

**INJERTO ÓSEO A BASE DE ESPUMA DE HIDROXIAPATITA**

**DIANA CAROLINA MEJÍA GÓMEZ**

**UNIVERSIDAD EAFIT  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE DISEÑO DE PRODUCTO  
MEDELLÍN  
2007**

**INJERTO ÓSEO A BASE DE ESPUMA DE HIDROXIAPATITA**

**DIANA CAROLINA MEJÍA GÓMEZ**

**Asesora**

**Claudia Patricia Ossa Orozco**

**Docente del programa de Bioingeniería**

**Facultad de Ingeniería**

**Universidad de Antioquia**

**UNIVERSIDAD EAFIT**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE DISEÑO DE PRODUCTO**

**MEDELLÍN**

**2007**

**Nota de aceptación**

---

---

---

**Presidente del jurado**

---

**Jurado**

---

**Jurado**

**Medellín Octubre 26 de 2007**

Este trabajo se lo dedico a mi Madre, porque es mi maestra, porque es la persona a quien admiro por su entrega y su dedicación.

Ella siempre me ha dado el apoyo físico y espiritual para seguir adelante durante todo el período de mi formación. Sin ella nada de esto hubiera sido posible.

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias a Dios por que es mi guía espiritual, me da las fuerzas que necesito para seguir adelante con todos los proyectos, es mi compañero y es el encargado de darme las oportunidades maravillosas de la vida.

Le agradezco a mi hermana por sus palabras, por su compañía y por su honestidad que han sido para mi fuente de confianza y conocimiento.

Gracias a mis abuelitos y a mi tío que son las personas que me han visto crecer y con su amor, entrega y solidaridad han sido partícipes de mi formación.

Gracias a Julio por la motivación y por la paciencia durante éste proceso.

Un agradecimiento muy especial a Claudia Ossa, quien fue mi asesora de tesis, por que aún sin conocerme me hizo partícipe del Grupo de Investigación BIOMAT de la Universidad de Antioquia y depositó su confianza en mí para hacer posible éste proyecto. Le agradezco muchísimo todo el tiempo que le dedico a las asesorías, la disponibilidad, la paciencia y el interés que puso a éste trabajo para que pudiera ser terminado.

Gracias a Marcela Escobar quien fue mi profesora en el área de Biomateriales y durante sus clases acrecenté mi pasión por éste tema.

Le agradezco a la Universidad de Antioquia, quien me recibió un período académico, aportó en mi gran conocimiento, me dio la oportunidad de encontrar excelentes compañeros, me lleno de muy buenas experiencias y generó nuevas expectativas a mi vida.

Gracias al laboratorio de graficación de la Universidad Nacional sede Medellín, especialmente a Gloria Patricia Valencia y Alejandro Mejía que me prestaron el servicio de impresión.

## CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN.</b>	22
<b>1. OBJETIVOS.</b>	24
1.1 GENERAL.	24
1.2 ESPECÍFICOS.	24
1.3 ALCANCE.	24
<b>2. MARCO TEÓRICO.</b>	26
2.1 BIOMATERIALES.	26
2.2 BIOMATERIALES SEGÚN SU NATURALEZA QUÍMICA.	30
2.2.1 METALES.	30
2.2.2 POLÍMEROS.	33
2.2.3 CERÁMICOS.	35
2.2.3.1 REABSORBIBLES.	36
2.2.3.2 BIOACTIVOS.	41
2.2.3.3 INERTES O NO ABSORBIBLES.	43
2.3 GENERALIDADES SOBRE LA HIDROXIAPATITA (HA).	47
2.3.1 ESTRUCTURA DE LA HA.	49
2.3.2 INJERTOS ÓSEOS CON HIDROXIAPATITA.	50
2.4 ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.	54
2.5 LOS HUESOS.	58
2.5.1 FUNCIONES BÁSICAS DE LOS HUESOS Y ESQUELETO.	59
2.5.2 CLASIFICACIÓN DE LOS HUESOS SEGÚN SU FORMA.	61
2.5.3 MORFOLOGÍA DEL HUESO.	64
2.5.4 REPARACIÓN ÓSEA DE FRACTURAS.	67
2.5.4.1 CLASIFICACIÓN DE LOS INJERTOS ÓSEOS.	68
2.5.5 MECANISMOS DE REGENERACIÓN ÓSEA.	68
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.</b>	70
3.1 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN.	70
3.1.1 CARACTERIZACIÓN POR MEDIO DE DIFRACCIÓN DE	70

	RAYOS X (DRX).	
3.1.2	CARACTERIZACIÓN POR MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).	75
3.1.3	MEDICIÓN DE POROSIDAD.	77
3.1.4	RESISTENCIA MECÁNICA.	78
3.2	SÍNTESIS DE HIDROXIAPATITA.	81
3.2.1	DETERMINACIÓN DE LA PUREZA.	83
3.2.2	PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES.	86
3.2.3	REACCIÓN.	86
3.2.4	PROCESO DE MEZCLA DE LA HA.	88
3.2.5	PROCESO DE LAVADO DE LA HA.	90
3.2.6	PROCESO DE CENTRIFUGADO DE LA HA.	92
3.2.7	PROCESO DE SECADO DE LA HA.	92
3.2.8	PROCESO DE SINTERIZACIÓN DE LA HA.	93
3.3	SÍNTESIS DE ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.	96
3.3.1	REACTIVOS UTILIZADOS PARA LA PREPARACIÓN DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.	96
3.3.2	PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE LAS ESPUMAS DE HA.	97
3.3.3	PROCESO DE AGITACIÓN DE LAS ESPUMAS DE HA.	98
3.3.4	PROCESO DE DESAIREACIÓN DE LAS ESPUMAS DE HA.	100
3.3.5	PROCESO DE LA MEZCLA EN VACÍO DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.	100
3.3.6	PROCESO DE SECADO DE LAS ESPUMAS DE HA.	103
3.3.7	PROCESO DE SINTERIZACIÓN DE LAS ESPUMAS DE HA.	103
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.</b>	<b>106</b>
4.1	CARACTERIZACIÓN DEL POLVO DE HIDROXIAPATITA.	106
4.1.1	RESULTADOS DE LA DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX) DE LA HIDROXIAPATITA SINTÉTICA COMERCIAL.	106
4.1.2	RESULTADOS DE LA MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE	109

	BARRIDO (SEM) DE LA HA SINTÉTICA COMERCIAL.	
4.2	CARACTERIZACIÓN DE LA ESPUMA DE HIDROXIAPATITA.	111
4.2.1	RESULTADOS DE LA DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX) DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.	111
4.2.2	RESULTADOS DE LA MICROSCOPIA ÓPTICA DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA (HA).	113
4.2.3	RESULTADOS DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) DE LAS ESPUMAS DE HA.	114
4.2.4	ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS) DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.	124
4.2.5	PRUEBAS MECÁNICAS DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.	128
4.2.6	PRUEBA DE POROSIDAD.	133
5.	<b>CONCLUSIONES.</b>	136
	<b>BIBLIOGRAFÍA.</b>	139
	<b>ANEXO 1.</b>	147
	<b>ANEXO 2.</b>	148
	<b>ANEXO 3.</b>	153
	<b>ANEXO 4.</b>	154

## LISTA DE TABLAS

<b>TABLA 1</b>	APLICACIONES DE LOS BIOMATERIALES.	27
<b>TABLA 2</b>	PROPIEDADES DE LA HIDROXIAPATITA.	49
<b>TABLA 3</b>	VALORES OBTENIDOS EN LA MEDICIÓN DE LA PUREZA.	84
<b>TABLA 4</b>	VALORES ESTÁNDAR Y VALORES OBTENIDOS EN LA MEDICIÓN DE CADA REACTIVO.	85
<b>TABLA 5</b>	PROCESO DE SINTERIZACIÓN.	94
<b>TABLA 6</b>	ADITIVOS PARA LA FABRICACIÓN DE ESPUMAS DE HA.	97
<b>TABLA 7</b>	CANTIDAD ESPECÍFICA DE LOS COMPONENTES PARA LOS DIFERENTES PORCENTAJES DE SÓLIDOS.	98
<b>TABLA 8</b>	CANTIDAD ESPECÍFICA DE LOS COMPONENTES PARA LOS DIFERENTES PORCENTAJES DE SÓLIDOS.	101
<b>TABLA 9</b>	TEMPERATURAS Y TIEMPOS DE SOSTENIMIENTO EN EL PROCESO DE SINTERIZACIÓN DE LAS ESPUMAS DE HA.	103
<b>TABLA 10</b>	RELACIÓN Ca/P PARA LAS ESPUMAS DE HA.	127
<b>TABLA 11</b>	COMPARACIÓN DE LA COMPOSICIÓN INORGÁNICA DE TEJIDOS CALCIFICADOS CON UN MATERIAL CERÁMICO.	128
<b>TABLA 12</b>	MEDIDAS DE LAS PROBETAS QUE FUERON SOMETIDAS A LOS ENSAYOS MECÁNICOS.	129
<b>TABLA 13</b>	DATOS OBTENIDOS DEL ENSAYO DE COMPRESIÓN.	130
<b>TABLA 14</b>	POROSIDAD Y CARACTERÍSTICAS MECÁNICAS DE DOS TIPOS DE HIDROXIAPATITA POROSA.	131
<b>TABLA 15</b>	TABLA COMPARATIVA DE LA RESISTENCIA MECÁNICA DE HUESO ESPONJOSO CALCINADO DE BOVINO, HA PURA, HA MACROPOROSA Y ESPUMA DE HA CON 50% DE SÓLIDOS.	132
<b>TABLA 16</b>	EVALUACIÓN COMPARATIVA DE POROSIDAD.	134

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b>	FIJADORES EXTERNOS DE LA TIBIA: A)UNIPLANAR. B) UNIPLANAR ARTICULADO.	32
<b>FIGURA 2</b>	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE MICROESFERAS DE BIOPOLÍMEROS.	34
<b>FIGURA 3</b>	INJERTO DE PIEL, ANTES DE SER FIJADO Y CUBIERTO CON APÓSITOS.	35
<b>FIGURA 4</b>	DIAGRAMA DE FASES DE LOS FOSFATOS DE CALCIO (CaO-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) CON UNA PRESIÓN PARCIAL DE VAPOR DE H <sub>2</sub> O DE 500 mm*Hg.	37
<b>FIGURA 5</b>	CRISTALES DE FOSFATO DE CALCIO EN LOS DIENTES.	39
<b>FIGURA 6</b>	ESTUDIO RADIOLÓGICO DEL TCP (A) Y DE LA HAC (B) A LAS 4 SEMANA DE LA IMPLANTACIÓN.	43
<b>FIGURA 7</b>	PRÓTESIS DENTAL DE ALÚMINA.	45
<b>FIGURA 8</b>	VÁLVULA AÓRTICA.	45
<b>FIGURA 9</b>	CONDROBLASTOMA DE FÉMUR (A). CURETAJE Y RELLENO CON HA (B). RADIOGRAFÍA EVOLUTIVA A LOS 6 MESES.	49
<b>FIGURA 10</b>	TÉCNICA PARA HACER IMPLANTES DE HA EN FORMA DE POLVO O GRANULAR.	51
<b>FIGURA 11</b>	GRÁNULOS Y BLOQUES DE HIDROXIAPATITA (HA).	51
<b>FIGURA 12</b>	INJERTO DE HA UBICADO EN EL OÍDO MEDIO.	52
<b>FIGURA 13</b>	INJERTO DE HA PARA SUSTITUIR EL GLOBO OCULAR.	53
<b>FIGURA 14</b>	RECUBRIMIENTO DE HA EN UNA PRÓTESIS DE CADERA.	53
<b>FIGURA 15</b>	IMAGEN DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) DE HA POROSA CON 200 A 400µm DE DIÁMETRO DEL PORO.	56
<b>FIGURA 16</b>	IMAGEN DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO	56

(SEM) QUE MUESTRA LA MORFOLOGÍA Y MACROPOROSIDAD DE LA HA POROSA CON 400 A 600 $\mu$ m DE DIÁMETRO DEL PORO.

<b>FIGURA 17</b>	IMAGEN DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) QUE MUESTRA EL PERÍODO INICIAL DE UNIÓN CELULAR DE VERO (AFRICAN GREEN MONKEY KIDNEY) SOBRE LA SUPERFICIE DE LOS POROS DE HA.	57
<b>FIGURA 18</b>	IMAGEN DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) QUE MUESTRA LA FORMACIÓN MASIVA DE CÉLULAS DESPUÉS DEL CUARTO DÍA DE IMPLANTACIÓN EN VERO.	57
<b>FIGURA 19</b>	COMPOSICIÓN DEL HUESO.	59
<b>FIGURA 20</b>	HUESOS DE PROTECCIÓN.	60
<b>FIGURA 21</b>	HUSOS LARGOS DEL BRAZO Y ANTEBRAZO.	61
<b>FIGURA 22</b>	HUESOS LARGOS DE LA PIERNA.	62
<b>FIGURA 23</b>	MORFOLOGÍA DEL HUESO CON UN CORTE TRANSVERSAL EN LA DIÁFISIS.	63
<b>FIGURA 24</b>	HUESOS PLANOS O ANCHOS.	63
<b>FIGURA 25</b>	HUESOS CORTOS.	64
<b>FIGURA 26</b>	MORFOLOGÍA DEL HUESO CORTICAL Y TRABECULAR.	66
<b>FIGURA 27</b>	EQUIPO DIFRACTOR DE RAYOS X.	70
<b>FIGURA 28</b>	DETERMINACIÓN DE UNA ESTRUCTURA POR CRISTALOGRAFÍA DE RAYOS X.	72
<b>FIGURA 29</b>	ANGULO DE DESVIACIÓN DE LAS ONDAS DE RAYOS X.	72
<b>FIGURA 30</b>	DIFRACTOGRAMA DE UNA HA A DIFERENTES TEMPERATURAS DE CALCINACIÓN.	74
<b>FIGURA 31</b>	EQUIPO DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.	75
<b>FIGURA 32</b>	MICROFOTOGRAFÍA SEM DE UNA CAPA FINA DE HA.	77
<b>FIGURA 33</b>	MÁQUINA UNIVERSAL DE ENSAYOS MECÁNICOS.	78

<b>FIGURA 34</b>	ENSAYO DE COMPRESIÓN.	80
<b>FIGURA 35</b>	IMPLEMENTOS DEL LABORATORIO DE BIOMATERIALES DE LA UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA.	82
<b>FIGURA 36</b>	REACCIÓN DEL NITRATO DE CALCIO Y EL FOSFATO DE AMONIO.	87
<b>FIGURA 37</b>	PROCESO DE MEZCLA DEL NITRATO DE CALCIO Y EL FOSFATO DE AMONIO.	89
<b>FIGURA 38</b>	HIDROXIAPATITA PRECIPITADA.	91
<b>FIGURA 39</b>	ELIMINACIÓN DE H <sub>2</sub> O DE LA HA PRECIPITADA.	91
<b>FIGURA 40</b>	PROCESO DE CENTRIFUGACIÓN DE LA HA.	92
<b>FIGURA 41</b>	PROCESO DE SECADO DE LA HA.	93
<b>FIGURA 42</b>	PROCESO DE SINTERIZACIÓN DE LA HA A 1050°C.	94
<b>FIGURA 43</b>	DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA FABRICACIÓN DE HA.	95
<b>FIGURA 44</b>	PROCESO DE AGITACIÓN DE LAS ESPUMAS DE HA.	99
<b>FIGURA 45</b>	PROCESO DE DESAIREACIÓN DE LAS ESPUMAS DE HA.	100
<b>FIGURA 46</b>	PREPARACIÓN DE LAS ESPUMAS DE HA EN UNA CÁMARA DE VACÍO.	102
<b>FIGURA 47</b>	PROCESO DE SINTERIZACIÓN DE LAS ESPUMAS DE HA.	104
<b>FIGURA 48</b>	DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA FABRICACIÓN DE ESPUMAS DE HA.	105
<b>FIGURA 49</b>	DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX) DE LA HA SINTÉTICA COMERCIAL.	107
<b>FIGURA 50</b>	HA REPORTADA EN LA CPDS CARD MINCRYST.	108
<b>FIGURA 51</b>	IMAGEN DE MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) DE LA HA SINTÉTICA COMERCIAL.	109
<b>FIGURA 52</b>	IMAGEN DE MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) DE LOS AGLOMERADOS DE LA HA.	110
<b>FIGURA 53</b>	IMAGEN DE MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) MOSTRANDO LA SUPERFICIE RUGOSA DE LA HA.	110

<b>FIGURA 54</b>	DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX) DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.	112
<b>FIGURA 55</b>	FOTOGRAFÍA EN ESTEREOSCOPIO DE LA SUPERFICIE DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 40% DE SÓLIDOS.	113
<b>FIGURA 56</b>	FOTOGRAFÍA EN ESTEREOSCOPIO DE LA SUPERFICIE DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 50% DE SÓLIDOS.	114
<b>FIGURA 57</b>	MICROGRAFÍA (SEM) SECCIÓN TRANSVERSAL DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 50% DE SÓLIDOS.	115
<b>FIGURA 58</b>	MICROGRAFÍA (SEM) SECCIÓN TRANSVERSAL DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 50% DE SÓLIDOS.	116
<b>FIGURA 59</b>	MICROGRAFÍA (SEM) DE LA SUPERFICIE DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 50% DE SÓLIDOS.	116
<b>FIGURA 60</b>	MICROGRAFÍA (SEM) DE LA SUPERFICIE DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 50% DE SÓLIDOS.	117
<b>FIGURA 61</b>	MICROGRAFÍA (SEM) DE LOS BORDES DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 50% DE SÓLIDOS.	117
<b>FIGURA 62</b>	MICROGRAFÍA (SEM) DE LOS BORDES DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 50% DE SÓLIDOS.	118
<b>FIGURA 63</b>	MICROGRAFÍA (SEM) SECCIÓN TRANSVERSAL DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 40% DE SÓLIDOS.	119
<b>FIGURA 64</b>	MICROGRAFÍA (SEM) SECCIÓN TRANSVERSAL DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 40% DE SÓLIDOS.	119
<b>FIGURA 65</b>	MICROGRAFÍA (SEM) DE LA SUPERFICIE DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 40% DE SÓLIDOS.	120
<b>FIGURA 66</b>	MICROGRAFÍA (SEM) DE LA SUPERFICIE DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 40% DE SÓLIDOS.	120
<b>FIGURA 67</b>	MICROGRAFÍA (SEM) DE LOS BORDES DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 40% DE SÓLIDOS.	121
<b>FIGURA 68</b>	MICROGRAFÍA (SEM) DE LOS BORDES DE LAS	121

ESPUMAS DE HA CON EL 40% DE SÓLIDOS.

- FIGURA 69** MICROGRAFÍA (SEM) DE UN HUESO CORTICAL DE 122  
PORCINO
- FIGURA 70** ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS) DEL 125  
BORDE DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 50% DE  
SÓLIDOS
- FIGURA 71** ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS) DE 125  
LA SECCIÓN TRANSVERSAL DE LAS ESPUMAS DE HA  
CON EL 50% DE SÓLIDOS
- FIGURA 72** ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS) DE 125  
LA SUPERFICIE DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 50%  
DE SÓLIDOS
- FIGURA 73** ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS) DEL 126  
BORDE DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 40% DE  
SÓLIDOS
- FIGURA 74** ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS) DE 126  
LA SECCIÓN TRANSVERSAL DE LAS ESPUMAS DE HA  
CON EL 40% DE SÓLIDOS
- FIGURA 75** ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS) DE 126  
LA SUPERFICIE DE LAS ESPUMAS DE HA CON EL 40%  
DE SÓLIDOS
- FIGURA 76** PROBETA DE ESPUMAS DE HA CON EL 50% DE 129  
SÓLIDOS SOMETIDA A FUERZAS DE COMPRESIÓN
- FIGURA 77** PROBETA DE ESPUMAS DE HA CON EL 40% DE 130  
SÓLIDOS SOMETIDA A FUERZAS DE COMPRESIÓN

## LISTA DE ANEXOS

<b>ANEXO 1</b>	FICHA TÉCNICA DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.	147
<b>ANEXO 2</b>	NORMAS ASTM C 1424-04.	148
<b>ANEXO 3</b>	INJERTO CON HA EN EL SEGUNDO MOLAR.	153
<b>ANEXO 4</b>	INJERTO CON ESPUMAS DE HA EN VÉRTEBRA LUMBAR.	154

## GLOSARIO

**BIOCOMPATIBILIDAD:** Se define como la habilidad de un material de actuar con una respuesta adecuada del tejido hospedero, en una aplicación específica.

**BIOACTIVIDAD:** Capacidad de un material para dar una respuesta biológica específica en la interfase, formando enlaces químicos entre el material y el tejido que lo rodea.

**BIOABSORBIBLE:** Capacidad de un material de ser compatible con el tejido y de degradarse cierto tiempo después de ser implantados. Esa descomposición se produce como consecuencia de la actividad celular, enzimática, bacteriana o viral.

**BIOINERCIA:** Ausencia de reacción de los tejidos vivos frente a cualquier material biocompatible luego de su implantación en el organismo. Sin embargo, en algunos casos puede presentarse una mínima respuesta inmunológica.

**BIOMATERIAL:** Sustancia natural o sintética, o combinación de sustancias, que puede implantarse en el organismo para tratar, restituir, sustituir o aumentar un tejido, órgano o función.

**IMPLANTE:** Material o tejido sintético, que se ubica dentro de la piel ya sea para que sufra degradación o para que tenga funciones de sostén.

**INJERTO:** Tejido u órgano que luego de ser separado de su origen se inserta en un lugar del organismo, ya sea en el propio, en el de otro o en el de otra especie. Se caracteriza por que una vez implantado se puede rehabitar y se mantiene vital gracias a los tejidos vivos del receptor.

**PRÓTESIS:** Pieza o aparato que reemplaza un órgano o parte de él.

**OSTEOCONDUCCIÓN:** Propiedad pasiva de un material o tejido de recibir y guiar el crecimiento óseo, por medio de la invasión vascular y celular proveniente del tejido óseo vivo del receptor.

**OSTEOINDUCCIÓN:** Capacidad de un material para promover la diferenciación celular hacia la síntesis de matriz ósea mineralizada, mediada por los factores locales de crecimiento.

**OSTEOINTEGRACIÓN:** Establecimiento de una continuidad fisico-química entre un implante y la matriz ósea sin interposición de tejido fibroso.

**SINTERIZACIÓN:** Procedimiento de producción de biomateriales cerámicos a partir de conglomerados de polvos previamente modelados, que luego son sometidos a calentamiento en hornos especiales, en el rango de los 1.000 a 1.500 °C, lo que provoca la fusión parcial de los componentes que, de esta manera, quedan soldados por presión.

**SUSTITUTIVO:** Material o segmento tisular capaz de desempeñar las funciones de otro tejido del organismo. De acuerdo con esto,

solamente los biomateriales que poseen propiedades de osteoconducción y osteointegración pueden considerarse verdaderos sustitutivos óseos.

**OSTEOGÉNESIS:** Desarrollo y formación de tejido óseo a partir de células osteoformadoras como los osteoblastos.

**OSTEOCITOS:** Células distribuidas en el tejido óseo encargadas de alimentar y de mantener en buenas condiciones el sistema óseo.

**OSTEOCLASTOS:** Por ser el hueso un tejido vivo, cambia en el tiempo. Estas células se encargan de destruir el tejido viejo y crear el nuevo. A éste proceso se le llama remodelación.

**OSTEOBLASTOS:** Son las células encargadas de regenerar tejido óseo nuevamente.

**INJERTOS AUTÓGENOS:** Son aquellos donde se utiliza hueso de otra parte de la anatomía del mismo individuo.

**ALOINJERTOS O INJERTOS HOMÓGENOS:** Cuando se usa hueso de un individuo de la misma especie.

**XENOINJERTOS O INJERTOS HETERÓLOGOS:** Cuando el hueso proviene de otras especies.

**INJERTOS ALOPLÁSTICOS:** Abarca a todos los materiales sintéticos biocompatibles.

## RESUMEN

La apatita es el componente mineral principal de los tejidos óseos (huesos, dentina y esmalte) y su presencia en los tejidos se presenta como hidroxapatita (HA). La hidroxapatita sintética tiene excelente biocompatibilidad y bioactividad, presentando como desventaja su baja resistencia mecánica.

En esta investigación se busco obtener espumas de hidroxapatita usando la técnica gel-casting, en la cual se combina HA pura y monómeros orgánicos para formar cuerpos porosos con mejores propiedades mecánicas en comparación con la HA pura y con una excelente osteointegración.

Las espumas fueron caracterizadas usando difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopia de energía dispersiva (EDS). Además fueron ensayados mecánicamente a compresión.

Los resultados mostraron que su estructura esta conformada por macroporos interconectados y con superficie rugosa, además que la resistencia mecánica es comparable con la del hueso trabecular. Colocando las espumas de hidroxapatita como un material con potencial uso en aplicaciones médicas.

## INTRODUCCIÓN

El empleo de injertos óseos como alternativa de reconstrucción de defectos óseos, ya sean congénitos u ocasionados por traumatismos, secuelas oncológicas e infecciosas, tienen como finalidad restablecer la integridad anatómica y funcional de una estructura alterada.

El primer indicio del empleo de injertos óseos para reconstrucción de defectos data de 1668, cuando *Van Meekren* trasplantó hueso heterólogo de un perro al hombre para restaurar un trauma en el cráneo. En 1809 *Merrem*, realizó el primer trasplante de injerto autólogo óseo con éxito. El injerto autólogo utiliza hueso de otra parte de la anatomía del mismo individuo. En 1878 *Macewen*, según se informa, trasplantó con éxito un hueso alogénico en humanos. El injerto alogénico utiliza hueso del individuo de la misma especie para la reconstrucción ósea. En 1891 *Bardenheuer* fue el primero en realizar un injerto de hueso autólogo a la mandíbula. En 1908, *Payr* describió el uso de trasplantes libres ya sean alogénicos, autógenos o heterólogos de tibia y costilla. En 1938 *Orell* produjo un material de injerto de hueso bovino por medio del uso de álcalis fuerte, y en 1942 *Wilson*, creó un banco de huesos usando técnicas de congelación<sup>1</sup>.

En la actualidad en el área de la ortopedia, la utilización de injertos, prótesis, implantes y transplantes es bastante común. En una fase inicial, el defecto óseo se trató a expensas de la propia fuente natural del hueso, dando paso al injerto óseo, que ha perdurado hasta al presente y durante años se consideró el sustituto ideal por su

comportamiento y estructura. Pero en la práctica presenta inconvenientes que limitan su uso, pues su obtención implica una intervención quirúrgica adicional para el paciente con mayor morbilidad postoperatoria, presenta desventajas relacionadas con fracasos de oseointegración, reabsorción, transmisión de enfermedades, rechazo inmunológico y sobre todo dificultades de obtención y conservación.

Este trabajo se realiza con el fin de presentar un gran avance en el área de la Medicina y la Bioingeniería. Esta investigación se basa en el desarrollo de un biomaterial compuesto a base de polímeros y un material cerámico, resultando un bloque poroso bioactivo similar al hueso, llamado "Espuma de hidroxiapatita", para ser utilizada como injerto óseo.

La innovación consiste en determinar el protocolo de síntesis que debe ser llevado a cabo para que su pureza sea la óptima en aplicaciones in vivo y utilizar las cantidades ideales de los aditivos poliméricos que le dará más flexibilidad al cerámico, presentando así mayor resistencia mecánica y logrando mejores resultados al ser utilizada como reemplazo del tejido óseo en el tratamiento de fracturas y defectos óseos evitando el rechazo y la transmisión de enfermedades, disminuyendo así el tiempo de recuperación del paciente.<sup>2</sup>

## **1. OBJETIVOS**

### **1.1 GENERAL**

Fabricar espumas de Hidroxiapatita que mejoren las condiciones de la hidroxiapatita (HA) pura en el momento de la osteointegración.

### **1.2 ESPECÍFICOS**

1.2.1 Crear un nuevo compuesto de Biomateriales para la recuperación ósea con hidroxiapatita y aditivos poliméricos.

1.2.2 Estandarizar un protocolo para la fabricación de espumas de HA, usando el polvo de HA obtenido en la Universidad de Antioquia.

1.2.3 Caracterizar los componentes fabricados en cuanto a Morfología usando Microscopía electrónica de barrido, determinación de fases en Difractómetro de Rayos X.

1.2.4 Verificar las propiedades mecánicas: resistencia a la compresión y realizar la prueba de porosidad.

### **1.3 ALCANCE**

1.3.1 Obtener Bloques y piezas de hidroxiapatita reforzada con un aditivo polimérico de diferentes formas y tamaños y con buenas propiedades mecánicas que posibiliten el reparo del tejido óseo.

1.3.2 Ficha técnica del material compuesto.

1.3.3 Desarrollar un protocolo donde se estandarice la fabricación de espumas de HA.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 BIOMATERIALES**

Hoy en día existen diferentes concepciones de lo que realmente es un biomaterial, por una parte, se tiene que un biomaterial es "un material ideado para interactuar con los sistemas biológicos, para evaluar, tratar, aumentar o sustituir cualquier tejido, órgano o función del cuerpo" según la *Second Consensus Conference on definitions in Biomaterials, Chester, UK, 1992*. Por otro lado, hay quienes definen a los biomateriales como "aquellos materiales de origen natural o sintético que se utilizan para dirigir, suplementar o reemplazar alguna función de un tejido vivo"<sup>3</sup> o como "una sustancia sistemáticamente y farmacológicamente inerte diseñada para implantación dentro de un sistema vivo o su incorporación a éste"<sup>4</sup>. Todas estas definiciones son validas para un biomaterial.

En la actualidad se experimentan materiales de diferente naturaleza para utilizarlos como implantes óseos, tales materiales son los metales y sus aleaciones, los polímeros naturales y sintéticos, biovidrios y cerámicos, además de algunas combinaciones entre ellos denominados materiales compuestos. Algunas de sus aplicaciones se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1:** Aplicaciones de los biomateriales<sup>5</sup>.

