillas. Los chorros reflejados arrastran las moléculas de gas a baja presión que se encuentran alrededor de la chimenea. El vapor, de aceite o mercurio, se condensa en las paredes refrigeradas de la bomba y regresa al fondo de la bomba, mientras que las moléculas de gas comprimidas salen a través de la bomba mecánica. El gas residual de la cámara por encima del techo de la chimenea reduce su presión porque sus moléculas entran por difusión a la región donde actúa el chorro de vapor.

Las bombas de difusión funcionan comprimiendo gases a presiones del orden de  $10^{-8}$  Pa a presiones del orden de 100 Pa. Por esta razón las bombas de difusión siempre funcionan en serie con una bomba mecánica. La acción de bombeo cesa a presiones mayores de 100 Pa porque el chorro de vapor reflejado

ya no se extiende hasta la pared sino que termina en un frente de choque cerca al chorro principal.

Usualmente, la presión obtenida por la bomba mecánica que respalda a la bomba de difusión es del orden de 25 a 75 Pa. Las bombas de difusión modernas tienen varias etapas de compresión – usualmente 3 a 5 para bombas pequeñas y hasta 7 para bombas grandes. La bomba de difusión mostrada en el esquema de la Figura 50 es de tres etapas. Cada etapa comprime el gas a presiones sucesivamente más altas que la precedente hasta llegar a la salida donde el gas comienza a ser evacuado por la bomba mecánica.



*Figura 50 Sección transversal de una bomba de difusión. (1) Sombrerete enfriado para evitar que el vapor entre a la cámara, (2) heater para compensarla pérdida de calor en la parte superior de la chimenea, (3) superficie aerodinámica para evitar turbulencia, (4) etapas múltiples para obtener bajas presiones, (5) estuche alargado, (6) obstáculo para impedir que entre líquido al chorro de vapor, (7) heater para calentar el vapor, (8) etapa de ejector lateral, (9) obstáculo cónico, (10) purificador de aceite, (11) drenaje de aceite altamente volátil, (12) obstáculos para evitar pérdidas de aceite, (13) chimeneas concéntricas que permiten el fraccionamiento del chorro de vapor de aceite.*



### 5.1.1.3.3 Equipos secundarios y herramientas

Maquina/Herramienta	Descripción
<b>Balanza</b>	Se utilizó una balanza analítica de laboratorio, poseía un error en la milésima de gramo
<b>Mezcladora rotatoria</b>	Se utilizó una mezcladora mecánica rotatoria en forma de "Y" donde se introducen los polvos.
<b>Espátula</b>	Este instrumento de laboratorio se utilizó para tomar pequeñas cantidades de compuestos, en general, en forma de polvo. Posee sobre uno de sus extremos una forma cóncava correspondiente a una cuchara y sobre el lado opuesto una forma plana correspondiente a la espátula.
<b>Navecilla</b>	La Navecilla que se utilizó fue de combustión de porcelana fabricada en porcelana sin esmaltar. Ideal para procesos de combustión o fundir metales. La temperatura máxima de trabajo es de 1350 °C y cuenta con dimensiones de 88 x 10 x 13 mm.
<b>Crisol</b>	Es un recipiente de porcelana, el cual se trabaja con sustancias a alta temperatura por su resistencia a elevada temperatura.

## **5.1.2 Materiales utilizados para la fabricación de moldes:**

### 5.1.2.1 Plástico PLA para impresión 3D

Se utilizó PLA (ácido poliláctico) para la impresión 3D, es un material termoplástico biodegradable, hecho a base de recursos renovables como el almidón de maíz o la caña de azúcar. Es fácil de extruir por su baja temperatura de fusión.



#### 5.1.2.1.1 Impresora 3D

Se utilizó una impresora marca TRIDEO modelo PrintBox MAX. Tiene un volumen de trabajo de 300 x 300 x 350 mm, con una cama calefaccionada que permite una buena adherencia de las piezas durante el trabajo. La resolución máxima en el eje Z es de 0,08 mm y el diámetro del depósito plástico es de 0,4 mm. Permite la utilización de los plásticos ABS, PLA y NYLON con un diámetro de filamento de 1,75 mm.



Figura 51 Impresora 3D TRIDEO.

#### 5.1.2.2 Otros

Cloroformo (Triclorometano), se utilizó Cloroformo cuya marca fue CICARELLI Laboratorios, es peligroso, nocivo y cancerígeno. Provoca daño ocular y es peligroso su ingestión.

Pintura, se utilizó pintura transparente multiuso cuya marca fue ULTRA COVER.

Caucho de Silicona, se utilizó Caucho de silicona Silicast 7020 con su respectivo catalizador, de marca PURA QUIMICA.



### **5.1.3 Materiales y equipamientos utilizados para el ensayo in vitro**

- Recipientes estériles
- Medio de cultivo Dulbeccos Eagle modificado (DMEM)
- Muestras de Titanio poroso
- Suero fetal bovino (SFB)
- Células epiteliales Vero
- L-glutamina
- Piruvato de sodio
- Penicilina
- Estreptomina
- 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro (MTT)
- Alcohol isopropílico
- Placa de 96 pocillos
- Lector Multiskan Spectrum microplate
- Extracto de polietileno de alta densidad (HDPE)
- Solución de fenol

### **5.1.4 Ensayo in vivo**

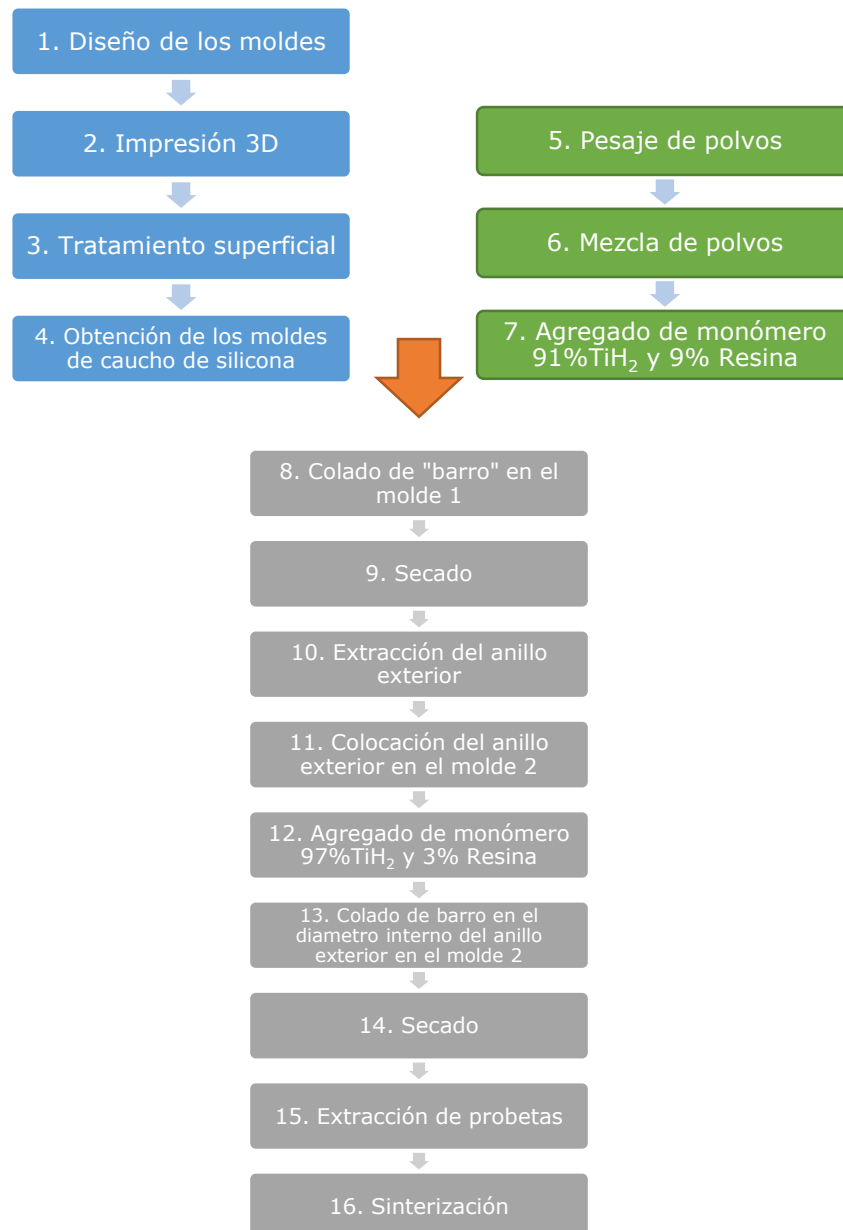
- Rata macho Sprague-Dawley
- Herramientas para operación quirúrgica
- Anestesia xilacina y clorhidrato de ketamina
- Superficie térmica
- Halotano inhalatorio



## 5.2 Métodos

### 5.2.1 ***Obtención de probetas con porosidad gradual***

Para la fabricación de muestras de Titanio con porosidad gradual, nos basamos en metodologías similares a los anteriores proyectos de investigación del Laboratorio de Ingeniería Metalúrgica planteadas en las referencias (Cantero & Roure, 2017) y (Segura & Soria, 2019). A continuación se describirá la metodología que se utilizó según el siguiente esquema de trabajo:



#### 5.2.1.1 Diseño del molde (1)

El primer paso es diseñar los moldes (Figura 52) para obtener las piezas con las dimensiones deseadas, mediante la utilización del software de diseño SolidWorks (2015).



*Figura 52 Diseños de los moldes negativos*

#### 5.2.1.2 Impresión 3D (2)

Una vez obtenidos los diseños, se exportan los mismos en formato STL. Luego, los archivos generados a partir de cada diseño son editados mediante el software Ultimaker Cura (V3.6.0) para generar un nuevo archivo en formato GCODE, el cual contiene la información de las coordenadas y movimientos que efectuará la impresora 3D.

#### 5.2.1.3 Tratamientos superficiales (3)

Una vez ya impresos los moldes negativos, se procedió a tratarlos superficialmente con cloroformo dejándolos secar 2 horas y luego con pintura transparente. De esta manera se eliminaron las rayas que quedaban por la impresión final, mejorando la apariencia y evitando defectos superficiales.

#### 5.2.1.4 Obtención del molde de caucho de silicona (4)

Luego del tratamiento superficial de los moldes negativos, se procedió a preparar el caucho de silicona para la obtención de los moldes para las probetas, se llenó cada molde negativo con 250 ml de caucho de silicona y 2 ml de

catalizador, y con una espátula se mezcló para garantizar un curado uniforme. La catálisis tardó aproximadamente 1 día para poder aplicar los moldes.

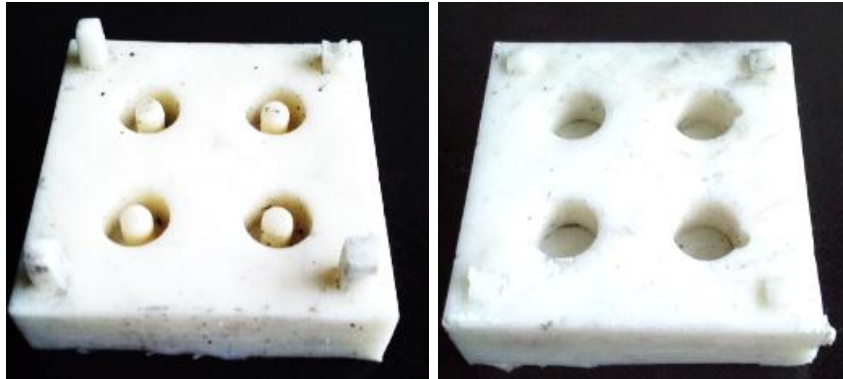


Figura 53 Moldes de caucho de Silicona, molde 1 (izquierda), molde 2 (derecha)

#### 5.2.1.5 Pesaje de polvos (5)

Se pesaron polvos de Hidruro de Titanio y resina acrílica (RA) en un recipiente de porcelana, utilizando una espátula para suministrar los mismos en una balanza analítica de laboratorio según la relación en peso correspondiente, las relaciones de polvos utilizadas fueron:

- 3R = 97 %  $TiH_2$  y 3 % RA
- 9R = 91 %  $TiH_2$  y 9 % RA

De esta manera, la mezcla de polvo 3R fue utilizada para el diámetro interno de la probeta y la mezcla de polvo con 9R se utilizó para el anillo exterior de la misma.

