



**Obtención de compuesto de titanio con gradiente
de porosidad mediante técnica pulvimetalúrgica.**

Luciano Salvador Grinschpun

Tesis de Doctorado en Ingeniería, mención Materiales.

Director:
Dr. Carlos Rodolfo Oldani

Co-Director:
Dr. Roger López Padilla

Universidad Tecnológica Nacional.
Regional Córdoba.
Córdoba, Argentina
- 2021 -

Agradecimientos.

Al Dr. Carlos Rodolfo Oldani. Director de este trabajo, por su paciencia y apoyo.

Al Dr. Matías Schneider por la ayuda .

A ambos por la confianza y por su amistad.

Dedicatoria.

A mis Padres: Ana Maria y Victor

**A mis hermanas. Victoria y Ana Maria
y a sus hijos: Simon, Juana, Álvaro y Camilo.**

*Why, I, in this weak piping time of peace,
Have no delight to pass away the time,
Unless to see my shadow in the sun*

Richard III, William Shakespeare

Resumen.

En el estudio de biomateriales de uso implantológico para la fabricación de distintos tipos de prótesis, el titanio es un metal que ha sido utilizado exitosamente debido a su buena resistencia a la corrosión y a su buena resistencia mecánica. A pesar de los avances realizados, aún subsisten algunos problemas con este material en aplicaciones de reemplazo óseo debido a la diferencia en el valor de módulo elástico de este metal (110 GPa) en relación al del hueso cortical (20-30 GPa) y al hueso trabecular (1-5 GPa). Esta diferencia es una de las causas por la cual los procesos de osteointegración de prótesis óseas no se mantienen en el tiempo debido al fenómeno de apantallamiento de tensiones (stress shielding). En este sentido una forma de atenuar este problema sería implantar materiales con un módulo elástico similar al del hueso.

La pulvimetalurgia es una técnica económica usada en la fabricación de compuestos que permite controlar las características mecánicas de un compuesto mediante la introducción de poros en el material. Sinterizando por ejemplo una mezcla de titanio en polvo y agentes espaciadores que se eliminan durante el tratamiento térmico se puede obtener un material con estructura porosa donde modulando las variables inherentes a la generación de porosidad durante el proceso de fabricación se podría obtener un material con módulo elástico con valores dentro del rango de los que posee el hueso cortical. Además dada la versatilidad que presentan los procesos pulvimetalúrgicos, es lógico pensar en la posibilidad de fabricar prótesis con gradiente de porosidad, imitando la estructura ósea.

Otra de las problemáticas que se presentan en el uso de titanio para implantes es la incapacidad del mismo de inducir los procesos biológicos de osteointegración en tiempos cortos que aseguren una rápida fijación del material al hueso. Existen distintas propuestas para mejorar este problema. Una es la incorporación de hidroxiapatita con el fin de activar los fenómenos de osteointegración, sin embargo, la hidroxiapatita se descompone en presencia de titanio a las temperaturas usuales de sinterización indicadas para este metal.

En este trabajo se exponen los resultados obtenidos en la fabricación de un compuesto de titanio con gradiente de porosidad radial sinterizado a partir de una mezcla de hidruro de titanio y bicarbonato de amonio. El proceso se llevó a cabo en condiciones tales que permitió la incorporación de hidroxiapatita al compuesto. Para la obtención de las muestras se estudiaron distintas variantes de fabricación en las distintas etapas del proceso pulvimetalúrgico: mezcla de polvos, prensado para la fabricación de modelos en verdes y tratamientos térmicos de sinterizado. El material obtenido se caracterizó mecánicamente mediante ensayo de compresión estática. En el compuesto con porosidad radial obtenido en este trabajo se midieron valores de módulo elástico en el rango de 16,4 a 20 GPa, valores comprendidos dentro del rango de módulo elástico del hueso cortical. La caracterización física de la porosidad superficial indicó un tamaño de poro apto para la fijación de células óseas. Los resultados de los ensayos in-vivo realizados en ratas de la cepa Wistar mostraron un bajo índice de encapsulamiento fibroso en la interfase compuesto-tejido óseo, señal de una buena aceptación del material por parte del organismo. Los resultados de estos estudios mostraron además crecimiento óseo sobre la superficie del compuesto y en el interior del material con porosidad interconectada, lo que indica una buena respuesta al proceso de osteointegración en los primeros estadios del proceso.

Abstract

In studying the use of implant biomaterials aimed at the fabrication of various types of prostheses, titanium has been successfully employed for both its good corrosion resistance and mechanical properties. But despite of ongoing development, some issues remain to be solved in connection with bone replacement applications; namely, the difference between the value of the elastic modulus of titanium (110 GPa) and that of cortical (20-30 GPa) and trabecular bone (1-5 GPa). This difference prevents osseointegration of bone prostheses from being maintained over time because of the so-called stress shielding phenomena. Hence, an implanting material having an elastic modulus like that of bone would be a way of addressing this problem.

Powder metallurgy is a cost-effective technique used in the fabrication of composites. It allows control over the mechanical characteristics of the metal to be carried out by introducing pores into the material. Sintering a mixture of titanium powder and spacing agents, which are removed during heat treatment, results in a porous structure. In other words, a material having an elastic modulus like that of cortical bone could be obtained by modulating the variables affecting pore generation during the fabrication process. Moreover, the fabrication of prostheses exhibiting a porosity gradient which approximates bone structure seems plausible because of the versatility of powder metallurgical processes. Another problem concurrent with the use of a titanium implant is its failure to induce the biological processes of osseointegration in short times so that rapid fixation of the material to the bone would be ensured. There have been several proposals to deal with this problem. One of them consists in incorporating hydroxyapatite to foster osseointegration. However, hydroxyapatite decomposes in the presence of titanium at the usual sintering temperatures specified for this metal.

This paper shows results obtained after sintering a titanium compound consisting of a mixture of titanium hydride and ammonium bicarbonate that featured a radial porosity gradient. The process was accomplished so that it permitted hydroxyapatite to be incorporated to the compound. As to the obtainment of samples, each stage of powder metallurgical processes, that is, powder mixing, pressing, and sintering heat treatment were studied. The static compression test was used in the mechanical characterization of the obtained material.