LOCALIZACIÓN	DISPOSITIVO	ETIOLOGÍA	MATERIALES
<b>OJO</b>	Lente intraocular	Cataratas	Acrílico(PMMA)
	Lentes de contacto	Problemas de la visión	Silicona(Sil),hidrogeles
	Vendaje corneal		Silicona,acrilatos,colágeno
<b>PISO ORBITAL</b>	Piso orbital	Fractura del orbital que conduce a visión doble.	Politetrafluoroetileno(PTFE) Silicona, PE, Ti(malla)
	Banda escleral	Desprendimiento de la retina.	Silicona
	Ojo artificial	Remoción por traumatismo o enfermedad	Acrílico
<b>OÍDO</b>	Marco oído externo	Pérdida congénita o traumática del oído externo.	Silicona, PE, Policloruro de vinilo (PVC)
	Tubo de ventilación	Infección oído medio, oclusión del tubo de Eustaquio	Pe, PC, silicona, acero Inoxidable (A.Inox.)
<b>NARIZ</b>	Rinoplastia	Nariz congénita en silla	Silicona
<b>BARBILLA</b>	Prótesis de barbilla	Barbilla recesiva	Silicona
<b>BOCA</b>	Prótesis mandibular	Traumatismo, anquilosis	Proplast™
	Implantes dentales	Traumatismo, enfermedad	Acrílico, epoxi, PE ultra alta densidad, Ti, Alúmina
<b>CARA</b>	Prótesis facial	Traumatismo	Acrílico, PVC, Poliuretano
<b>CUELLO</b>	Stents traqueales	Reconstrucción traqueal	Silicona
	Caja de voz	Pérdida de la voz por laringectomía	Silicona, acetales, A.Inox.
<b>CORAZÓN Y SISTEMA VASCULAR</b>	Marcapasos cardíaco	Arritmia, bloqueo cardíaco	Epoxi, Silicona(Sil), PTFE, A.Inox. Ti.
	Prótesis valvulares	Enfermedades valvulares	Carbono pirolítico, Ti, PTFE, Silicona, tejido reprocesado
	Bombas intra-aórticas	Necesidad de asistencia cardíaca.	Poliuretanos segmentados, copolímeros uretano-silicona
	Oxigenadores	Cirugía a corazón abierto	Policarbonato (PC), cauchos

	sanguíneos		de silicona, poliacetales
	Vasos sanguíneos y stents	Traumatismo y enfermedad	PVC, poliéster (dacrón-mylar) Aleac, superelásticas Ni-Ti
	Almacenaje de sangre y sistemas de liberación	Traumatismo, cirugía, enfermedades	Vinilos, poliacetales
	Prótesis arteriales	Arterioesclerosis, aneurismas	Tejido de poliéster o PTFE
	Suturas Biodegradables	Traumatismo o enfermedad	Poliuretanos(PU), polilactidas
<b>SISTEMAS DIGESTIVOS</b>	Segmentos gastrointestinales	Traumatismo o enfermedad	Silicona, PVC, nylon, poliacrilatos
<b>SISTEMA URINARIO</b>	Stent de uretra Esfínter urinario	Bloqueo de uretra por enfermedad Incontinencia Urinario	Silicona, PE Silicona
	Membranas de hemodiálisis	Fallas del riñón	Nylon, Silicona, celulosa, PU, poliacrilonitrilo, cuprophane
<b>ÓRGANOS SEXUALES</b>	Prótesis mamarias	Mastectomía subcutánea, subdesarrollo o asimetría de mamas	Silicona
	Stent vaginal	Reconstrucción enfermedad o ausencia congénita.	Silicona, PE
	Implante	Trompas de falopio	Silicona
<b>ESQUELETO</b>	Placa craneal	Traumatismo	Acrílico, Ti(malla)
	Articulaciones de rodilla, dedos y otras	Artritis, traumatismo	Compuesto de PE-fibra de carbono, PU, Sil, Aceros, aleaciones de Ti-Al-V, acrílicos, PE ultra alta densidad, dacrón
	Reparación de huesos	Traumas y enfermedades	Hidroxiapatita, acrílico.
	Tendones artificiales	Tendinitis, traumatismo	Silicona y poliéster

Además de las propiedades y exigencias de cada material según su destino y aplicaciones particulares, éstos deben cumplir un número de requisitos que son comunes a todos los biomateriales. El principal requisito es la **biocompatibilidad**, de acuerdo con una definición que ha sido aprobada por consenso: "La biocompatibilidad se define como la habilidad de un material de actuar con una respuesta adecuada del tejido hospedero, en una aplicación específica"<sup>6</sup>.

Cualquier material aplicable en implantes quirúrgicos tiene un amplio espectro de posibilidades de reaccionar bioquímicamente al estar dentro del cuerpo. Este espectro de posibilidades puede dividirse en las siguientes categorías<sup>7</sup>:

- **Materiales casi inertes, con una mínima reactividad química:**

Considerados muy poco reactivos debido a que son muy poco solubles cuando están dentro del cuerpo humano. La reacción fisiológica que toma lugar en los alrededores de una prótesis hecha de este tipo de materiales es la formación de cápsulas de tejido fibroso.

Entre los materiales casi inertes están cerámicas como la alúmina y el zirconio y metales como las aleaciones CrCoMo y el acero inoxidable.

- **Materiales bioactivos:**

Este tipo de materiales recibe una respuesta biológica específica en la interfase, formando enlaces químicos entre el material y el tejido que lo rodea. Dentro de éste grupo de materiales los cerámicos de fosfato de calcio son los únicos que tienen una estructura similar al hueso, ya que los huesos están compuestos de un 60 a 70 % de mineral casi todo

fosfato cálcico, lo que le permite ser un material totalmente biocompatible<sup>8</sup>.

- **Materiales reabsorbibles:**

Son llamados reabsorbibles o simplemente bioabsorbibles, tienen la capacidad de ser compatibles con el tejido y de degradarse cierto tiempo después de ser implantados; dando lugar a productos que no son tóxicos y pueden ser eliminados por el organismo o metabolizados por éste. Generalmente, este grupo está representado por los polímeros biodegradables, aunque existen ciertos materiales cerámicos los cuales también son reabsorbibles.

## **2.2 BIOMATERIALES SEGÚN SU NATURALEZA QUÍMICA**

Los biomateriales se pueden clasificar según su naturaleza química en tres grupos principales: Metales, cerámicos y polímeros. A continuación se especifican las características y aplicaciones de cada uno.

### **2.2.1 METALES**

En particular los metales han sido ampliamente utilizados como biomateriales debido a sus propiedades mecánicas. Sin embargo, los implantes metálicos presentan una resistencia mucho mayor a la del hueso, lo cual conlleva al estado de apantallamiento de tensiones, terminando en una ruptura del hueso. Otra desventaja de los materiales metálicos para aplicaciones de osteosíntesis es su gran facilidad para corroerse, lo cual también afecta el comportamiento biológico<sup>9</sup>. La corrosión es un problema general en los metales, más aún si están

inmersos en un medio hostil como es el organismo humano, y a temperaturas aproximadas a 37°C<sup>10</sup>.

Solo se utilizan unos pocos metales como biomateriales ya que deben satisfacer una serie de requisitos:

- Ser tolerados convenientemente por el paciente (sus especies químicas derivadas deben ser toleradas por los tejidos adyacentes).
- Resistentes a la corrosión (en presencia de los fluidos biológicos que son muy agresivos).
- Buenas propiedades mecánicas como módulo de elasticidad, resistencia mecánica y compatibilidad con los huesos. Tienen relativamente alto módulo elástico (70-230 GPa) y su ductilidad (o capacidad para la deformación plástica en general) permite que se obtengan formas complicadas mediante un abanico de técnicas de conformación.

Los materiales metálicos más comunes utilizados en implantes son:

**Aceros inoxidables:** AISI 316L, % peso: 67.5 Fe, 18 Cr, 12 Ni, 2.5 Mo, < 0.03 C

**Aleaciones de cobalto:** ASTM F5758, % peso: 35 Co, 35 Ni, 20 Cr, 10 Mo

**Aleaciones de titanio:** p. ej. Ti6Al4V, %peso: 90 Ti, 6 Al, 4 V

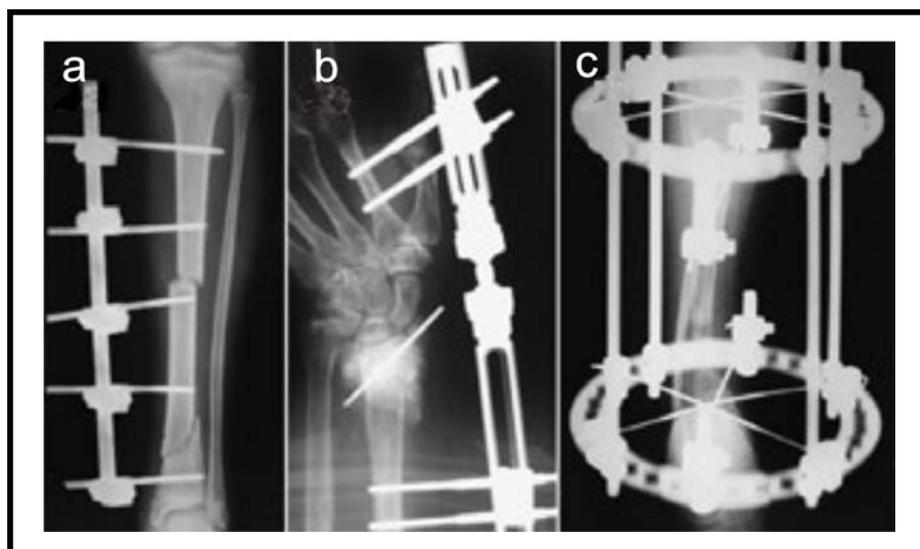
**Titanio:** 100 % Ti

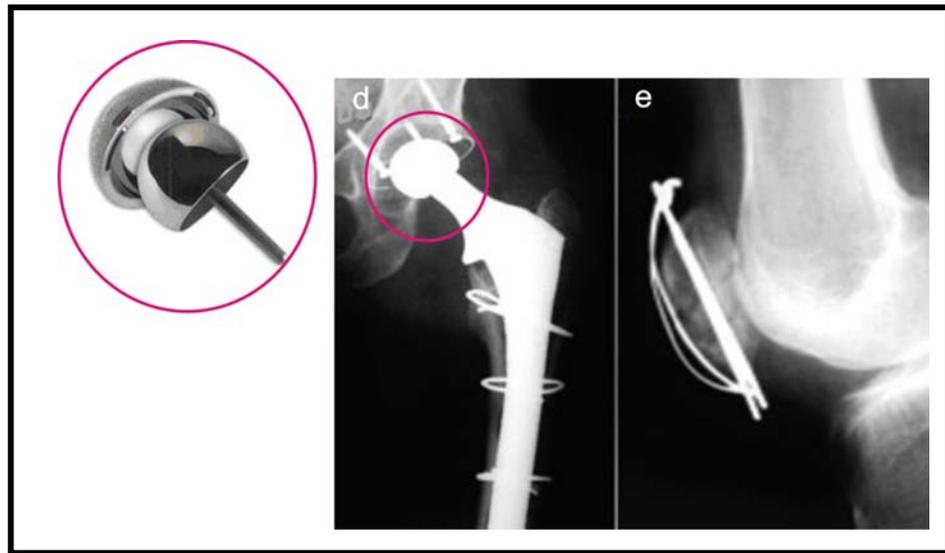
**Aleaciones con memoria de forma:** NITINOL, % peso: 50 Ti, 50 Ni

Todas estas aleaciones metálicas son resistentes a la corrosión debido a la formación de una capa pasiva de óxido en la superficie, protegiendo el

interior del metal evitando que avance la corrosión. Las aleaciones basadas en el titanio presentan, hoy en día, el mejor conjunto de propiedades (mecánicas y frente a la corrosión) de los biometales comunes para implantaciones óseas. Las aleaciones "con memoria de forma" son utilizadas en alambres correctores de la posición dental y en *stents* gástricos y vasculares.

Los usos más comunes de los biometales son en aplicaciones ortopédicas incluyendo sustituciones óseas (reemplazar parte de un fémur o una cadera), fijaciones de fracturas (clavos internos), fijadores externos, etc. En el campo dental hay muchas aplicaciones como puentes permanentes y extraíbles, prótesis parciales o totales, correctores dentales, etc. Muchos dispositivos implantables contienen metales como prótesis vasculares, válvulas de corazón, electrodos de los marcapasos, etc<sup>11</sup>. En la figura 1 se pueden observar unas radiografías mostrando unos fijadores externos, prótesis de cadera y bandas de tensión con agujas en K, utilizados en diferentes fracturas.





**Figura 1:** Fijadores externos de la tibia: a) Uniplanar. b) Uniplanar articulado. c) Externo anular (Ilizarov) fijando una fractura infectada de la tibia. Alambres: d) Cadera AP. Prótesis total no cementada, asegurada con tres bandas de cerclaje. e) Rótula. Fractura fijada con banda de tensión y agujas K<sup>12</sup>.

### 2.2.2 POLÍMEROS

Los materiales poliméricos tienen una amplia variedad de aplicaciones en el campo de la implantología médica, ya que presentan propiedades físicas, químicas y mecánicas más cercanas a las de los tejidos vivos que en su mayor parte están formados por polímeros naturales, como las proteínas y los polisacáridos. Además, son de fácil procesamiento y pueden obtenerse en diversas formas.

Actualmente existen numerosos polímeros utilizados en el campo biomédico. Algunos de ellos son bioestables o dicho de otra manera, no son biodegradables, y son utilizados para aplicaciones permanentes,

como el polimetilmetacrilato (PMMA), o el polietileno (PE). En los últimos años se han empezado a utilizar los polímeros biodegradables, para aplicaciones temporales. Kulkarni *et al.* introdujeron en los años 60, el concepto de material bioabsorbible, en las dos últimas décadas, dispositivos bioabsorbibles han sido utilizados en muchas aplicaciones de la cirugía ortopédica, incluyendo la fijación de fracturas, reemplazo óseo, reparación de hombro, cartílago y menisco, fijación de ligamentos y liberación de fármacos<sup>13</sup>. Estos materiales han sido usados en forma de tornillos, clavos, y placas para cirugía ortopédica, oral y craneofacial, lentes intraoculares, lentes de contacto<sup>14</sup>. En las figuras 2 y 3 se puede observar la morfología de las microesferas de los biopolímeros y la aplicación de éste biomaterial en el cuerpo.



**Figura 2:** Microscopía electrónica de microesferas de biopolímeros<sup>15</sup>.



**Figura 3:** Injerto de piel, antes de ser fijado y cubierto con apósitos<sup>16</sup>.

### **2.2.3 CERÁMICOS**

Los materiales cerámicos tienen enlaces químicos fuertes, tienen alto punto de fusión, baja conductividad, buena estabilidad química y neutralidad eléctrica. Los cerámicos son generalmente frágiles y casi siempre se fracturan ante esfuerzos de tensión y presentan poca elasticidad.

Pueden ser fabricados con porosidad lo cual reduce la resistencia a los esfuerzos, debido a que los poros y otras imperfecciones microscópicas actúan como entallas o concentradores de tensiones.

Tienen elevada resistencia a la compresión si se compara con los metales, incluso a temperaturas altas (hasta 1500°C). Bajo cargas de compresión las grietas incipientes tienden a cerrarse, mientras que bajo cargas de tracción o cizalladura las grietas tienden a separarse, dando lugar a la fractura<sup>17</sup>.

## **Características de los biocerámicos.**

- Químicamente inerte en muchos ambientes.
- Elevada resistencia al desgaste (aplicaciones ortopédicas y dentales).
- Alto módulo de elasticidad y elevada resistencia mecánica.
- Estético para acabados dentales.
- Excelente como plataforma de crecimiento celular.
- Posibilidad de reparar o de sustituir la parte del cuerpo dañada.
- Inerte en el cuerpo (o bioactivo según la clasificación).

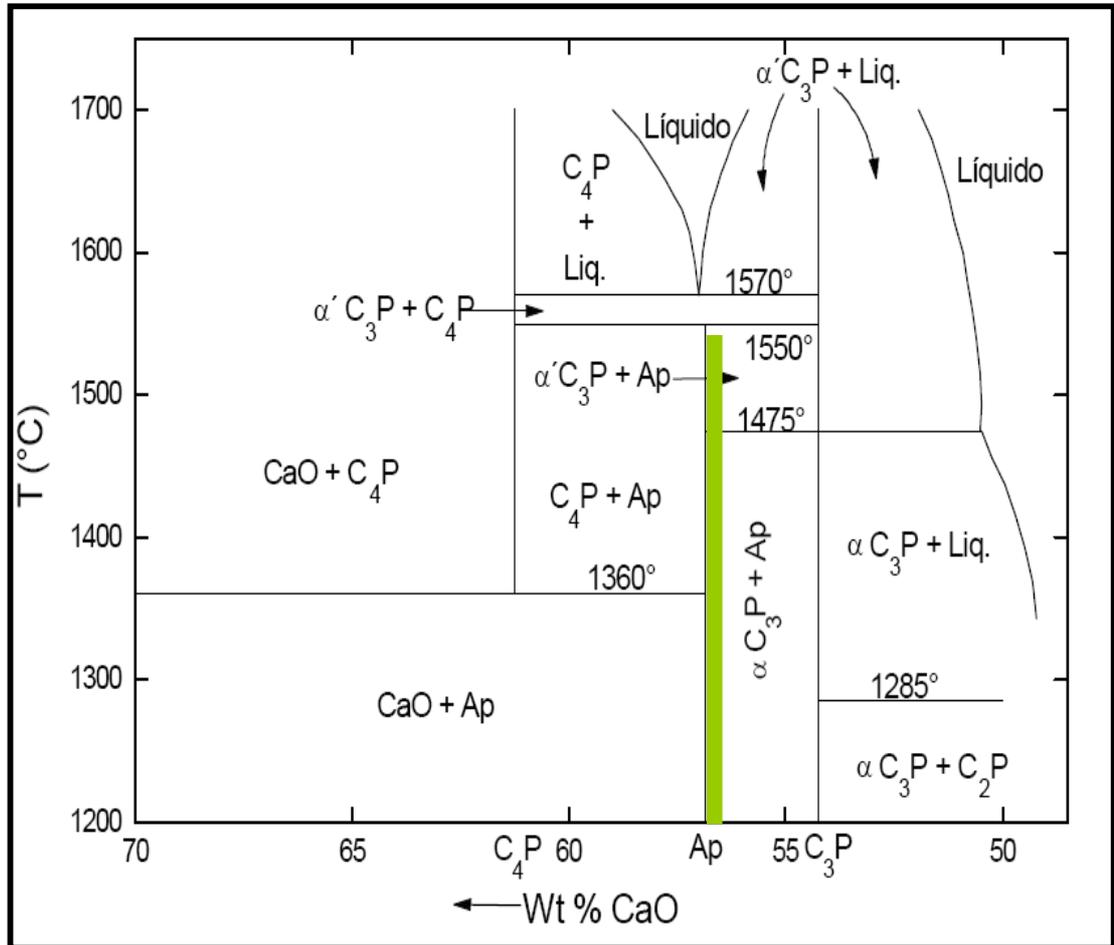
En general, las biocerámicas son utilizadas en el campo clínico como: implantes pequeños que no tengan que soportar altas cargas, como por ejemplo los implantes para el oído medio, recubrimientos sobre metales, refuerzos como el caso de los implantes dentales, implantes porosos sin cargas para estimular el crecimiento de hueso dentro del implante o como cementos que se implantan en estado pastoso y fraguan *in vivo*.

Para aplicaciones biomédicas se pueden encontrar tres clasificaciones de los biocerámicos:

**2.2.3.1 REABSORBIBLES:** Entre los que se encuentran los fosfatos de calcio y los vidrios de fosfato de calcio.

### **2.2.3.1.1 Fosfatos de calcio<sup>18</sup>**

En la figura 4 se puede ver el diagrama de fases de los fosfatos de Calcio y se indica con una línea de color verde la composición para la cual se forma la hidroxiapatita.



**Figura 4:** Diagrama de fases de los Fosfatos de Calcio (CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) con una presión parcial de vapor de H<sub>2</sub>O de 500 mmHg<sup>19</sup>.

El excelente comportamiento histológico de los fosfatos de calcio se debe a que la hidroxiapatita (Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>OH) es el principal mineral constituyente de los huesos. Por esta razón este compuesto en particular fue usado en el pasado para ser implantado en el sistema óseo. Es la similitud de esta cerámica con la fracción mineral del hueso

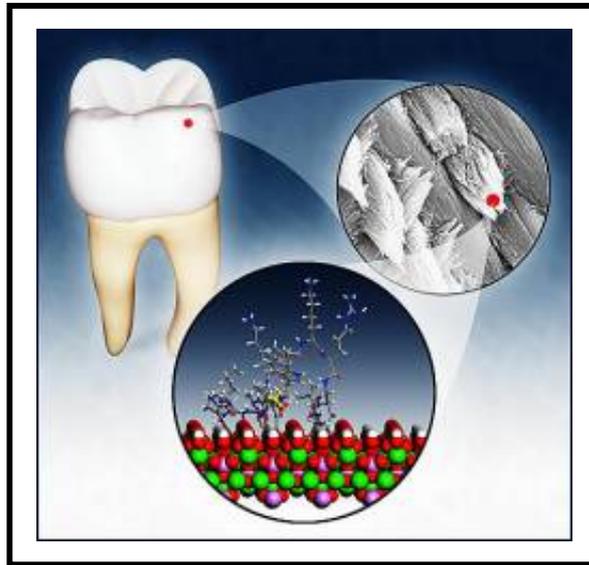
lo que explica que se dé una reacción bioquímica positiva en la interfase cerámica-hueso.

El comportamiento mecánico de las cerámicas de fosfato de calcio influye enormemente en sus aplicaciones como implantes. La resistencia a la tensión, a la compresión y a la fatiga dependen de su naturaleza cerámica, lo que las hace frágiles y además del volumen total de porosidad del material, la cual puede venir dada en forma de microporos ( $< 1 \mu\text{m}$  en diámetro) o en forma de macroporos ( $> 100 \mu\text{m}$  en diámetro).

### **Estructura del fosfato de calcio<sup>20</sup>**

El Fosfato de Calcio puede ser cristalizado en sales de hidroxiapatita dependiendo de la relación atómica de Ca/P, presencia de agua, impurezas y de la temperatura. En ambientes húmedos y a bajas temperaturas ( $< 900 \text{ }^\circ\text{C}$ ) es más probable la formación de apatita.

Puede ser utilizado en forma granular o en bloques sólidos. Se considera que la forma de HA del Fosfato de Calcio es la más semejante a la fase mineral del hueso o del diente. En la figura 5 se puede ver su estructura con mayor claridad.



**Figura 5:** Cristales de fosfato de calcio en los dientes<sup>21</sup>.

### **Características del fosfato de Calcio**

- Similares al componente óseo en los humanos
- Biocompatibles
- Bioactivos
- Son osteoconductores
- Son osteoinductores
- Presentan fuerte enlace al hueso
- Excelente como recubrimiento de prótesis metálicas
- La temperatura de calcinación de los fosfatos es factor clave para la cristalinidad y la descomposición en ambientes fisiológicos
- Su estabilidad termodinámica al ambiente fisiológico y actividad toman parte en el fuerte enlace con el hueso

### **Desventajas del fosfato de Calcio**

- Pobres propiedades mecánicas
- Elevada fragilidad
- Necesita procesos muy controlados de síntesis
- No presenta superficie de buen acabado

#### **2.2.3.1.2 Vidrios de Fosfato**

Los vidrios de fosfato fueron desarrollados principalmente para elementos acromáticos, hace 100 años por Schott y colaboradores<sup>22</sup>, hoy en día, los vidrios de base fosfato son utilizados en diferentes aplicaciones, sobre todo en el campo de la industria optoelectrónica<sup>23</sup>.

En las últimas décadas, los vidrios de fosfato, específicamente los de fosfato de calcio, han sido ampliamente estudiados no sólo por su composición química, la cual se asemeja a la de la fase mineral ósea, sino también por su solubilidad, la cual varía según la composición del vidrio<sup>24</sup>. La elevada solubilidad de algunas composiciones, que inicialmente fue causa del rechazo de este tipo de vidrios, puede ser de gran provecho en el campo biomédico, ya que le confiere al material la propiedad de ser biodegradable y servir así de soporte en las primeras etapas del proceso de reparación ósea y de disminuir sus propiedades mecánicas gradualmente mientras el tejido óseo se regenera. Debido a la solubilidad, este tipo de vidrios pueden ser considerados como un material reabsorbible o biodegradable.

Entre las potenciales aplicaciones clínicas de este tipo de vidrios, se encuentran la liberación de iones antibacterianos como el cobre o la plata<sup>25</sup>, reparación neural<sup>26</sup>, liberación de flúor para aplicaciones odontológicas<sup>27</sup>, aplicaciones veterinarias como medio para la liberación de suplementos de iones como zinc, cobre y cobalto,<sup>28</sup> además es hemocompatible lo que evita la formación de trombos<sup>29</sup>.

**2.2.3.2 BIOACTIVOS:** dentro de éste grupo se encuentran los siguientes materiales: Biovidrios – Hidroxiapatita – vitrocerámicas.

#### **2.2.3.2.1 Biovidrios**

Dentro del grupo de los materiales cerámicos se tienen las vitrocerámicas y los biovidrios, los cuales han demostrado ser buenos candidatos para aplicaciones biomédicas relacionadas con la regeneración del tejido óseo. Los llamados biovidrios, han ocupado un lugar importante en el área de la medicina regenerativa ósea, principalmente a partir de los años 80.

#### **Vidrios Bioactivos**

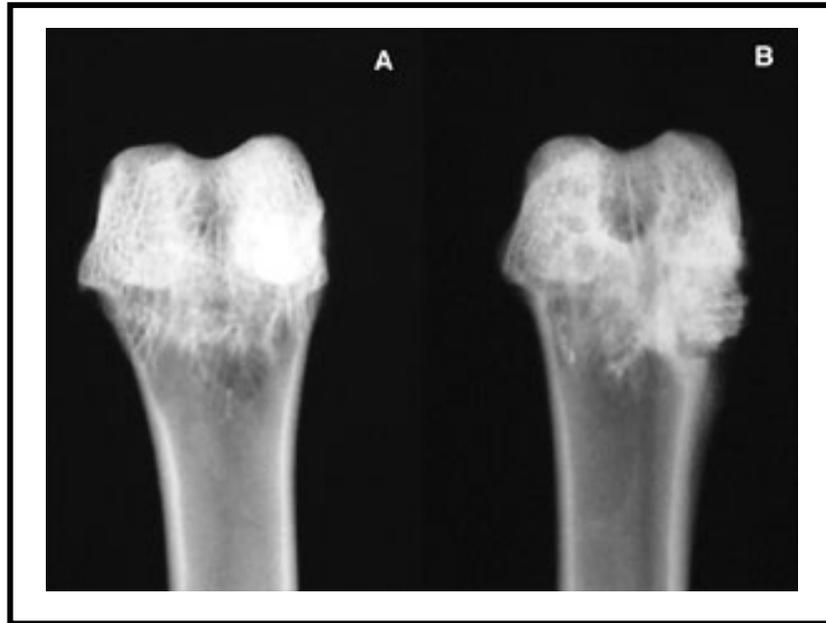
Algunos vidrios tienen composiciones basadas típicamente en combinaciones de  $\text{SiO}_2$  (Dióxido de sílice)- $\text{CaO}$ - $\text{NaO}$ - $\text{P}_2\text{O}_5$  (óxido de fósforo) y han demostrado la formación de uniones con el hueso. Los vidrios bioactivos tienen menor contenido en sílice, mayor presencia de  $\text{P}_2\text{O}_5$  (responsable de la formación de los fosfatos) y mayor contenido en  $\text{Ca}^{+2}$ . No hay  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , ya que la adición de  $\text{Al}^{+3}$  disminuye la bioactividad de estos materiales.

La característica principal de estos materiales es que desarrollan en su superficie una capa biológicamente activa de hidroxiapatita carbonatada (HCA), la cual provee la interfase de unión con el tejido. Estos materiales reaccionan en contacto con el fluido formando una especie de gel hidratado en la superficie el cual es rico en iones Ca y P. La cristalización de esta capa conlleva a la formación de apatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3$ ) y por lo tanto a la unión con el hueso. La capa formada en la superficie del implante es similar tanto química como estructuralmente a la fase mineral del hueso, y es por esto que se da la unión interfacial hueso-implante<sup>30</sup>.

### **Ventajas de los Biovidrios**

- El biovidrio produce la secreción de ciertas proteínas que estimulan la generación de células osteoprecursoras.
- La investigación con biovidrio se encuentra ahora en la fase de desarrollo de una tercera generación de material, que permita incluir en su fórmula cualitativa las proteínas propias de una plataforma de crecimiento alrededor de la cual crece el hueso en condiciones normales.

En la figura 6 se muestra el desarrollo de una neoformación ósea homogénea y progresiva, encontrando que a la cuarta semana de la implantación de un biovidrio persistían restos de los biomateriales en los grupos TCP (fosfato tricálcico) y HAC (hidroxiapatita carbonatada).



**Figura 6:** Estudio radiológico del TCP (A) y de la HAC (B) a las 4 semanas de implantación<sup>31</sup>.

**2.2.3.3 INERTES O NO ABSORBIBLES<sup>32</sup>:** En esta clasificación se encuentran:  $\text{Al}_2\text{O}_3$  –  $\text{ZrO}_2$  –  $\text{TiO}_2$  – CARBONO.

#### **Oxido de Aluminio o Alúmina $\text{Al}_2\text{O}_3$**

La principal fuente de óxido de aluminio de alta pureza es la bauxita, se encuentran alúminas con un 99.9% de pureza, la norma ASTM requiere sólo 99.5% de pureza con menos de 0.1% de sílice para utilizarlas en implantes.

#### **Ventajas**

- Se ha usado para hacer implantes por su elevada dureza.

- Presenta una dureza de 9 en la escala de dureza de Mohs
- Excelente resistencia a la fricción
- Este material se usa como abrasivo
- Excelente inercia química
- Resiste los mas severos ambientes incluidos los corporales

### **Desventajas**

- La elevada dureza le confiere fragilidad
- Por encima del nivel crítico de esfuerzos la resistencia a la fatiga se reduce con presencia de agua y de sílice
- Baja resistencia a la fatiga
- Baja resistencia al impacto

### **Aplicaciones**

- Las propiedades son explotadas para propósitos de implantes de cadera, rodilla y tobillo, donde se necesite resistencia a la fricción.
- Presenta un excelente acabado superficial en implantes dentales.
- La alúmina porosa ha sido usada como espaciador de hueso donde secciones de hueso han tenido que ser removidas debido a enfermedad
- En esta aplicación actúa como plataforma para crecimiento de hueso.
- Se usan cristales simples de alúmina en aplicaciones dentales por su excepcional dureza y apariencia real, esto quiere decir que se ven como el diente original y su resistencia asegura años de servicio sin problemas.

En la figura 7 se puede observar una prótesis dental fabricada de alúmina.



**Figura 7:** Prótesis dental de alúmina<sup>33</sup>.

## **Carbono**

El carbono puede organizarse de varias formas, alotrópicos cristalinos como diamante y grafito y semicristalinos como el carbono pirolítico. Entre todos estos, solo el carbono pirolítico es utilizado como material de implante.

## **Ventajas**

- Las propiedades mecánicas son altamente dependientes de la densidad.
- El grafito pirolítico presenta una resistencia mecánica mucho mayor que la de los carbones vítreos y la del grafito.
- Presentan una excelente biocompatibilidad con los tejidos.

## Aplicaciones

- La elevada compatibilidad, especialmente con la sangre hace que el carbón pirolítico se pueda usar como recubrimiento para válvulas de corazón y vasos sanguíneos.
- Generalmente se ha utilizado para fabricar compuestos reforzados con fibras de carbono, dando unas propiedades muy buenas, que dependen de la orientación de las fibras y por ello se miden las propiedades tanto en secciones transversales como longitudinales.

En la figura 8 se puede ver una de las aplicaciones del carbono pirolítico, en válvulas cardiacas.