#### 5.2.1.6 Mezcla de polvos (6)

Luego, una vez pesados y clasificados los polvos, se procedió a mezclarlos en una mezcladora mecánica rotatoria "Y" (Figura 54), el cual era impulsado por un motor eléctrico a bajas revoluciones (37 rpm). El tiempo de mezclado fue entre 15 y 20 minutos para garantizar una mezcla homogénea de los polvos para cada relación correspondiente.



Figura 54 mezcladora mecánica rotatoria "Y"

#### 5.2.1.7 Agregado del monómero a la mezcla 9R, colado de barro en el molde 1 y secado (7), (8) y (9)

Una vez obtenida la premezcla 9R, se procedió a generar el "barro" mezclando a la misma con monómero. Este proceso fue realizado en un recipiente de porcelana, donde se coloca la premezcla y se le agrega el monómero mediante un gotero. Esta solución es mezclada manualmente con una espátula de laboratorio, con el fin de promover el proceso de polimerización y homogeneizar la mezcla. El exceso de monómero agregado en la mezcla, se volatiliza durante dicho mezclado. Una vez que la mezcla alcanza una consistencia pastosa (viscosa), que permita la fácil manipulación, se procede al llenado del molde 1 para obtener los anillos externos. Para garantizar un buen llenado del molde se utilizó una pequeña mesa vibratoria durante 10 minutos, luego se dejó catalizar la resina durante 24 horas.



Figura 55 Ejemplo de un anillo exterior resultante del proceso

Las etapas de la polimerización de la resina son:

- A. Iniciación: corresponde a la etapa de inducción en la cual se activa al iniciador ya sea por medio de energía química, física o radiación luminosa (ultravioleta o luz visible). Se efectúa la apertura de dobles o triples enlaces de cada molécula o unidad estructural.
- B. Propagación: la ligadura libre activa a la molécula contigua y se produce una reacción en cadena. La actividad molecular genera una producción de calor (25-30°C).
- C. Terminación: la propagación continúa hasta el momento en que ya no se encuentren radicales libres.
- D. Transferencia de cadena: activación de una cadena a otra ya terminada, generando nuevo crecimiento en dicha cadena, aumentando el peso molecular. Inhibición de la polimerización: el proceso de polimerización no termina, particularmente por la presencia casi siempre del monómero libre.

#### 5.2.1.8 Colocación del anillo exterior al molde 2, agregado de monómero a la mezcla 3R, colado del barro y secado (11), (12), (13) y (14)

Luego de que los anillos externos hayan polimerizado, se los trasladan al molde 2. Se procedió a realizar el mezclado de la mezcla 3R con el monómero, obteniendo así el "barro" que fue depositado en los diámetros internos de los anillos externos ya polimerizados. Previo a la deposición del barro, se debió embeber las paredes del anillo interno con monómero, para garantizar una correcta unión entre las dos capas. Para obtener un correcto llenado, se utilizó una mesa vibratoria y luego se dejó catalizar durante 24hs.

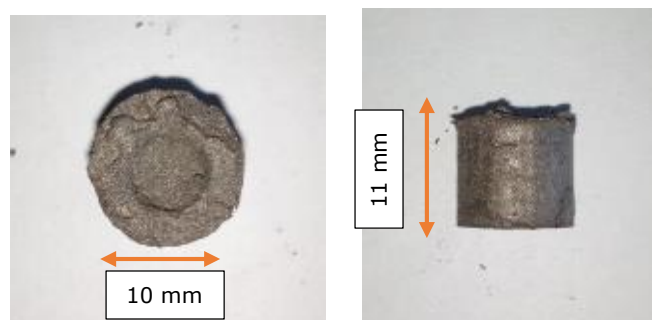


Figura 56 Ejemplo de muestra en verde resultante del proceso



Una vez que la resina haya polimerizado por completo, se obtienen las probetas en verde cuya adherencia de los polvos se debe a una matriz de resina acrílica que las une. Debido a esto, es posible manipularlas ligeramente sin que las mismas se desmoronen o se rompan.

Finalmente, se colocaron las probetas en verde en una navecilla de porcelana para proceder al proceso de sinterizado en un horno eléctrico con atmósfera controlada de alto vacío.

#### 5.2.1.9 Sinterización (16)

En el proceso de sinterización, lo que se busca es obtener la unión de las distintas partículas metálicas, a través de un mecanismo que se lo conoce como difusión. En esta etapa las temperaturas utilizadas son menores a la correspondiente para la fusión del metal empleado.

El proceso de sinterizado utilizado cuenta con las siguientes etapas:

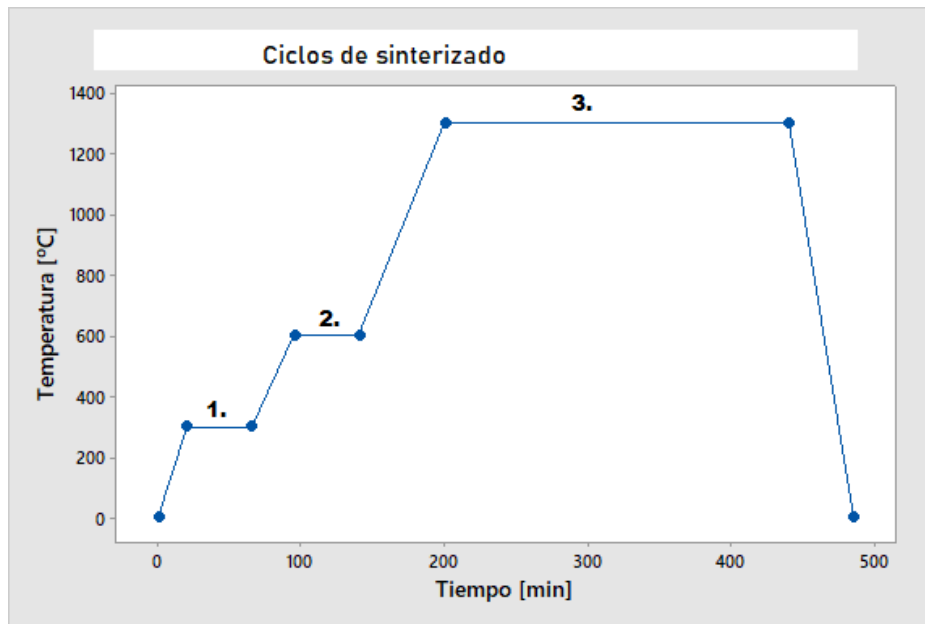


Figura 57 Curva de calentamiento



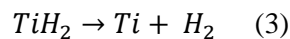


### 1. Volatilización de la resina acrílica:

En esta fase, se busca eliminar la resina acrílica utilizada. Este proceso se realiza a 300 °C durante un período de 45 minutos. A esta temperatura el polímero se carboniza liberando compuestos gaseosos como CO<sub>2</sub> y CO donde los mismos son eliminados a través de la bomba de vacío. El objetivo de la volatilización de la resina acrílica es la de generar espacios libres dentro de la estructura, con el fin de obtener una estructura porosa.

### 2. Descomposición del hidruro de titanio:

A la temperatura de 600 °C se produce la descomposición del hidruro de titanio, obteniendo como productos titanio metálico e hidrógeno gaseoso.



La duración de esta fase es de 45 minutos para lograr una completa descomposición. El hidrógeno gaseoso es retirado de la cámara mediante la bomba de vacío.

### 3. Sinterización de la muestra:

En esta fase es donde se logra la “microsoldadura” de las partículas de titanio por un proceso difusional. De aquí deriva una muestra metálica, con porosidad gradual. Este proceso es realizado en hornos con atmósferas controladas o de vacío, debido a la alta afinidad que posee el titanio con el oxígeno presente en el aire. Al oxidarse, forma óxido de titanio (rutilo), el cual funde a temperaturas de 1830 °C, las cuales son difíciles de alcanzar. La temperatura que se utilizó para esta etapa fue de 1300°C con una duración de 240 minutos. La atmósfera utilizada fue una atmósfera de alto vacío con una presión aproximada de  $1 \times 10^{-6}$  mmHg.



### **5.2.2 Caracterización de las estructuras porosas**

Se procedió a realizar la caracterización de las estructuras porosas a través de los siguientes análisis:

1. Caracterización metalográfica.
2. Caracterización de la contracción y pérdida de peso.
3. Caracterización de las estructuras porosas obtenidas.
4. Caracterización biológica, ensayos in vitro e in vivo.

#### **5.2.2.1 Caracterización metalográfica**

El análisis metalográfico es una técnica de análisis empleada para el estudio Estructural y superficial de los materiales. En nuestro caso, para analizar la porosidad del material se procedió desbastando y puliendo las muestras.

Para el desbaste y pulido se parte del desbaste grueso, con lijas gruesas de grano 80, 120, 160 con bandas mecánicas, discos o de forma manual, con o sin ayuda de agua; luego tenemos el desbaste fino donde se comienza desde la lija con granos más gruesos y se avanza hacia los granos más finos alternando en el pasaje de cada lija con un movimiento de 90 grados, de esta manera se eliminan las rayas producidas por la lija anterior. El pulido se realiza usando paños y distintos materiales abrasivos como óxido de aluminio, óxido de magnesio, polvo de diamante, óxido de cromo, óxido de hierro, etc. Que se utilizan dependiendo de la dureza y composición del material a pulir. Se rocía en el pulido con líquidos no volátiles.

#### **5.2.2.2 Caracterización de la contracción y pérdida de peso**

Previo y post a la etapa de sinterizado, se procedió a la medición el diámetro y la longitud de las muestras, como así a la medición del peso de cada una de las probetas.

Las zonas que se midieron fueron la longitud y el diámetro de las muestras, como están señaladas en la Figura 56, y la variación de peso se procedió utilizando la balanza analítica de laboratorio.



Se realizaron estas mediciones para verificar los cambios de pérdida de peso y dimensiones de la probeta por la descomposición de la resina acrílica y fenómenos de contracción que suceden en la sinterización.

### 5.2.2.3 Caracterización de las estructuras porosas obtenidas

La caracterización de las estructuras porosas se realizó a través del análisis de las fotomicrografías obtenidas en el punto 5.2.2.1 y la utilización del software comercial MATLAB 9.2 (R2017a). Para tal objetivo se utilizó un script específico, el cual permitió realizar las mediciones pertinentes.

Las características que se buscan medir son:

- Porosidad porcentual total de la muestra.
- Área y tamaño de los poros.

El mismo programa calcula la porosidad porcentual total de la muestra a través del uso de los píxeles. El mismo programa identifica a cada poro presente en la micrografía y luego calcula el área de cada poro contabilizando los píxeles que se alojan sobre el mismo. Una vez realizado lo anterior, se procede a sumar el área de todos los poros y dividir a esa sumatoria por el área total de la micrografía y luego multiplicar por 100, obteniendo así la porosidad porcentual total de la muestra.

Para el correcto análisis, se procedió al filtrado de defectos visuales como rayas o manchas, pertinentes al método de preparación de muestras. El filtrado se realizó teniendo en cuenta el área de las imperfecciones como así el factor de forma de las mismas. Manipulando correctamente estos parámetros, es posible obtener un correcto filtrado como se puede observar en la Figura 58.