The elastic modulus of the compound with radial porosity depicted in this paper ranged between 16.4 and 20 GPa. It correlates well with that of cortical bone. Physical characterization of surface porosity evinced a pore size suitable for bone cell fixation. Results of *in vivo* tests performed on rats of the Wistar strain showed very little fibrous encapsulation at the composite-bone tissue interface. This fact corroborates the good acceptance of the material by the organism. Bone growth was also observed on the surface of the composite material and inside it, indicating adequate response to the osseointegration process in its early stages.

Sumario

1. Introducción.....	1
1.1 Medio biológico y materiales para implantes.....	2
1.2. Generalidades de tejido óseo.....	2
1.2.1. Estructura del hueso.....	2
1.2.1 Reparación de fractura.....	4
1.3. Biomateriales de reemplazo de tejidos duros.....	6
1.3.1. Biomateriales metálicos.....	6
1.3.2. Titanio.....	7
1.4. Interacción implante-tejido óseo. Algunas consideraciones en bioinducción.....	9
1.4.1. Osteointegración vs. Fibrointegración.....	9
1.5. La hidroxiapatita.....	11
1.6. ¿Influye la hidroxiapatita en la bioinducción del titanio?.....	13
1.6.1. La hidroxiapatita como recubrimiento en prótesis. Métodos de deposición.....	14
1.7. Titanio material para prótesis óseas.....	17
1.7.1. Modificaciones hechas al titanio para prevenir stress shielding.....	17
1.7.2. Aleaciones de titanio de bajo módulo.....	18
1.7.3. Titanio poroso ¿Cómo es que los poros modifican la rigidez de un material?.....	18
1.8. Superficies de implantes y osteointegración.....	20
1.9. Pulvimetalurgia del Titanio poroso.....	21
1.9.1 Pulvimetalurgia del compuesto Titanio – hidroxiapatita.....	22
1.9.2. Sinterizado. Problemas con la mezcla titanio-hidroxiapatita.....	22
1.9.3. Compuesto titanio poroso-hidroxiapatita.....	23
1.10 . Fabricación de prótesis de titanio comerciales.....	24
1.11. Hipótesis.....	25
2. Objetivos.....	27
2.1. Objetivo general.....	27
2.2. Objetivos particulares.....	27
3. Materiales y Métodos.....	28
3.1. Trabajos de laboratorio.....	28
3.1.1. Caracterización.....	30
3.2.1. Preparación de muestras, ensayos y equipos.....	30
3.3. Características particulares del proceso de fabricación de material con porosidad radial. Etapas.....	32
3.3.1. Determinación de la mínima temperatura de sinterizado.....	32
3.3.2. Método de obtención de gradientes de porosidad.....	33
a. Pasos para la obtención de material con gradiente de porosidad longitudinal.....	34
b. Pasos para la obtención de material con gradiente de porosidad radial.....	34
3.3.3. Método de fabricación de un compuesto de titanio con gradiente de porosidad conteniendo hidroxiapatita.....	36
3.4. Caracterización biológica.....	36
3.4.1. Metodología de ensayos in-vitro.....	36
3.4.2. Consideraciones y metodología de ensayos in-vivo.....	37
3.4.3. Parámetros usados para indicar índice de calidad de hueso regenerado. BIC y relación Ca/P.....	39
3.4.3.a. BIC (Bone to Implant Contact).....	40
3.4.3.b. Relación calcio-fósforo (Ca/P).....	41
4. Resultados y discusión.....	43
4.1. Criterio de elección del material metálico y atmósfera de sinterizado.....	43

4.2. Estudio de la temperatura en el sinterizado.....	44
4.3. Porosidad intrínsecos, tamaño, cantidad y distribución de poro. Análisis para Ti ₆₀₀ - Ti ₈₀₀ -Ti ₁₀₀₀	47
4.4. Relación de la estructura porosa con la bioinducción y bioactividad.....	50
4.5. Análisis del material con gradiente de porosidad.....	52
4.5.1. Porosidad longitudinal.....	52
4.5.2. Porosidad radial.....	54
4.6. Propiedades mecánicas del material.....	56
4.7. Muestras compactadas a 140 MPa.....	59
4.8. Caracterización biológica.....	64
4.8.1. Ensayos in-vitro.....	64
4.8.2. Ensayos in-vivo.....	64
4.8.3. Análisis del proceso de osteointegración con SEM-EDS.....	67
5. Conclusión.....	72
6. Anexo.....	82
Anexo1.....	82
6.1. Metodología de ensayos in-vitro.....	82
Anexo 2.....	84
6.2. Consideraciones hechas en el analisis de la porosidad de las muestras Ti ₆₀₀ , Ti ₈₀₀ , Ti ₁₀₀₀ mediante analisis digital de imagenes metalograficas.....	84

Índice de ilustraciones

Figura 1: Esquema de hueso. Imagen obtenida de http://mmegias.webs.uvigo.es/guiada_a_oseo.php . Última visita 12/08/2019.....	2
Figura 2: Esquema del proceso de remodelación osea. Fernández-Tresguerres Hernández-Gil I, Alobera Gracia MA, del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. Cirugía bucal. 2006 Agosto.....	4
Figura 3: Pasos del proceso de reparación osea. Imagen adaptada de Sfeir C, Doll BA, Azari K, Hollinger JO. Fracture Repair. InLieberman JR, Friedlaender GE, editors. Bone Regeneration and Repair: Biology and Clinical Applications.: © Humana Press Inc., Totowa, NJ.....	5
Figura 4: Mecanismos involucrados en el proceso de oseointegración. Imagen: Vanegas C, Landinez NS, Garzón-Alvarado DA. Generalidades de la interfase hueso-implante dental. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 2009.....	10
Figura 5: Esquema de titanio oseointegrado y fibrointegrado. http://www.slideshare.net/indiadentalacademy/osseointegration-of-dental-implants . Última visita 12/08/2019.....	11
Figura 6: Esquema de distribución de porosidad en una probeta cilíndrica con porción de hueso osteointegrado.....	25
Figura 7: Esquema de los pasos seguidos en la preparación de los verdes para sinterizar.....	28
Figura 8: Matrices de compactado. De izq. a der. Diam 6mm, Diam.8, Diam. 12.....	29
Figura 9: Operación de compactado.....	30
Figura 10: Esquema de la secuencia de pasos seguida para la determinación de la menor temperatura de sinterizado de material compactado de hidruro de titanio en polvo.....	32
Figura 11: Esquema de material con porosidad radial. La porosidad varía desde el centro denso hacia la periferia porosa.....	33
Figura 12: Matrices usadas para la fabricación de implante para ratas.....	37
Figura 13: Muestra de titanio poroso preparada para evaluar el proceso de osteointegración. Imagen SEM. LAMARX, FAMAFA.....	39