**Figura 8:** Válvula aórtica de Carbomedics (modelo Top Hat). Válvula bivalva de carbón pirolítico diseñada para implantación supra-anular<sup>34</sup>.

### **Características de los cerámicos no absorbibles:**

- Mantienen sus propiedades físicas y químicas durante todo el tiempo que están implantados.
- Resisten a la degradación en ambiente fisiológico
- No son tóxicos
- No son cancerígenos
- No son alergénicos
- No producen inflamación
- Son biocompatibles

### **2.3 GENERALIDADES SOBRE LA HIDROXIAPATITA**

Todo defecto óseo de una extremidad, afecta la capacidad funcional del segmento corporal dañado. A esta situación se han enfrentado médicos desde años atrás hasta el presente y muchos investigadores se han afanado en encontrar una solución.

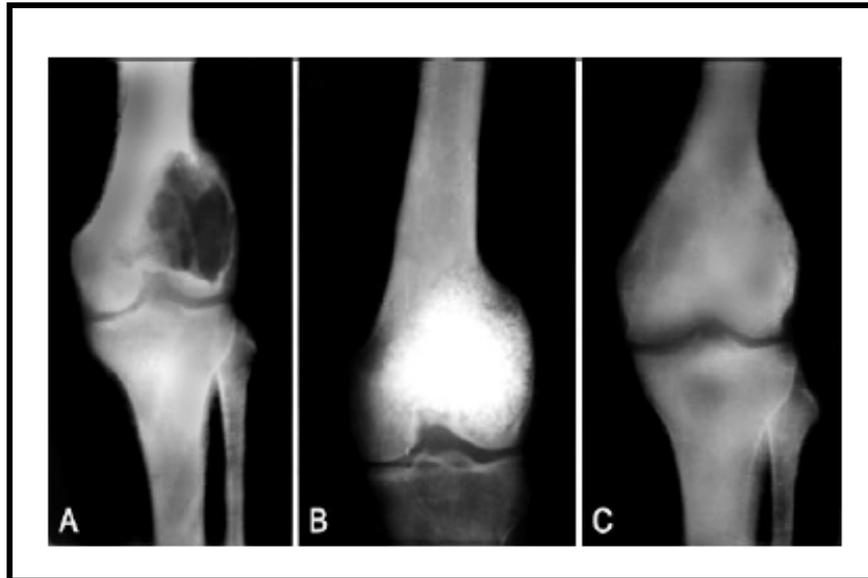
En una fase inicial, el defecto óseo se trató a expensas de la propia fuente natural del hueso, dando paso al injerto óseo, que ha perdurado hasta la actualidad y durante años se consideró el sustituto ideal por su comportamiento y estructura. Pero en la práctica presenta inconvenientes que limitan su uso, pues su obtención implica una intervención quirúrgica adicional para el paciente con mayor morbilidad postoperatoria o presenta desventajas relacionadas con fracasos de incorporación, reabsorción, transmisión de enfermedades, rechazo inmunológico y sobre todo dificultades de obtención y conservación<sup>35</sup>.

Los inconvenientes del injerto óseo incentivaron la búsqueda de materiales naturales o artificiales para implantes en hueso; en las últimas décadas han aparecido diversidad de biomateriales. En este sentido, los clasificados como bioactivos han adquirido mayor relevancia por el éxito en la aplicación práctica, dado por la interacción e intercambio químico que se establece entre el implante y el tejido vivo. Dentro de este grupo la hidroxiapatita ha acumulado particular interés por su similitud química y estructural con el principal componente mineral del hueso humano, que la ubica como uno de los materiales más biocompatibles reconocido en la implantología ósea.<sup>36</sup>

La Hidroxiapatita ha recibido mucha atención por la constante búsqueda de abreviar el período operatorio, para la reparación de ciertos traumas como por ejemplo cirugía de exéresis de tumoraciones benignas de las extremidades, para descubrir soluciones de consolidación y para sustitución del hueso ya que éste material favorece la neoformación ósea al estar en contacto con los fluidos fisiológicos, reaccionando químicamente en la dirección de producir hueso neoformado por sus características químicas y de superficie.

Las particularidades de la HA son: la biocompatibilidad, la bioactividad, la osteoconductividad y la unión directa al hueso.

En la figura 9 se puede observar un injerto de HA.



**Figura 9:** A- Condroblastoma de fémur. B- Curetaje y relleno con hidroxiapatita. C- Radiografía evolutiva a los 6 meses, donde se observa un excelente soporte estructural<sup>37</sup>.

### 2.3.1 ESTRUCTURA DE LA HIDROXIAPATITA (HA)

Las propiedades de la Hidroxiapatita (HA) sintética se muestran en la Tabla 2. Las propiedades dependen de la variación en la estructura policristalina de la hidroxiapatita debido a los diferentes procesos de obtención, siendo bastante dependientes de la porosidad.

**Tabla 2:** Propiedades de la hidroxiapatita<sup>38</sup>.

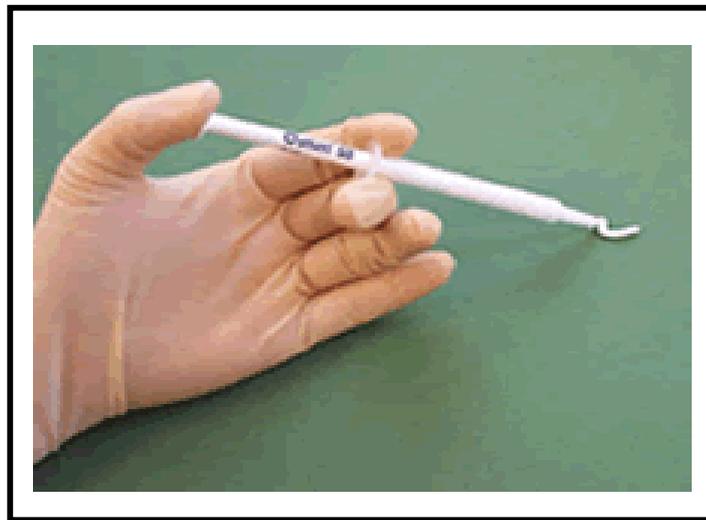
Propiedad	Valor
MÓDULO DE ELÁSTICIDAD	40-117 GPa
RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN	294 MPa
RESISTENCIA A LA FLEXIÓN	147 MPa
DENSIDAD TEÓRICA	3.16 g/cm <sup>3</sup>

La HA policristalina tiene un módulo de elasticidad E (40-117 GPa) mayor que algunos tejidos duros del cuerpo humano. El esmalte dental tiene un módulo de elasticidad de 74 GPa, contiene gran cantidad de parte mineral. La dentina (E=21 GPa) y el hueso compacto (E=12-18 GPa), contiene comparativamente menos mineral.

La hidroxiapatita corresponde a la cerámica de fosfato de calcio menos soluble y se reabsorbe lentamente en aproximadamente un 1.0 % de su volumen por año desde su implantación. Se caracteriza por ser un material rígido, frágil y fácil de adaptar a los defectos óseos y para su utilización en clínica se dispone de presentaciones en forma de gránulos y bloques.

### **2.3.2 INJERTOS ÓSEOS CON HA**

Los injertos óseos son un procedimiento quirúrgico mediante el cual se coloca un bloque de HA (hidroxiapatita) en los espacios u orificios producidos por fracturas, osteoporosis, causas traumáticas o tumores, esta técnica basa su efectividad en la gran capacidad de regeneración que tiene el sistema óseo. También se utiliza el grano pequeño de HA con dimensiones de algunos micrómetros y siendo ésta una buena disposición del material también tiene el inconveniente que por ser gránulos tan pequeños tienden a emigrar durante el proceso quirúrgico a otras partes del cuerpo y son detectadas en los cuadros hematológicos. Para procurar la pérdida de material se utiliza una jeringa para situar la HA en el lugar donde se debe realizar el relleno óseo. La técnica de disposición del material se puede ver en la figura 10.



**Figura 10:** Técnica para hacer implantes de HA en forma de polvo o granular<sup>39</sup>.

El principio fundamental de esta técnica consiste en estimular al cuerpo para que integre el biomaterial como parte orgánica del mismo tejido y renueve su vascularización, crecimiento tisular y dinámica de remodelación. Las presentaciones en las que se puede encontrar la hidroxiapatita se ven en la figura 11:

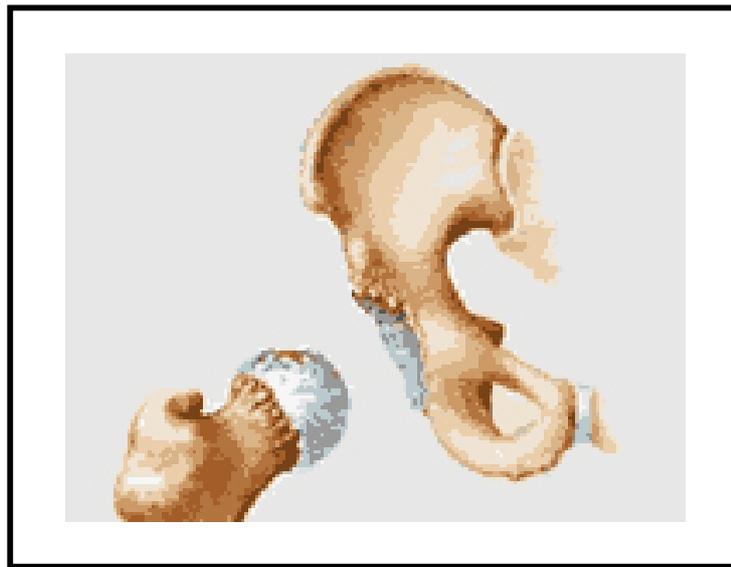


**Figura 11:** Gránulos y bloques de Hidroxiapatita<sup>40</sup>.

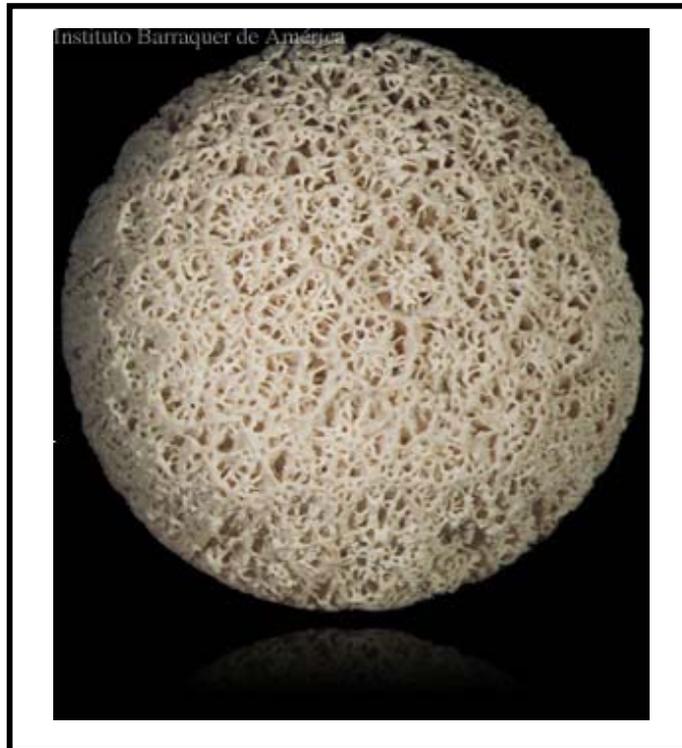
### **Aplicaciones de la Hidroxiapatita**

- Odontología, cirugía maxilofacial, ortopedia y traumatología.
- Recubrimiento de prótesis fabricadas en aleaciones de titanio para una respuesta controlada en la interfase implante/tejido.
- Como material para reparar hueso dañado por trauma, para rellenar espacios vacíos por pérdidas de hueso, vértebras fusionadas (como la espinal y lumbosacral), discos herniados o defectos maxilofaciales y dentales.

En las figuras 12, 13, 14 podemos ver aplicaciones de la HA.



**Figura 12:** Injerto de HA ubicado en el oído medio<sup>41</sup>.



**Figura 13:** Injerto de Ha para sustituir el globo ocular<sup>42</sup>.



**Figura 14:** Recubrimiento de HA en una prótesis de cadera<sup>43</sup>.

## **2.4 ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA**

La composición química del hueso muestra cierta similitud con la composición química de la HA. Considerando éstas características, lo ideal es la reproducción de HA no solo en la en la composición mineral sino también en la morfología del poro del hueso. Los implantes porosos permiten el desarrollo óseo, crecimiento de tejidos finos dentro de los mismos poros, también son fuente sanguínea para la futura mineralización del hueso y el anclaje entre el implante y el hueso es mejorado con la presencia de porosidad. Sin embargo los materiales porosos presentan menor resistencia mecánica en comparación con un cuerpo denso, por lo tanto sus aplicaciones son restringidas en áreas que deben soportar bajas cargas.

El objetivo de ésta investigación se basa en la búsqueda de un material poroso con las propiedades mecánicas óptimas que puedan soportar las cargas durante la formación del hueso, introduciendo macroporos con interconexión homogénea en la matriz. Para esto se ha desarrollado un material compuesto donde su principal componente es la HA con aditivos poliméricos, que dependiendo de sus proporciones dentro de la mezcla, le generan cierta resistencia y flexibilidad a la HA que no se consigue en estado puro.

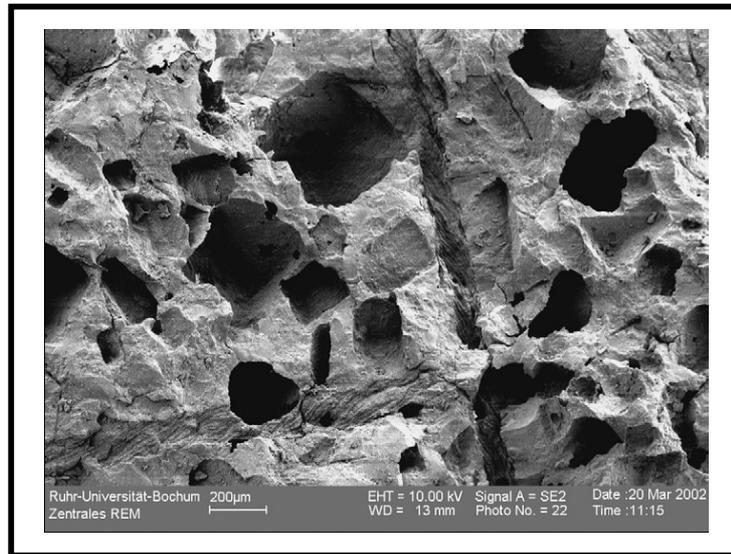
Inicialmente para la fabricación de estos cuerpos porosos cerámicos se utiliza polvo de HA, agua destilada, agentes dispersantes y monómeros orgánicos que son esenciales para mantener una mezcla fluida. La cantidad de dispersante es crucial para el comportamiento en la sinterización de las muestras y una solución de monómeros orgánicos

para fijar la muestra. Estos aditivos poliméricos se utilizan para simular el colágeno (polímero orgánico) encargado de proporcionarle mejor flexibilidad a los huesos, los amortigua y genera un mejor agarre entre ellos.

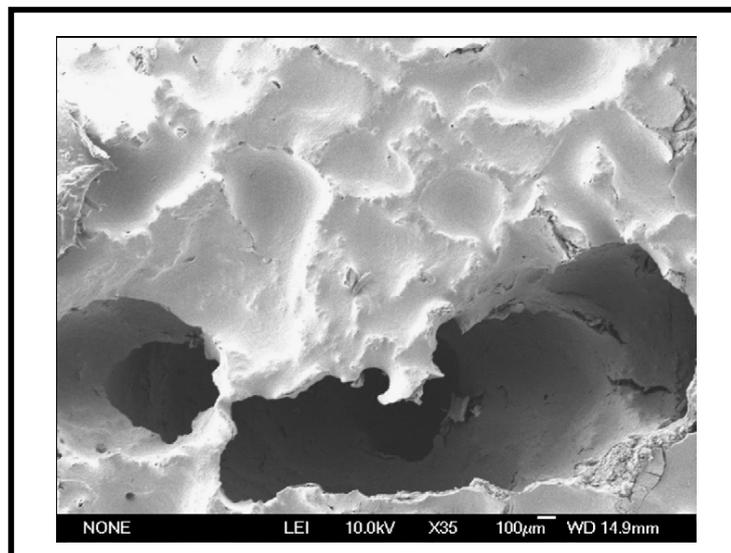
Para la generación de espumas se utiliza un surfactante dentro de la mezcla donde su concentración varía dependiendo del nivel de espuma y cantidad de poros que se desea obtener y luego el proceso de polimerización se da por un iniciador y un catalizador químico que permite la gelación de las espumas y la formación de una homogénea y gruesa pared en la microestructura<sup>44</sup>.

La introducción de monómeros a la mezcla da como resultado una estructura con alta resistencia mecánica ya que al momento de la polimerización se crea una red polimérica tridimensional. En el momento de la gelación se origina la acumulación de la mezcla y asegura el buen empaquetamiento de partículas y la combinación con el polvo cerámico genera una estructura porosa con mayor densidad, teniendo en cuenta que las propiedades mecánicas dependen de la densidad de las paredes de los poros. A mayor concentración de HA en la mezcla, mayor densidad y por ende mayor fuerza mecánica y a mayor porosidad mejor ambiente biológico. Los agentes químicos son eliminados en el proceso de sinterización, convirtiéndolo en un material no tóxico para los tejidos.

El tamaño de los macroporos que se pueden lograr por medio de ésta técnica y los valores del diámetro varían entre 200  $\mu\text{m}$ -400 $\mu\text{m}$  y 400  $\mu\text{m}$ -600 $\mu\text{m}$ . tamaño óptimo encontrado dentro de la literatura.<sup>45</sup> En las figuras 15 y 16 se pueden observar imágenes SEM para identificar el tamaño de los poros.

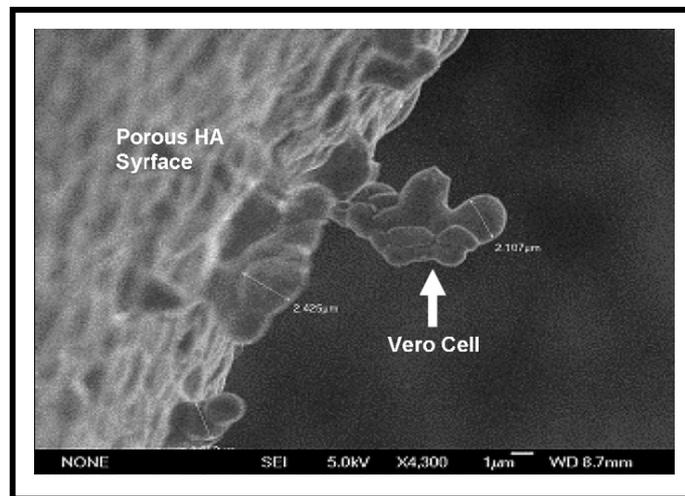


**Figura 15:** Imagen SEM (Microscopía electrónica de barrido) de HA porosa con 200 a 400μm de diámetro del poro<sup>46</sup>.

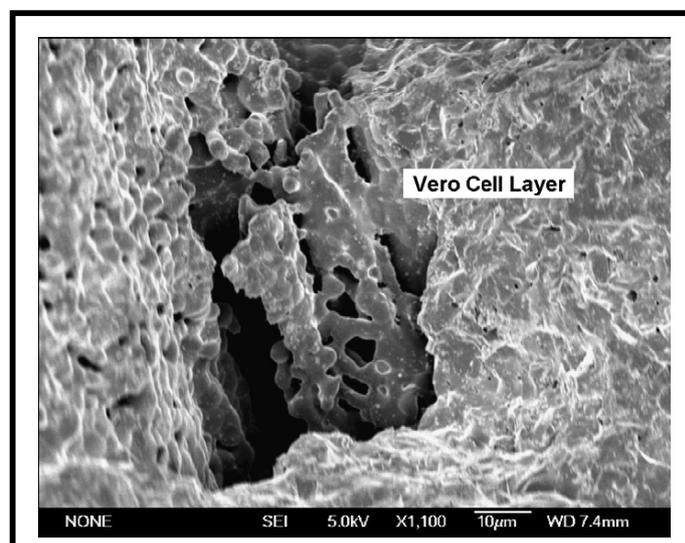


**Figura 16:** Imagen SEM (Microscopía electrónica de barrido) que muestra la morfología y macroporosidad de la HA porosa con 400 a 600μm de diámetro del poro y con excelente interconectividad<sup>47</sup>.

En las figuras 17 y 18 se muestran unas imágenes SEM del injerto de HA in vivo.



**Figura 17:** Imagen SEM que muestra el período inicial de unión celular de VERO (African Green Monkey Kidney) sobre la superficie de los poros de HA<sup>48</sup>.



**Figura 18:** Imagen SEM que muestra la formación masiva de células después del cuarto día de implantación: las células de VERO recubren las superficies de los huecos de los poros de HA<sup>49</sup>.

Las espumas de hidroxiapatita son la solución a los injertos óseos de tamaños limitados y ubicaciones restringidas ya que al optimizar sus propiedades las prótesis metálicas y poliméricas podrán ser reemplazadas o en casos recubiertas, generando una recuperación más rápida a los pacientes que hayan sido sometidos a una cirugía por traumas óseos.

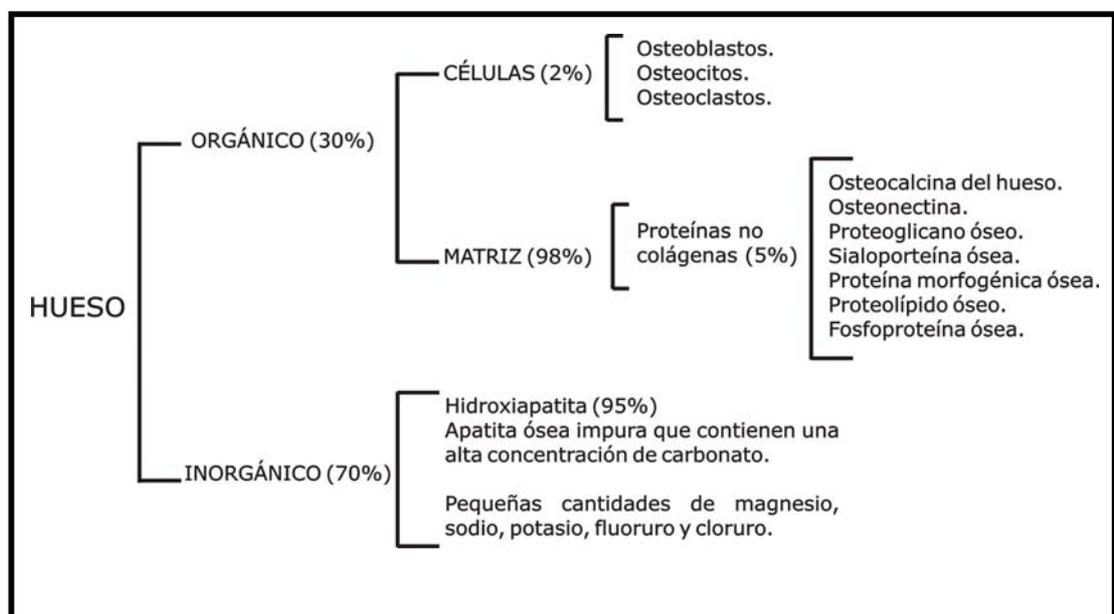
## **2.5 LOS HUESOS**

El hueso hace parte de los tejidos conectivos y es el único que es duro, da soporte y estructura en el cuerpo humano, protege los órganos y permite los movimientos. Es común pensar en los huesos como una parte inerte del cuerpo y que una vez que alcanzan su tamaño adulto éstos ya no cambian. La realidad es otra: el hueso es un tejido vivo que, al igual que los otros tejidos del cuerpo, debe alimentarse para estar en buenas condiciones, de lo cual se encargan los osteocitos, que son células óseas distribuidas en el tejido óseo. Por ser el hueso un tejido vivo, cambia en el tiempo. Al proceso continuo de destruir el tejido viejo y crear el nuevo se le llama remodelación. Un adulto puede experimentar hasta un 8% de renovación de su tejido óseo anualmente. La remodelación ósea es llevada a cabo por los osteoclastos, que son las células encargadas de la destrucción del tejido viejo y los osteoblastos, que construyen el nuevo. La remodelación ósea es un trabajo muy lento, de forma tal, que se tiene el equivalente de un nuevo esqueleto cada siete años aproximadamente.

El sistema óseo está compuesto de una Matriz ósea o Sustancia intercelular que a su vez se divide en **sustancia orgánica** entre un 30 y

40 % colágeno (El colágeno óseo es menos denso que el mineral óseo, desempeña el papel de pegamento del mineral óseo y es el que proporciona la elasticidad de los huesos), glicoproteínas, etc. Y **sustancia inorgánica** entre un 60 y 70 % (Hidroxiapatita y otros minerales como Zn, Mg, Na). El componente inorgánico es el principal responsable de la resistencia del tejido óseo a las fuerzas de compresión<sup>50</sup>.

En la figura 19 se puede apreciar mejor la composición de los huesos.

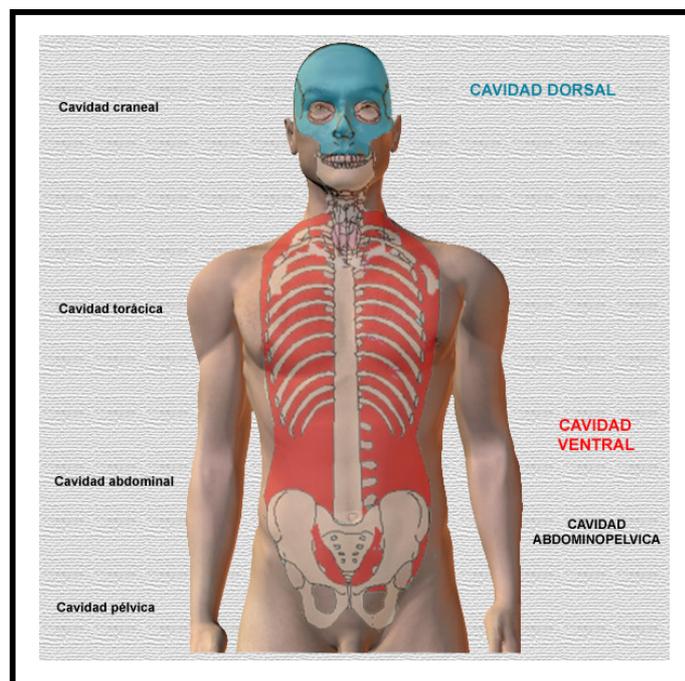


**Figura 19:** Composición del hueso<sup>51</sup>.

### 2.5.1 FUNCIONES BÁSICAS DE LOS HUESOS Y ESQUELETO<sup>52</sup>

**Soporte:** Los huesos proveen un cuadro rígido de soporte para los músculos y tejidos blandos.

**Protección:** Los huesos forman varias cavidades que protegen los órganos internos de posibles traumatismos. Por ejemplo, el cráneo protege el cerebro frente a los golpes y la caja torácica, formada por costillas y esternón protege los pulmones y el corazón como se puede ver en la figura 20.



**Figura 20:** Huesos de protección<sup>53</sup>.

**Movimiento:** Gracias a los músculos que se insertan en los huesos a través de los tendones y su contracción sincronizada, se produce el movimiento.

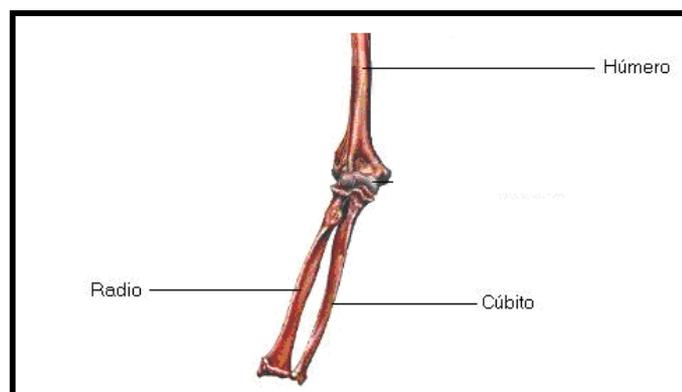
**Homeostasis mineral:** El tejido óseo almacena una serie de minerales, especialmente calcio y fósforo, necesarios para la contracción muscular y otras muchas funciones. Cuando son necesarios, el hueso libera dichos minerales en la sangre y los distribuye a otras partes del organismo.

**Producción de células sanguíneas:** Dentro de cavidades situadas en ciertos huesos, un tejido conectivo denominado **médula ósea roja** produce las células sanguíneas rojas o hematíes mediante el proceso denominado **hematopoyesis**.

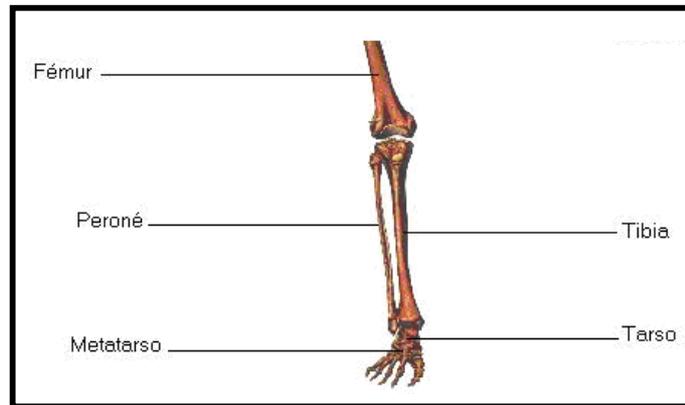
**Almacén de grasas de reserva:** la **médula amarilla** consiste principalmente en **adipositos** con unos pocos hematíes dispersos. Es una importante reserva de energía química.

## 2.5.2 CLASIFICACIÓN DE LOS HUESOS SEGÚN SU FORMA<sup>54</sup>

**Huesos largos:** Generalmente su forma es cilíndrica o prismática. Ejemplos de huesos largos: fémur, húmero, radio, tibia, peroné que se muestran en las figuras 21 y 22.



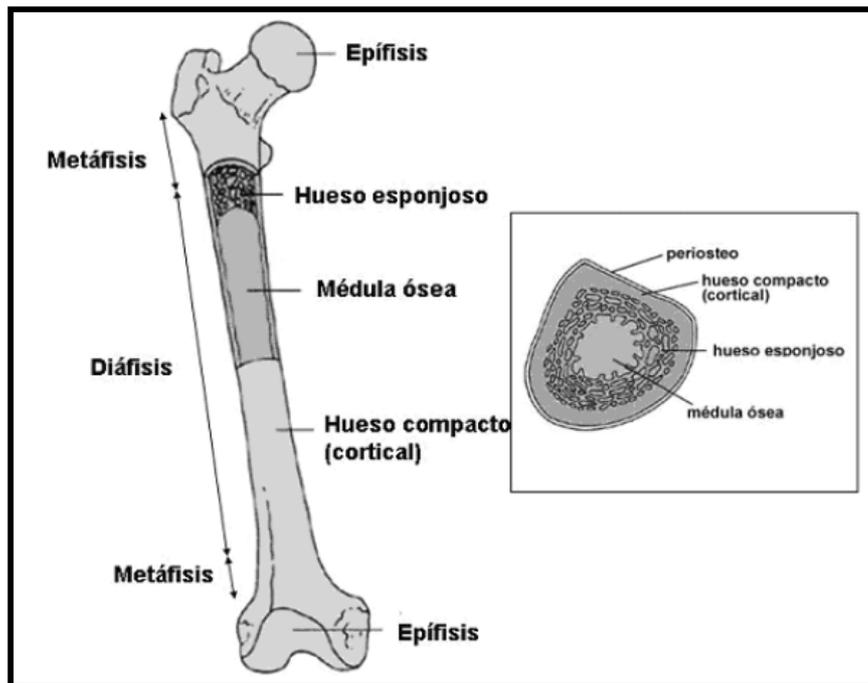
**Figura 21:** Huesos largos del brazo y antebrazo<sup>55</sup>.