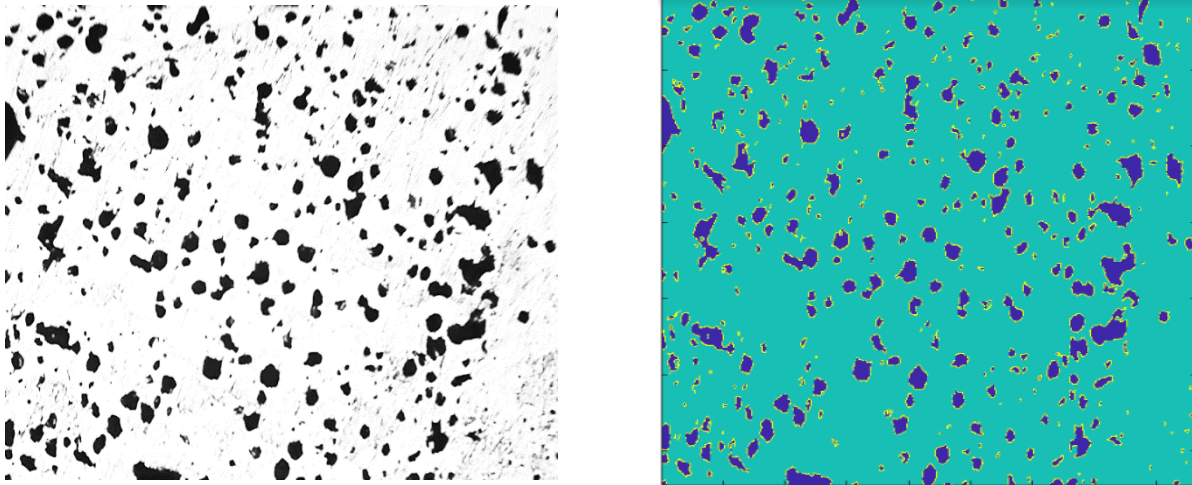


Figura 58 Imagen micrográfica (Izquierda) e imagen filtrada (Derecha).

#### 5.2.2.4 Caracterización biológica, ensayos *in vitro* e *in vivo*.

##### **Ensayo *in vitro***

Se desarrolló un experimento preliminar de citotoxicidad *in vitro*, el mismo consistió en realizar el ensayo MTT, de acuerdo a la norma ISO 10993-5. Este permite verificar si las muestras con porosidad gradual que estamos desarrollando presentan una correspondiente viabilidad de la actividad metabólica de las células utilizadas en dicho ensayo. El ensayo MTT consiste en realizar lo siguiente:

1. Preparación de las muestras

Las muestras de Titanio se prepararon mediante el proceso de Gel-Casting, desarrollado anteriormente en la sección "Obtención de probetas con porosidad gradual". Las muestras se limpiaron ultrasónicamente en acetona al 100 % y agua destilada, durante 10 minutos en cada paso y se esterizaron en estufa a 140 °C durante 2 horas.

2. Preparación de los extractos de las muestras

Se prepararon extractos de Titanio para evaluar el potencial efecto citotóxico de las muestras. Las condiciones de extracción se llevaron a cabo de acuerdo con la norma ISO 10993, 2012. Las muestras esterilizadas se pusieron en recipientes estériles, químicamente inertes y cerrados. Se añadió medio de cultivo Dulbeccos Eagle modificado (DMEM) en una proporción de 0,1g/mL (masa



de disco/volumen de DMEM). Las muestras se incubaron en una atmósfera humidificada de 5 % de CO<sub>2</sub> en aire a 37°C durante 72 h. Los discos se retiraron de los medios de cultivo y luego de la adición de suero fetal bovino (SFB) a una concentración final de 10 % se obtuvo el extracto al 100 % (100-extracto). Para el ensayo de citotoxicidad se prepararon adicionalmente diluciones del extracto: 75 %, 50 % y 25 % (75, 50, 25-extracto). Los extractos se usaron inmediatamente después de la preparación para evitar la sorción en el recipiente de extracción u otros cambios en la composición.

### 3. Cultivo celular

Células epiteliales Vero se cultivaron en DMEM suplementado con 10 % de SFB, 4 mM de L-glutamina, 4 mM de Piruvato de sodio y 10.000 UI/ml de penicilina-10000 µg/ml de estreptomina a 37°C en una atmósfera humidificada de 5 % de CO<sub>2</sub> en aire. El medio de cultivo se renovó cada 3 días.

El uso de células provenientes de la línea Vero es recomendado para estudios de citotoxicidad e interacciones célula-sustrato en investigaciones sobre biomateriales (ISO 10993, 2009b).

### 4. Ensayo de citotoxicidad

La evaluación de la citotoxicidad de los extractos de las muestras se realizó mediante el ensayo de MTT (3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolio bromuro). Las células Vero se sembraron en DMEM suplementado en placa de 96 pocillos a una densidad de 10.000 células por pocillo. Después del cultivo celular durante 24 horas, se retiró el medio y se agregaron las diluciones seriadas de los extractos (100, 75, 50 y 25-extracto).

Después de 24 horas, los pocillos se lavaron dos veces con PBS estéril y se agregó 50 µl de MTT 1 mg/mL en DMEM a cada pocillo y se incubó durante 1,30 horas a 37 °C. Se agregó alcohol isopropílico en cada pocillo para disolver los cristales de formazán. La absorbancia se cuantificó por espectrofotometría a 595 nm usando un lector Multiskan Spectrum microplate (ThermoScientific). Como control negativo de citotoxicidad (CN) se utilizó 100-extracto de polietileno de alta densidad (HDPE) (6 cm<sup>2</sup> superficie de HDPE/mL de DMEM) y como control positivo (CP) una solución de fenol 0,2 %.



### 5. Trabajos complementarios de experimentación *in vitro*

Para poder desarrollar un modelo de experimentación *in vitro* y que, a su vez, sea factible, se han citado como complemento algunas referencias que establecen criterios de experimentación que avalan la factibilidad de desarrollar el modelo *in vitro*.

Con respecto a las referencias, tenemos la primera en la cual se llevaron a cabo ensayos *in vitro* de muestras de Titanio poroso, Titanio con hidroxiapatita y Titanio no poroso obtenidas por el método de pulvimetalurgia. Los ensayos que se realizaron fueron el de citotoxicidad *in vitro* (ensayo MTT), análisis de la morfología celular y análisis de la adhesión celular de estos materiales (Comín et al., 2015).

En la siguiente referencia se estudió una comparación en la respuesta biológica *in vitro* de muestras de Ti6Al4V con diferentes tamaños de poros, donde se obtuvieron por el proceso de pulvimetalurgia, para implantes intervertebrales. Los estudios *in vitro* que se realizaron en esta referencia constan de un análisis de adhesión celular, proliferación celular y diferenciación de células osteoblásticas. Además, se determinaron las propiedades mecánicas de las muestras de Ti6Al4V realizando ensayos de compresión y de fatiga (Caparrós et al., 2014).

En la última referencia se busca correlacionar la porosidad diseñada por dos rutas diferentes, el comportamiento mecánico y comportamiento celular *in vitro* de sustratos porosos de titanio para promover una osteointegración deseada. Para esto se comparan dos técnicas de sinterización, sinterización suelta (LS) y sinterización de soporte de espacio (SH), para evaluar la influencia de la porosidad (contenido, tamaño, morfología y rugosidad de la pared), las propiedades mecánicas (rigidez y límite elástico) y las respuestas celulares *in vitro* (adhesión y proliferación de mioblastos y osteoblastos). Cabe mencionar que en el sinterizado SH se utilizaron dos diferentes tipos de espaciadores a diferentes porcentajes (Civantos et al., 2020).

### **Ensayo in vivo**

Se realizó un experimento preliminar para verificar la factibilidad de ensayo in vivo para nuestro material poroso. Para esto, se planteó una operación quirúrgica para la implantación de una muestra de Titanio poroso en el fémur de una rata macho de raza Sprague-Dawley que pesaba 300 gramos y así verificar la osteointegración.

El procedimiento planteado fue el siguiente:

#### ***1. Diseño del implante y tecnología de moldes para su fabricación***

Se realizó una tomografía de la pata de la rata a operar, para poder realizar el diseño correspondiente del implante a implantar (Figura 59).



*Figura 59 Tomografía de la extremidad de la rata*

Luego se realizó el diseño del molde correspondiente, siguiendo la misma metodología explicada en 5.2.1.1, 5.2.1.2, 5.2.1.3 y 5.2.1.4.

#### ***2. Fabricación y acondicionamiento del implante***

Para esto se obtuvo, mediante el procedimiento de Gel-Casting, nuestro modelo de implante de Titanio cilíndrico para su implantación. El procedimiento de obtención del mismo es el desarrollado en 5.2.1.5, 5.2.1.6 y 5.2.1.7.

Previo a la implantación, es necesario acondicionar el implante. Para ello, se limpió y esterilizó la muestra mediante exposición UV y con un limpiador ultrasónico durante 40 minutos en acetona al 100 % y agua destilada.



*Figura 60 implante transcortical*

### 3. Operación quirúrgica

Todos los procedimientos quirúrgicos se realizan en animales anestesiados cumpliendo con los principios y prácticas quirúrgicas para minimizar la incidencia de sepsis intraoperatoria. Entonces, para la inserción de la "prótesis", la rata fue anestesiada con una inyección intramuscular de xilacina (0,1 ml / 100 g de peso corporal) y clorhidrato de ketamina (100 mg / ml). Se realizó una implantación transcortical en el fémur izquierdo del animal haciendo un orificio hasta la mitad del hueso trabecular y se insertó la muestra, luego de terminar con la operación quirúrgica, se dejó el animal 1 mes con el implante.

Luego de un mes, se sacrificó el animal con una sobredosis de halotano inhalatorio hasta inducir paro respiratorio, y se extrajo el fémur con la muestra implantada (Figura 61) para ser analizada por microscopía por barrido de electrones.





*Figura 61 Extremidad obtenida luego del sacrificio del animal*

#### *4. Trabajos complementarios de experimentación in vivo*

Como complemento, para establecer la factibilidad de desarrollar un modelo de experimentación in vivo se han citado varias referencias donde se exponen experimentaciones a materiales similares a los estudiados en esta tesis. Las referencias establecen criterios de experimentación que avalan la factibilidad de desarrollar un modelo, mencionando el tipo de material, dimensiones, animal, operación quirúrgica y análisis para llegar a un objetivo similar al propuesto aquí.

En el primer artículo realizaron experimentos con muestras de titanio porosas, para analizar la osteointegración que las mismas manifiestan, fabricadas aplicando el método metalúrgico HDH con partículas espaciadoras similar a nuestro proyecto. Para el ensayo in vivo utilizaron conejos donde la inserción se realizó en la tibia próxima al hueso cortical de manera longitudinal. Los tiempos de permanencia de los implantes fueron de 4-8 semanas. Luego sacrificaron los animales para extraer las muestras para ser analizadas por SEM (de Vasconcellos et al., 2012). Como otra referencia tenemos que realizaron experimentos in vivo, sobre muestras de titanio Ti6Al4V poroso por impresión 3D, en conejos donde la inserción se realizó en el cóndilo femoral lateral. Los sacrificios lo realizaron cada 2, 6 y 12 semanas después de la implantación para la extracción de muestras, donde después fueron analizadas por micro-CT y análisis histológico (Li et al., 2018). Por último tenemos un artículo, cuyo objetivo fue analizar la variabilidad de las propiedades biológicas del titanio poroso al cambiar el tamaño de la retícula, utilizaron muestras de Ti6Al4V poroso obtenidas por impresión 3D, el cual para el



ensayo in vivo emplearon conejos donde la inserción del implante se realizó en el cóndilo femoral. Los animales se sacrificaron después de 4 - 12 semanas de la implantación para extraer los cóndilos femorales y analizar las muestras por micro-CT (tomografía computada) (Ran et al., 2018).