Figura 14: Muestra de titanio poroso osteointegrado. En la imagen SEM se indican los perímetros de contacto hueso - implante (rojo) y perímetro total (amarillo).....	40
Figura 15: Imagen SEM EDS de una muestra de titanio poroso en contacto con apatita.....	41
Figura 16: Ejemplo de cuantificación de Ca, P y Ti en una muestra de titanio poroso.....	41
Figura 17: Ti600. Microestructura de Ti. Temperatura de sinterizado 600°C.....	43
Figura 18: Ti800. Microestructura de Ti. Temperatura de sinterizado 800°C.....	44
Figura 19: Ti1000. Microestructura de Ti. Temperatura de sinterido 1000°C.....	44
Figura 20: Distribución de las áreas de poro en función del factor de forma para material sinterizado a las temperaturas indicadas. Muestras Ti600– Ti800–Ti1000.....	47
Figura 21: Distribución de tamaño de poro en función del factor de forma (Ff) para Ti600	48
Figura 22: Distribución de tamaño de poro en función del factor de forma (Ff) para Ti800	49
Figura 23: Distribución de tamaño de poro en función del factor de forma (Ff) para Ti1000	50
Figura 24: Sección de muestra con porosidad longitudinal. Compuesto fabricado según método indicado en punto 3.3.2 b.....	51
Figura 25: Sección de muestra con porosidad longitudinal.....	52
Figura 26: Muestra de compuesto con porosidad radial preparada para estudio metalográfico.....	53
Figura 27: Muestra metalográfica de compuesto con porosidad radial. Corte transversal.....	53
Figura 28: Sección de muestra con porosidad radial. Detalle de las tres capas. Imagen compuesta.	53
Figura 29: Ti Grad140 . Sección de muestra con porosidad radial con 20 % de porosidad.....	54
Figura 30: TiGrad140 . Sección de muestra con porosidad radial con 40 % de porosidad.....	55
Figura 31: Modulo elásticos EE, EN en función de la porosidad.....	59
Figura 32: Detalle material gradiente de porosidad. 20 % + 20 % HA. detalle de la capa con HA..	62
Figure 33: Compuesto TiHA20%. Picos característicos de titanio (2θ 40°) e hidroxiapatita en el rango 31° - 34°.....	63
Figura 34: Implante en contacto con hueso.....	64
Figura 35: Implante en contacto con hueso.....	65
Figura 36: Implante en contacto con hueso y médula.....	66
Figura 37: Implante en contacto con médula.....	66
Figura 38: Implante Ti poroso (indicación flecha blanca) en contacto con hueso.....	67
Figura 39: Implante Ti con HA (indicación flecha blanca) adherido al hueso.....	67
Figura 40: Implante Ti macizo (indicación flecha blanca) en contacto con hueso.....	67
Figura 41: Imagen SEM. Implante titanio denso adherido al hueso. La imagen corresponde a un corte transversal del femur de una rata cepa Wstar. En la imagen se muestra en primer plano (pieza en gris claro).....	67
Figura 42: Imagen SEM. Implante titanio poroso adherido al hueso. La imagen corresponde a un corte transversal del femur de una rata cepa Wstar.....	68
Figura 43: Imagen SEM. Implante titanio-hidroxiapatita adherido al hueso.....	68
Figura 44. Mapeo completo EDS. Muestra de implante osteointegrado correspondiente a Figura 43.	69
Figura 45. Histograma mapeo SEM-EDS, elementos químicos presentes en mayor porcentaje correspondiente a Figura 43.....	69
Figura 46. Mapeo SEM-EDS del elemento titanio en la muestra de la figura 43.....	69
Figura 47. Mapeo SEM-EDS del elemento fósforo en la muestra de la figura 43.....	69
Figura 48. Mapeo SEM-EDS del elemento calcio en la muestra de la figura 43.....	69
Figura 49. Distribución de áreas de poros en función del Factor de forma. Ti600.....	84
Figura 50: Micrografía Ti600.....	84
Figura 51. Frecuencia de tamaño de poro. Ti600.....	84
Figura 52. Frecuencia de Factor de forma. Ti600.....	85
Figura 53. Distribución de áreas de poros en función del Factor de forma. Ti800.....	86

Figura 54. Micrografía Ti800.....	86
Figura 55. Frecuencia de tamaño de poro. Ti800.....	86
Figura 56. Frecuencia de Factor de forma. Ti800.....	87
Figura 57. Distribución de áreas de poros en función del Factor de forma. Ti1000.....	88
Figura 58. Micrografía Ti1000.....	88
Figura 59. Frecuencia de tamaño de poro. Ti800.....	88
Figura 60. Frecuencia de Factor de forma. Ti1000.....	89