**Figura 22:** Huesos largos de la pierna<sup>56</sup>.

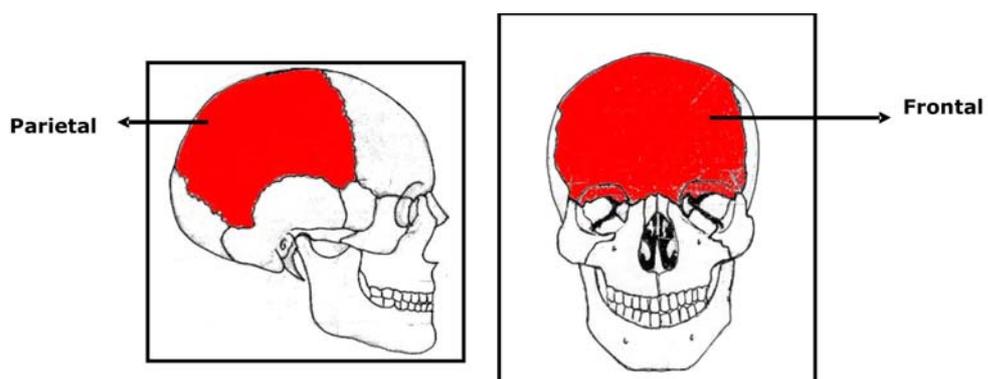
Las diferentes zonas de los huesos largos pueden ser observadas en la figura 23.

- **EPÍFISIS:** son los extremos de los huesos largos
- **DIÁFISIS:** es la unión de ambas epífisis.
- **METÁFISIS:** esta entre la epífisis y la diáfisis, en ésta zona los niños tienen la "placa epifisaria o lo que es llamado también como cartílago de crecimiento o fisis" encargada del crecimiento longitudinal del hueso.



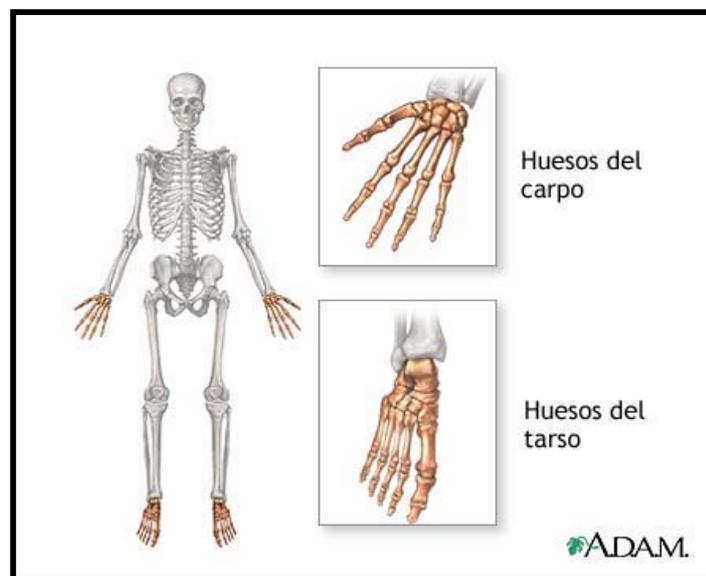
**Figura 23:** Morfología del hueso con un corte transversal en la diáfisis<sup>57</sup>.

**Huesos planos o anchos:** Los huesos planos limitan cavidades para dar protección a órganos delicados como los alojados en las cavidades craneal y torácica. Ejemplos de los huesos anchos se muestran en la figura 24.



**Figura 24:** Huesos planos o anchos<sup>58</sup>.

**Huesos cortos:** Los huesos cortos tienen la forma similar de un cubo, sus dimensiones son aproximadamente iguales, contienen en su mayoría hueso esponjoso y están localizados en las manos y en los pies. La superficie exterior de estos huesos está conformada por una capa delgada de hueso compacto. Ejemplos de huesos cortos: los huesos carpianos (manos, muñecas) y los huesos tarsianos (pies, tobillos). Los ejemplos gráficos se muestran a continuación en la figura 25.



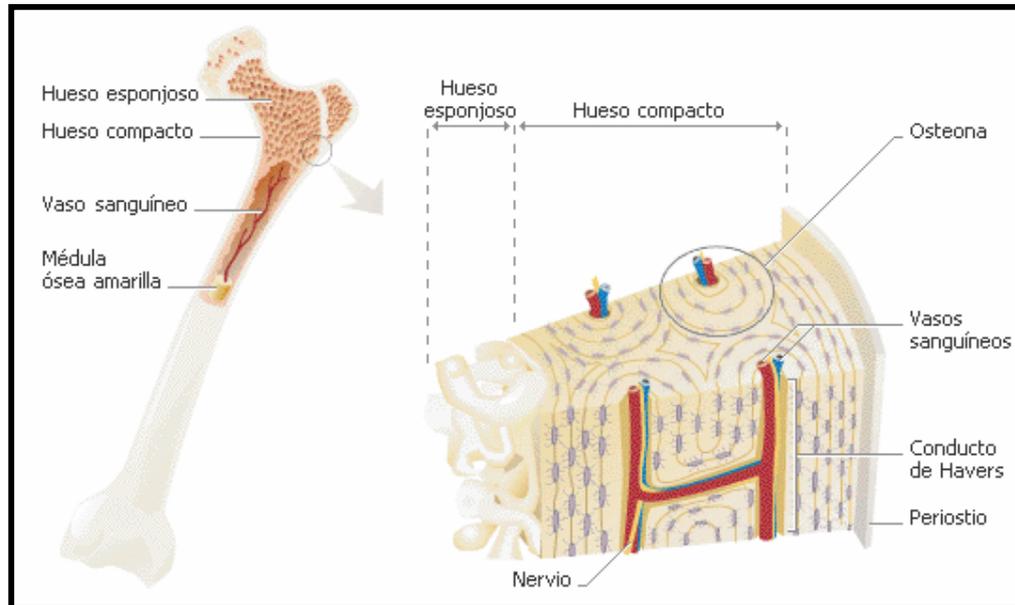
**Figura 25:** Huesos cortos<sup>59</sup>.

### 2.5.3 MORFOLOGÍA DEL HUESO<sup>60</sup>

**Hueso compacto o cortical:** Constituye la mayor parte de la diáfisis de los huesos largos así como de la parte externa de todos los huesos del cuerpo. El hueso compacto da protección y soporte. Tiene una estructura de láminas o anillos concéntricos alrededor de canales centrales llamados **canales de Havers** que se extienden

longitudinalmente. Los canales de Havers están conectados con otros canales llamados **canales de Volkmann** que perforan el periostio. Ambos canales son utilizados por los vasos sanguíneos, sistema linfático y nervios para extenderse por el hueso. Entre las láminas concéntricas de matriz mineralizada hay pequeños orificios o **lacunas** donde se encuentran los osteocitos. Para que estas células puedan intercambiar nutrientes con el líquido intersticial, cada lacuna dispone de una serie de **canalículos** por donde se extienden prolongaciones de los osteocitos. Los canalículos están conectados entre sí y, eventualmente a los canales de Havers.

El conjunto de un canal central, las láminas concéntricas que lo rodean, las lacunas, canalículos y osteocitos en ellas incluidos, recibe el nombre de **osteón o sistema de Havers**. Las restantes láminas entre osteones se llaman láminas intersticiales. Esta estructura se muestra en la figura 26.



**Figura 26:** Morfología del hueso cortical y trabecular<sup>61</sup>.

**Hueso esponjoso o trabecular:** A diferencia del hueso compacto, el hueso esponjoso no contiene osteones, sino que las láminas intersticiales están dispuestas de forma irregular formando unos tabiques o placas llamadas trabéculas. Estos tabiques forman una estructura esponjosa dejando huecos que están llenos de la médula ósea roja que es la que tiene la función hematopoyética. Dentro de las trabéculas están los osteocitos que yacen en sus lacunas con canalículos que irradian desde las mismas. En este caso, los vasos sanguíneos penetran directamente en el hueso esponjoso y permiten el intercambio de nutrientes con los osteocitos. El hueso esponjoso es el principal constituyente de las epífisis de los huesos largos y del interior de la mayor parte de los huesos. La morfología del hueso esponjoso puede ser vista en la figura 26.

#### **2.5.4 REPARACIÓN ÓSEA DE FRACTURAS<sup>62</sup>**

El tejido óseo es el único capaz de repararse a si mismo de manera completa. Cuando un hueso es sometido a una fuerza mayor que su resistencia mecánica provoca una línea de fractura. La primera reacción ante éste suceso es un hematoma que va a ser reabsorbido por macrófagos, luego aparecen células formadoras de hueso que proviene de ambos extremos de la fractura formando puentes de tejido óseo inmaduro y sin ninguna orientación definida (callo de la fractura) que une entre si los extremos del hueso fracturado. En un proceso posterior éste hueso es reemplazado por la remodelación ósea por uno de tipo laminar orientado según las líneas de fuerza que actúan sobre la zona.

La contracción muscular tiene como función regularizar las cargas que son transmitidas por el hueso, neutralizando las fuerzas de tracción y haciendo trabajar el hueso a compresión. Los músculos tienen, por tanto, una función protectora del hueso. Cuando falla la contracción muscular, por fatiga o por parálisis, se favorecen las lesiones óseas. De ahí la mayor incidencia de fracturas, por ejemplo en los deportistas es cuando éstos alcanzan estados de fatiga importantes.

#### **2.5.4.1 Clasificación de los injertos óseos<sup>63</sup>**

Los injertos se pueden clasificar como:

**Autoinjertos o autógenos:** Son aquellos donde se utiliza hueso de otra parte de la anatomía del mismo individuo.

**Aloinjertos u homogéneos:** Cuando se usa hueso de un individuo de la misma especie. Cuenta con capacidad osteoinductiva y osteoconductora, y según *Betts* "se comporta como una estructura que permitirá la neoformación ósea a partir del reemplazo gradual que sufre el injerto por el hueso del huésped, haciendo este proceso lento y con considerable pérdida de volumen". Existen tres tipos de aloinjertos óseos: congelados, desecados (liofilizados) y desmineralizados.

**Xenoinjertos o heterólogos:** Cuando el hueso proviene de otras especies. Clínicamente no son aceptables debido a su gran antigenicidad.

**Injertos aloplásticos:** Abarca a todos los materiales sintéticos biocompatibles.

#### **2.5.5 MECANISMOS DE REGENERACIÓN ÓSEA<sup>64</sup>**

Los injertos óseos son los únicos que tienen la particularidad de inducir de manera natural el proceso de regeneración ósea que ocurre a partir de estos tres mecanismos básicos:

**Osteogénesis:** Depende exclusivamente de la supervivencia de las células trasplantadas, principalmente de los preosteoblastos ubicados cerca de la superficie ósea y de donde se derivan los osteoblastos y los osteoblastos que están en contacto directo sobre la superficie ósea y sintetizan el componente orgánico de la matriz ósea (colágeno tipo I, proteoglicanos, proteínas implicadas en la adhesión celular, osteocalcina y factores de crecimiento) y controlan el depósito de las sales minerales. La osteogénesis se da especialmente en el hueso esponjoso, debido a su rápida revascularización, que puede ser completa a las dos semanas de implantación, mientras que en el cortical puede llevar varios meses.

**Osteoinducción:** Induce el crecimiento tisular y vascular.

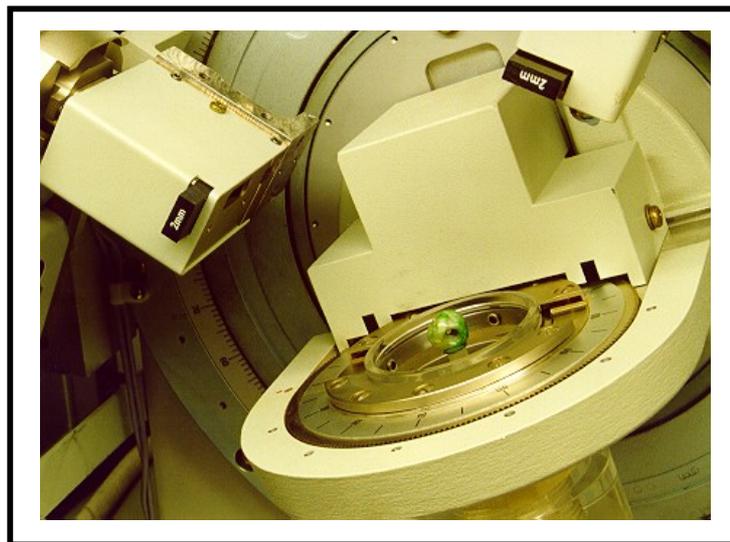
**Osteoconducción:** Es un proceso lento y prolongado, donde el injerto tiene la función de esqueleto. Este tipo de curación predomina sobre todo en los injertos corticales, donde el injerto es progresivamente colonizado por vasos sanguíneos y células osteoprogenitoras de la zona receptora, que van lentamente reabsorbiéndolo y depositando nuevo hueso.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

##### 3.1.1 CARACTERIZACIÓN POR MEDIO DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)

**Equipo:** Un equipo típico utilizado para realizar difracción de rayos X es mostrado en la figura 27.



**Figura 27:** Equipo difractor de rayos X<sup>65</sup>.

#### **Técnica**

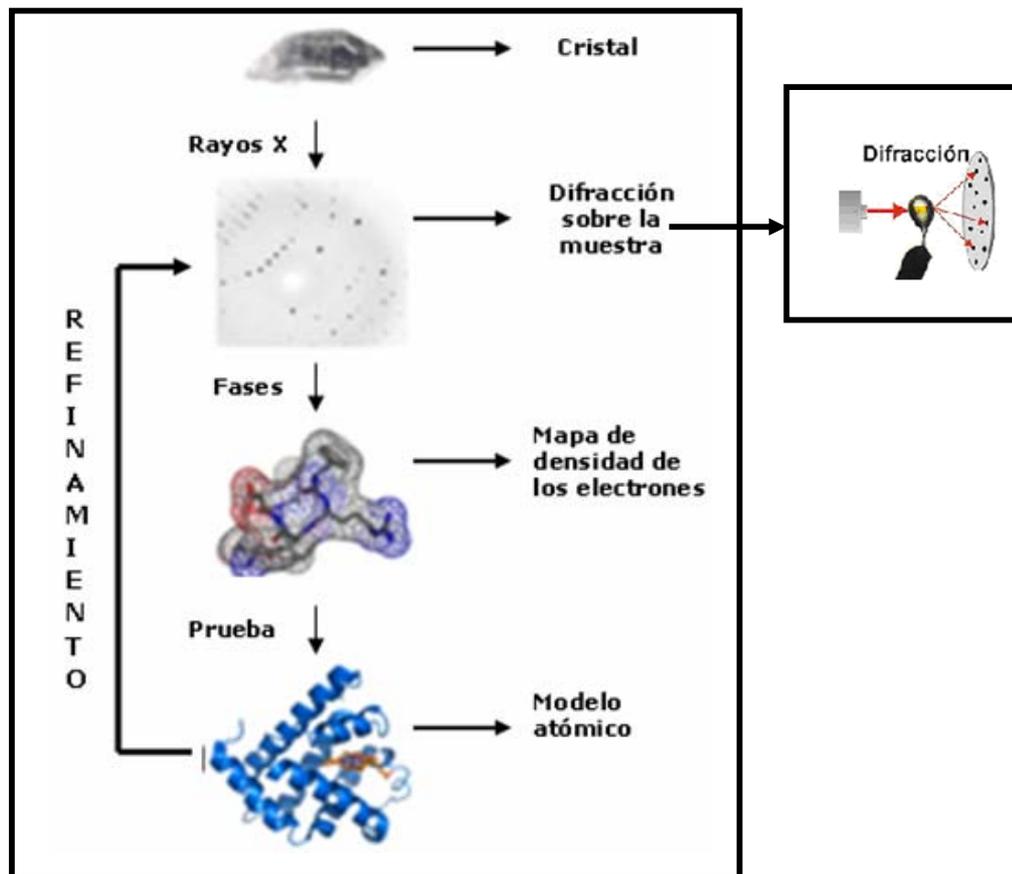
La difracción de rayos X o cristalografía de rayos X es una técnica que consiste en hacer pasar un haz de rayos X, a través de un cristal de la sustancia sujeta a estudio. El haz se separa en varias direcciones debido

a la simetría de la agrupación de átomos y por difracción da lugar a un patrón de intensidades que puede interpretarse según la ubicación de los átomos en el cristal, aplicando la ley de Bragg (Ver ecuación 1).

Es una de las técnicas que goza de mayor prestigio entre la comunidad científica para analizar estructuras cristalinas debido a su precisión y a que es una técnica con bastantes años de uso; elementos que la hacen muy confiable. Sus mayores limitaciones se deben a la necesidad de trabajar con sistemas cristalinos, por lo que no es aplicable a disoluciones, a sistemas biológicos *in vivo*, a sistemas amorfos o a gases.

Es posible trabajar con monocristales o con polvo microcristalino, consiguiéndose diferentes datos en ambos casos. Para la resolución de los parámetros de la celda unidad puede ser suficiente la difracción de rayos X en polvo, mientras que para una determinación precisa de las posiciones atómicas es conveniente la difracción de rayos X en monocristal.<sup>66</sup>

En la figura 28 se puede ver el proceso simplificado de la difracción de rayos X.



**Figura 28:** Determinación de una estructura por cristalografía de rayos X<sup>67</sup>.

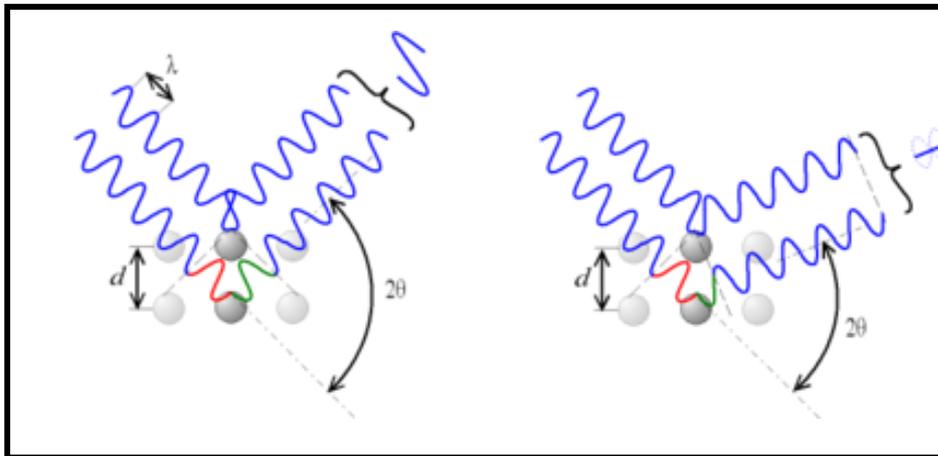
El resultado es una gráfica de Intensidad Vs Angulo de difracción ( $2\theta$ ). Un material no cristalino solo exhibirá una onda con picos no definidos. Existen dos haces: el haz que se refleja en la difracción por la superficie inferior y recorre una distancia mayor que el haz reflejado por la superficie superior. La difracción efectiva de la trayectoria entre los dos haces es de  $2d\sin\theta$ . Los dos haces se reforzaran uno al otro cuando la trayectoria sea igual a un múltiplo entero de longitud de onda  $\lambda$ . El máximo de onda refractada se obtiene si se cumple la Ley de Bragg, (ver figura 29).

$$2d\sin\theta = m\lambda$$

**Ecuación 1:** Ley de Bragg

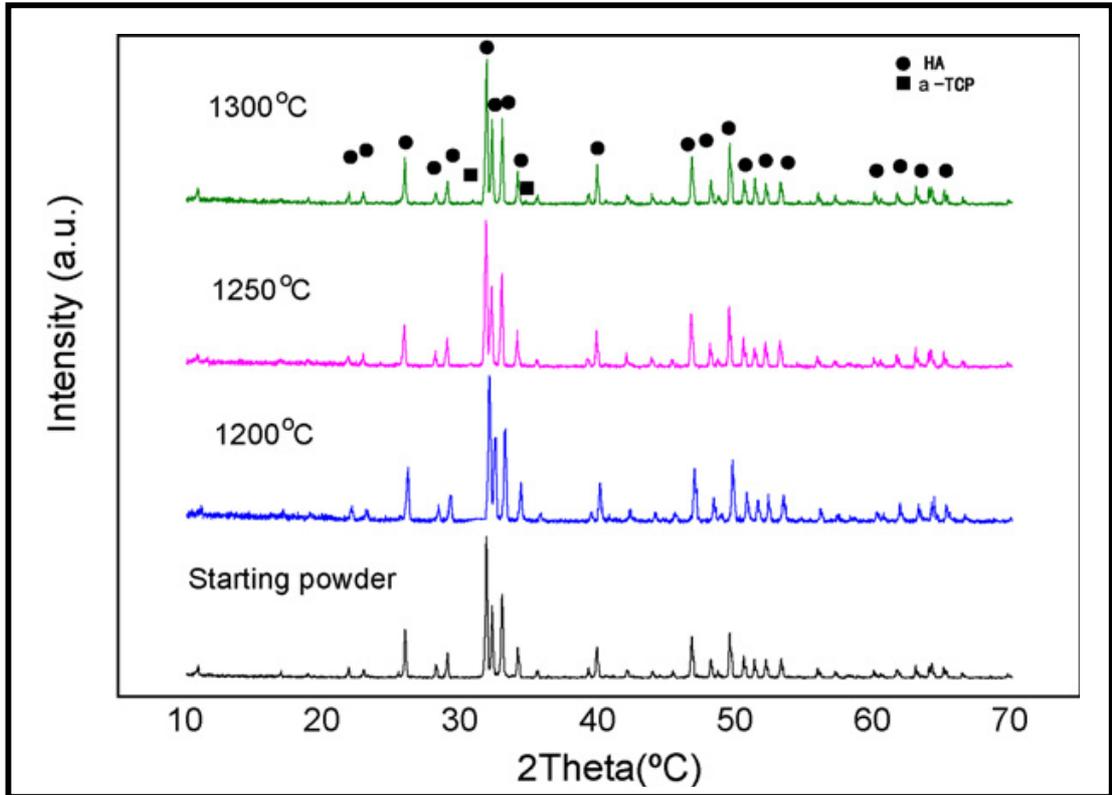
Donde:

- $m$  es un número entero
- $\lambda$  es la longitud de onda de los rayos X
- $d$  es la distancia entre los planos de la red cristalina
- $\theta$  es el ángulo entre los rayos incidentes y los planos de dispersión



**Figura 29:** Cuando el ángulo de desviación es  $2\theta$ , el cambio de fase de las ondas produce interferencia constructiva (figura izquierda) o destructiva (figura derecha)<sup>68</sup>.

En la figura 30 se muestra un DRX realizado a una muestra de hidroxiapatita.



**Figura 30:** Difractograma de una hidroxiapatita a diferentes temperaturas de calcinación<sup>69</sup>.

### 3.1.2 CARACTERIZACIÓN POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

**Equipo:** Un equipo típico utilizado para realizar microscopía electrónica de barrido puede observarse en la figura 31.



**Figura 31:** Equipo de microscopía electrónica de barrido<sup>70</sup>.

#### **Técnica**

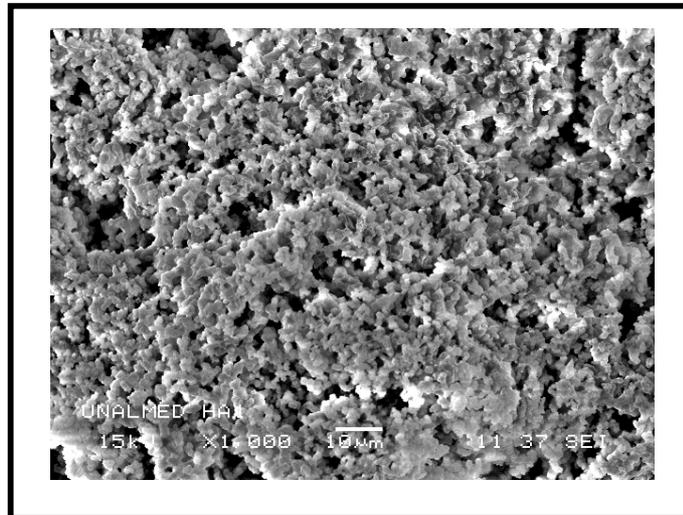
El microscopio electrónico de barrido, también conocido como Scanning o SEM (*Scanning Electron Microscopy*), es un microscopio que usa electrones y no luz para formar una imagen. Tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra. También produce imágenes de alta resolución, que significa que características espacialmente cercanas en la muestra pueden ser examinadas a grandes aumentos. La preparación de las muestras es

relativamente fácil pues la mayoría de microscopios electrónicos sólo requieren que estas sean conductoras.

En el microscopio electrónico de barrido la muestra es recubierta con una capa de metal delgado, y es barrida con electrones enviados desde un cañón. Un detector mide la cantidad de electrones enviados que arroja la intensidad de la zona de muestra, siendo capaz de mostrar figuras en tres dimensiones, proyectadas en una imagen de TV.

Los microscopios electrónicos sólo pueden ofrecer imágenes en blanco y negro puesto que no utilizan la luz. Este instrumento permite la observación y caracterización superficial de materiales inorgánicos y orgánicos, entregando información morfológica del material analizado. A partir de él se producen distintos tipos de señal que se generan desde la muestra y se utilizan para examinar muchas de sus características. Con él se pueden realizar estudios de los aspectos morfológicos de zonas microscópicas de diversos materiales, además del procesamiento y análisis de las imágenes obtenidas<sup>71</sup>.

Para ver una imagen por SEM observar la figura 32.



**Figura 32:** Microfotografía SEM de una capa fina de hidroxiapatita.

### 3.1.3 MEDICIÓN DE POROSIDAD

La medición de porosidad se refiere a la medida del espacio intersticial entre grano y grano, la cual representa la relación entre el volumen poroso y el volumen total de la pieza<sup>72</sup>.

La osteoconductividad es un requisito imprescindible para que el proceso de remodelado tenga lugar. Depende fundamentalmente de tres factores: la porosidad global, los macroporos interconectados y los microporos<sup>73</sup>.

Para hallar la porosidad de la hidroxiapatita se calcula por medio de la densidad de su estructura. La fórmula para hallar la porosidad total (%) es la siguiente:

$$1 - \left( \frac{\text{Densidad (w/v)}}{\text{Peso específico}} \right) \times 100$$

**Ecuación 2:** Medición de porosidad.

### 3.1.4 RESISTENCIA MECÁNICA

**Equipo:** Un equipo típico utilizado para realizar ensayos de resistencia mecánica es mostrado en la figura 33.



**Figura 33:** Máquina universal de ensayos mecánicos<sup>74</sup>.

#### **Técnica**

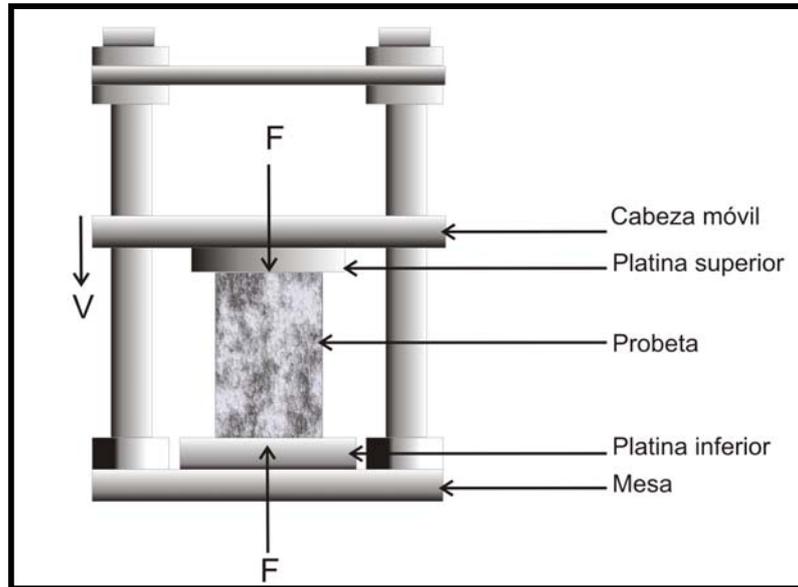
En ingeniería se denomina máquina universal a una máquina semejante a una prensa con la que es posible someter materiales a ensayos de tracción y compresión para medir sus propiedades. La presión se logra mediante placas o mandíbulas accionadas por tornillos o un sistema hidráulico.

Esta máquina es ampliamente utilizada en la caracterización de nuevos materiales. Así por ejemplo, se ha utilizado en la medición de las propiedades de tensión de los polímeros.

En ingeniería, las propiedades mecánicas de los materiales permiten diferenciar un material de otros y determinar muchas de sus aplicaciones. Entre las propiedades mecánicas más comunes que se mide en los materiales están la resistencia a la tracción, a la compresión, flexión y torsión, así como desgaste y fatiga, dureza, resiliencia, elasticidad, tenacidad, fragilidad, plasticidad, ductilidad, maleabilidad.

Debido a que cada material se comporta diferente, es necesario analizar su comportamiento mediante pruebas experimentales. Entre las propiedades mecánicas más comunes que se mide en los materiales están la resistencia a tracción, a compresión, la deformación, el coeficiente de Poisson y el módulo de elasticidad o módulo de Young<sup>75</sup>.

Debido a que las espumas de hidroxiapatita tienen un carácter cerámico, la prueba mas adecuada para determinar las propiedades mecánicas es el ensayo de compresión, debido a que los cerámicos son más resistentes a compresión que a tracción. Para las pruebas mecánicas se utiliza la norma ASTM C 1424-04 Standard Test Method for: Monotonic Compressive Strength of Advanced Ceramics at Ambient Temperature. El montaje utilizado se esquematiza en la figura 34.



**Figura 34:** Ensayo de compresión<sup>76</sup>.

El esfuerzo de compresión<sup>77</sup> (ver ecuación 3) es una presión que tiende a causar en algunos casos una reducción de volumen, siempre manteniendo una masa constante. Cuando se somete un material a una fuerza de flexión, cizalladura o torsión actúan simultáneamente tensiones de tracción y compresión.

$$\text{ESFUERZO} = \text{FUERZA} / \text{AREA}$$

**Ecuación 3:** Calculo de esfuerzo.

Los ensayos practicados para medir el esfuerzo de compresión son contrarios a los aplicados al de tensión, con respecto a la dirección y sentido de la fuerza aplicada. En este ensayo se presenta dificultad de aplicar una carga concéntrica o axial, sin que aparezca pandeo. Es recomendable usar una probeta de sección circular.