Como siguiente se van a mencionar diferentes publicaciones que demostraron medir el crecimiento óseo sobre los implantes de titanio como en los casos anteriores, pero esta vez con recubrimientos o tratamientos superficiales diferentes a los anteriores. Como primer artículo, realizaron experimentos in vivo en muestras de TiAl6V4 con tres tipos de recubrimientos, corindón (MiPo), corindón más fosfato de calcio (MiPo-CaP) y Titanio con fosfato de calcio (MiPo-TiCaP), para analizar la osteointegración. Para el ensayo in vivo también utilizaron conejos donde realizaron la inserción de dichos implantes en el canal intramedular del fémur distal justo arriba de la rodilla. Evaluaron cada 3, 6 y 12 semanas, luego la sacrificaron y las prepararon para realizarles un análisis, por microscopía óptica, macrográfico y SEM (Bretschneider et al., 2020). En el siguiente artículo, tenían como objetivo analizar el crecimiento óseo en implantes de titanio, pero con un recubrimiento de diamante amorfo y sin recubrimiento. Para el ensayo in vivo utilizaron ratas y la inserción fue realizada en el lateral de la rótula hasta la cavidad de la médula ósea, los sacrificios se realizaron después de 4 semanas y para otras 12 semanas para analizar las muestras por microscopía de luz (Jaatinen et al., 2011). En el último artículo, tenían como objetivo analizar los mecanismos de la osteointegración en muestras de Titanio con 2 modificaciones superficiales, estas consistieron en arenado y mojado por ácido; y el otro consistió en un recubrimiento con sílice por el método sol-gel. Para esto utilizaron pequeños discos de dichos materiales y conejos para el ensayo in vivo, la inserción se realizó en la tibia. Los animales fueron sacrificados a las 2- 4 semanas de la implantación para extraer las muestras a ser analizadas por análisis histológico (Araújo-Gomes et al., 2018).

## 6 Resultados y discusión

### 6.1 Obtención de probetas con porosidad gradual

#### **6.1.1 Análisis de la contracción y pérdida de peso**

Para este análisis, el resultado proviene del promedio de 8 muestras obtenidas, que se reflejan en la siguiente tabla:

Tabla 12 Variación porcentual de las dimensiones y peso de 8 muestras

Diámetro inicial	Altura inicial	Peso inicial	Diámetro final	Altura final	Peso final	Variación % del diámetro	Variación % de la altura	Variación % del peso
11,61 mm	9,40 mm	1,8719 g	9,82 mm	7,07 mm	1,6676 g	15,4	24,7	10,9

#### **6.1.2 Análisis macrográfico**

En el análisis, se pudieron observar desde una vista transversal, la terminación de las muestras luego del sinterizado.

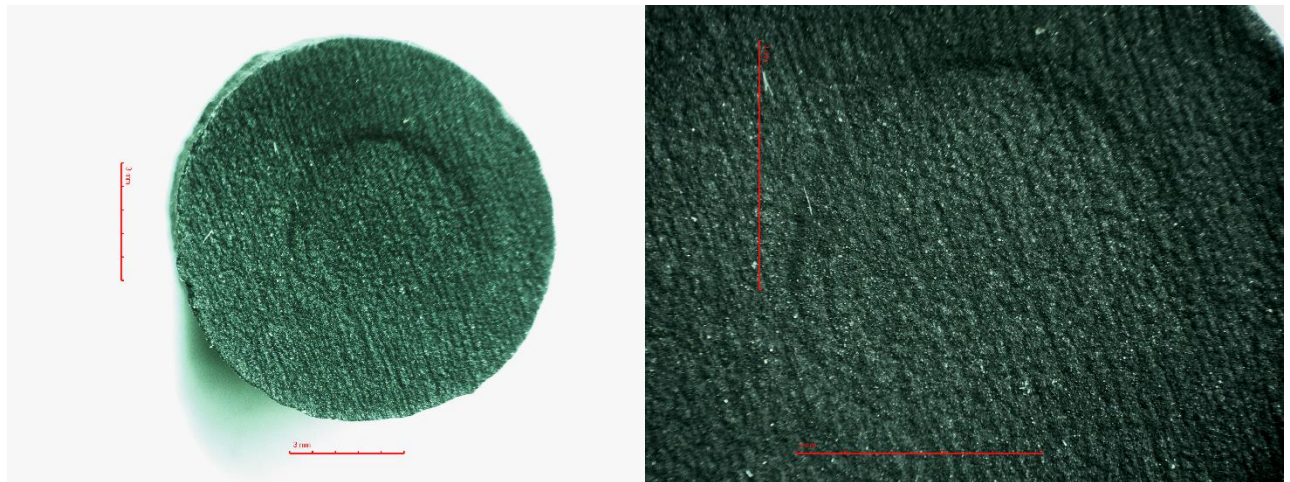


Figura 62 Imágenes de lupa estereoscópica 10X (izquierda) y 20X (derecha)

#### **6.1.3 Análisis por microscopía óptica y confocal**

En el análisis, se pudo observar una continuidad entre la interfase 9 % y 3 %, esta se puede apreciar en las siguientes imágenes de una muestra con vista transversal y una muestra con vista longitudinal.

A su vez también se observaron algunos defectos como presencia de discontinuidad entre las interfaces y poros de gran tamaño.

### 6.1.3.1 Microscopía óptica:

Tabla 13 correspondiente a imágenes de microscopía óptica obtenidas de la vista longitudinal

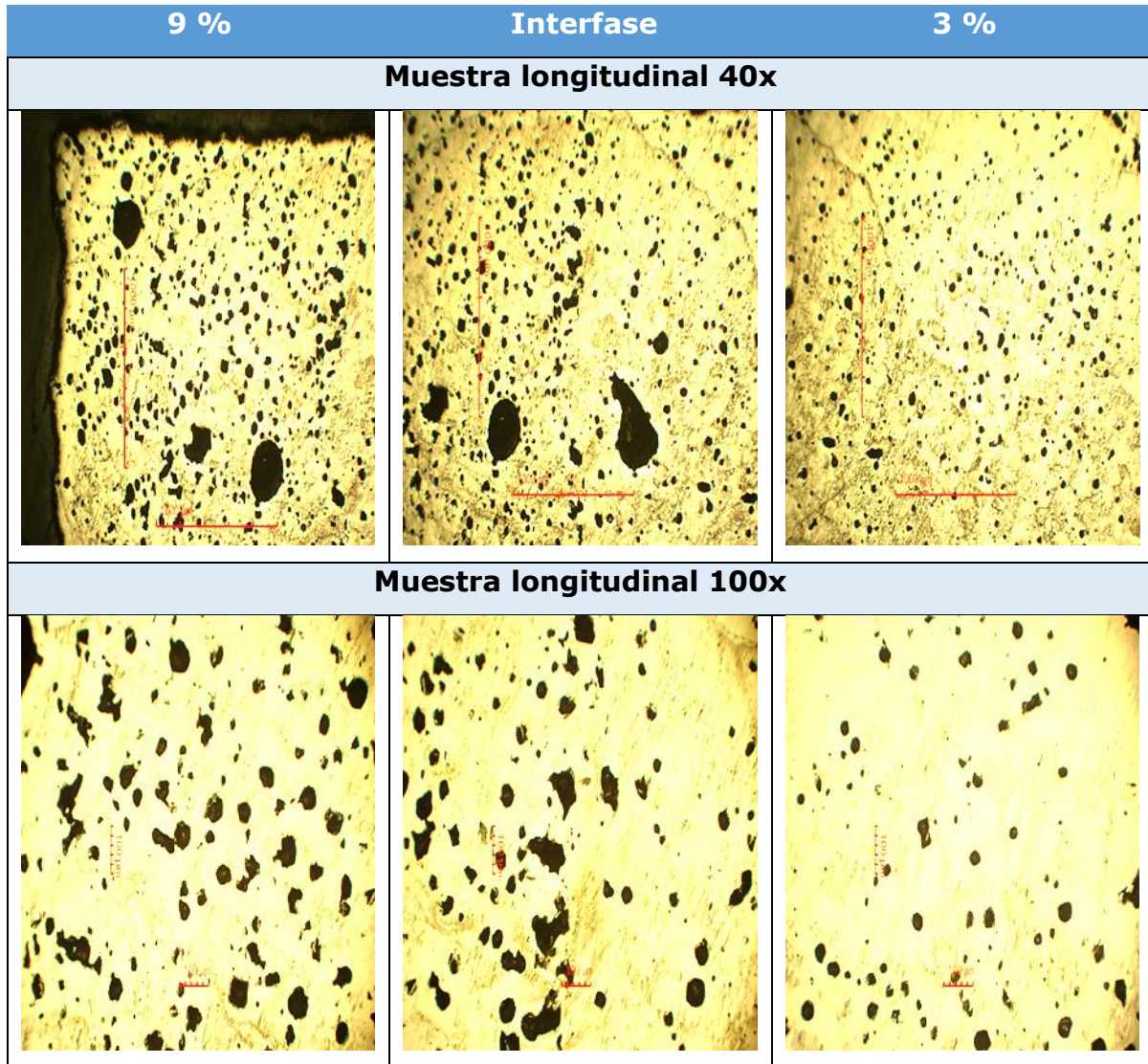


Tabla 14 correspondiente a imágenes de microscopía óptica obtenidas de la vista transversal

9 %	Interfase	3 %
<b>Muestra transversal 40x</b>		
<b>Muestra transversal 100x</b>		

En las microfotografías tomadas en microscopio óptico se observa una matriz continua de Ti de color brillante, en la cual se encuentran distribuidos poros de color oscuro. Se puede apreciar en la interfase el comienzo del diámetro interno con una densidad de poros menor que en el anillo exterior.

### 6.1.3.2 Defectos:

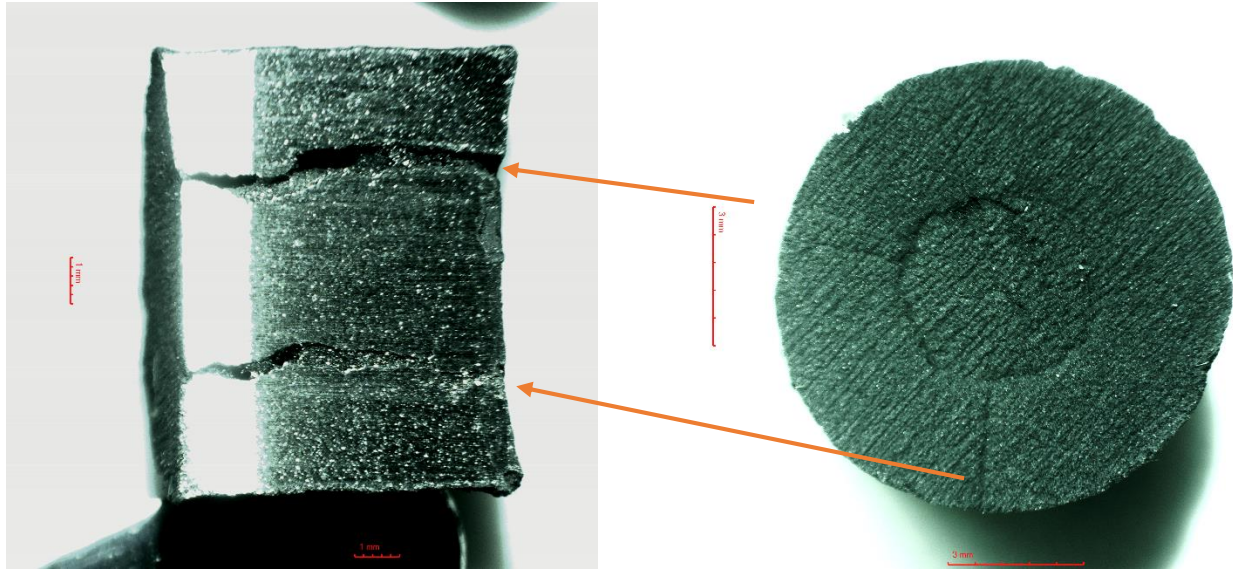


Figura 63 Imágenes de lupa estereoscópica 10X donde se observa discontinuidad en la interfase