Índice de tablas

Tabla 1: Propiedades mecánicas del titanio. Tabla adaptada de http://www.rtiintl.com/Titanium/RTI-Titanium-Alloy-Guide.pdf . Última visita: 20/09/2018.....	7
Tabla 2: Propiedades mecánicas de metales y aleaciones usados en la fabricación de prótesis. Niinomi M, Nakai M. Titanium-Based Biomaterials for Preventing Stress Shielding between Implant Devices and Bone. International Journal of Biomaterials. 2011.....	8
Tabla 3: Probetas de titanio. Designación según temperatura de sinterizado.....	21
Tabla 4: Los porcentajes indicados representan la proporción en volumen ocupado por cada componente en cada capa. Imagen de la derecha: esquema indicativo de distribución de las capas longitudinales.....	22
Tabla 5: Los porcentajes indicados representan la proporción en volumen ocupado por cada componente en cada capa. Imagen de la derecha: esquema indicativo de la distribución radial de capas.....	23
Tabla 6: Designación de las muestras compactadas a 140 MPa.....	24
Tabla 7: Resumen de pasos seguidos en la preparación de muestras biológicas para evaluar proceso de osteointegración.....	27
Tabla 8: Caracterización mecánica de las muestras Ti ₆₀₀ , Ti ₈₀₀ , Ti ₁₀₀₀	39
Tabla 9: Resultados de análisis digital de imágenes metalográficas de Ti ₆₀₀ , Ti ₈₀₀ , y Ti ₁₀₀₀	40
Tabla 10: Datos caracterización mecánica de material Ti con gradiente de porosidad radial.....	48
Tabla 11: Valores de módulo elástico estimado con modelo de Nielsen para distintos valores de F _f 50	
Tabla 12: Módulo elástico de las muestras Ti ₆₀₀ , Ti ₈₀₀ , Ti ₁₀₀₀ medido por compresión E _E y calculado con modelo de Nielsen E _N	51
Tabla 13: Valores de Módulo elástico E _E y E _N en material compactado a 140 MPa.....	52
Tabla 14. Tamaño de área de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti ₆₀₀	75
Tabla 15. Datos de tamaño de área. Ti ₆₀₀	75
Tabla 16. Factor de forma de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti ₆₀₀	76
Tabla 17. Datos de Factor de forma de área. Ti ₆₀₀	76
Tabla 18. Tamaño de área de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti ₈₀₀	77
Tabla 19. Datos de tamaño de área. Ti ₈₀₀	77
Tabla 20. Factor de forma de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti ₈₀₀	78
Tabla 21. Datos de Factor de forma de área. Ti ₈₀₀	78
Tabla 22. Tamaño de área de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti ₁₀₀₀	79
Tabla 23. Datos de tamaño de área. Ti ₁₀₀₀	79
Tabla 24. Factor de forma de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti ₁₀₀₀	80
Tabla 25. Datos de Factor de forma de área. Ti ₁₀₀₀	80

1. Introducción

Los estudios realizados por Bothe y su equipo en la primera mitad del siglo pasado, evidenciaron la buena respuesta tisular del titanio. La conclusión surgió como resultado de los estudios realizados para analizar la reacción que distintos metales producían en contacto con tejido vivo [1]. Otro estudio [2] mostró la capacidad del titanio para integrarse con el tejido óseo formando una unión firme y duradera. El estudio señala que en las experiencias in-vivo realizadas, luego de las 16 semanas de implantados tornillos de titanio en huesos de ratas, la unión entre materiales era tal que en algunos casos al retirar el implante se rompía el hueso. Otro trabajo señala que para estudiar cambios en el tejido óseo y medular bajo condiciones controladas de lesión ósea, se ideó un sistema de estudio in-vivo implantando cámaras en huesos de conejo protegidas con una carcasa de titanio. Comenta el autor que luego de un tiempo se formaba una unión entre hueso y titanio tal que no se podían separar. Una vez concluido el trabajo, los estudios histomorfométricos mostraban una superficie continua donde el hueso nuevo copiaba la superficie de la carcasa de titanio [3]. De este y otros trabajos Brånemark et al. [4] desarrolló un nuevo termino para indicar este fenómeno de unión hueso-titanio que se producía sin reacciones adversas para el organismo al que denominó **osteointegración** y predijo el éxito funcional de los implantes dentales de titanio a largo plazo debido a la propiedad del hueso de desarrollarse en contacto íntimo con el titanio.

Esta breve reseña de las primeras investigaciones realizadas para estudiar la interacción entre distintos materiales y el tejido óseo ilustra cuál fue el camino que llevó al titanio a ser el material más utilizado en la fabricación de implantes. Pero a pesar de las propiedades del titanio como biomaterial, muchos son los trabajos que se han realizado analizando los problemas que surgían una vez colocados los implantes después de un tiempo de funcionamiento.

El estudio de los distintos fenómenos físicos y bioquímicos en los procesos de osteointegración ha generado un vocabulario específico destinado a identificar e individualizar características particulares del proceso. Como ejemplo se puede indicar que la primera condición que debe cumplir un material para ser considerado candidato para fabricar un implante óseo, es que debe ser biocompatible; pero no todos los materiales biocompatibles son aptos para esta función. En este sentido las definiciones de osteoinducción, osteoconducción y osteointegración no siempre son utilizadas adecuadamente, incurriendo algunos autores en errores a la hora de indicar los fenómenos que estudian. En [5] se define a la **osteoinducción** como el proceso por el cual células no diferenciadas son estimuladas para formar células óseas. Para la **osteoconducción** se indica que el término hace referencia al proceso por el cual una superficie dada, permite el crecimiento de tejido óseo sobre ella y señala a la **osteointegración** como “el contacto directo entre hueso e implante a vista de microscopio”. El Dorland’s Illustrated Medical Dictionary, describe a la osteointegración como: “el anclaje directo de un implante por la formación de tejido óseo alrededor del implante sin crecimiento de tejido fibroso en el hueso o la interfaz implante-hueso”.

Finalmente se concluye en [5] que los tres términos están relacionados pero describen fenómenos diferentes, señalando a la osteointegración como la culminación de un proceso exitoso de integración entre hueso y material implantado que se mantiene funcional en el tiempo.

1.1 Medio biológico y materiales para implantes.

Dada la complejidad de los fenómenos que abarca el concepto de osteointegración, primeramente se describirán algunos aspectos generales de los materiales involucrados en el proceso, analizando cada uno por separado y teniendo presente que desde el punto de vista biológico, la formación del hueso en la interfase con un material implantado es similar al proceso de cicatrización de una fractura. [6], [7].

1.2. Generalidades de tejido óseo.

1.2.1. Estructura del hueso.

Los huesos son los elementos estructurales del cuerpo humano y su función se determina principalmente por las propiedades mecánicas de los materiales que los componen. Histológicamente, el hueso es un tejido conjuntivo mineralizado, vascularizado e innervado, conformado por células especializadas y una matriz extracelular. La matriz, a su vez, está conformada por componentes orgánicos e inorgánicos. El componente orgánico es principalmente colágeno tipo I y el componente inorgánico es fosfato cálcico ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) cristalizado, denominado comúnmente hidroxiapatita.