### 3.2 SÍNTESIS DE HIDROXIAPATITA

La producción de HA será realizada usando el método de precipitación implementado en el Laboratorio de Biomateriales de la Universidad de Antioquia, en el cual se obtiene HA a partir de la mezcla de soluciones de nitrato de calcio ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) y el fosfato de amonio ( $\text{H}_2(\text{PO}_4)\text{NH}_4$ ) teniendo bajo control parámetros tales como: el PH, orden de adición de los reactivos, el tiempo de reposo y el tratamiento térmico.

La reacción química para obtener HA (hidroxiapatita) es:



Después de la mezcla de compuestos químicos como lo son el nitrato de calcio (NC) y el fosfato de amonio (FA) se obtiene la HA acuosa, luego esto nos lleva al secado, la sinterización y posteriormente la caracterización de las muestras.

Para la síntesis de HA se utilizaron los equipos de laboratorio mostrados en la figura 35.



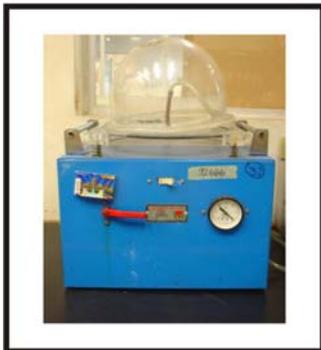
**Horno de Secado: Marca  
W.C HERAEUS HENAU  
Temperatura: 120°C**



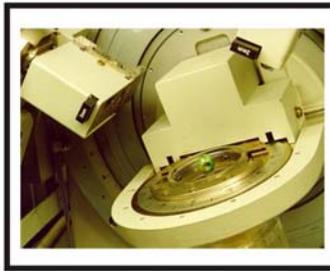
**Horno de Sinterización:  
Marca THERMOLYNE  
Temperatura: 1.050°C**



**Máquina centrífuga  
Marca T23MLW –  
Tiempos máximo  
centrifugación 120 min  
Velocidad máxima 3500  
RPM**



**Cámara de vacío:  
Marca Emplejoy Presión  
máxima 30 kPa**



**Determinación de fases  
en difractómetro de  
Rayos X RIGAKU miniflex**



**Morfología en  
Microscopio electrónico  
de barrido marca JEOL  
JSM-590LV**



**Resistencia mecánica en  
Maquina Universal de  
Ensayos INSTRON**

**Figura 35:** Implementos del laboratorio de Biomateriales de la Universidad de Antioquia.

Para un mejor alcance, el procedimiento fue realizado por etapas. A continuación se especificarán los pasos realizados por día:

## **DIA 1**

### **3.2.1 DETERMINACIÓN DE LA PUREZA**

La pureza se halla con el fin de determinar las cantidades precisas que generen como única fase la HA, evitando la participación de otras fases de los fosfatos de calcio. La principal impureza de la HA es el fosfato tricálcico (TCP), en una proporción que varía de un 1,0 a un 10,0 % el valor de la pureza.

Se halla la pureza del nitrato de calcio para determinar posteriormente la concentración óptima que debe ser introducida a la mezcla y saber el nivel de de hidrólisis del material.

El valor de la pureza debe estar entre el 90% y el 95%.

#### **• Determinación de la Pureza de Nitrato de calcio**

1. Calentar el crisol a 60 °C
2. Pesar el crisol con una base de Alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )
3. Verter nitrato de calcio (NC) sobre el crisol
4. Colocar el crisol en un horno a 350°C que se evapore el  $\text{H}_2\text{O}$  y quede solo en Nitrato de calcio.
5. Cuando se haya evaporado el  $\text{H}_2\text{O}$  se deja el crisol en el horno por 5 min.
6. Cálculos de pureza: (ver ecuación 4)

$$\% \text{ DE PUREZA} = \left[ \frac{\text{PM NC hidratado teórico}}{\text{PM NC} + \text{N}^{\circ} \text{ moles de H}_2\text{O calculados} * \text{PM H}_2\text{O}} \right]$$

**Ecuación 4:** Calculo de la pureza.

**PM**= peso molecular

**NC**= Nitrato de Calcio

**FA** = Fosfato de Amonio

**M** = N° de moles = **M**= peso muestra / PM

Los valores en la experimentación se pueden observar en la tabla 3.

**Tabla 3:** Valores obtenidos en la medición de la pureza.

<b>Especificaciones</b>	<b>Valores obtenidos</b>
CRISOL+BASE DE Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	25.5346g
NC+CRISOL	1.0447g
PM NC hidratado (teórico)	236.1849g
PM NC	164.08
MOLES DE H <sub>2</sub> O CALCULADOS	4.41g
PM DEL H <sub>2</sub> O	18.015

7. Reemplazar en la ecuación 4 el porcentaje de pureza:

**96.98% de pureza**

**NC**

$$\text{Ca(NO}_3)_2 = X = \left[ \frac{\%g \text{ de HA} * 10 \text{ mol HA} * \text{PM NC hidratado teórico}}{\text{PM DE HA} * \% \text{Pureza calculado del NC}} \right]$$

**Ecuación 5:** Cantidad de NC.

**FA**

$$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 = Y = \left[ \frac{\%g \text{ de HA} * 6 \text{ mol HA} * \text{PM FA}}{\text{PM DE HA} * \% \text{Pureza Teórico Del FA}} \right]$$

**Ecuación 6:** Cantidad de FA.

Los valores en la experimentación se pueden observar en la tabla 4.

**Tabla 4:** valores estándar y valores obtenidos en la medición de cada reactivo.

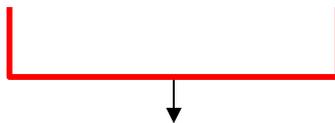
<b>Especificaciones</b>	<b>Valores obtenidos</b>
% PUREZA CALCULADO DEL NC	96.98%
% PUREZA TEÓRICO DEL FA	99.5%
X CANTIDAD DE NC	96.9514g
Y CANTIDAD DE FA	27.6168g

### **3.2.2 PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES**

Se preparan dos soluciones, en una se mezcla la cantidad estipulada de fosfato de amonio con 1800 ml de agua destilada y se ajusta el pH a 11 con amoniaco. Se prepara también una solución de nitrato de calcio con 3000 ml de agua destilada ajustándose el pH a 11 con gotas de amoniaco.

### **3.2.3 REACCIÓN**

Respuesta estequiométrica que se espera en el momento que se mezclen los reactivos para dar origen a la formación química de la HA.  
(Ver figura 36)



**MEZCLA**

**REACCIÓN QUE GENERA LA HIDROXIAPATITA (HA)**



**HA=1004.634g**

**AMONIACO**

**AGUA**

**Genera un medio básico para la mezcla**

**Figura 36:** Reacción del NC y el FA.

### **3.2.4 MEZCLA**

En la mezcla se determinan las cantidades exactas de los componentes que van a ser utilizados en la fabricación de HA (ver figura 38).

- **MEZCLA NITRATO DE CALCIO (NC)**

**2700ml H<sub>2</sub>O + valor de la ecuación 5 (g)+ medir pH + amoniaco en gotas.**

(Repetir la aplicación del amoniaco hasta que el pH=11). Contenido total con pH 11= **2700ml** y se le vierte H<sub>2</sub>O hasta completar **3000ml**.

- **MEZCLA FOSFATO DE AMONIO (FA)**

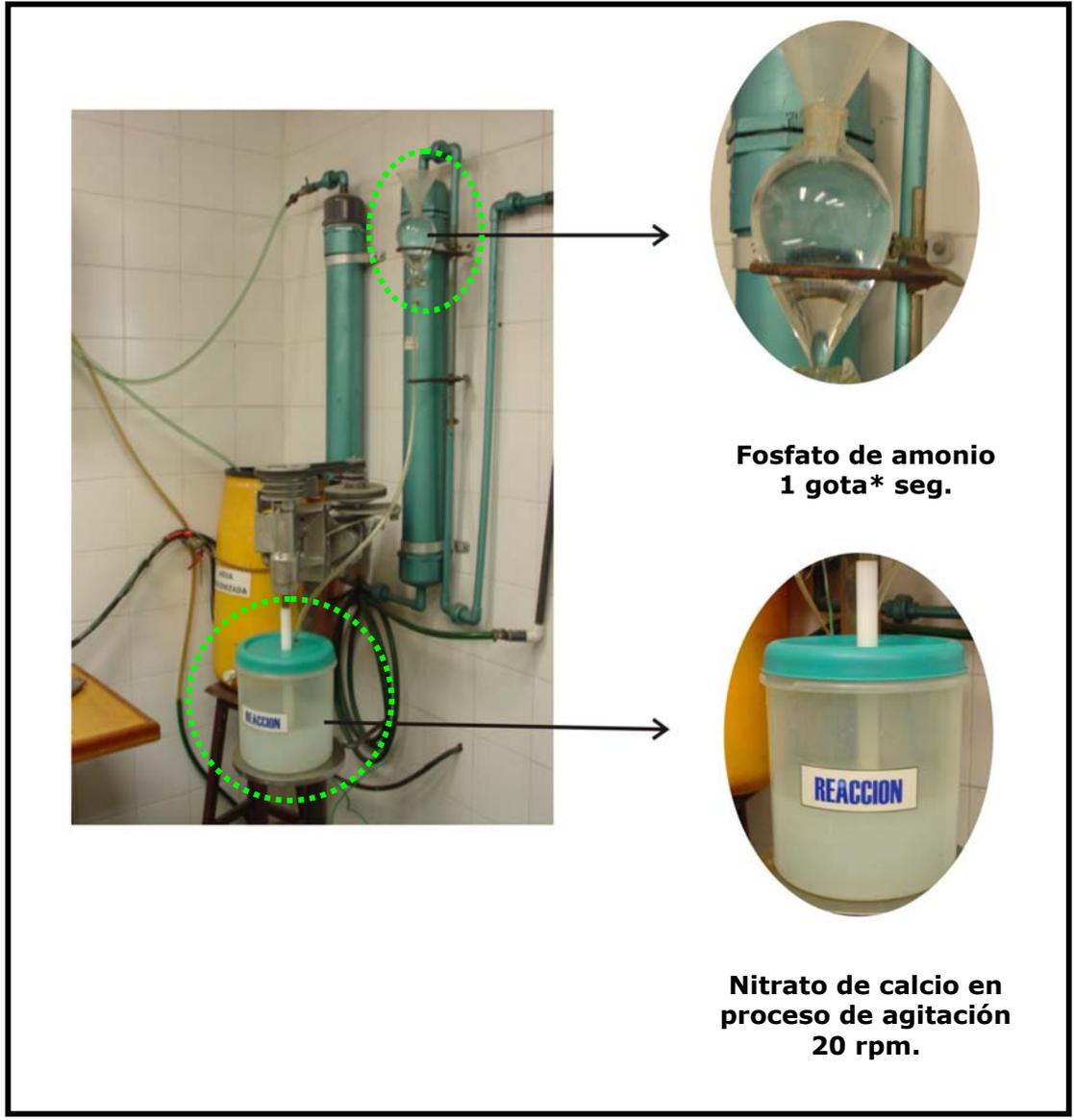
**1100ml H<sub>2</sub>O + valor de la ecuación 6 (g) + medir pH + amoniaco en gotas.**

(Repetir la aplicación del amoniaco hasta que el pH=11).

Contenido total con pH 11= **1160ml** y se le vierte H<sub>2</sub>O hasta completar **1800ml**.

- **MEZCLA PARA GENERAR LA REACCIÓN**

El NC se vierte en un recipiente donde el contenido va a ser agitado permanentemente por unas aspas a 20 rpm por 24h. El FA se vierte en un balón de vidrio que gota a gota vierte su contenido sobre el NC (una gota x segundo). En la figura 37 se puede observar éste proceso.



**Figura 37:** Proceso de mezcla del NC y el FA.

## **DIA 2**

Se apaga el agitador de la mezcla y se deja reposar el contenido otras 24hrs, esto se realiza con la intención que se precipite la HA.

## **DIA 3**

### **3.2.5 LAVADOS**

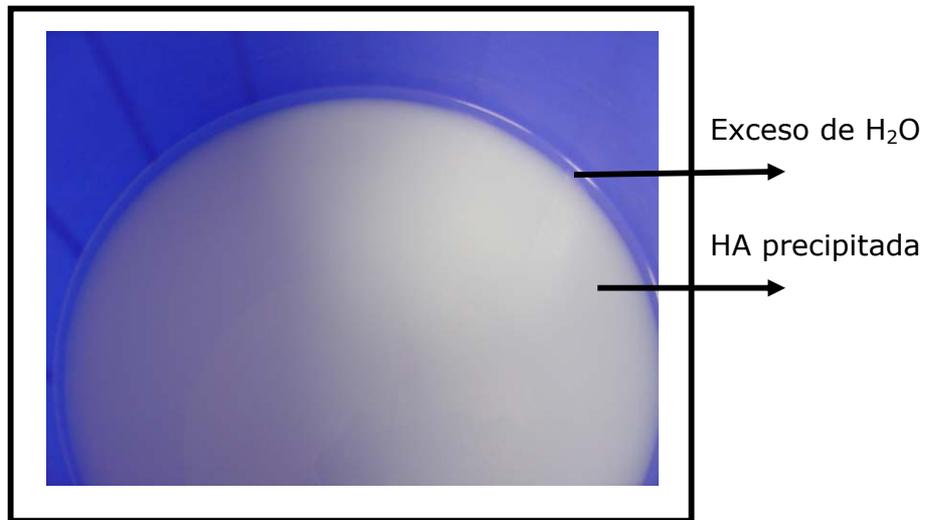
Lo que se busca principalmente en los lavados es quitar el exceso de amoníaco que queda en la mezcla precipitada.

- Se retira el H<sub>2</sub>O
- Se vierte la HA en un contenedor agregando 18 L de H<sub>2</sub>O desionizada y se agita con unas aspas durante 1h, se deja reposar 2h, se retira el exceso de H<sub>2</sub>O y se mide el pH.

Este proceso de lavado se repite hasta obtener un pH=7

**LAVADO #1** - pH=8 / **LAVADO #2** - pH=7-8 / **LAVADO #3** - pH=7

El proceso se puede observar mejor en las figuras 38 y 39.



**Figura 38:** En ésta imagen se puede ver la HA (de color blanco) precipitada y el exceso de agua.



**Figura 39:** Por medio de una manguera y presión se retira el exceso de H<sub>2</sub>O para aislar la HA.

### 3.2.6 CENTRIFUGADO

Se vierte el contenido en una máquina centrífuga (ver figura 40) con los siguientes parámetros: 3000rpm/30min, realizando dos veces el proceso de centrifugación.



**Figura 40:** Proceso de centrifugación para quitar el exceso de H<sub>2</sub>O.

## DIA 4

### 3.2.7 SECADO

La muestra se coloca sobre un papel de filtro y un crisol, luego se introduce en el horno de secado (ver figura 41) por un tiempo de 24h a una temperatura de 120°C.



**Figura 41:** Dentro del horno se ubican varios recipientes entre beakers y crisoles para secar simultáneamente toda la HA.

### **3.2.8 SINTERIZACIÓN**

Las muestras se colocan en el horno de sinterización con las temperaturas y tiempos de sostenimiento indicados en la tabla 5. En la figura 42 se puede ver el proceso de sinterización.

**Tabla 5:** Proceso de sinterización.

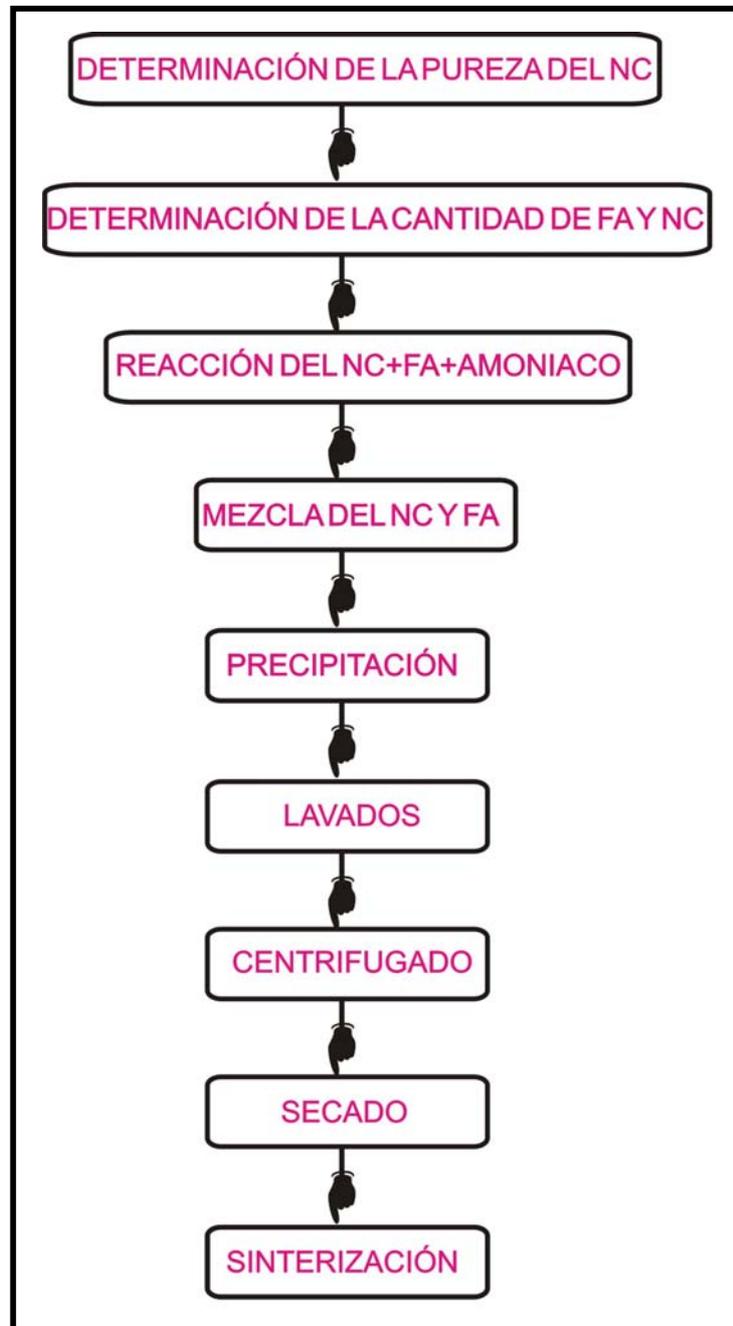
<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo (h)</b>
450	2
750	2
1050	2



**Figura 42:** Sinterización a 1050 °C.

Cuando la muestra se ha sinterizado, se realiza la caracterización y las pruebas correspondientes para determinar las características del material.

El siguiente diagrama de flujo (figura 43) muestra los pasos adecuados para la síntesis de hidroxiapatita.



**Figura 43:** Diagrama de flujo para la fabricación de HA.

### **3.3 SÍNTESIS DE ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA**

Para llegar a la síntesis de espumas de HA es necesario haber realizado la síntesis de HA ya que éste es el componente principal para la fabricación de espumas.

En el proceso de fabricación de las espumas, la HA va a ser mezclada con otros reactivos lo que le dará posteriormente unas mejores propiedades mecánicas.

La técnica utilizada para la formación de espumas de HA es el gel-casting. Este método es usado para generar cerámicas porosas, con altas propiedades mecánicas, alta permeabilidad y baja conductividad térmica. El proceso es basado en la aireación de una suspensión coloidal de polvo de hidroxiapatita en presencia de agentes espumantes y con la adición de monómeros orgánicos, los cuales son polimerizados por un iniciador químico y gelificado por un catalizador para dar como resultado la generación de cuerpos porosos resistentes mecánicamente.

#### **3.3.1 REACTIVOS UTILIZADOS PARA LA PREPARACIÓN DE LAS ESPUMAS DE HA**

Para la fabricación de espumas se utilizaron los reactivos descritos en la tabla 6, los cuales se mezclaron en diferentes proporciones con el objetivo de obtener espumas con 40 y 50% de sólidos<sup>78</sup>.

**Tabla 6:** Aditivos para la fabricación de espumas de HA.

<b>Aditivos</b>	<b>Características</b>
ACRILAMIDA	Monómero líquido
BISACRILAMIDA	Monómero en polvo (Pureza=99%PM=154.17g/mol)
ACIDO ACRÍLICO	Dispersante líquido
TERGITOL	Agente espumante líquido
PERSULFATO DE AMONIO	Iniciador de la polimerización en polvo
TEMED	Catalizador líquido (Ultrapureza / PM=116.21g/mol)

### **3.3.2 PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN**

**Xg HA + Xml H2O + Xg Acrilamida + Xg Bisacrilamida + Xg Acido acrílico.**

La hidroxiapatita en polvo fue mezclada con monómeros y agua desionizada, en las cantidades que se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7:** Cantidad específica de los componentes para los diferentes porcentajes de sólidos.

<b>Agentes para la mezcla</b>	<b>Cantidad para el 40% de sólidos</b>	<b>Cantidad para el 50% de sólidos</b>
H <sub>2</sub> O (desionizada)	50ml	50ml
HA (hidroxiapatita)	20,0001g	25,0011g
BISACRILAMIDA	0,2595g	0,2504g
ACRILAMIDA	2,0440g	2,0100g
ACIDO ACRÍLICO	0,1168g	0,1300g

### **3.3.3 AGITACIÓN**

El proceso de agitación se realiza durante 30 min. en un contenedor de plástico con esferas de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> para homogeneizar la mezcla. Este proceso se puede visualizar en la figura 44.



Contenedor con esferas de Alúmina que permiten homogeneizar la mezcla en el proceso de agitación



En el contenedor se vierten los aditivos: acrilamida, bisacrilamida, ácido acrílico + HA



Contenedor que será sometido al proceso de agitación



La agitación se realiza en una sistema de rodillos para que sea constante.

**Figura 44:** Proceso de agitación para homogenización de la mezcla.

### **3.3.4 DESAIREACIÓN**

El proceso de desaireación se realiza en el equipo TOOTH MASTER Investment Vibrator por 5s, para eliminar la presencia de burbujas en la solución (ver figura 45).



**Figura 45:** Proceso de desaireación.

### **3.3.5 PREPARACIÓN DE LA MEZCLA EN VACÍO**

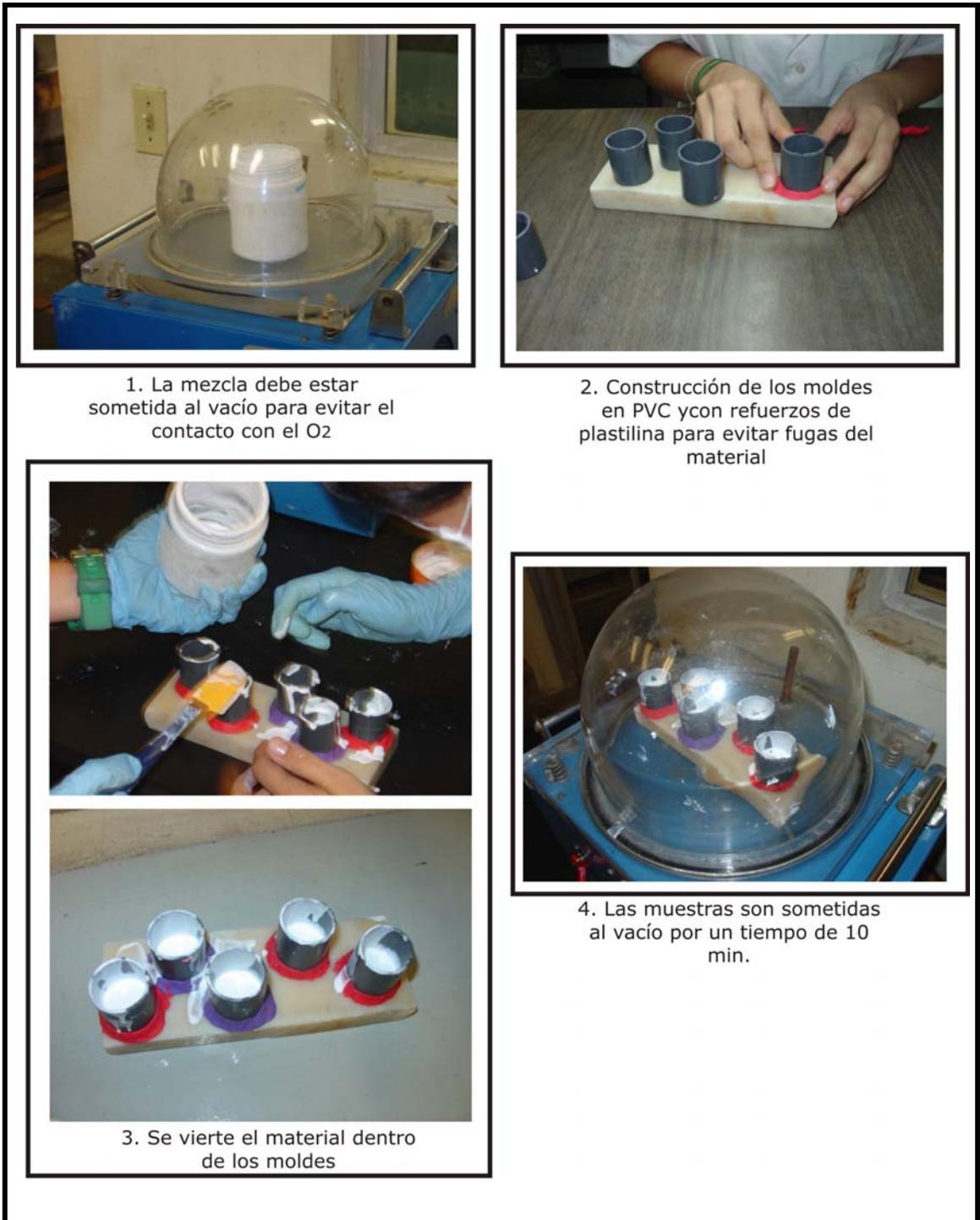
El proceso de agitación y de mezclas se realiza dentro de la cámara de vacío debido a que la reacción de polimerización ocurre solo sin la presencia de oxígeno. La presión del vacío utilizada fue de 15 pulgadas\*Hg.

Para la mezcla en vacío se vierten otros agentes que sirven como espumante, iniciador y catalizador de las espumas de HA, las cantidades mezcladas se muestran en la tabla 8.

**Tabla 8:** Cantidad específica de los componentes para los diferentes porcentajes de sólidos.

<b>Componente</b>	<b>Cantidad para el 40% de sólidos</b>	<b>Cantidad para el 50% de sólidos</b>	<b>Tiempo de agitación (s)</b>
TERGITOL	0,0518g	0,0501g	10
PERSULFATO DE AMONIO	0,0600g	0,0505g	10
TEMED	0,0506g	0,0600g	10

Después de preparar la mezcla se vierte dentro de los moldes, posteriormente se aplica vacío por un periodo de 10 min (ver figura 46)



**Figura 46:** Preparación de las espumas de HA en una cámara de vacío.

### 3.3.6 SECADO

- El primer proceso de secado se realiza a temperatura ambiente por 20h.
- El segundo proceso de secado se realiza a temperatura de 100°C por 10h.

### 3.3.7 SINTERIZACIÓN

Las muestras se colocan en el horno de sinterización con las temperaturas y tiempos indicados en la tabla 9. En la figura 47 se puede ver las espumas durante el proceso de sinterización.

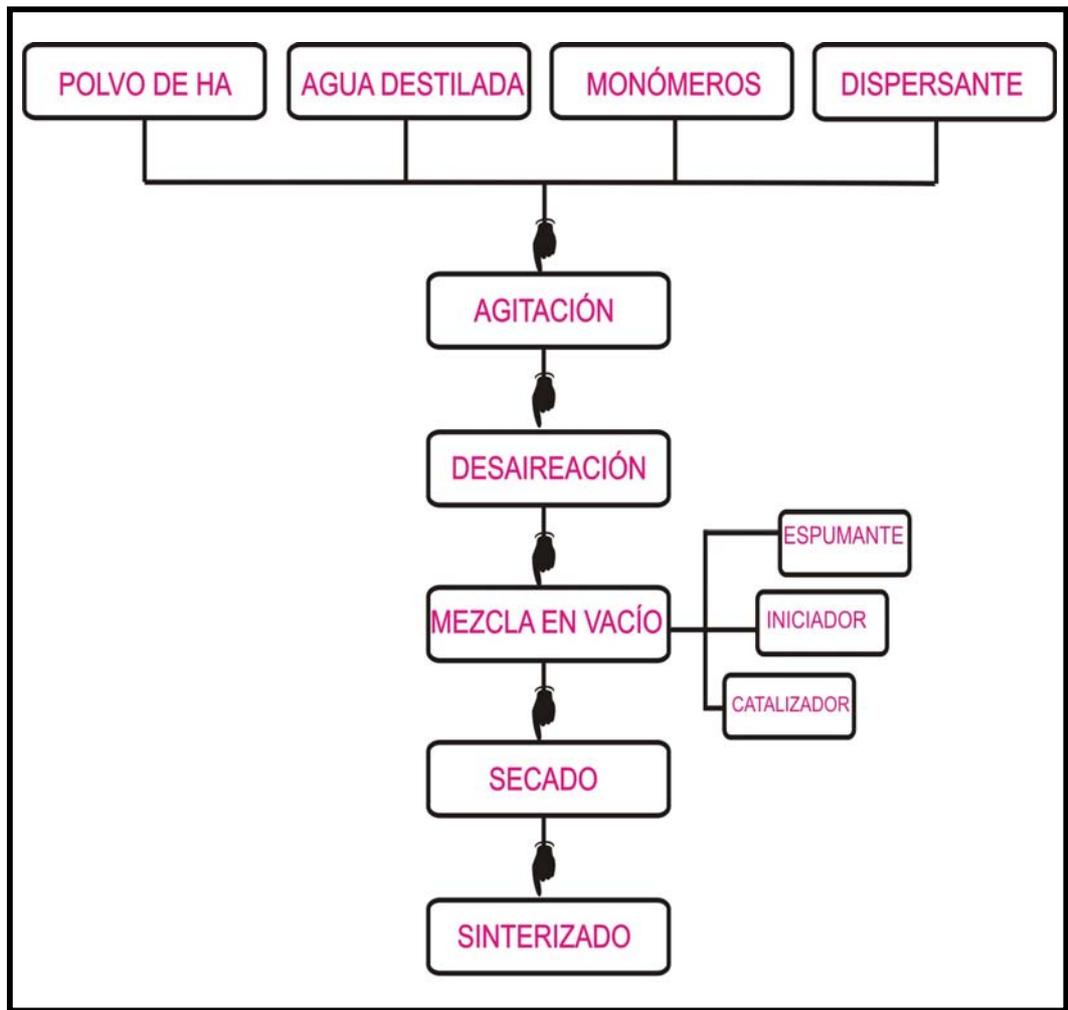
**Tabla 9:** Temperaturas y tiempos de sostenimiento en el proceso de sinterización de las espumas HA.