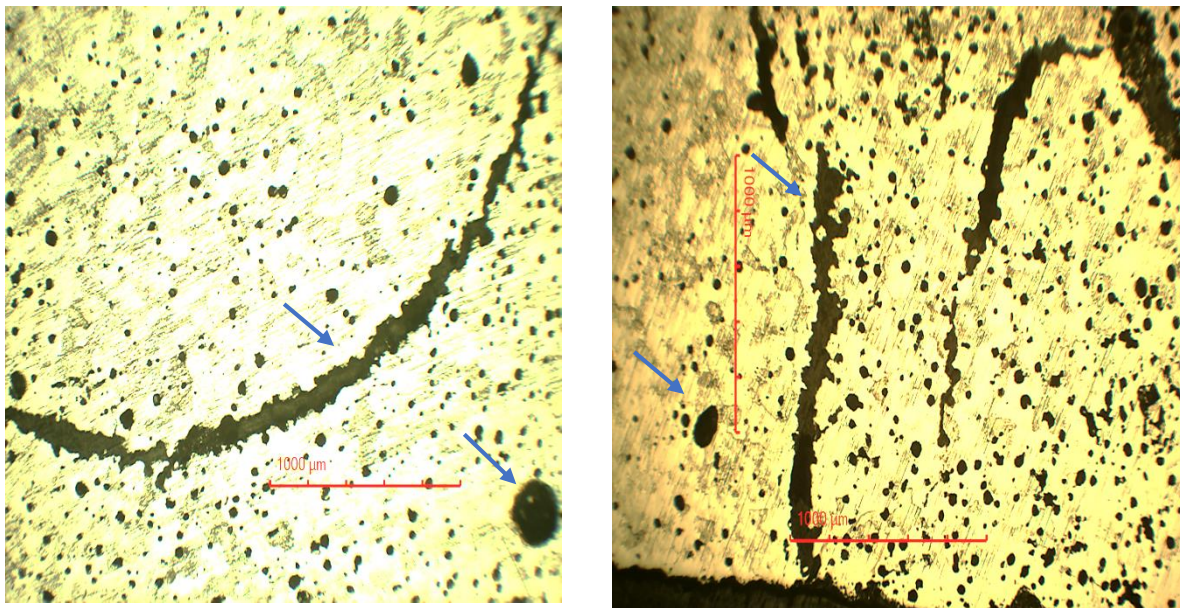
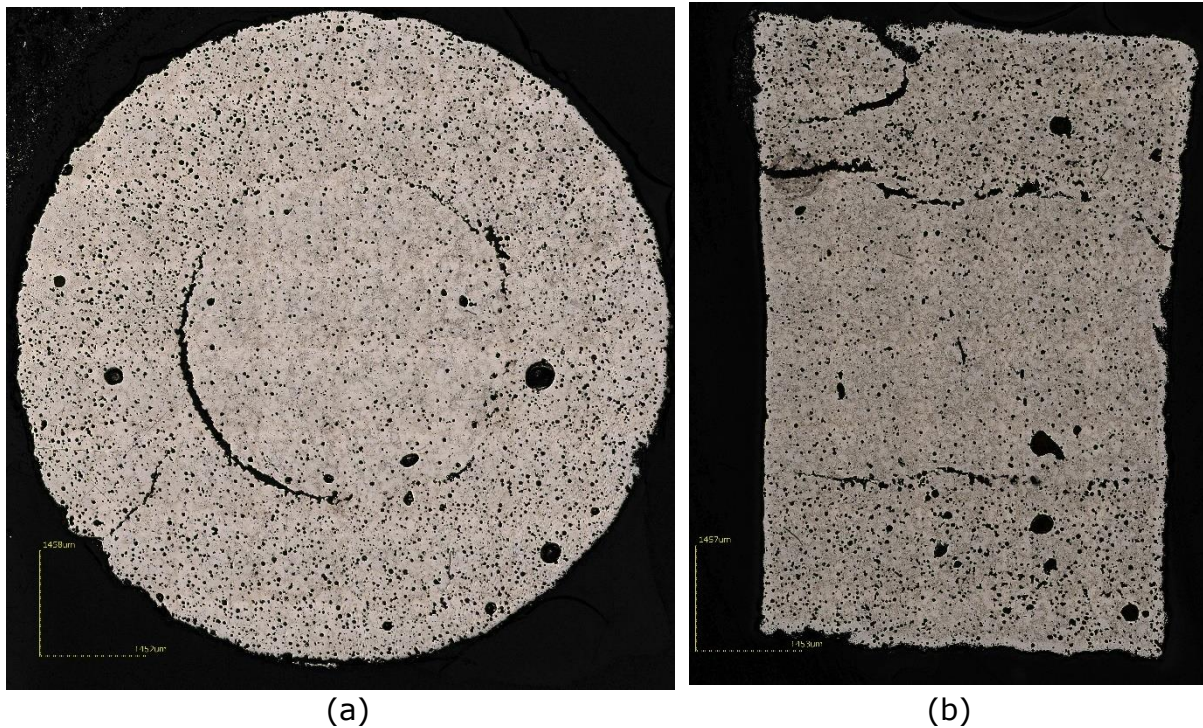


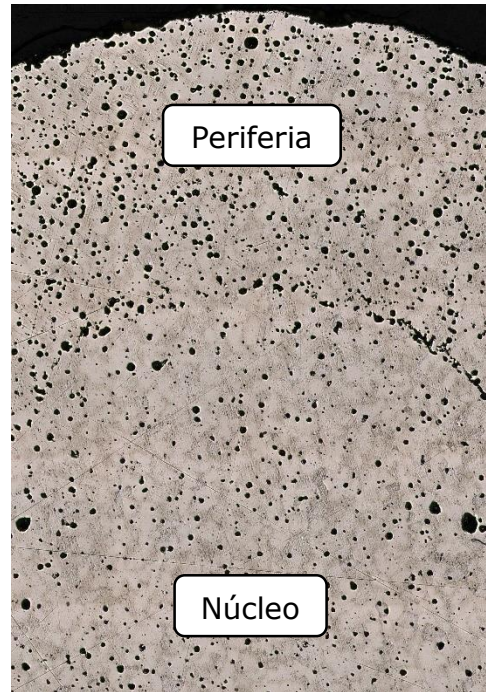
Figura 64 imágenes de microscopía óptica 40X donde se pueden observar discontinuidades y grandes poros

### 6.1.3.3 Microscopía confocal láser

La Figura 65 muestra imágenes de microscopía confocal láser en las secciones transversales y longitudinales de las muestras de titanio con porosidad gradual analizadas. Se observan dos zonas de la estructura consolidadas por diferente concentración de porosidad, conteniendo mayor porcentaje de poros sobre la capa externa y en menor proporción sobre el núcleo de la muestra. La porosidad en ambas capas se encuentra distribuida de manera homogénea y con presencia de baja cantidad de macroporos distribuidos aleatoriamente. Por otra parte, se aprecia una interfaz entre capas que está delimitada parcialmente por microgrietas que producen discontinuidad en la unión entre capas. Sin embargo, se encuentran zonas de la interfaz que tienen continuidad microestructural (Figura 66) y se deberán estudiar las posibles causas de las discontinuidades presentes.



*Figura 65 Imágenes de microscopía confocal láser en titanio con porosidad gradual. (a) Sección transversal. (b) Sección longitudinal. Magnificación: 216X.*



*Figura 66 Imagen de microscopía confocal láser sobre la sección transversal de la muestra que presenta continuidad microestructural en la interfaz entre capas.*

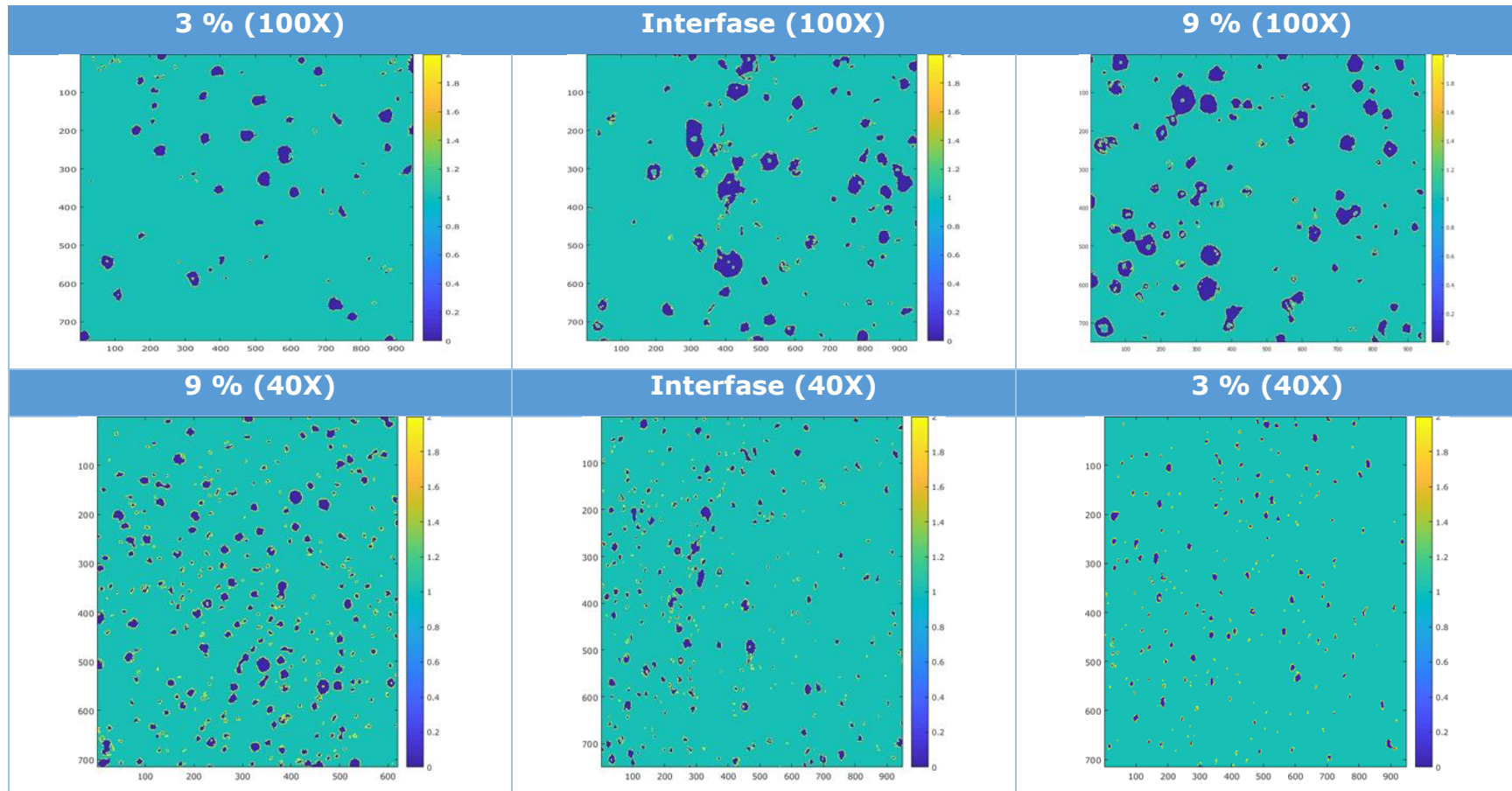




### 6.1.4 Análisis de porosidad mediante Matlab

El análisis de la cantidad porcentual de porosidad se realizó sobre imágenes obtenidas por microscopio óptico con aumentos de 100x y 40x. Los resultados obtenidos son el promedio de 6 imágenes para cada aumento.