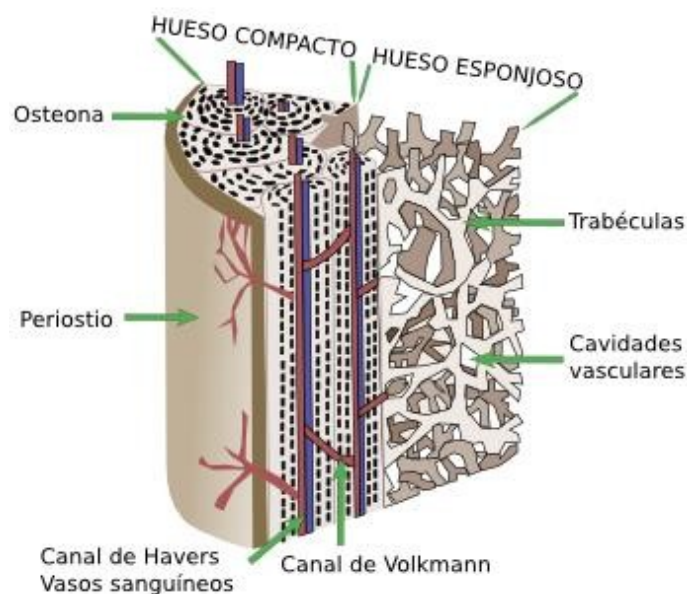


Figura 1: Esquema de hueso. Imagen obtenida de http://mmegias.webs.uvigo.es/guiada_a_oseo.php. Última visita 12/08/2019.

De acuerdo al aspecto macroscópico, un hueso presenta dos estructuras bien definidas. En la Figura 1 se ilustran estas dos estructuras: el hueso esponjoso, en el cual el tejido óseo se dispone en trabéculas que delimitan cavidades, dentro de las que se ubican normalmente la médula ósea y

numerosos vasos sanguíneos y el hueso cortical o compacto que está formado por una matriz muy densa sin cavidades macroscópicas. Este tejido se estructura en laminillas de matriz extracelular, que se pueden disponer de manera paralela (hueso compacto laminar) o formando osteonas, compuestas por canales con laminillas concéntrica. Estos canales, que contienen los vasos sanguíneos de la corteza, se denominan canales de Havers, y se comunican por conductos transversales, llamados canales de Volkmann. La rigidez de la matriz extracelular comparada con la de otros tejidos del cuerpo humano, hace que se cumpla una de las funciones básicas de los huesos que es la de soporte ya que proveen un cuadro rígido para músculos y tejidos blandos.

Otra característica del tejido óseo es su capacidad para autorepararse. Esta propiedad depende de los tipos celulares que constituyen el hueso y el proceso que tiene lugar durante la autocuración del hueso, mecanismo que se denomina de remodelación ósea. En el hueso hay tres tipos celulares ocupados de la síntesis, degradación y mantenimiento óseo: **osteoclastos**, **osteoblastos** y **osteocitos**. La acción conjunta de estas células es lo que le da la capacidad de regeneración al tejido [8]. Luego de sufrir un trauma (como una fractura o la colocación de un implante) el tejido dañado puede ser reemplazado por hueso nuevo idéntico al preexistente, a través del mecanismo de remodelación. Los osteoclastos se encargan de eliminar hueso, tanto matriz ósea mineralizada como orgánica, mediante un proceso denominado resorción. Los osteoblastos son células especializadas en la síntesis de matriz ósea y son las responsables del crecimiento y la remodelación del hueso. Cuando los osteoblastos se rodean de matriz ósea, quedan encerrados en cavidades llamadas lagunas óseas y se diferencian a osteocitos. Los osteocitos son las células más abundantes en el hueso maduro y tienen una función de mantenimiento de la matriz ósea. A nivel microscópico el remodelado óseo se produce en pequeñas áreas de la corteza o de la superficie trabecular denominadas unidades básicas multicelulares. La resorción siempre precede a la formación y en el esqueleto joven, las cantidades de hueso reabsorbidas son similares a las sintetizadas, produciéndose una renovación del 10 % al 15 % de la masa ósea total al año. Esto se mantiene con pequeñas variaciones hasta aproximadamente la quinta década de vida. A partir de aquí la reabsorción predomina claramente y la densidad de la masa ósea empieza a disminuir.

Éste proceso de remodelación puede dividirse en cinco fases, que se ilustran en la Figura 2. La primera (**Fase Quiescente**) es una condición de reposo. Luego viene la **Activación**, donde, por factores que aún son desconocidos, comienza el proceso de remodelado, con la retracción de los osteocitos de la matriz mineralizada. Seguidamente ocurre la **Reabsorción**, donde los osteoclastos comienzan a disolver la matriz mineral. En la cuarta fase, denominada **Formación**, factores liberados por la matriz absorbida reclutan preosteoblastos (precursores osteoblásticos), que se diferencian a osteoblastos y comienzan a sintetizar sustancia osteoide. Por último, esta sustancia comienza a mineralizarse, para terminar en una nueva fase Quiescente. En el ser humano este proceso lleva de 90 a 130 días .