Temperatura (°C)	Tiempo (h)
400	1
700	1
1250	2



**Figura 47:** Espumas durante el proceso de sinterización.

En la figura 48 se observa un diagrama de flujo donde se indican los pasos para la preparación de las espumas.



**Figura 48:** Diagrama de flujo con los pasos para la fabricación de las espumas.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

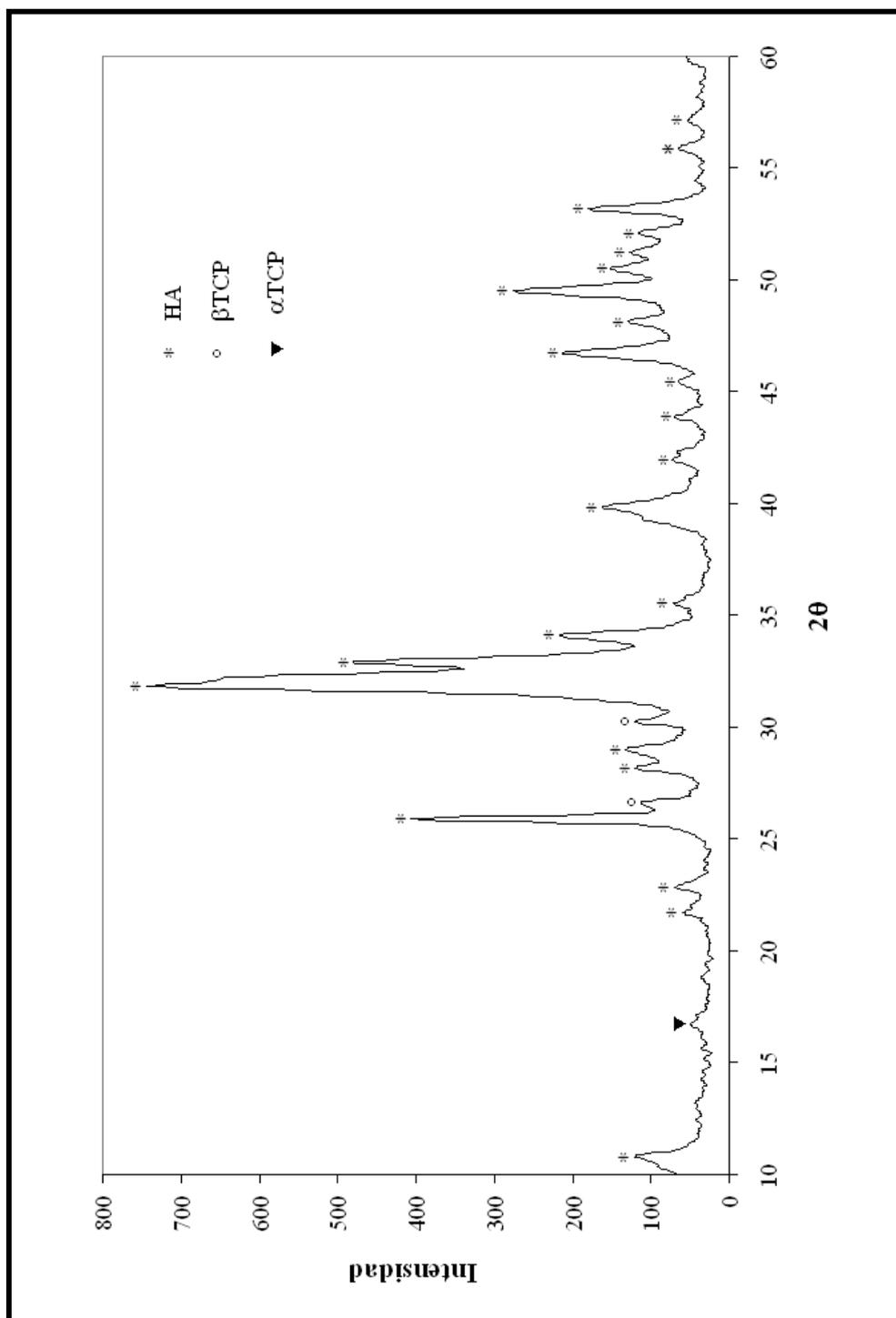
### **4.1 CARACTERIZACIÓN DEL POLVO DE HIDROXIAPATITA**

Fueron desarrolladas varias síntesis con las cuales se obtuvo hidroxiapatita en polvo; este material se utilizó para la síntesis de las espumas, pero el tamaño de grano era tal, que había sedimentación del mismo cuando estaba en la solución acuosa con los monómeros. Por esta razón se decidió usar polvo comercial Stream Chemical para la síntesis de las espumas. En la actualidad se está logrando conseguir tamaño de partícula menor para la hidroxiapatita de la Universidad de Antioquia, lo cual permitirá sinterizar espumas de HA utilizándola como materia prima.

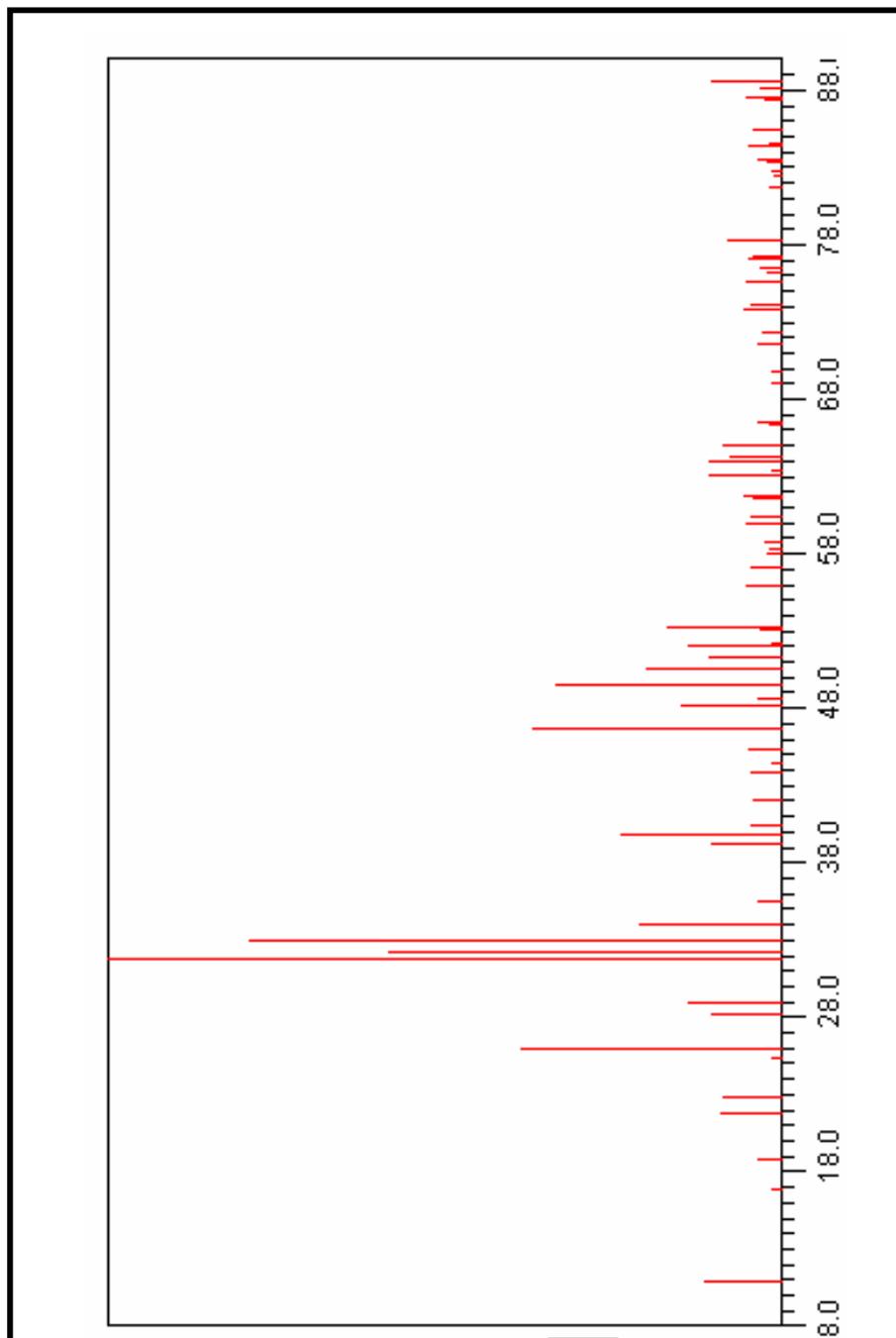
#### **4.1.1 RESULTADOS DE LA DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX) DE LA HIDROXIAPATITA SINTÉTICA COMERCIAL**

Con la técnica de rayos X se obtuvo el difractograma presentado en la Figura 49 donde se observan los picos característicos de la hidroxiapatita, evaluados según la ficha CPDS Card de la página MINCRYST<sup>79</sup> que indica los picos que se deben tener en cuenta en la evaluación de la cristalinidad de la HA (figura 50).

Algunos picos que se reconocen dentro del difractograma pertenecen al  $\beta$  TCP (fosfato tricálcico Beta  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), y  $\alpha$  TCP (fosfato tricálcico Alfa  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) los cuales aparecen en poca cantidad, no teniendo mucho efecto sobre las propiedades iniciales del material.



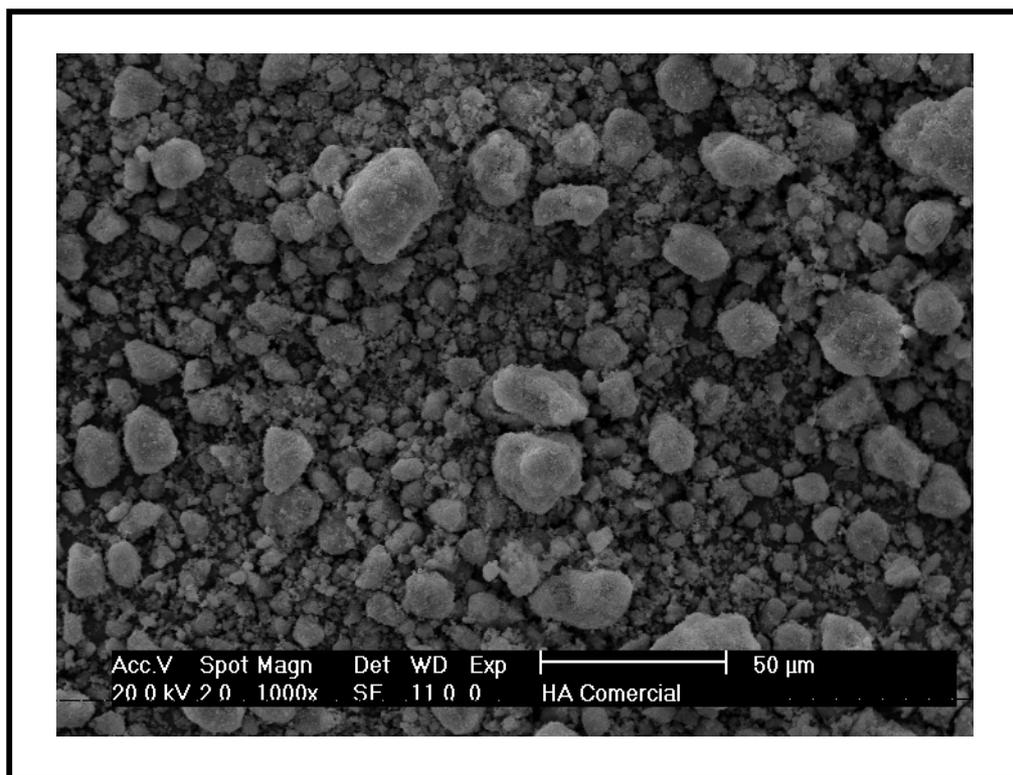
**Figura 49:** DRX de la HA sintética comercial.



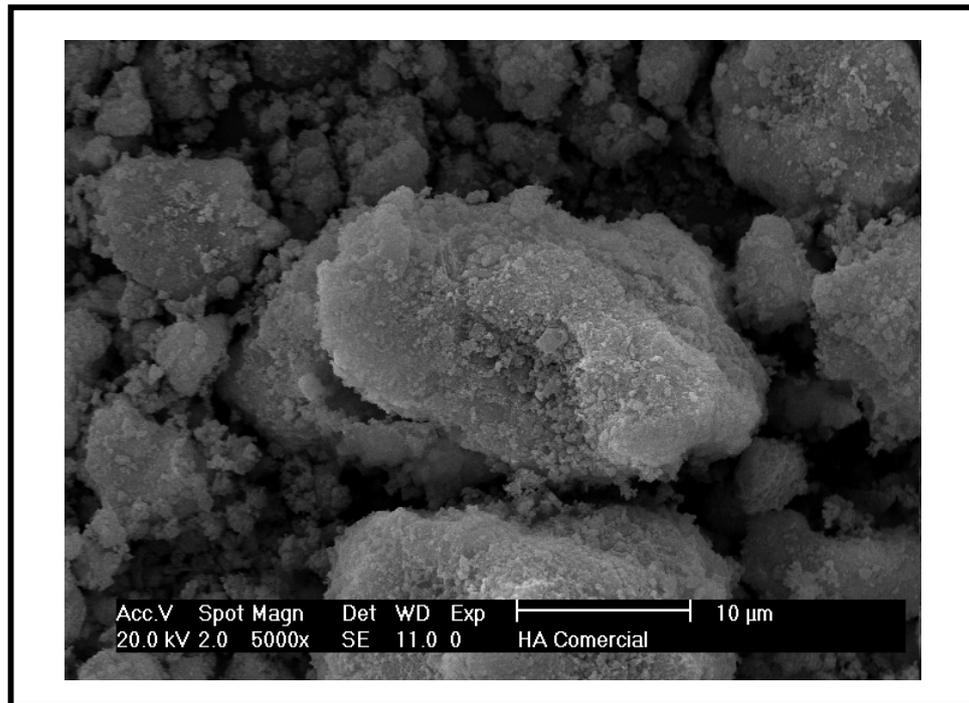
**Figura 50:** HA reportada en la CPDS Card MINCRYST.

#### 4.1.2 RESULTADOS DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) DE LA HA SINTÉTICA COMERCIAL

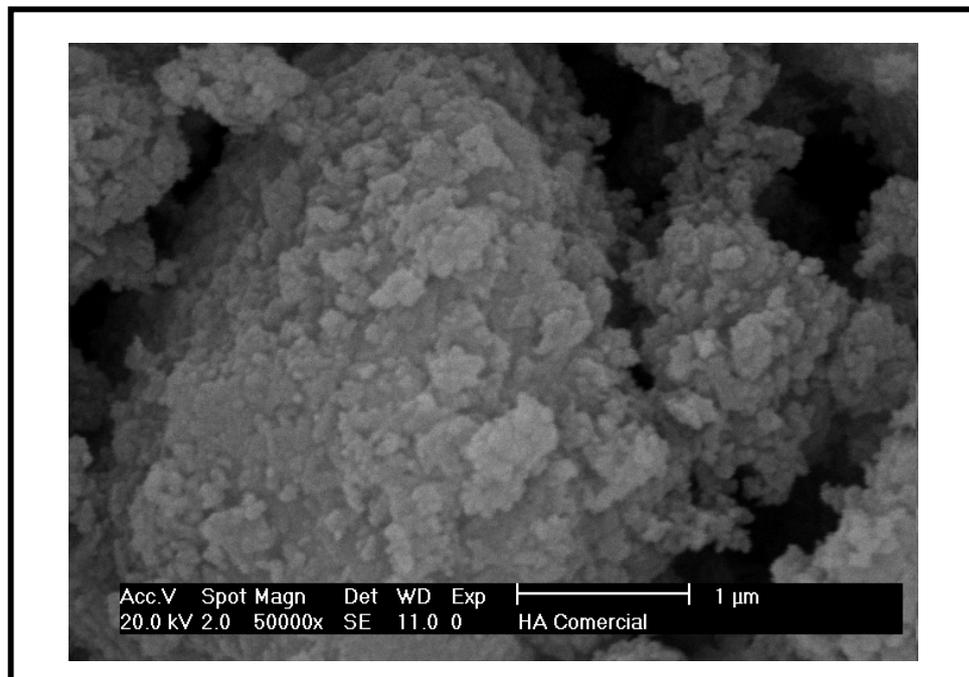
En la Figura 51, 52 y 53 se presentan las micrografías del polvo de HA comercial donde se puede hacer una mejor evaluación de la morfología del material. En éstas micrografías se puede ver que la superficie de la HA comercial es sumamente rugosa, propiedad que le confiere a la HA la capacidad de la osteointegración. También se ven algunos aglomerados formados por partículas muy pequeñas donde las Fuerzas de Van der Waals (fuerzas atractivas) aumentan la adherencia entre las partículas.



**Figura 51:** SEM de la HA sintética comercial en formato general.



**Figura 52:** Micrografía de los aglomerados de Hidroxiapatita.



**Figura 53:** Micrografía que muestra la superficie rugosa de la HA.

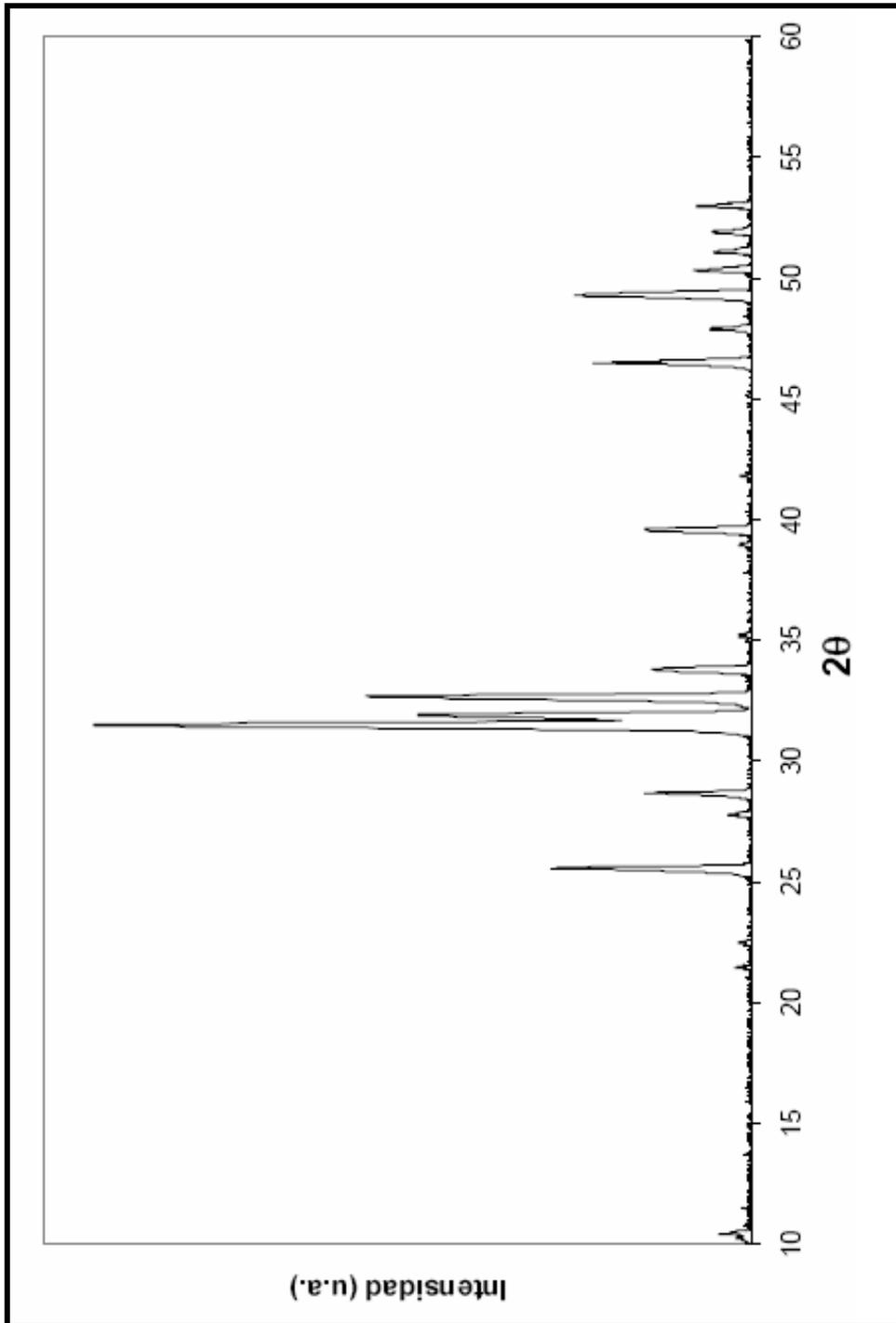
Después de haber realizado los análisis con la HA comercial se realizó la evaluación comparativa con las Espumas de HA procesadas durante el trabajo de investigación. Para la fabricación de las espumas se utilizaron dos porcentajes de sólidos, 40% y 50%, con el fin de encontrar la medida que arroje unos mejores resultados en las pruebas realizadas.

## **4.2 CARACTERIZACIÓN DE LA ESPUMA DE HIDROXIAPATITA**

### **4.2.1 RESULTADOS DE LA DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX) DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.**

El difractograma para las espumas de HA es mostrado en la figura 54 y es un difractograma típico para las espumas siendo comparado con el difractograma de la hidroxiapatita en polvo comercial (figura 49) y el difractograma reportado en la base de datos CPDS Card (figura 50). Conocer las fases presentes en la HA es básico pues este es uno de los factores de los que depende el buen desempeño de las espumas.

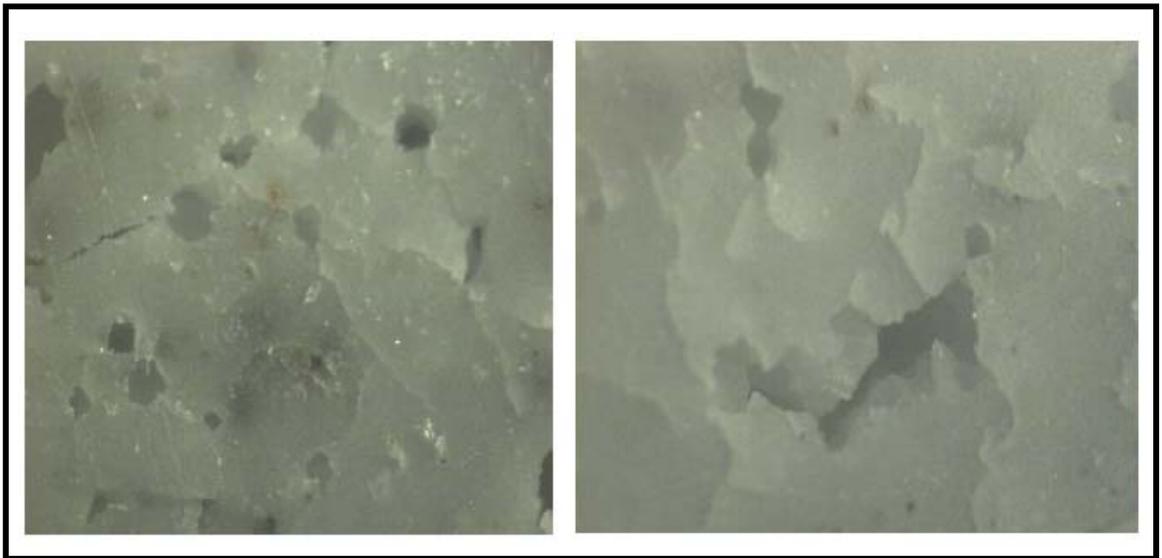
Los tres difractogramas presentan picos similares, corroborando que la estructura cristalina de las espumas corresponde a la HA. En el difractograma para las espumas de HA se observa como los picos de las fases  $\beta$  TCP y  $\alpha$  TCP desaparecieron en el momento de la calcinación a una temperatura de 1250°C, se presentó una transformación de fase que generó espumas compuestas solamente de hidroxiapatita (estructura monofásica).



**Figura 54:** DRX de las espumas de hidroxiapatita.

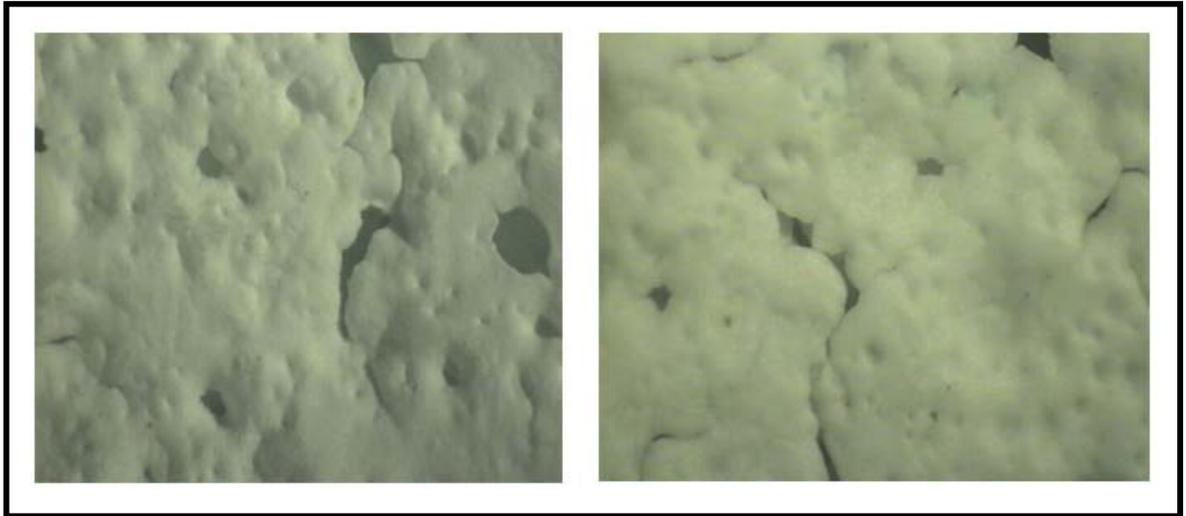
#### 4.2.2 RESULTADOS DE LA MICROSCOPIA ÓPTICA DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA (HA).

Las espumas también fueron observadas en un estereoscopio para hacer un análisis más riguroso a cerca de la morfología superficial del material.



**Figura 55:** Fotografía en estereoscopio de la superficie de las espumas de hidroxiapatita con 40% de sólidos.

En la figura 55 se observa que las espumas tienen una superficie escamosa y muy brillante como si estuviera aún en un estado viscoso, tiene muchos poros y todos son de diferentes tamaños y geometrías.



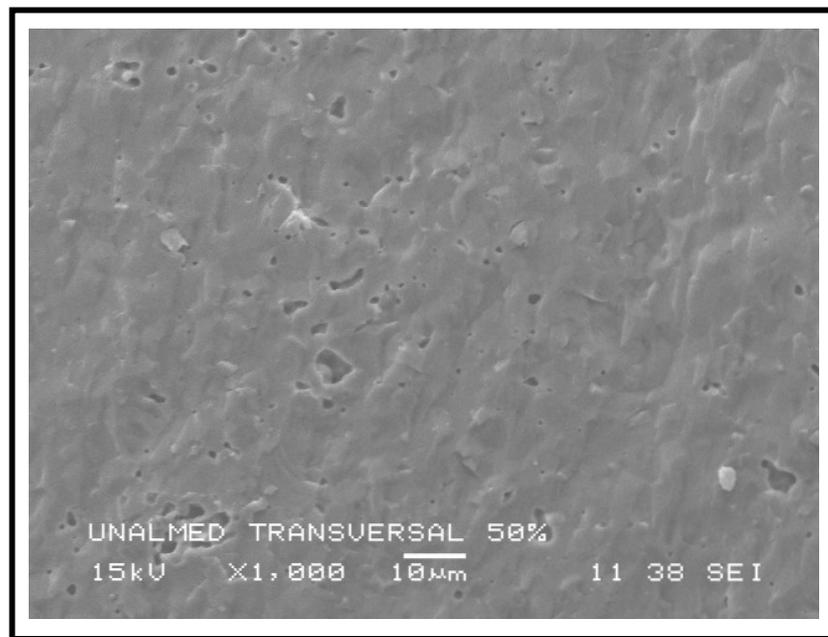
**Figura 56:** Fotografía en estereoscopio de la superficie de las espumas de hidroxiapatita con 50% de sólidos.

En la figura 56 se observa una superficie sin escamas y mucho más opaca aparentando una estructura más solidificada. Los poros se muestran un poco más cerrados que los que se encuentran en la figura 55, sin embargo, los que se encuentran abiertos tienen geometría variable desde poros esféricos de diferentes tamaños hasta poros más alargados.

#### **4.2.3 RESULTADOS DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.**

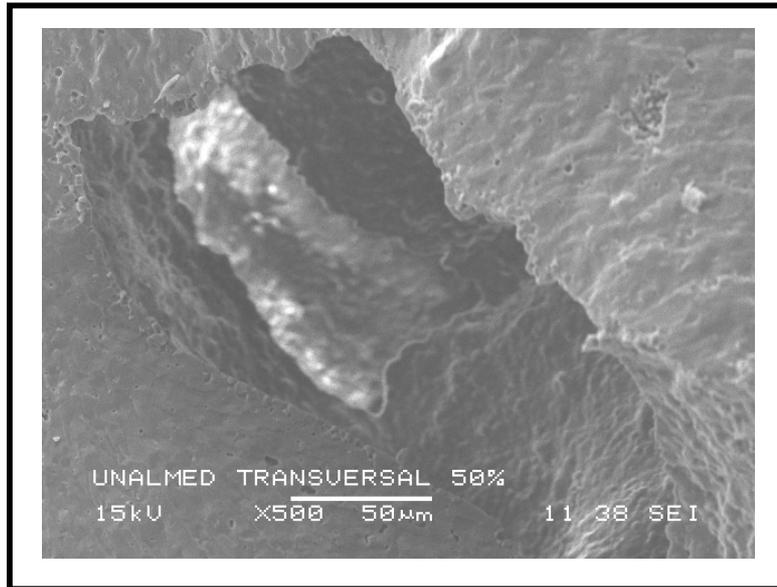
Por medio de la Microscopía Electrónica de Barrido se puede observar la morfología superficial, interior y de los bordes de los bloques obtenidos, como también se observan las diferencias más importantes exhibidas entre las espumas, según el porcentaje de sólidos presentes.

Las figuras 57 a 62 muestran las micrografías de las espumas con un 50% de sólidos, se puede observar la superficie de las espumas, la morfología de los bordes y de los poros formados en el material.