Tabla 15 correspondiente a las imágenes utilizadas para el análisis de porosidad a lo largo de la interfase continua





Puede observarse en las imágenes de análisis que los poros presentan distribución homogénea y un tamaño relativamente constante para cada zona. En la zona de interfase se puede observar fácilmente el comienzo de una fase con respecto a la otra

Los valores medidos tienen similitud con los análisis previos realizados sobre estos materiales, resultando favorable la porosidad alcanzada durante el proceso de sinterizado (Cantero & Roure, 2017).

*Tabla 16 Análisis de porosidad correspondiente a cada zona de las muestras*

Zona	Porosidad (%)	Variación (%)
3 %	3,9805	3,54
<b>Interfase</b>	7,9905	
9 %	11,036	

*Tabla 17 Análisis de área de poros correspondiente a cada zona de las muestras*

Zona	Área de poros ( $\mu\text{m}^2$ )	Variación (%)
3 %	112,26	6,40
<b>Interfase</b>	186,96	
9 %	195,94	

*Tabla 18 Análisis de diámetro de poros correspondiente a cada zona de las muestras*

Zona	Diámetro de poro ( $\mu\text{m}$ )	Variación (%)
3 %	10,38	5,86
<b>Interfase</b>	12,85	
9 %	13,49	



## 6.2 Ensayo In Vitro – Citotoxicidad

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

La Figura 67 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 fue del 98,50 %  $\pm$  1,44 y los valores observados para los extractos de dichas muestras fueron 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 fue inferior al 70 % (9,60  $\pm$  0,89 %) como se esperaba.

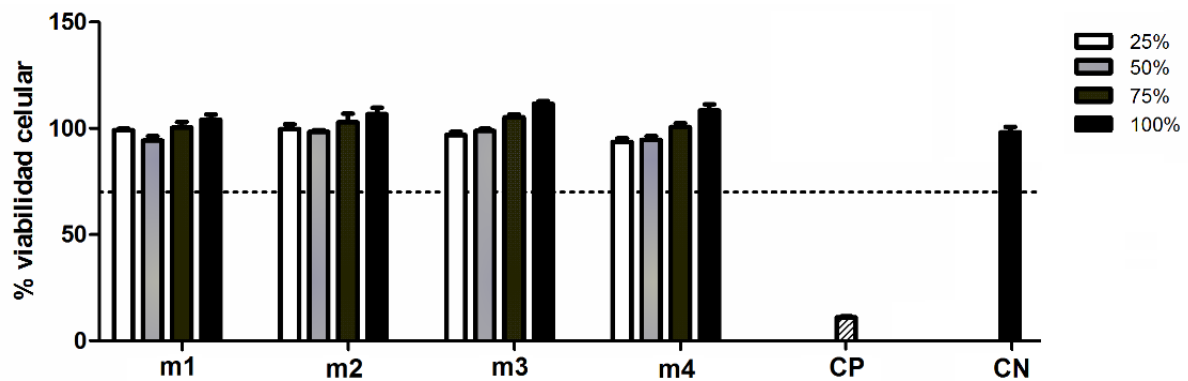


Figura 67 Porcentaje de viabilidad de células incubadas en presencia de diluciones de 25, 50, 75 y 100 % de cuatro extractos de titanio después de 24 hs de cultivo.

### 6.3 Ensayo preliminar in vivo

Luego de la extracción de la extremidad del animal con el implante, se pudo observar que el implante se encontraba ajustado en el fémur. La Figura 68 muestra una imagen obtenida mediante lupa estereoscópica sobre la zona de la unión entre implante-hueso. Cualitativamente se aprecia una fijación entre el hueso y el implante, lo que podría suponer un proceso de osteointegración eficiente.

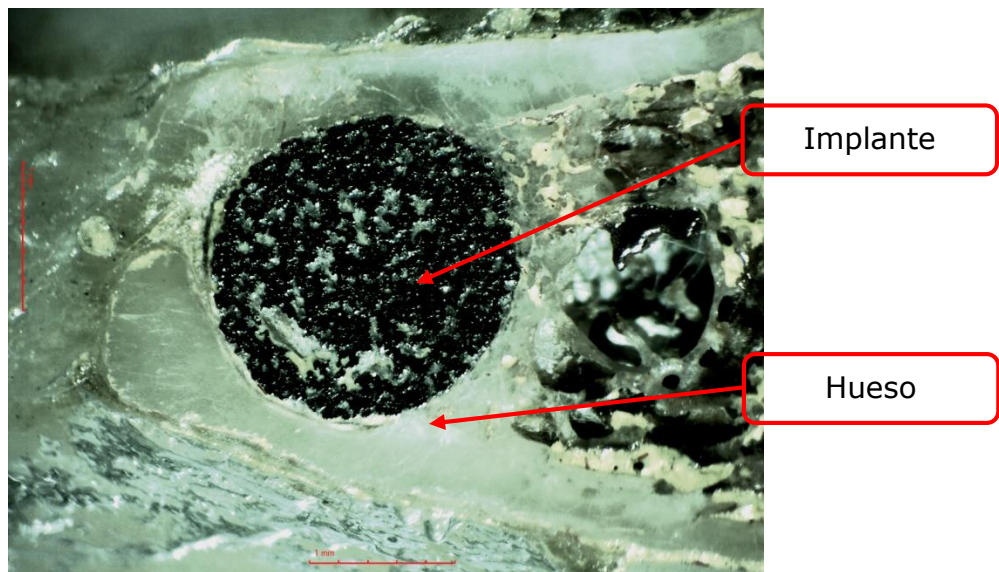


Figura 68 Imagen de lupa estereoscópica de muestra de Titanio insertada 30X

#### **6.3.1 Microscopía electrónica de barrido**

La Figura 69 muestra imágenes de microscopía electrónica de barrido sobre la unión implante-hueso. Se observa que el implante está fijado al hueso, con una interfaz que presenta continuidad estructural entre la periferia del implante y el hueso (flechas rojas).

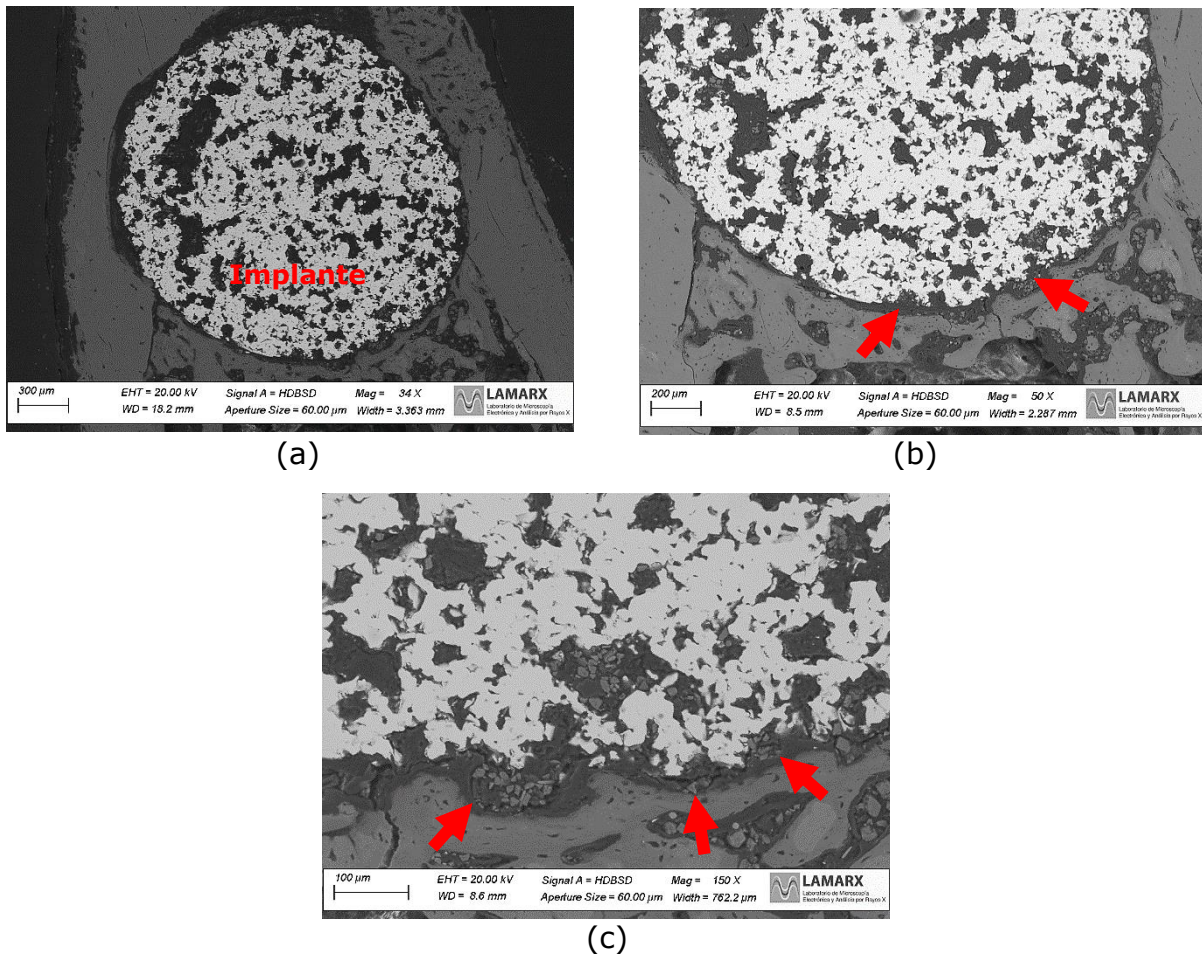
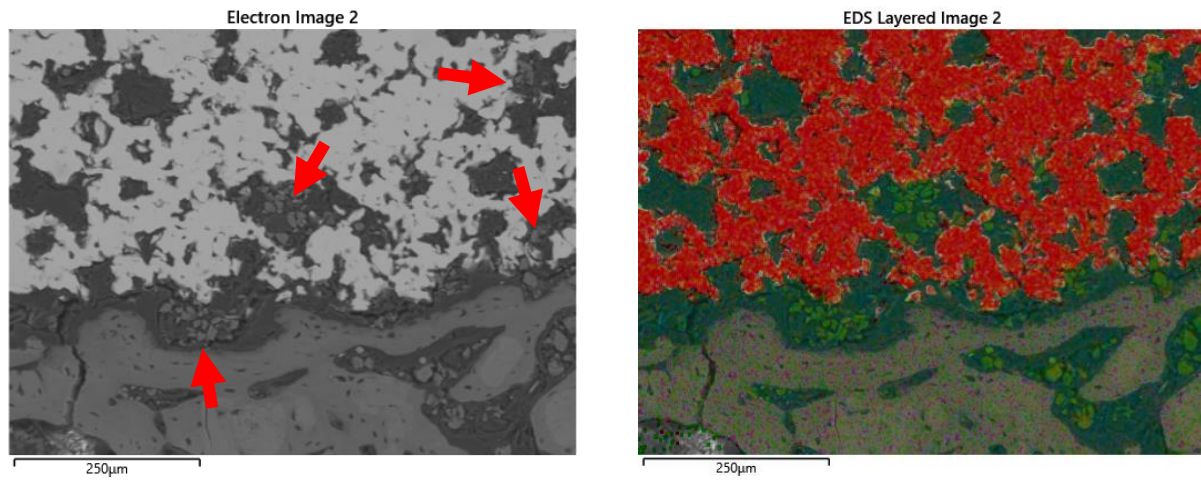
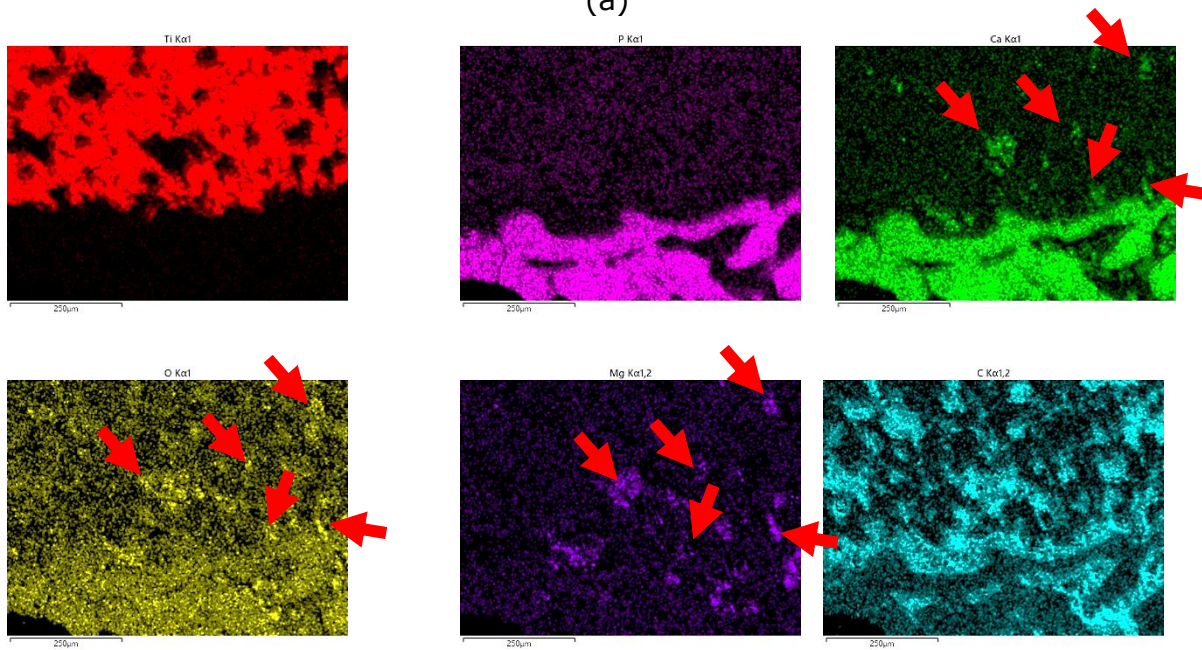