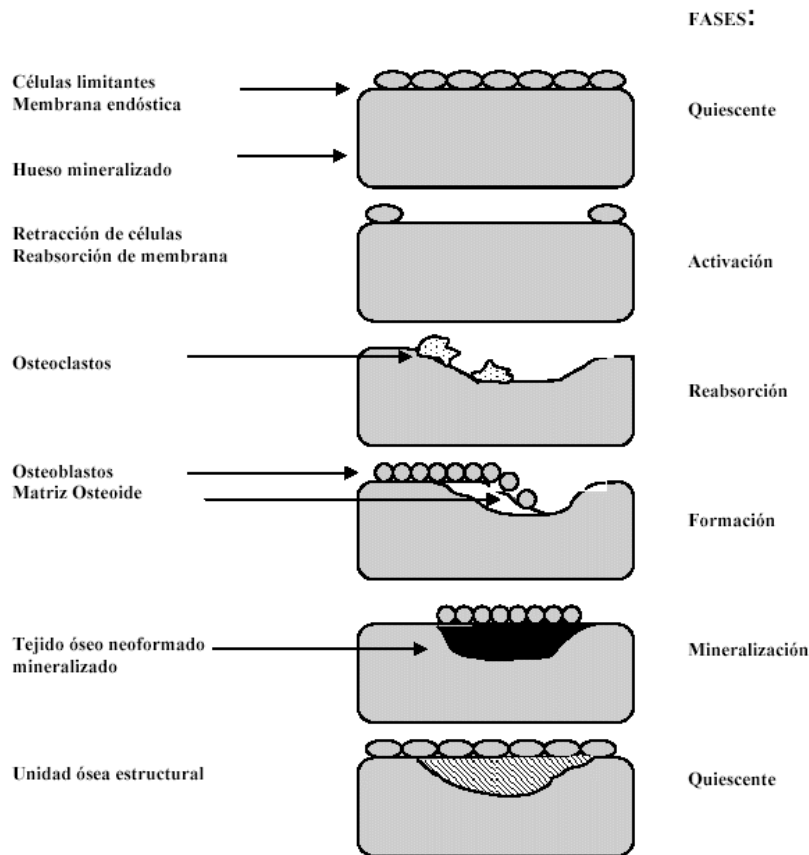


Figura 2: Esquema del proceso de remodelación ósea. Fernández-Tresguerres Hernández-Gil I, Alobera Gracia MA, del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. Cirugía bucal. 2006 Agosto..

1.2.1 Reparación de fractura

A diferencia de otros tejidos, en el hueso la curación de una fractura ocurre sin el desarrollo de una cicatriz fibrosa. El resultado de la reparación normal, independientemente de la forma en que ocurra, es la regeneración ósea y el recobro total de funcionalidad del tejido. La curación de una fractura puede dividirse en dos categorías: **Primaria** o directa y **Secundaria** o indirecta. Las mismas se describen brevemente a continuación sin detallar procesos a niveles celulares o moleculares.

La curación **Primaria** no representa al proceso natural de reparación ya que requiere una reducción en los extremos de la fractura y una fijación estable. Sin embargo representa el ideal para la remodelación de hueso lamelar. Debido a que durante el proceso no se forma un callo, el hueso cortical es reconocido por el organismo como el principal material implicado en este proceso con mínima participación del periostio, tejidos circundantes y médula ósea [9].

La curación ósea **Secundaria** es la forma más común de curación de una fractura, se caracteriza por ser espontánea ya que se presenta en ausencia de una fijación rígida en el lugar de la fractura, e incluso es mejorada por micromovimientos y carga del hueso [10].

Los procesos que se ven envueltos en la reparación ocurren en tres etapas: fase inflamatoria, fase reparativa y fase de remodelación. Las fases no se presentan de manera aislada sino que se solapan y constituyen un proceso continuo de curación. La Figura 3 ilustra el proceso cuyas etapas se describen a continuación:

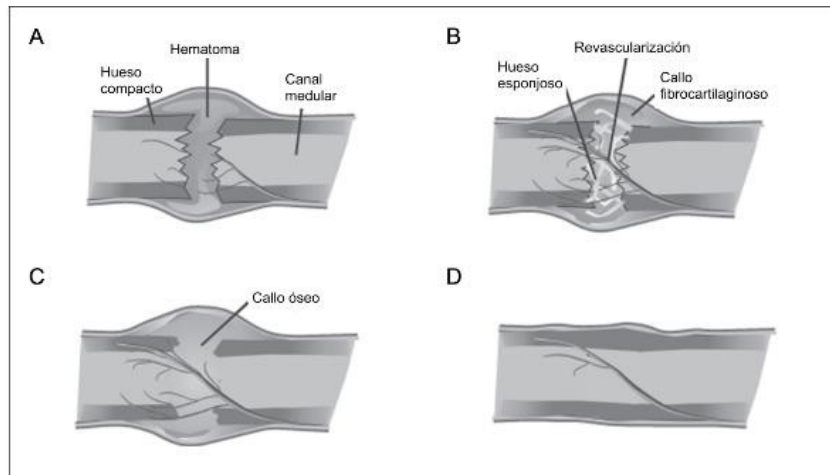


Figura 3: Pasos del proceso de reparación ósea. Imagen adaptada de Sfeir C, Doll BA, Azari K, Hollinger JO. *Fracture Repair*. In Lieberman JR, Friedlaender GE, editors. *Bone Regeneration and Repair: Biology and Clinical Applications*.: © Humana Press Inc., Totowa, NJ.

Fase inflamatoria. Ocurre de manera inmediata al proceso traumático y su objetivo es inmovilizar la fractura. El daño vascular origina la formación de un hematoma (Figura 3, A) el cual sirve como plantilla para la formación del callo [11].

Fase reparativa. En esta etapa se forma un callo blando alrededor de la fractura y conjuntamente comienza la revascularización de la zona afectada por la fractura (Figura 3, B). La finalidad del callo blando es mejorar la estabilidad mecánica ofreciendo soporte lateral. El mismo puede estar compuesto de tejido conectivo fibroso, vasos sanguíneos, cartílago y tejido óseo, aunque tanto la composición, como la velocidad de reparación pueden diferir dependiendo del sitio de fractura, la extensión del tejido dañado alrededor y la estabilidad mecánica. Para que continúe la regeneración ósea el callo fibrocartilaginoso necesita ser reabsorbido y reemplazado por un callo duro mediante osificación intramembranosa y endocondrial para establecer el nuevo tejido óseo (Figura 3, C).

Fase de remodelación. El tejido óseo se reemplaza por hueso lamelar y el callo en exceso formado previamente se retrae (Figura 3, D).

1.3. Biomateriales de reemplazo de tejidos duros

Los materiales usados en el reemplazo de tejido duro deben poseer un amplio número de propiedades para que una vez implantados el proceso de osteointegración se complete exitosamente. La cantidad de puntos que deben tenerse en cuenta hace que las investigaciones aborden el problema estudiando parcialmente los aspectos relacionados con la osteointegración. La adecuación del valor del módulo elástico del titanio respecto del hueso cortical tiene en los materiales porosos una herramienta prometedora.