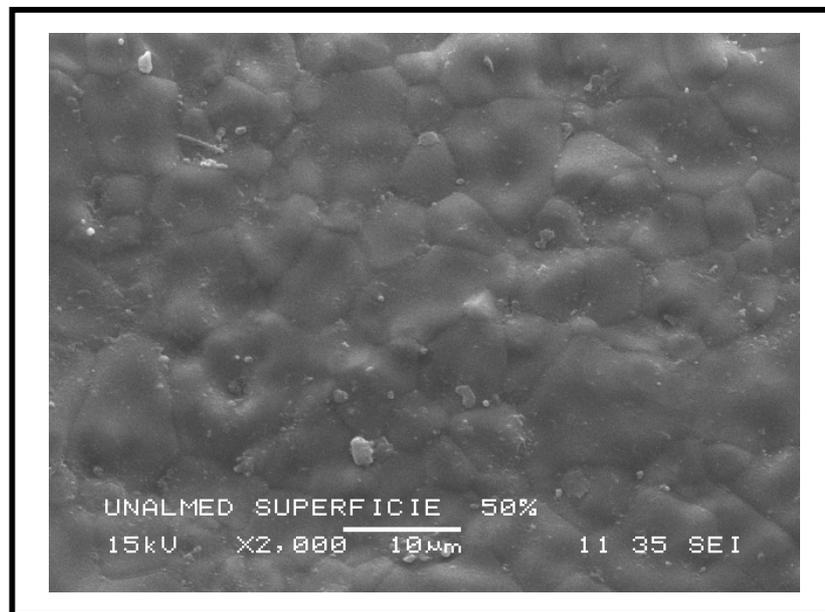


**Figura 57: MICROGRAFÍA SECCIÓN TRANSVERSAL**

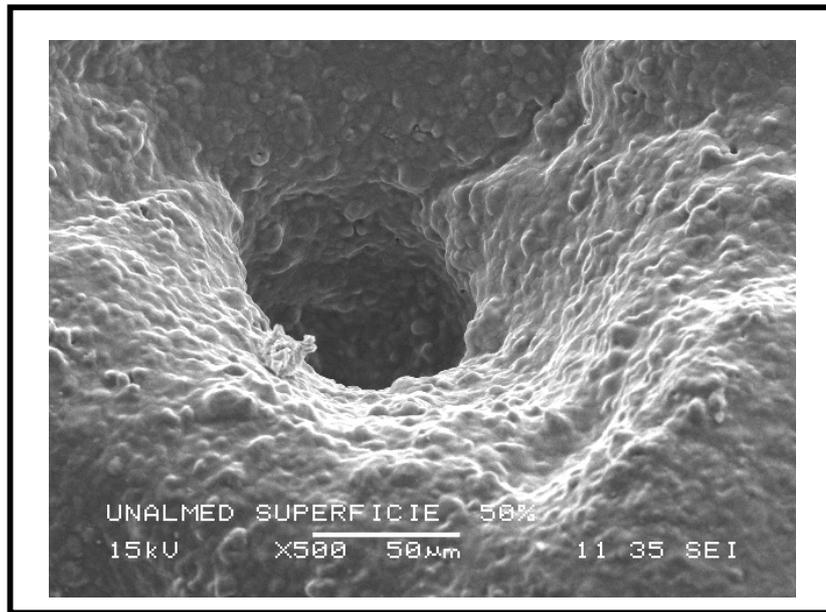
Micrografía mostrando un corte transversal de las espumas de HA, muestra poca rugosidad, con microporos de diferentes geometrías y con unas medidas entre 1 y 10  $\mu\text{m}$  (SEM).



**Figura 58: MICROGRAFÍA SECCIÓN TRANSVERSAL**  
Micrografía de un poro de 200  $\mu\text{m}$  totalmente abierto que está interconectado con otro en el interior (SEM).

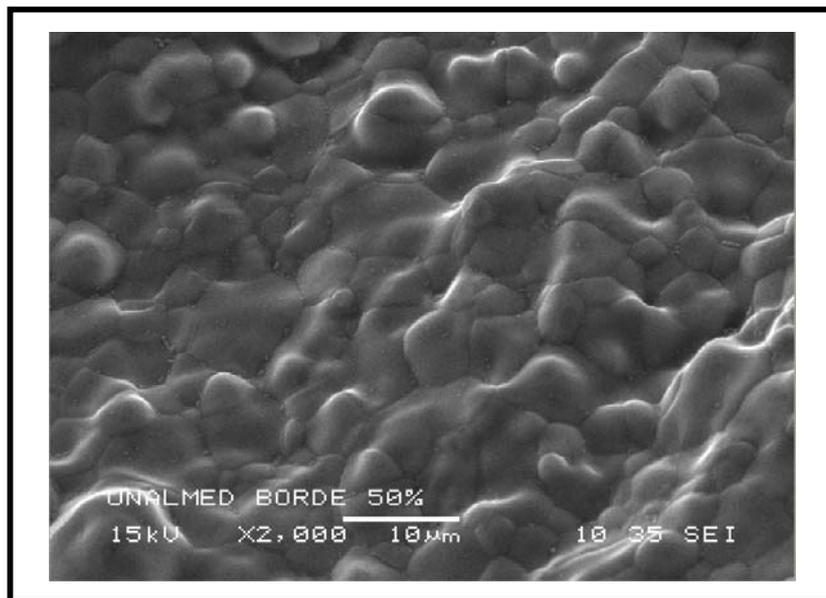


**Figura 59: MICROGRAFÍA DE LA SUPERFICIE**  
Presenta rugosidad y poca porosidad. El tamaño del grano es aproximadamente de 2-13  $\mu\text{m}$ .



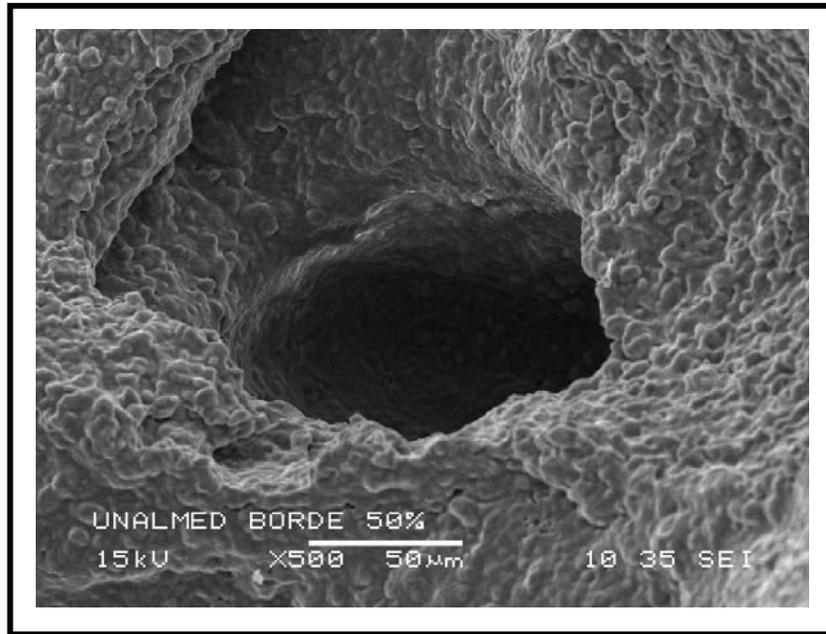
**Figura 60: MICROGRAFÍA DE LA SUPERFICIE**

Muestra poros interconectados entre ellos. El tamaño del poro es 100-150µm.



**Figura 61: MICROGRAFÍA DE LOS BORDES**

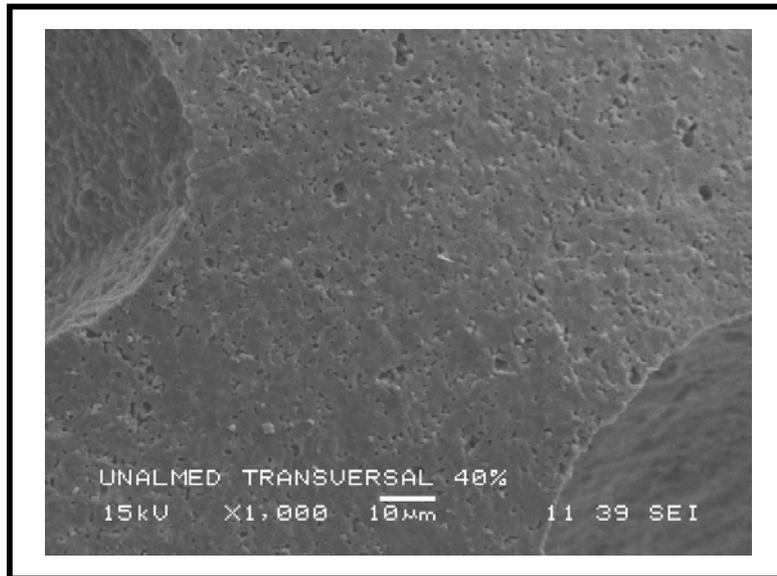
El tamaño el grano es de 2-13 µm aproximadamente. La superficie de los bordes no se ve muy porosa, pero posee gran rugosidad.



**Figura 62: MICROGRAFÍA DE LOS BORDES**

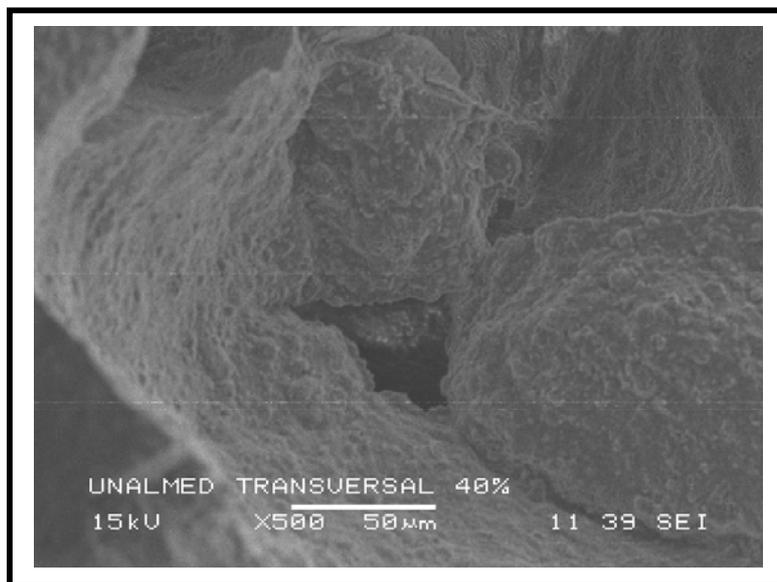
Los poros que se alcanzan a formar en los bordes de la superficie tienen un tamaño aproximado de 120-200  $\mu\text{m}$  y están interconectados con los poros interiores.

Las figuras 63 a 68 muestran las micrografías de las espumas con un 40% de sólidos, se puede observar la superficie de las espumas, la morfología de los bordes y de los poros formados en el material.



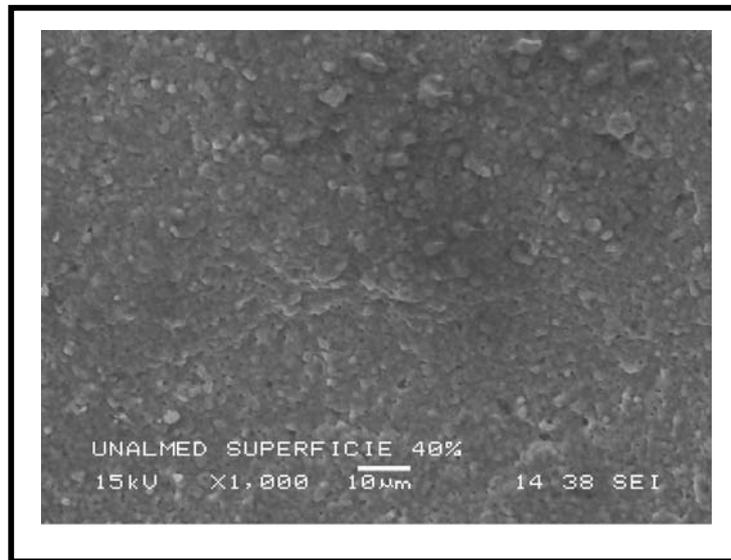
**Figura 63: MICROGRAFÍA SECCIÓN TRANSVERSAL**

El material presenta rugosidad y microporos con tamaños entre 1-10  $\mu\text{m}$ .



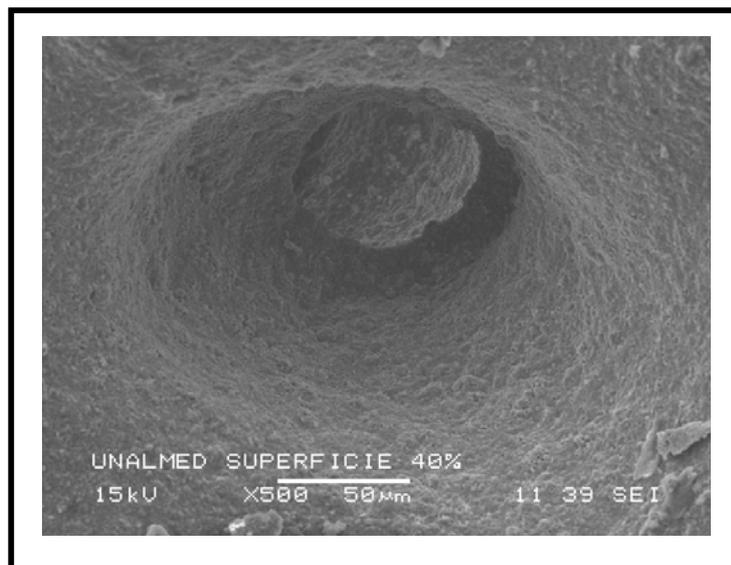
**Figura 64: MICROGRAFÍA SECCIÓN TRANSVERSAL**

Se observan poros de diferentes tamaños que no tienen forma esférica con paredes porosas y superficies rugosas.



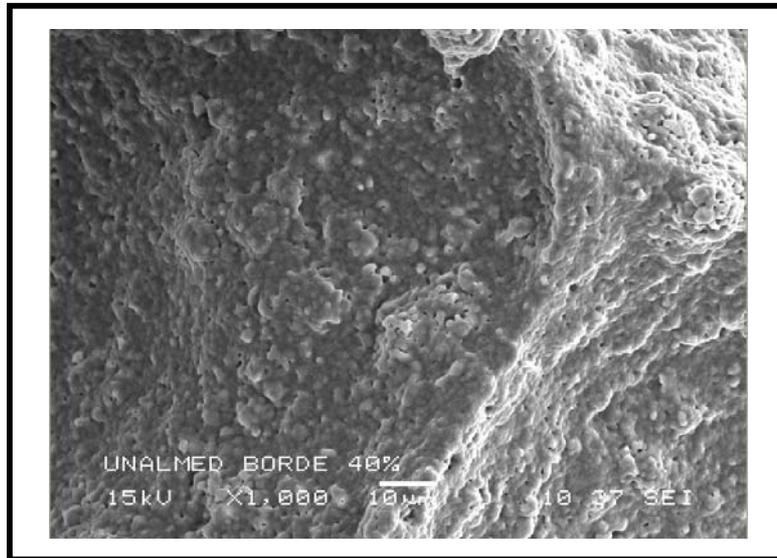
**Figura 65: MICROGRAFÍA DE LA SUPERFICIE**

Se observa una superficie rugosa y con la presencia de microporos.



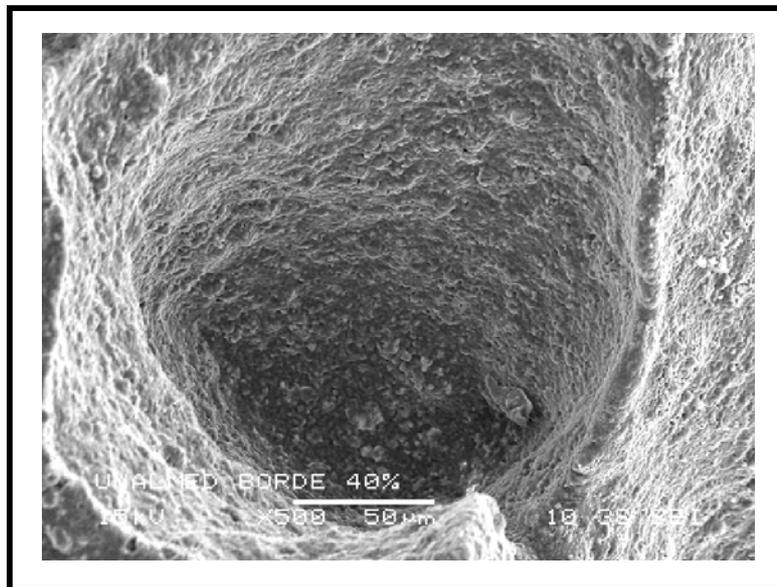
**Figura 66: MICROGRAFÍA DE LA SUPERFICIE**

Se muestran claramente los poros interconectados. Se puede ver un poro esférico, de 300 µm aproximadamente, totalmente abierto que se conecta con otro poro al interior del material.



**Figura 67: MICROGRAFÍA DE LOS BORDES**

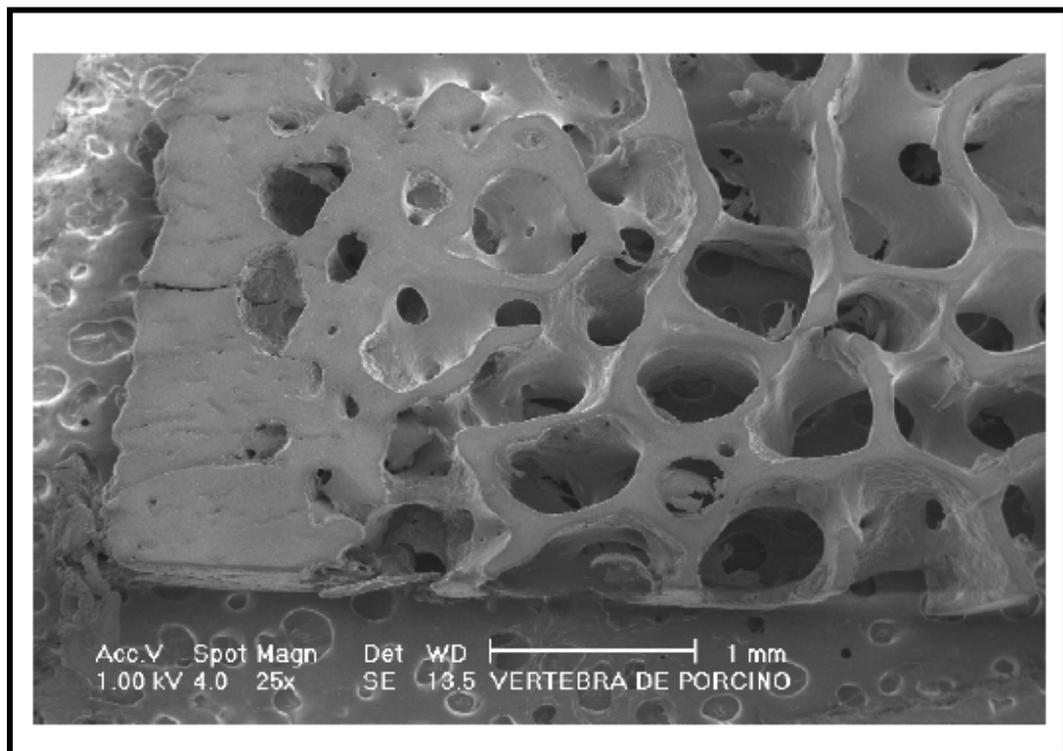
Se observan los granos de hidroxiapatita en los bordes de las espumas y una alta rugosidad superficial.



**Figura 68: MICROGRAFÍA DE LOS BORDES**

Se muestra un poro semiabierto (ciego) del borde de la espuma totalmente esférico con un tamaño aproximado de 350 μm.

Para terminar el análisis por Microscopía electrónica de barrido (SEM) se muestra una Micrografía de una vértebra de porcino para tener una imagen clara de la porosidad que se desea lograr.



**Figura 69:** Micrografía de la estructura de un hueso compacto de porcino<sup>80</sup>.

La porosidad del hueso cortical tiene una geometría muy bien definida. A pesar de que su porosidad se ve de gran tamaño la resistencia mecánica es excelente debido a la organización estructural y a la presencia de agentes como el colágeno que le confiere elasticidad. Los sistemas sintéticos como por ejemplo las espumas de hidroxiapatita, se aproximan en cuanto a porosidad a las estructuras óseas naturales, puesto que presentan poros interconectados que permiten crecimiento celular en su interior, además de ser bloques rugosos que permiten el

anclaje de células y su posterior crecimiento. Esto confirma que los sistemas sintéticos se podrán aproximar a las estructuras óseas naturales, pero difícilmente llegaran a ser tan perfectas.

El tamaño del poro es importante para la integración del implante con el tejido. Siendo que<sup>81</sup>:

- Poros menores de 10  $\mu\text{m}$  evitan el ingreso de células.
- Poros de 10 a 50  $\mu\text{m}$  permite la penetración de tejido fibrovascular.
- Poros de 50 a 150  $\mu\text{m}$  permiten la penetración ósea.
- Poros mayores de 150  $\mu\text{m}$  permiten la penetración y la formación ósea.

Además se ha encontrado que la penetración de tejido óseo sólo es posible si los poros se encuentran interconectados, pero no en los que terminan ciegos.<sup>82</sup>

Según la literatura el tamaño de poro óptimo para la osteoconducción debe ser de 150 a 500  $\mu\text{m}$ <sup>83</sup>.

Los macroporos presentes en las espumas fabricadas en este proyecto, tienen poros de tamaños promedio entre 100 a 350 $\mu\text{m}$ , lo que demuestra que son materiales óptimos para la implantación, pues permitirían el crecimiento celular en su interior, catalogándolas como material recomendable con gran potencial osteoinductivo.

En las espumas de HA obtenidas, se encontraron poros semiabiertos o ciegos, sin embargo esto no impide que halla un buen desempeño del

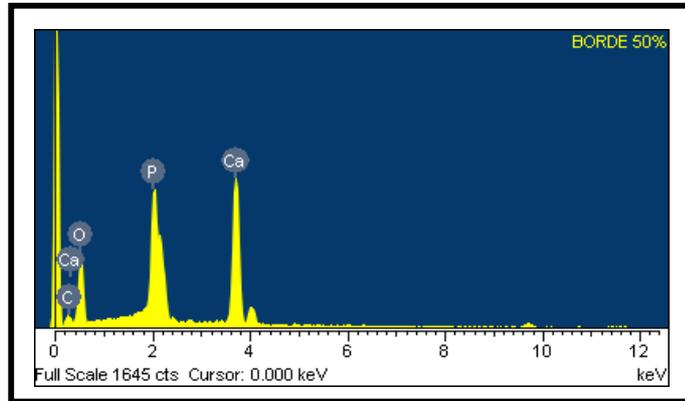
material, ya que éste tipo de poros aumentan la rugosidad de la superficie incrementando la adhesión celular y benefician la resistencia mecánica al no presentar una estructura totalmente porosa. Los poros ciegos se ven en mayor proporción en las muestras con el 50% de sólidos.

La estructura de las espumas se asemeja a la del hueso trabecular<sup>84</sup> y para la reparación de tejidos se requiere una red porosa abierta y la disposición en 3D de las celdas para la excelente vascularización y la buena integración del implante.<sup>85</sup> Todas estas características morfológicas fueron observadas en las espumas obtenidas, donde se nota un cuerpo constituido por una red de poros interconectados y con textura rugosa.

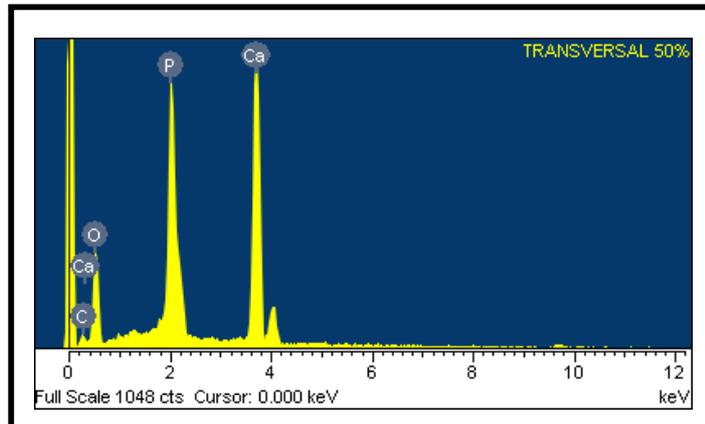
#### **4.2.4 RESULTADOS DE LA ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS) DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.**

Para comprobar la composición química de las espumas se realizó una prueba de Espectroscopia de Energía Dispersiva (EDS) en las muestras con el 40% y el 50% de sólidos, tanto en la parte interior, en la superficie y en los bordes de la muestra.

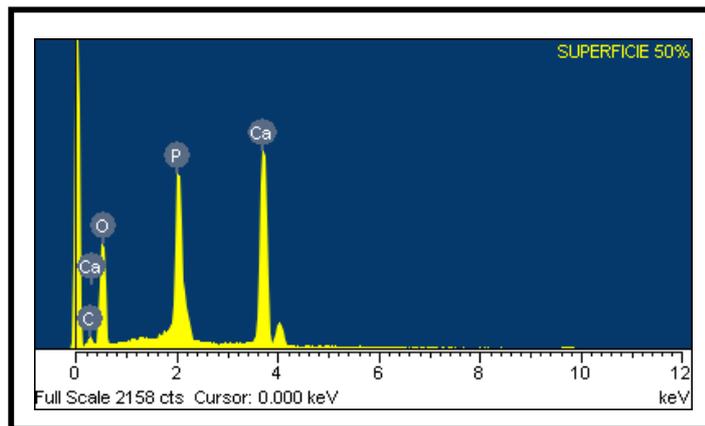
En las figuras 70 – 72 se pueden observar los resultados con el 50% de sólidos y en las figuras 73 – 75 se encuentran los resultados con el 40% de sólidos.



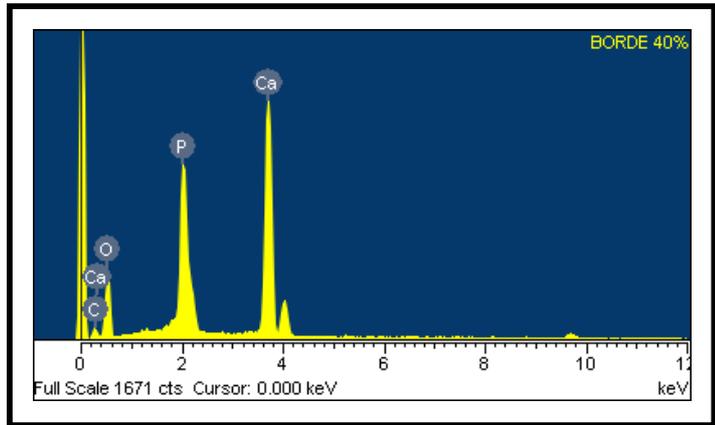
**Figura 70:** EDS del borde de la muestra con el 50% de sólidos.



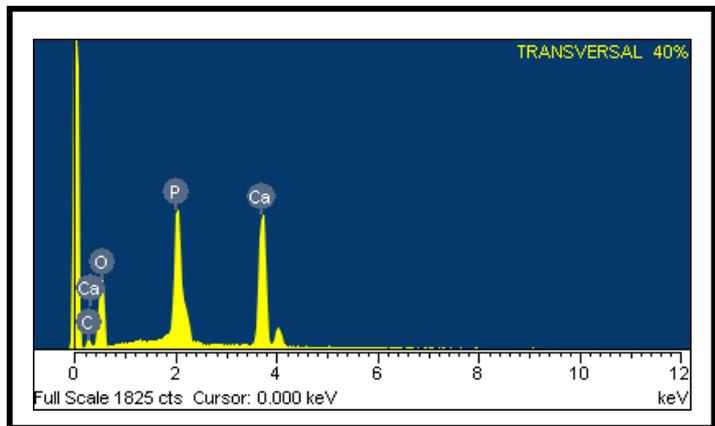
**Figura 71:** EDS transversal de la muestra con el 50% de sólidos.



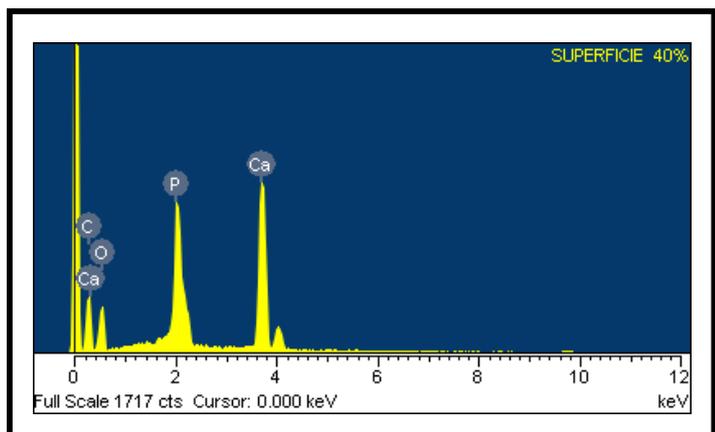
**Figura 72:** EDS superficial de la muestra con el 50% de sólidos.



**Figura 73:** EDS del borde de la muestra con el 40% de sólidos.



**Figura 74:** EDS transversal de la muestra con el 40% de sólidos.



**Figura 75:** EDS superficial de la muestra con el 40% de sólidos.

Con el EDS se pudo corroborar que los elementos presentes en las espumas son los principales componentes de la HA, como los son: P (Fósforo), Ca (Calcio) y O (oxígeno). La presencia de C (carbono) en las muestras indica que probablemente se absorbió de la atmósfera en el momento de la fabricación de las espumas<sup>86</sup>.

La tabla 10 muestra el análisis cuantitativo del EDS y la relación estequiométrica del Ca/P = 1.67 (valor teórico) para la HA. A pesar de que existe una diferencia entre el valor hallado y el valor teórico, el difractograma DRX mostró que la fase presente en el material era Hidroxiapatita. La diferencia en valores puede ser debida por la sensibilidad del equipo usado en la medición.

**Tabla 10:** Relación Ca/P para las espumas de HA.

MUESTRA	% DE HA	Ca (g)	P (gr)	Ca/P	Ca/P promedio
Superficie	40	17.53	8.44	2.08	2.05
Transversal		19.04	11.24	1.69	
Borde		27.47	11.46	2.39	
Superficie	50	19.30	10.46	1.84	2.00
Transversal		24.34	12.76	1.91	
Borde		20.5	9.02	2.27	

En la siguiente tabla se muestra la comparación de la composición inorgánica de tejidos calcificados con un material cerámico para tener referencia de la relación estequiométrica natural con la sintética.

**Tabla 11:** Comparación de la composición inorgánica de tejidos calcificados con un material cerámico (Dorozhikin SV, Epple M. 2002).

<b>Composición</b>	<b>Esmalte</b>	<b>Dentina</b>	<b>Hueso</b>	<b>HA</b>
CALCIO (wt%)	36,5	35,1	34,8	39,6
FÓSFORO (wt%)	17,7	16,9	15,2	18,5
Ca/P (relación molar)	1,63	1,61	1,71	1,67
SODIO (wt%)	0,5	0,6	0,9	-
MAGNESIO (wt%)	0,44	1,23	0,72	-
POTASIO (wt%)	0,08	0,05	0,03	-
CARBONATO(wt%)	3,5	5,6	7,4	-

#### **4.2.5 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS MECÁNICAS DE LAS ESPUMAS DE HIDROXIAPATITA.**

El tipo de ensayo realizado a estos materiales es el de compresión ya que con esta prueba la probeta experimenta tanto esfuerzos compresivos en dirección paralela a la aplicación de la carga como una mayor cantidad de esfuerzos de tracción en dirección perpendicular a la carga, es así como la probeta falla porque las tensiones superan la resistencia del material. En la tabla 12 se especifican las medidas de las probetas.