Figura 69 Imágenes de microscopía electrónica de barrido sobre la unión implante-hueso. (a) Magnificación: 34X. (b) Magnificación: 50X. (c) Magnificación: 150X.

La Figura 70 muestra imágenes de microscopía electrónica de barrido sobre con análisis mediante espectroscopía dispersiva de rayos X en la unión implante-hueso. La Figura 70 (a) muestra el área analizada y un mapa de composición química, asignando un color de referencia para cada elemento químico detectado. La Figura 70 (b) detalla la distribución de cada elemento químico en el área analizada. Se observa que tanto el Ca, O y Mg están presente en los intersticios producidos por los poros del implante, lo que determina el crecimiento de nuevo hueso en el interior del titanio poroso y por lo tanto la fijación implante-hueso, así como la biocompatibilidad del implante en las condiciones in vivo analizadas.



(a)



(b)

Figura 70 Imágenes micrográficas SEM-EDS en la unión implante-hueso. (a) Sección analizada y mapa de composición química. (b) Distribución de cada elemento químico en el área analizada.



## 7 Conclusión

### 7.1 Conclusión general

A pesar de los defectos obtenidos en algunos intentos, la pulvimetalúrgica del titanio y el empleo de la técnica de gel-casting con posterior sinterización en vacío permitieron desarrollar estructuras con porosidad gradual.

Con respecto a los ensayos biológicos para establecer la biocompatibilidad, se pudo comprobar la viabilidad, tanto por las referencias citadas como por el experimento preliminar, de establecer un modelo experimental para los ensayos in vitro e in vivo.

### 7.2 Conclusiones específicas

- Se logró obtener mediante la técnica gel-casting y sinterización propuesta obtener muestras con porosidad gradual, ya que se puede observar en las imágenes micrográficas una continuidad entre la interfase 9 % y 3 %.
- De las referencias citadas para los ensayos in vitro podemos determinar que es factible desarrollar un modelo de experimentación in vitro, más allá de que algunas condiciones difieran de las planteadas en este trabajo, los ensayos que se llevaron a cabo en dichas referencias no varían. Además, los resultados obtenidos del experimento de citotoxicidad in vitro demuestran que la viabilidad celular para las células Vero, expuestas a los extractos, es mayor al 70 %. Por lo tanto, esto indica que las muestras de titanio, obtenidas por el proceso de Gel-Casting, no muestran efectos tóxicos en el cultivo de células Vero.
- En los artículos citados con respecto a los ensayos in vivo, demuestran que es factible establecer un modelo de experimentación in vivo porque la forma que llevan a cabo la experimentación es casi igual en



todos los casos, sólo difieren en la zona de operación y por ello la técnica quirúrgica. Pero a la hora de analizar los resultados, cumple con sus respectivos objetivos que no difieren de nuestro proyecto.

Con respecto al ensayo in vivo se pudo demostrar la factibilidad técnica para la operación quirúrgica y la medición de la osteointegración en muestras de titanio obtenidas por el proceso de Gel-casting.





## 8 Bibliografía

- Anderson, J. M., & Jiang, S. (2019). Animal models in biomaterial development. In *Encyclopedia of Biomedical Engineering* (Vols. 1–3). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.99882-9>
- Anida-maria, B., Barabas, R., Ionel, A., Petrescu, N. B., Feurdean, C. N., Bordea, I. R., Saraci, G., Vesa, C., & Ilea, A. (2020). Tissue Integration and Biological Cellular Response of SLM-Manufactured Titanium Scaffold. *Metals*, 1–27.
- Araújo-Gomes, N., Romero-Gavilán, F., García-Arnáez, I., Martínez-Ramos, C., Sánchez-Pérez, A. M., Azkargorta, M., Elortza, F., de Llano, J. J. M., Gurruchaga, M., Goñi, I., & Suay, J. (2018). Osseointegration mechanisms: a proteomic approach. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 23(3), 459–470. <https://doi.org/10.1007/s00775-018-1553-9>
- Bacani, R. (2019). Gel Characterization: From Molecules to Nanostructure to Macroproperties. In *Nano Design for Smart Gels*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814825-9.00007-2>
- Bretschneider, H., Mettelsiefen, J., Rentsch, C., Gelinsky, M., Link, H. D., Günther, K. P., Lode, A., & Hofbauer, C. (2020). Evaluation of topographical and chemical modified TiAl6V4 implant surfaces in a weight-bearing intramedullary femur model in rabbit. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 108(3), 1117–1128. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34463>
- Cameo, D. M. (2010). *Proceso de Evaluación biológica Ensayos de Biocompatibilidad*.
- Cantero, S. M., & Roure, C. A. (Universidad T. N. (2017). *Fabricación y caracterización de estructuras porosas de Titanio porosas*.
- Caparrós, C., Guillem-Martí, J., Molmeneu, M., Punset, M., Calero, J. A., & Gil, F. J. (2014). Mechanical properties and in vitro biological response to porous titanium alloys prepared for use in intervertebral implants. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 39, 79–86.



- <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2014.05.029>
- Civantos, A., Giner, M., Trueba, P., Lascano, S., Montoya-García, M. J., Arévalo, C., Vázquez, M. Á., Allain, J. P., & Torres, Y. (2020). In vitro bone cell behavior on porous titanium samples: Influence of porosity by loose sintering and space holder techniques. *Metals*, *10*(5), 1–20. <https://doi.org/10.3390/met10050696>
- Civantos, A., Martínez-Campos, E., Ramos, V., Elvira, C., Gallardo, A., & Abarrategi, A. (2017). Titanium Coatings and Surface Modifications: Toward Clinically Useful Bioactive Implants. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, *3*(7), 1245–1261. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.6b00604>
- Colazo, J., & Bocco, F. (Universidad T. N. (2017). *Desarrollo de biomateriales base titanio activados con hidroxiapatita*.
- Comín, R., Cid, M. P., Grinschpun, L., Oldani, C., & Salvatierra, R. T. N. A. (2015). *Caracterización biológica de composites de Hidroxiapatita sinterizados a baja temperatura*.
- de Vasconcellos, L. M. R., Rodarte, Y., do Prado, R. F., de Vasconcellos, L. G. O., Alencastro Graa, M. L. de, & Alves Cairo, C. A. (2012). Porous Titanium by Powder Metallurgy for Biomedical Application: Characterization, Cell Cytotoxicity and in vivo Tests of Osseointegration. *Biomedical Engineering - Technical Applications in Medicine*. <https://doi.org/10.5772/47816>
- Deshayes, Y., & Béchou, L. (2016). Analysis and Models of an LED. In *Reliability, Robustness and Failure Mechanisms of LED Devices* (p. 4). <https://doi.org/10.1016/b978-1-78548-152-9.50002-x>
- Duffo, G. (2011). Biomateriales. *Materiales y Materias Primas*.
- Galeano, A., & Gutierrez, T. (2009). *Estandarización de dos técnicas para evaluar actividad y viabilidad celular in vitro en respuesta a biomateriales*. *26*(4), 551–556.
- Gil Mur, J. (2018). *Avances Tecnológicos en Implantología Oral: hacia los implantes dentales inteligentes*.
- Grin, I., Schwarz, H., & Linke, D. (2011). Electron microscopy techniques to study



- bacterial adhesion. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 715, 257–269. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-0940-9\\_16](https://doi.org/10.1007/978-94-007-0940-9_16)
- Gudima, A. (2017). *Analysis of reactions of macrophages to titanium and biodegradable coating materials*.
- Guo, X. (Chalmers U. O. T. (2011). *Gel casting of high strength ceramics*.
- Hanawa, T. (2019). Titanium-tissue interface reaction and its control with surface treatment. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7(JUL). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00170>
- International Organization for Standardization. (2004). ISO 10993 Biological evaluation of medical devices Part 12: Sample preparation and reference materials. *International Standard*, 3.
- International Organization for Standardization. (2009). ISO 10993 Biological evaluation of medical devices part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. *International Standard*, 67(1–4), 93–103. <https://doi.org/10.3109/00207459208994776>
- Jaatinen, J. J. P., Korhonen, R. K., Pelttari, A., Helminen, H. J., Korhonen, H., Lappalainen, R., & Kröger, H. (2011). Early bone growth on the surface of titanium implants in rat femur is enhanced by an amorphous diamond coating. *Acta Orthopaedica*, 82(4), 499–503. <https://doi.org/10.3109/17453674.2011.579522>
- James, D. (1998). Introduction to Titanium and Titanium Alloys. *ASM HANDBOOK*. <https://doi.org/10.1007/s004310050884>
- Jassal, M., Junka, R., Laurencin, C. T., & Yu, X. (2019). Introduction to regenerative engineering. In *Encyclopedia of Biomedical Engineering* (Vols. 1–3). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.99885-4>
- Lacroix, D. (2019). Biomechanical aspects of bone repair. In *Bone Repair Biomaterials* (Second Edi). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102451-5.00003-2>
- Lascano, F. (2013). *Development of porous structures of biocompatible titanium, obtained by powder metallurgy*.
- Li, J., Li, Z., Shi, Y., Wang, H., Li, R., Tu, J., & Jin, G. (2018). In vitro and in vivo