La respuesta fisiológica de un medio biológico en presencia de un material se puede usar para estudiar el modo en que el ambiente puede influenciar propiedades químicas, físicas y mecánicas de manera tal de determinar cuál sería el o los materiales más apropiados para uso implantológico según la función que se pretende cumplan en el organismo. Esto hace del estudio de los biomateriales para implantes, un desafío complejo y multidisciplinario. La utilización de materiales de reemplazo óseo es una realidad en la práctica clínica actual; ya que el aumento de la expectativa de vida lleva implícita la necesidad de mantener el bienestar de una población cada vez más longeva y el aumento de los accidentes y el auge de deportes extremos hace que se vea incrementada notablemente la necesidad de implantes. En los seres humanos es a partir de los cincuenta años de edad donde el proceso de resorción ósea predomina sobre la síntesis ósea, lo que provoca una disminución de la calidad de la masa total de hueso [12]. El envejecimiento, sumado a las enfermedades y los accidentes traumáticos son las principales causas por las que tejidos duros como huesos y piezas dentales son dañados, resultando habitual la asistencia a la regeneración propia del hueso en caso de fracturas con sistemas de fijación y osteosíntesis o la sustitución de tejidos duros, en caso de su pérdida, con prótesis ortopédicas e implantes dentales.

1.3.1. Biomateriales metálicos

De los biomateriales utilizados en aplicaciones ortopédicas y odontológicas, son los metales los materiales cuya resistencia mecánica los hace aptos para implantes en tejidos duros. Los metales y aleaciones que se utilizan actualmente en la fabricación de implantes son: acero inoxidable, aleaciones de cobalto, titanio CP y aleaciones de titanio como la Ti-6Al-4V. Este tipo de materiales se utiliza generalmente en situaciones donde el implante debe soportar carga y permanecer largos periodos de tiempo dentro del cuerpo. Los usos más frecuentes son: prótesis de cadera, reemplazo de rodilla, implantes dentales. En otros casos pueden actuar también como plantillas para la regeneración tisular o scaffolds [13]. Si además de la resistencia mecánica se buscan otras propiedades, algunos autores señalan que, tanto los polímeros como los cerámicos suman ventajas debido a su condición de materiales biodegradables y bioreabsorbibles; propiedades que los hacen aptos para implantes que no deban soportar cargas o puedan ser usados como soporte (scaffolds) para estudios in-vitro [14], [15]. Para la sustitución ósea a largo plazo, los scaffolds metálicos se utilizan por su rigidez en situaciones donde la estructura de andamiaje se logra creando poros en el material de tamaño y distribución controlada, aunque la porosidad disminuye propiedades mecánicas tales como resistencia a la compresión y resistencia a la corrosión [9], [16]. En los casos donde se logra interconectividad de poros en el material del implante, se ve facilitado el crecimiento

de hueso en el seno del material, fenómeno que mejora la fijación y estabilidad a largo plazo del implante. En [17] se explica como las estructuras porosas favorecen el crecimiento óseo a su alrededor debido a la mayor área en contacto con el tejido y un tamaño adecuado de poro facilita el anclaje, diferenciación y crecimiento de osteoblastos [18]. Si bien existe discrepancia en cuanto al tamaño que deben tener los poros, distintas experiencias de laboratorio indican que el intervalo más apropiado para el crecimiento de hueso se da en el rango de 50 μm a 400 μm . No obstante en [14] se indica un tamaño mínimo de poro de 150 μm para tener un medio adecuado para la reorganización ósea y la vascularización del hueso en formación.

1.3.2. Titanio

Desde que Bothe [1] demostró que el Titanio en contacto con tejido vivo no produce una reacción adversa con el tejido circundante y no se degrada produciendo residuos tóxicos para el organismo, su uso en aplicaciones biomédicas se ha difundido ampliamente como material de reemplazo de tejidos duros y en menor medida en aplicaciones cardíacas y cardiovasculares en la fabricación de stents, válvulas cardíacas artificiales y marcapasos.

Las propiedades del titanio como biomaterial son bien conocidas [19]. Los estudios in-vivo muestran que el titanio es un material sorprendente que permite integrar el tejido vivo circundante sin generar condiciones adversas o desarrollar procesos inflamatorios.

El titanio es un elemento químico de aspecto plateado que pertenece al grupo de los metales de transición. Número atómico 22. El símbolo químico del titanio es Ti. El punto de fusión del titanio es de 1941 K (1668,85 $^{\circ}\text{C}$). Fue descubierto en 1791 por Willian Gregor que lo describió a partir del mineral conocido como ilmenita (FeTiO_3). Es un metal que posee muy buena resistencia a la corrosión. En la Tabla 1 se indican las propiedades mecánicas de las formas comerciales del titanio puro y la de su aleación más difundida.

Propiedades	Titanio sin alear				Aleación Ti-6Al-4V
	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	
Densidad [g/cm^3]	4,51	4,51	4,51	4,51	4,43
Punto de fusión [$^{\circ}\text{C}$]	1670	1660	1660	1660	1650
Módulo de elasticidad long. [GPa]	103	103	103	105	114
Módulo de elasticidad trans. [GPa]	41	41	43	45	42

Tabla 1: Propiedades mecánicas del titanio. Tabla adaptada de <http://www.rtiintl.com/Titanium/RTI-Titanium-Alloy-Guide.pdf>. Última visita: 20/09/2018

Si se considera que la interacción con tejido duro una vez implantado produce una cohesión firme entre el material del implante y el tejido regenerado que lo aloja, desde ese punto de vista, la rigidez del titanio se considera una ventaja biomecánica respecto a otros metales y aleaciones [20]. En la Tabla 2, se ve que el módulo de elasticidad longitudinal (E) del titanio es significativamente menor al de otras aleaciones (Acero 316L, Co-Cr) usadas en la fabricación de prótesis.

Metal o aleación	Módulo elástico (E) [GPa]
Aleaciones Co-Cr	210
Acero inoxidable 316L	180
Ti y sus aleaciones	110

Tabla 2: Propiedades mecánicas de metales y aleaciones usados en la fabricación de prótesis. Niinomi M, Nakai M. Titanium-Based Biomaterials for Preventing Stress Shielding between Implant Devices and Bone. International Journal of Biomaterials. 2011.