**Tabla 12:** Medidas de las probetas que fueron sometidas a los ensayos mecánicos.

MEDIDAS	ESPUMAS DE HA 40% SÓLIDOS	IMAGEN DE LA PROBETA
ALTURA (mm)	4,5	
DIÁMETRO (mm)	15	
PESO (g)	1.61	
MEDIDAS	ESPUMAS DE HA 50% SÓLIDOS	IMAGEN DE LA PROBETA
ALTURA (mm)	10	
DIÁMETRO (mm)	18.5	
PESO (g)	6.07	

En la figura 76 se muestran las fracturas presentadas por las espumas de HA con 50% de sólidos, donde se observa la fractura frágil típica de los materiales cerámicos.



**Figura 76:** Probeta de espumas de HA con el 50% de sólidos sometida a fuerzas de compresión.

En la figura 77 se muestran las fracturas presentadas por las espumas de HA con 40% de sólidos, siendo ésta probeta menos resistente y presentando mayor cantidad de grietas que la probeta con 50% de sólidos.



**Figura 77:** Probeta de espumas de HA con el 40% de sólidos sometida a fuerzas de compresión.

En la tabla 13 se muestran los resultados de carga máxima para el ensayo de compresión realizado sobre las espumas de HA.

**Tabla 13:** Datos obtenidos del ensayo de compresión.

<b>Probeta</b>	<b>% de sólidos</b>	<b>Area (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Carga máxima (N)</b>	<b>Resistencia mecánica <math>\sigma</math> (MPa)</b>
1	50	122,72	410,00	3.3
2	50	201,06	632,75	3.1
3	40	219,04	185,50	0.8
4	40	211,24	221,75	1.0

En la tabla 13 se observa que para la muestra con 50% de sólidos la resistencia mecánica fue de 3,2 MPa en promedio y para la espuma con 40% el valor fue de 0,9 MPa en promedio.

En la literatura se encuentran valores de referencia en el módulo de ruptura cuando se utilizan agentes poliméricos en cerámicos, en éste caso se encuentra que la resistencia mecánica esta entre 4,4 y 4,7 MPa para espumas con el 80% de porosidad<sup>87</sup> y para cuerpos con 70% de porosidad se obtuvieron valores de 5 MPa<sup>88</sup>.

También se encuentran resultados de ensayos mecánicos para cuerpos porosos preparados por otras técnicas como la técnica de replica sobre una espuma poliuretano. En la tabla 14 se muestran los resultados de los ensayos mecánicos. Puede notarse que la resistencia a la compresión es menor que la resultante de las espumas fabricadas por gel-casting con 50% de sólidos de hidroxiapatita.

**Tabla 14:** Porosidad y características mecánicas de dos tipos de hidroxiapatita porosa<sup>89</sup>.

<b>Designación</b>	<b>Porosidad (%)</b>	<b><math>\sigma</math> (Mpa)</b>
20 DB	76	1,7
22 SB4	79	1,1

Uno de los objetivos con el desarrollo de éste biomaterial es llegar a unas propiedades mecánicas semejantes a las del hueso. Con el fin de confrontar los resultados obtenidos con los datos de algunas investigaciones donde se obtuvieron bloques de hidroxiapatita, se presenta una tabla comparativa (ver tabla 15).con los siguientes datos:

La resistencia mecánica de un bloque de HA macroporosa, con un hueso esponjoso de bovino calcinado a la misma temperatura que la HA macroporosa para eliminar su materia orgánica,<sup>90</sup> un bloque de hidroxiapatita pura<sup>91</sup> y espuma de HA con el 50% de sólidos producida en este proyecto.

**Tabla 15:** Tabla comparativa de la resistencia mecánica de hueso esponjoso calcinado de bovino, hidroxiapatita pura, hidroxiapatita macroporosa (HA) y espuma de hidroxiapatita con 50% de sólidos.

<b>Parámetro</b>	<b>Hueso esponjoso calcinado</b>	<b>HA pura</b>	<b>HA macroporosa</b>	<b>Espuma de HA (50% sólidos)</b>
<b>Módulo de ruptura (MPa)</b>	0,84	0,7	0,62	3,2

Como puede verse en la tabla 15, los resultados son mejores para las espumas producidas por gel-casting, posiblemente debido a la presencia de los agentes poliméricos que aumentan la resistencia mecánica de la hidroxiapatita a pesar de su estructura porosa. Se espera continuar mejorando el proceso hasta obtener resistencias mecánicas cercanas a la del hueso cortical.

La resistencia mecánica de las espumas que se realizaron en el proceso de investigación tienen un valor alto, acercándose a los valores dados en la literatura; esto indica que el proyecto es viable, que se están

haciendo los pasos correctos para la fabricación y que se necesita optimizar cada uno de ellos.

#### 4.2.6 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE POROSIDAD

La porosidad se halla con la ecuación 7.

$$1 - \left( \frac{\text{Densidad (w/v)}}{\text{Peso específico}} \right) \times 100$$

**Ecuación 7:** Medición de porosidad.

**Peso específico de la Ha pura:** 3.16 g/cm<sup>3</sup>

**W**= Masa de la muestra

**V**= Volumen de la muestra =  $\pi r^2 h$  →

$\pi$	Valor constante: 3,141626536
$r^2$	Radio de la muestra elevado al cuadrado.
<b>h</b>	Altura de la muestra.

Reemplazo en la fórmula teniendo en cuenta los valores de la tabla 12.

**% Porosidad** = 35,93 % con el 40% de sólidos

**% Porosidad** = 28,54 % con el 50% de sólidos

En la tabla 16 se encuentran comparados los datos de porosidad de un hueso esponjoso de bovino, los de una HA macroporosa<sup>92</sup> y los obtenidos con el 40% y el 50% de sólidos.

**Tabla 16:** evaluación comparativa de porosidad.

<b>Parámetro</b>	<b>Hueso esponjoso</b>	<b>HA macroporosa</b>	<b>Espuma de HA (40% sólidos)</b>	<b>Espuma de HA (50% sólidos)</b>
<b>Porosidad según ecuación (%)</b>	81,69	85,00	35,93	28,54
<b>Densidad (g/cm<sup>3</sup>)</b>	3,10	3,11	2,02	2,26

Los resultados de porosidad muestran valores por debajo de los reportados por la literatura, que en general están sobre el 60%. A pesar de eso, las espumas sintetizadas en este proyecto presentan porosidad interconectada, abierta y con tamaño adecuado para el crecimiento celular, cumpliéndose el requerimiento para la oseointegración. En trabajos futuros se espera obtener mayor porcentaje de porosidad con la variación del agente surfactante.

Para tener una mejor densidad de las espumas y mejores propiedades mecánicas se requieren altos porcentajes de sólidos, pero si la concentración de HA es demasiado alta hay mayor viscosidad haciendo

compleja la mezcla y la generación de espuma<sup>93</sup>. Y si por el contrario el porcentaje de sólidos es bajo, habrá menor viscosidad, lo que dará como resultado unas espumas muy débiles<sup>94</sup>.

Es de esperarse que para las espumas con 50% de sólidos la porosidad sea más baja que la que presenta las espumas con 40% de sólidos; esto se debe a que en una suspensión coloidal con menor concentración de sólidos la formación de espuma se logra más fácilmente por la poca viscosidad y por consecuente la porosidad resultante será mayor.

Un alto porcentaje de porosidad ayuda a mejorar la adhesión celular. Se estima que para que la HA cumpla sus funciones biológicas la porosidad debe ser del 70-80%<sup>95</sup>.

## **5. CONCLUSIONES**

Como se había planteado en un principio, el objetivo con mayor reto era la fabricación de un nuevo Biomaterial compuesto. Ahora después de haber hecho una exhaustiva investigación y un largo trabajo de laboratorio los resultados son exitosos, lo que genera una mayor certeza del material que se esta desarrollando y con buenas expectativas para seguir perfeccionándolo y evaluándolo hasta encontrar el punto exacto que lo pueda poner a disposición del hombre.

La obtención de las espumas de hidroxiapatita se hizo por medio de la técnica gel-casting, estandarizando un protocolo de producción que se ha ido mejorando a medida que se realizan los laboratorios y las búsquedas bibliográficas.

La caracterización química de las espumas de hidroxiapatita realizada por espectroscopia de energía dispersiva (EDS) confirmó que los componentes del material son los elementos principales de la HA, lo que indica que el material no esta contaminado y que en el uso in vivo no presentarían efectos tóxicos.

La difracción de rayos X (DRX) mostró una secuencia de picos que hablan de la presencia de HA en todo el material.

El análisis morfológico (SEM) de las espumas de hidroxiapatita mostró que la estructura de las espumas era macroporosa, presentando poros interconectados con tamaños entre 100 a 350  $\mu\text{m}$  similar a la del hueso

trabecular, encontrándose en los rangos recomendados por la literatura para el crecimiento celular, además presenta una superficie rugosa que aumenta la posibilidad de adhesión celular.

La determinación de porosidad arrojó un porcentaje de porosidad de 35,93 y de 28,54% para las espumas con 40 y 50% de sólidos respectivamente. Resultados que al ser comparados con el 60.81% del hueso trabecular de bovino calcinado, se encuentra en rango menor, sin embargo los poros presentan la estructura adecuada para la oseointegración.

Las pruebas mecánicas mostraron que las espumas con 40% de sólidos tienen en promedio una resistencia de 0,9 MPa y aquellas con 50% de sólidos tienen 3,2 MPa. El valor de las espumas con 50% de sólidos es muy cercano al rango que se presenta en la literatura.

La resistencia mecánica depende de la cantidad de sólidos presentes en la solución, al igual que la porosidad. Por esta razón el porcentaje de sólidos se convierte en una variable fundamental en la fabricación de espumas de hidroxiapatita ya que no debe comprometer la resistencia mecánica ni la generación de espuma.

Este material tiene grandes posibilidades de llegar a ser utilizado médicamente sin ningún tipo de riesgo ya que las aplicaciones de la HA como se ha mencionado anteriormente son de gran ayuda para los cirujanos plásticos y médicos ortopédicos, sin mencionar los pacientes que son los mas beneficiados en las reconstrucciones craneofaciales, en el relleno de defectos óseos por traumas craneales, faciales o de las falanges, exéresis de tumores tanto malignos como benignos de partes del cuerpo donde no implique tener una alta

resistencia mecánica y en recubrimientos de otros materiales como por ejemplo los metales y sus aleaciones.

Dentro del alcance del proyecto se planteo la obtención de bloques de las espumas de HA, para cumplir tal objetivo se utilizó una columna vertebral humana, mostrando los injertos en tamaño real implantados con cemento óseo, una solución mas acuosa de fosfatos de calcio que con la temperatura corporal se va endureciendo para fijar el injerto. Este tipo de cemento se utiliza más que todo en personas mayores de 50 años por la mayor porosidad que presentan en el sistema óseo dificultando la osteointegración.

En el momento de la fabricación de las espumas son muchos los detalles que se deben tener en cuenta ya que los resultados dependen del orden y la perfección de cada uno de los pasos, desde la medición de los componentes hasta el tiempo de secado y calcinación. Algunos de los equipos usados para la fabricación de las espumas deben ser mejor acondicionados para perfeccionar el proceso de síntesis del material, para lo cual el laboratorio de Biomateriales de la Universidad de Antioquia realizará una inversión en equipos.

La Investigación es camino al desarrollo tecnológico y al avance social. Una formación basada en investigación asegura estudiantes y profesionales inquietos por el conocimiento y por establecer un contacto directo con la realidad.

---

## BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> SOTO GONGORA, S. y TEXIS GONZALEZ, M. Injertos óseos: Una alternativa efectiva y actual para la reconstrucción del complejo cráneo-facial. Rev Cubana Estomatol. [online]. ene.-abr. 2005, vol.42, no.1 [artículo de Internet] [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75072005000100005&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072005000100005&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0034-7507 [consulta: 03 Octubre 2006].
- <sup>2</sup> Dr. Pereda Cardoso O, Dr. Toca Caballero R y Dr. González Santos R. Resultados del relleno de defectos óseos tumorales con hidroxiapatita o injerto homólogo. Rev Cubana de Ortopedia y traumatología. Feb 2006, vol 20, no. 2.
- <sup>3</sup> Black J. Biocompatibility: Definitions and Issues en Biological Performance of Materials. 3 Ed. New York: Dekker, 1992.
- <sup>4</sup> Williams D. Definitions in Biomaterials. Amsterdam: Elsevier, 1987.
- <sup>5</sup> Ciencia de los materiales. [artículo de Internet] [http://webdeptos.uma.es/qicm/Doc/docencia/tema\\_10\\_CM.pdf](http://webdeptos.uma.es/qicm/Doc/docencia/tema_10_CM.pdf) [consulta: 08 Octubre de 2006].
- <sup>6</sup> Estudio de la biocompatibilidad. [artículo de Internet] [http://www.tesisenred.net/TESIS\\_UPC/AVAILABLE/TDX-0529101-130232//08CAP6.pdf](http://www.tesisenred.net/TESIS_UPC/AVAILABLE/TDX-0529101-130232//08CAP6.pdf) [consulta: 08 Octubre de 2006].
- <sup>7</sup> Ravaglioli A, Krajewski A. Bioceramics. Londres: Chapman & Hall, 1992.
- <sup>8</sup> Hench LL. Bioceramics: From concept to clinic. Journal of the American Ceramic Society. 1991; 74(7):1487-1510.
- <sup>9</sup> Williams D, op. cit., Pág 30.

---

<sup>10</sup> VALLET M. Biomateriales para sustitución y reparación de tejidos. [artículo de Internet]  
<http://www.aecientificos.es/empresas/aecientificos/documentos/Biomateriales.pdf>  
[consulta: 3 Agosto de 2006].

<sup>11</sup> Ciencia de los materiales, op. cit. , Pág 11 [consulta: 09 octubre de 2006].

<sup>12</sup>GARCIA M, César y ORTEGA T, Dulia. ELEMENTOS DE OSTEOSINTESIS DE USO HABITUAL EN FRACTURAS DEL ESQUELETO APENDICULAR: EVALUACION RADIOLOGICA. Rev. chil. radiol. [online]. 2005, vol.11, no.2. Pág.58-70. [artículo de Internet]  
[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-93082005000200005&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-93082005000200005&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0717-9308. [consulta: 11 Octubre de 2006].

<sup>13</sup> Brow RK, Tallant DR, Myers ST, Phifer CC. The short range structure of zinc polyphosphate glass. Journal of Non-Crystalline Solids 1995; 191:45.

<sup>14</sup> Kulkarni R, Moore RG, Hegyeli AF, Leonard F. Biodegradable poly(lactic acid) polymers. Journal of Biomedical Materials Research 1971; 5:169-181.

<sup>15</sup> Microesferas de Biopolímeros. [artículo de Internet]  
<http://www.revistapesquisa.fapesp.br/arq/r/pt/161/art3076img2.jpg>  
[consulta: 16 Octubre de 2006].

<sup>16</sup> Injertos poliméricos. [artículo de Internet]  
<http://mingaonline.uach.cl/fbpe/img/cuadcir/v16n1/figura20.gif>  
[consulta: 17 Octubre de 2006].

<sup>17</sup> Cerámica técnica. [artículo de Internet]  
[http://es.wikipedia.org/wiki/Cer%C3%A1mica\\_t%C3%A9cnica](http://es.wikipedia.org/wiki/Cer%C3%A1mica_t%C3%A9cnica)  
[ consulta: 6 Noviembre 2006].

<sup>18</sup> Hench LL. Bioceramics: From concept to clinic. Journal of the American Ceramic Society. 1991.

<sup>19</sup> DA, Grisafe; FA, Hummel. Inorganic Phosphate Materials. En: Elsevier. Vol. 55, (1989); p. 60-67.

<sup>20</sup> Hench LL, op. cit., Pág 38.

<sup>21</sup> Fosfatos de Calcio. [artículo de Internet]  
<http://www.amazings.com/ciencia/imagenes/280904a.jpg>

---

[consulta: 11 Noviembre de 2006].

<sup>22</sup> Brow RK. Review: the structure of simple phosphate glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids* 2000.

<sup>23</sup> Knowles JC. Phosphate based glasses for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry* 2003.

<sup>24</sup> Burnie J, Gilchrist T. Controlled release glass(C.R.G.) a new biomaterial. *Ceramics in Surgery* 1983.

<sup>25</sup> Mulligan AM, Wilson M, Knowles JC. The effect of increasing copper content in phosphate-based glasses on biofilms of *Streptococcus sanguis*. *Biomaterials* 2003.

<sup>26</sup> Gilchrist T, Glasby MA, Healy DM, Kelly G, Lenihan DV, McDowall KL et al. In vitro nerve repair - in vivo. The reconstruction of peripheral nerves by entubulation with biodegradable glass tubes - a preliminary report. *British Journal of Plastic Surgery* 1998.

<sup>27</sup> Lenihan DV, Sojitra NM, Glasby MA. Stimulated jitter measurement in the assessment of recovery after different methods of peripheral nerve repair. *Journal of Hand Surgery-British and European Volume* 1998.

<sup>28</sup> Toumba KJ, Curzon MEJ. Slow-Release Fluoride. *Caries Research* 1993; 27:43-46.

<sup>29</sup> Cartmell SH, Doherty PJ, Rhodes NP, Hunt JA, Healy DM, Gilchrist T. Haemocompatibility of controlled release glass. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* 1998.

<sup>30</sup> Hench LL, op. cit., Pág 38.

<sup>31</sup> Implante de Fosfato Tricálcico.

[artículo de Internet] <http://www.scielo.cl/fbpe/img/rchcir/v58n6/fig07-04.jpg>

[consulta: 22 Noviembre de 2006].

<sup>32</sup> Escobar M. Biocerámicos no absorbibles o inertes. *Curso Biomateriales* 2006.

<sup>33</sup> Implantes dentales. [artículo de Internet]

<http://www.monografias.com/trabajos35/alumina/Image4195.jpg>

[consulta: 29 Noviembre de 2006].

- 
- <sup>34</sup> ALVAREZ R. Válvulas cardíacas protésicas. Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina. Septiembre 2004. no 137. Pág. 19-32.
- <sup>35</sup> Ortiz EJ, Campo J J, Canosa R. Estructura y organización de un banco de huesos y tejidos. Rev Ortop Traumatol. 2000. no 44. Pág. 127-38.
- <sup>36</sup> Bauert TW, Muschler GF. Bone graft materials. An overview of the science. Clin Orthop. 2000. no 371. Pág. 10-27.
- <sup>37</sup> Dr. Pereda Cardoso O, Dr. Toca Caballero R y Dr. González Santos R, op. cit., Pág 49.
- <sup>38</sup> PARK, J. B.; LAKES, R. S. Biomaterials: An introduction. Editorial Plenum. Estados Unidos. 1992.
- <sup>39</sup> Productos Ostim. [artículo de Internet] Web: <http://www.necod.com.ar/ostim.htm> [consulta: 03 Diciembre de 2006].
- <sup>40</sup> Bloques de Hidroxiapatita. [artículo de Internet] <http://www.neuronicmexicana.com.mx/images/cora-barrita.jpg> [consulta: 03 Diciembre de 2006].
- <sup>41</sup> Injerto en el oído medio. [artículo de Internet] <http://www.invdes.com.mx/anteriores/Junio2002/images2/bioma.jpg> [consulta: 07 Diciembre de 2006].
- <sup>42</sup> Implante de globo ocular. [artículo de Internet] [http://www.institutobarraquer.com/images\\_info/implante\\_hidroxiapatita.jpg](http://www.institutobarraquer.com/images_info/implante_hidroxiapatita.jpg) [consulta: 07 Diciembre de 2006].
- <sup>43</sup> Prótesis de Cadera con recubrimiento. [artículo de Internet] [http://www.saramall.com.ar/english/products/jnj/cadera/img/\\_corail.jpg](http://www.saramall.com.ar/english/products/jnj/cadera/img/_corail.jpg) [consulta: 07 diciembre de 2006].
- <sup>44</sup> P. Sepúlveda, J.G.P, Binner, S.O Rogero, O.Z. Higa, J.C. Bressiani. Production of porous of Hidroxyapatite by the gel-casting of foams and cytotoxic evaluation. Elseiver: 1999.
- <sup>45</sup> RAMAY, H. R.; ZHANG, M. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of gel-casting and polymer sponge methods. En: Biomaterials. Vol. 24, (2003); Pág. 3293-3302.

- 
- <sup>46</sup> D. Tadic, F. Beckmann, K. Schwarz, M. Epple, *Biomaterials* 25 (2004), Pág.3335.
- <sup>47</sup> I. Sopyan, R. Singh, J. Kaur, *Ceram. Inter.* to be submitted. 2005.
- <sup>48</sup> I. Sopyan, S. Ramesh, M. Mel, N.H. Hussain, J. Kaur, *Mater. Sci. Eng. C*, to be submitted. Porous hydroxyapatite for artificial bone applications. 2006.
- <sup>49</sup> I. Sopyan, S. Ramesh, M. Mel, N.H. Hussain, J. Kaur, *Mater. Ibid.*, Pág.57.
- <sup>50</sup> PIÑA M. La física en la Medicina. Biblioteca digital. [artículo de Internet] [http://omega.ilece.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/37/htm/sec\\_5.htm](http://omega.ilece.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/37/htm/sec_5.htm) [consulta: 5 febrero 2007].
- <sup>51</sup> PIÑA M. *Ibía.*, Pág. 59.
- <sup>52</sup> Diccionario ilustrado de términos médicos. Curso de fisiología.sistema óseo: estructura y función. Capítulo 6 [artículo de Internet] [http://www.iqb.es/cbasicas/fisio/cap06/cap6\\_1.htm](http://www.iqb.es/cbasicas/fisio/cap06/cap6_1.htm) [consulta: 15 Enero de 2007].
- <sup>53</sup> Diccionario ilustrado de términos médicos. *Ibí.*, Pág. 60.
- <sup>54</sup> Fundación politécnica de Cataluña. *Biomecánica del hueso.* Cap 1-2. 2004.
- <sup>55</sup> Huesos largos. [Artículo de Internet] <http://www.sidisalta.com.ar/Cuerpo/images/full/PIERNA.jpg> [consulta: 23 Enero de 2007].
- <sup>56</sup> *Productos Ostim.* Op. cit., Pág 62.
- <sup>57</sup> Fundación politécnica de Cataluña, po. cit., Pág 63.
- <sup>58</sup> Huesos planos. [artículo de Internet] <http://www.anatomiahumana.ucv.cl/kine1/fotos1/parietal.jpg> [consulta: 28 Enero de 2007].
- <sup>59</sup> Huesos cortos. [artículo de Internet] [http://ency.mosescone.hispanicare.com/ency\\_20/images/2/ency/tnails/9889t.jpg](http://ency.mosescone.hispanicare.com/ency_20/images/2/ency/tnails/9889t.jpg) [consulta: 08 Febrero de 2007].

---

<sup>60</sup> Diccionario ilustrado de términos médicos, op. cit., Pág. 64.

<sup>61</sup> Morfología del hueso. [artículo de Internet]

<http://sabanet.unisabana.edu.co/rv/medicina/Pagina%20Web/hueso.png>

[consulta: 13 Febrero de 2007].

<sup>62</sup> Fundación politécnica de Cataluña, op. cit., Pág. 67.

<sup>63</sup> SOTO GONGORA, S. y TESIS GONZALEZ, M, op. cit., Pág. 68.

<sup>64</sup> SOTO GONGORA, S. y TESIS GONZALEZ, M. Ibía., Pág. 68.

<sup>65</sup> Difractor de rayos X. [artículo de Internet]

[http://omega.inin.mx/prodservicios/IMG/Difracción\\_neutrónica\\_1.jpg](http://omega.inin.mx/prodservicios/IMG/Difracción_neutrónica_1.jpg)

[consulta: 20 Febrero de 2007].

<sup>66</sup> Cristalografía de rayos X. [artículo de Internet]

[http://es.wikipedia.org/wiki/difraccio%C3%B3n de rayos](http://es.wikipedia.org/wiki/difraccio%C3%B3n_de_rayos). [consulta: 20 febrero de 2007].

<sup>67</sup> Cristalografía de rayos X. [artículo de Internet]

[http://es.wikipedia.org/wiki/cristalograf%C3%B3n de rayos x](http://es.wikipedia.org/wiki/cristalograf%C3%B3n_de_rayos_x)

[ consulta: 20 Febrero de 2007].

<sup>68</sup> Ley de Bragg. [artículo de Internet] [http://es.wikipedia.org/wiki/ley de bragg](http://es.wikipedia.org/wiki/ley_de_bragg)

[consulta: 20 Febrero de 2007].

<sup>69</sup> Biqin C, Tao Z, Jingxian Z, Qingling L, Dongliang J. Microstructure and mechanical properties of hydroxyapatite obtained by gel-casting process. Elseiver: 16 June. 2006.

<sup>70</sup> Microscopio electrónico de barrido. [artículo de Internet]

<http://omega.inin.mx/captec/IMG/Tem1.JPG>

[consulta: 23 Febrero de 2007].

<sup>71</sup> Microscopio Electrónico de barrido. [artículo de Internet]

[http://es.wikipedia.org/wiki/Microscopio\\_electr%C3%B3nico\\_de\\_barrido](http://es.wikipedia.org/wiki/Microscopio_electr%C3%B3nico_de_barrido)

[consulta: 23 Febrero de 2007].

<sup>72</sup> Porosidad efectiva de una muestra. [artículo de Internet]

<http://www.monografias.com/trabajos15/porosidad/porosidad.shtml>

[consulta: 06 Marzo de 2007].

- 
- <sup>73</sup> Chornos. Sustituto de hueso esponjoso (fosfato tricálcico beta). [artículo de Internet]  
[http://www.columna.org.ar/synthes/productos/Sustituto\\_Oseo\\_ChronOS.pdf](http://www.columna.org.ar/synthes/productos/Sustituto_Oseo_ChronOS.pdf)  
[consulta: 6 marzo de 2007].
- <sup>74</sup> Máquina Universal. [artículo de Internet] <http://www.fei.edu.br/mecanica/LabMat/MTS.jpg>  
[consulta: 11 Abril de 2007].
- <sup>75</sup> Propiedades mecánicas de los materiales. [artículo de Internet]  
[http://es.wikipedia.org/wiki/Propiedades\\_mec%C3%A1nicas\\_de\\_los\\_materiales](http://es.wikipedia.org/wiki/Propiedades_mec%C3%A1nicas_de_los_materiales)  
[consulta: 15 Abril de 2007].
- <sup>76</sup> Groover P. Mikell. Fundamentos de manufactura moderna. Prentice Hall. 1997.
- <sup>77</sup> Esfuerzo de compresión. [artículo de Internet]  
[http://es.wikipedia.org/wiki/Esfuerzo\\_de\\_compresi%C3%B3n](http://es.wikipedia.org/wiki/Esfuerzo_de_compresi%C3%B3n)  
[consulta: 16 Abril de 2007].
- <sup>78</sup> CHEN B.,ZHANG Z.,ZHANG J., DONG M., JIANG D. Aqueous gel-casting of hydroxiapatite.  
En:Elseiver. (2006); Pág. 198-203.
- <sup>79</sup> Crystallographic and Crystallochemical Database for Mineral and their Structural Analogues. [artículo de Internet]  
[http://database.iem.ac.ru/mincryst/s\\_carta.php?HYDROXYLAPATITE+2087](http://database.iem.ac.ru/mincryst/s_carta.php?HYDROXYLAPATITE+2087)  
[consulta: 24 Mayo de 2007].
- <sup>80</sup> CERRUD, Sara. Modelado del comportamiento mecánico del hueso. Ingeniería mecánica UNAM. Vol 1. no.6 (2005). Pág. 223-232.
- <sup>81</sup> SINHA,M. K. et al. Porous Hydroxiapatite ceramic and its clinical applications.  
En: Interceram. Vol 49. no 2. Alemania. 2000. Pág. 102-105.
- <sup>82</sup> O. ABRAHAM G., CUADRADO T. Métodos de caracterización de Biomateriales.  
En: Elsevier. Vol. 15, (2000); Pág. 1-18.
- <sup>83</sup> RAMAY, H. R.; ZHANG, M, op. cit., Pág. 123.
- <sup>84</sup> SEPULVEDA, P.; BRESSIANI, A.H.; BRESSIANI, J.C.; MESEGUER, L.;  
KONIG Jr. B. In vivo evaluation of hydroxyapatite foams. En: Materials Research.  
Vol. 5, No. 3 (2002);Pág. 253-256.
- <sup>85</sup> RAMAY, H. R.; ZHANG, M, op. cit., Pág. 124.

- 
- <sup>86</sup> LÓPEZ. M. E.; ECHAVARRÍA. A.; SUÁREZ. R.; HERRERA. N.  
Hidroxiapatita macroporosa obtenida en la Universidad de Antioquia: síntesis, caracterización y comparación con el hueso esponjoso y calcinado de bovino.  
En: Revista facultad de ingeniería. Vol. 30, (2003); Pág. 109–124.
- <sup>87</sup> ROGERO.O.S., SEPULVEDA.P, BINNER. J.G.P., BRESSIANI., HIGA.O. Z.  
Production of porous hydroxyapatite by the gel-casting of foams and cytotoxic evaluation. En: Journal biomedical materials research. Vol. 50, (2000); Pág. 27-34.
- <sup>88</sup> RAMAY, H. R.; ZHANG, M. op. cit., Pág. 131.
- <sup>89</sup> RANITO, C. M. S. Hydroxyapatite foams for bone replacement.  
En: Key Engineering Materials. Vol 284-286 (2005); Pág. 341-344.
- <sup>90</sup> LÓPEZ. M. E.; ECHAVARRÍA. A.; SUÁREZ. R.; HERRERA. N. op. cit., Pág. 119.
- <sup>91</sup> RANITO, C. M. S. op. cit., Pág. 132.
- <sup>92</sup> LÓPEZ. M. E.; ECHAVARRÍA. A.; SUÁREZ. R.; HERRERA. N. op. cit., Pág. 123.
- <sup>93</sup> RAMAY, H. R.; ZHANG, M. op. cit., Pág. 134.
- <sup>94</sup> ROGERO.O.S., SEPULVEDA.P, BINNER. J.G.P., BRESSIANI., HIGA.O. Z.  
Production of porous hydroxyapatite by the gel-casting of foams and cytotoxic evaluation. En: Journal biomedical materials research. Vol. 50, (2000); Pág. 27-34.
- <sup>95</sup> 16. RAMÍREZ, Gloria; ESCOBAR, Iván; ECHAVARRÍA, Alejandro; CARDONA, Jhon; GIRALDO, Adriana; RIAÑO, Carlos. Características osteoconductoras de la HA sintética y la derivada de corales marinos injertados en conejos.  
En: Revista Colombiana de ciencias pecuarias. Vol. 2, (1999); Pág. 97–107.