- comparisons of the porous Ti6Al4V alloys fabricated by the selective laser melting technique and a new sintering technique. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 91, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.12.007>
- Lucci, R. O., & Aldet, L. R. (2020). *Aleaciones de Metales No Ferrosos*.
- Men, B., & Pablo, N. (2019). *Titanio y sus Aleaciones: Estructura y Propiedades de las Aleaciones*.
- Muñoz, P. T. (2012). *Diseño, fabricación y caracterización de compactos de titanio con porosidad gradiente para aplicaciones biomédicas*.
- Niinomi, M. (2019). Titanium alloys. In *Encyclopedia of Biomedical Engineering* (Vols. 1–3). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.99864-7>
- Nwaneshiudu, A., Kuschal, C., Sakamoto, F. H., Rox Anderson, R., Schwarzenberger, K., & Young, R. C. (2012). Introduction to confocal microscopy. *Journal of Investigative Dermatology*, 132(12), 1–5. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.429>
- Oltra, A. M. (Universidad politécnica de V. (2015). *Estudio de diseño y cálculo de una prótesis de cadera*.
- Pałka, K., Pokrowiecki, R., & Krzywicka, M. (2019). Porous titanium materials and applications. In *Titanium for Consumer Applications: Real-World Use of Titanium*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815820-3.00013-7>
- Pasche, K. (1996). *Uso de la circonia en implantología : el implante SIGMA según Sandhaus*.
- Ran, Q., Yang, W., Hu, Y., Shen, X., Yu, Y., Xiang, Y., & Cai, K. (2018). Osteogenesis of 3D printed porous Ti6Al4V implants with different pore sizes. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 84, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.04.010>
- Rhodes, N. P. (2019). Blood-biomaterial interactions. *Encyclopedia of Biomedical Engineering*.
- Sansone, V., Pagani, D., & Melato, M. (2013). The effects on bone cells of metal



- ions released from orthopaedic implants. A review. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. <https://doi.org/10.11138/ccmbm/2013.10.1.034>
- Segura, N., & Soria, L. G. (2019). *Desarrollo de implantes biomédicos base titanio asistidos con impresión 3D*.
- Shah Sanjay. (1996). Isothermal and Hot-Die Forging. *ASM HANDBOOK*.
- Spriano, S., Yamaguchi, S., Baino, F., & Ferraris, S. (2018). A critical review of multifunctional titanium surfaces: New frontiers for improving osseointegration and host response, avoiding bacteria contamination. *Acta Biomaterialia*, 79, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.08.013>
- Stieglitz, T., & Schuettler, M. (2013). Material-tissue interfaces in implantable systems. In *Implantable Sensor Systems for Medical Applications*. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857096289.1.39>
- Vanzillotta, P. S., Soares, G. A., Bastos, I. N., Simão, R. A., & Kuromoto, N. K. (2004). Potentialities of some surface characterization techniques for the development of titanium biomedical alloys. *Materials Research*, 7(3), 437–444. <https://doi.org/10.1590/s1516-14392004000300011>



# 9 Anexos

## Anexo I

Fecha: 15/07/20

10

### **11 SOLICITUD DE TEMA DE TRABAJO FINAL DE GRADO**

Sr. Director de Departamento:

Me dirijo a Ud. a fin de solicitar la aprobación del tema de TRABAJO FINAL que propongo a continuación:

#### **TEMA**

**Nombre:** Fabricación de estructuras porosas de Ti con porosidad gradual y estudio de comportamiento in vitro e in vivo

**Descripción:** Nuestro tema fue impuesto por el equipo de investigación del Laboratorio de Metalúrgica por el Ingeniero Santiago Marcelo Cantero y el Doctor Roberto Oscar Lucci para apoyar al proyecto de doctorado de Santiago Marcelo Cantero sobre el Estudio y desarrollo de biomateriales base Titanio para aplicaciones en prótesis de reemplazamiento óseo.

**Tutor de Trabajo Final:**(si el trabajo cuenta con dos o más tutores, repetir este formulario de datos).

Nombre: Ing. Cantero Santiago Marcelo

Cargo: Ayudante de primera

Dirección Personal o Laboral: Maestro López esq Cruz Roja Argentina

Tel: 3541651478 e-mail: santiagomcantero@hotmail.com

Firma del Tutor:.....

**Datos del Alumno:**(si el trabajo es realizado por dos alumnos, repetir este formulario de datos).

Nombre y Apellido: Diego Esteban Acosta

Carrera: Ingeniería Metalúrgica


Matrícula: 70948

Materias que faltan aprobar: 3 materias (Metalografía y Tratamientos térmicos de ferrosos, Fundición de ferrosos y no ferrosos y Soldadura)

Dirección: Joaquín Baldacci 38

Localidad: Monte Cristo Provincia: Córdoba

Tel: 3513334984 e-mail: diegoe\_acosta@hotmail.com

Firma del Alumno: .....



**Anexo I**

**Fecha: 15/07/20**

**12**

**13 SOLICITUD DE TEMA DE TRABAJO FINAL DE GRADO**

Sr. Director de Departamento:

Me dirijo a Ud. a fin de solicitar la aprobación del tema de TRABAJO FINAL que propongo a continuación:

**TEMA**

**Nombre:** Fabricación de estructuras porosas de Ti con porosidad gradual y estudio de comportamiento in vitro e in vivo  
**Descripción:** Nuestro tema fue impuesto por el equipo de investigación del Laboratorio de Metalúrgica por el Ingeniero Santiago Marcelo Cantero y el Doctor Roberto Oscar Lucci para apoyar al proyecto de doctorado de Santiago Marcelo Cantero sobre el Estudio y desarrollo de biomateriales base Titanio para aplicaciones en prótesis de reemplazamiento óseo.

**Tutor de Trabajo Final:**(si el trabajo cuenta con dos o más tutores, repetir este formulario de datos).

**Nombre:** Ing. Cantero Santiago Marcelo  
**Cargo:** Ayudante de primera  
**Dirección Personal o Laboral:** Maestro López esq Cruz Roja Argentina  
**Tel:** 3541651478 e-mail: santiagomcantero@hotmail.com

Firma del Tutor:.....

**Datos del Alumno:**(si el trabajo es realizado por dos alumnos, repetir este formulario de datos).

**Nombre y Apellido:** Valentín Néstor García  
**Carrera:** Ingeniería Metalúrgica  
**Matrícula:** 73309  
**Materias que faltan aprobar:** 0  
**Dirección:** Cinco Lomas Lote 11 Manzana 53  
**Localidad:** La Calera Provincia: Córdoba  
**Tel:** 3518058941 e-mail: valen.n.garcia@gmail.com

Firma del Alumno: .....  
Valentín Néstor García



**Anexo II**

**Fecha: 15/09/20**

**TRIBUNAL DE ACEPTACIÓN DE TEMA PARA EL DESARROLLO DE TRABAJO FINAL DE GRADO**

**Tema:** Fabricación de estructuras porosas de Ti con porosidad gradual y estudio de comportamiento in vitro e in vivo

**Integrantes:**

- 1 Presidente: [Diego Suarez](#)
- 2 Integrante: [Leandro Sánchez](#)
- 3 Integrante: [Roberto Lucci](#)

14 Sr. Profesor

De mi mayor consideración:

Me dirijo a Ud. con la finalidad de solicitarle analice la descripción del tema de trabajo final de grado propuesto por el alumno: [Diego Esteban Acosta](#) y [Valentín Néstor García](#)

De acuerdo al sistema vigente, como integrante del tribunal, deberá **analizar** el tema propuesto para su **aceptación, rechazo y/o realización de observaciones**, de acuerdo al Anexo III.

La aprobación del tema propuesto es requisito imprescindible, para que los alumnos puedan dar inicio a su trabajo final, de manera que agradeceré devolver su opinión dentro de los próximos **7 (siete) días**.

Asimismo de acuerdo a lo establecido en el reglamento vigente:

5.a) - El tema del trabajo final de grado será de elección del alumno y podrá pertenecer a cualquiera de las áreas de la profesión a la cual se postula.

5.b) – En cuanto a su originalidad y antecedentes, el tema podrá ser:

- Parte integrante de un desarrollo más complejo, para ser continuado o completado en el futuro, o como continuador de otra u otras Trabajos Finales desarrollados anteriormente.
- Original y desarrollado integralmente, sin dejar previsto futuras ampliaciones

5.c) - Se define como "original" al realizado por el alumno (no es un plagio). Esto es, cuando no existe otro de las mismas características entre los trabajos finales ya realizados. Por lo tanto, podrán proponerse también, trabajos finales con temas ya realizados, siempre y cuando se propongan nuevos enfoques, o técnicas o aplicaciones respecto a los anteriores (aplicación de nuevas tecnologías, nuevos métodos, profundización de algún tema desarrollado anteriormente, etc.).

Sin otro particular, saludo a Ud. muy atentamente.

Director de Departamento: .....





**Anexo III**

**Fecha: 17/09/20**

**15 INFORME DE ACEPTACIÓN DE TEMA PARA TRABAJO FINAL DE GRADO**

**Título del trabajo:** Desarrollo de estructuras de titanio con porosidad gradual y su estudio para aplicaciones como bioimplantes.

- El tema puede aceptarse en su forma actual sin modificaciones.
- El tema puede aceptarse pero el/los alumno/s debería/n considerar las correcciones sugeridas.
- Rechazar.

**Observaciones:**

.....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....

16

17

18  Firma del Titular



**Anexo IV**

**Fecha: 19/09/21**

**19**

**20 PRESENTACIÓN DEL INFORME DEL TRABAJO FINAL DE GRADO**

21 Sr. Director Departamento

De mi consideración:

Habiendo finalizado la confección del informe de mi trabajo final de grado, me dirijo a Ud. a fin de solicitar la evaluación del mismo, de acuerdo al artículo. 10.b) del "REGLAMENTO GENERAL DE TRABAJO FINAL DE GRADO".

Firma del Alumno: .....

Visto Bueno:

Firma del Tutor: .....



**Anexo IV**

**Fecha: 19/09/21**

**22**

**23 PRESENTACIÓN DEL INFORME DEL TRABAJO FINAL DE GRADO**


24 Sr. Director Departamento

De mi consideración:

Habiendo finalizado la confección del informe de mi trabajo final de grado, me dirijo a Ud. a fin de solicitar la evaluación del mismo, de acuerdo al artículo. 10.b) del "REGLAMENTO GENERAL DE TRABAJO FINAL DE GRADO".

Firma del Alumno: .....  
  
Valentín Néstor García

Visto Bueno:

Firma del Tutor: .....  




**Anexo V**

**Fecha: 01/10/2021**

**SOLICITUD DE EVALUACIÓN DEL TRABAJO FINAL DE GRADO**

**Tema:** Desarrollo de estructuras de titanio con porosidad gradual y su estudio para aplicaciones como bioimplantes.

**Alumno/s:** Diego Esteban Acosta y Valentín Néstor García

**Integrantes del Tribunal:**

- 1- Presidente de la Mesa: [Diego Suarez](#)
- 2- Integrante de la Mesa: [Leandro Sánchez](#)
- 3- Integrante de la Mesa: [Cesar Roure](#)

25 Sr. Profesor

De mi mayor consideración:

Me dirijo a usted con el fin de acercarle la copia del presente trabajo final de grado. De acuerdo a la reglamentación, como integrante de la Mesa, deberá corregir el trabajo realizando las observaciones pertinentes y confeccionando un informe de acuerdo al formulario adjunto. El tiempo establecido para la corrección es de **quince (15) días**, transcurrido el mismo se deberá devolver el informe con la correspondiente evaluación (Anexo VI).

Asimismo, solicito me indique su disponibilidad de horarios para combinar la realización del examen final.

Sin otro particular, saludo a Ud. muy atentamente.

Director de Departamento .....



**Anexo VI**

**Fecha: 04/10/2021**

**26 INFORME DE ACEPTACIÓN DEL TRABAJO FINAL DE GRADO**

**Título del Trabajo:** Desarrollo de estructuras de titanio con porosidad gradual y su estudio para aplicaciones como bioimplantes



- El trabajo debe aceptarse en su forma actual sin modificaciones.
- El trabajo debe aceptarse pero el/los autor/es deberá/n considerar las correcciones opcionales sugeridas.
- Rechazar.

**Observaciones:**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

 _____ Presidente Mesa Firma	 _____ 2º Integrante Mesa Firma	 _____ 3º Integrante Mesa Firma
--	---	---

Horarios disponibles para el examen: **Viernes 15 de Octubre 18:00 hs**.....

.....

.....