Sin embargo el valor del módulo elástico del titanio supera significativamente al módulo de la corteza ósea ($E_{Ti} = 110$ GPa; $E_{Hueso} = 2-20$ GPa) [12], lo que provoca el fenómeno denominado **stress shielding** o apantallamiento de tensiones. Como consecuencia del fenómeno de stress shielding, en el sitio de implantación de una prótesis metálica, se produce con el tiempo una reducción en la densidad del hueso que la rodea (osteopenia), como resultado de la falta de carga actuando en el hueso que es tomada por el implante de mayor rigidez. La remodelación ósea se produce en respuesta a las cargas que actúan sobre el hueso. Sin este estímulo el hueso pierde densidad y se debilita ya que es este estímulo, el que mantiene la continua remodelación de la masa del hueso.

Además de las propiedades mecánicas del titanio su uso en distintas aplicaciones biomédicas está dado por la **biocompatibilidad** de este material. La biocompatibilidad del titanio está ampliamente probada y se debe a la formación de una película de óxido (TiO_2) sobre la superficie del material cuando el metal entra en contacto con el oxígeno, fenómeno denominado pasivado. El TiO_2 constituye una capa fina y estable que se forma espontáneamente cuando el metal entra en contacto con el aire que evita la difusión de oxígeno al interior del material evitando su degradación; de esta forma el titanio se torna inerte frente a agentes oxidantes como tejidos y fluidos corporales y en contacto con estos, no se desarrollan procesos infecciosos. Teniendo en cuenta esta propiedad se puede analizar el fenómeno mas en detalle.

Cuando hay contacto directo entre titanio u otros materiales biocompatibles con tejido óseo la interacción específica entre material y organismo permite indicar tres tipos de comportamiento de los biomateriales:

Biotolerantes son aquellos que muestran osteogénesis distante: con contacto indirecto entre hueso neoformado y el material.

Bioinertes. Materiales que presentan osteogénesis directa: formación de hueso en contacto directo con el material implantado.

Bioactivos. Son materiales en los que se verifica osteogénesis de unión: formación de hueso mediante uniones químicas o biológicas con el material.

El titanio por sí solo no posee propiedades para adherirse químicamente al tejido óseo, razón por la cual se lo considera **bioinerte**, como consecuencia la unión entre estos materiales es mecánica. Sin embargo distintos autores han trabajado en tratamientos superficiales que buscan mejorar la conductividad ósea del titanio o tornarlo bioactivo [21], [22], [23], [24]. En este sentido retomando la definición de osteointegración y dada la característica bioinerte del titanio, es importante tener

presente la estabilidad del implante a largo plazo. Se mencionan las dos formas de estabilidad definidas por Manresa et al. [25].

Estabilidad primaria. Es aquella que implica el acoplamiento mecánico de un implante al hueso circundante.

Estabilidad secundaria. Ocurre posteriormente a la estabilización primaria y es la estabilidad biológica obtenida con la regeneración ósea y el proceso de remodelación alrededor del implante y para que ocurra es necesaria la conexión estructural y funcional del hueso con el implante. Si las condiciones son las adecuadas, el tejido óseo se regenera en estrecho contacto con el titanio. Sin embargo, el titanio y el hueso se hallan separados por una capa muy delgada no mineral de óxido de titanio, nunca mayor a $0,4\ \mu\text{m}$ y la verdadera adhesión del titanio al hueso no se ha observado [26]. La oseointegración se atribuye al anclaje mecánico de la superficie rugosa o porosa del titanio a las estructuras óseas contiguas.

La enumeración de la cantidad y complejidad de procesos biológicos que ocurren en un proceso de reparación ósea natural hace del desarrollo de biomateriales para reemplazo óseo un área de estudio que debe tener en cuenta gran cantidad de factores. Para una prótesis de titanio el proceso de osteointegración completo se debe desarrollar de manera tal que no provoque procesos infecciosos en el organismo receptor (material biocompatible), que promueva los procesos de adhesión y crecimiento óseo (materiales bioinductivos) y que eviten el fenómeno de resorción ósea debido al fenómeno de stress shielding (materiales biofuncionales). En este sentido las investigaciones sobre materiales para reemplazo óseo siguen líneas de trabajo donde el desarrollo de una técnica que resuelve un problema específico con buenos resultados; pero al no desarrollarse en el contexto general de un proceso de osteointegración puede volver los buenos resultados inaplicables. En el caso del titanio para uso biomédico las áreas de trabajos se desarrollan buscando resolver aspectos relacionados con la bioinducción de manera tal de garantizar la fijación de la prótesis. En este sentido se trabaja en la fabricación de compuestos de titanio combinados con agentes que mejoren la biactividad, procesos para la adecuación de las superficies de las prótesis para garantizar una buena osteoinducción y dotar al titanio con características biofuncionales tales que una vez implantados y en funcionamiento no desarrollen los problemas derivados del stress shielding.

1.4. Interacción implante-tejido óseo. Algunas consideraciones en bioinducción.

1.4.1. Osteointegración vs. Fibrointegración

Domínguez [27], explica que la oseointegración del titanio es la aptitud que tiene este metal de formar una conexión directa, estructural y funcional entre el hueso vivo y la superficie de un implante endoóseo cargado funcionalmente, que produce una unión mecánica directa y estable sin interposición de tejido conectivo. Esto indica que el éxito del proceso depende de que el implante osteointegre. Entonces ¿cómo se verifica que el proceso sea exitoso?

La verificación se hace con herramientas de la práctica clínica mediante pruebas funcionales y estudio radiográfico. Ambos métodos permiten analizar la evolución del proceso de osteointegración sin la necesidad de extraer el implante. Las otras técnicas requieren de la

preparación de muestras para observación con microscopio. En los primeros estudios realizados se aceptaba que las imágenes debían poder verse en el rango de la microscopía óptica convencional donde se debía verificar la presencia de matriz ósea calcificada en contacto con el implante, sin presencia de tejido fibroso interpuesto. Vanegas et al. [28] explica que el proceso de oseointegración depende de la ocurrencia de los siguientes procesos (Figura 4).

Osteoinducción: es la diferenciación de precursores osteoblásticos en osteoblastos o células osteoprogenitoras (Figura 4-a).

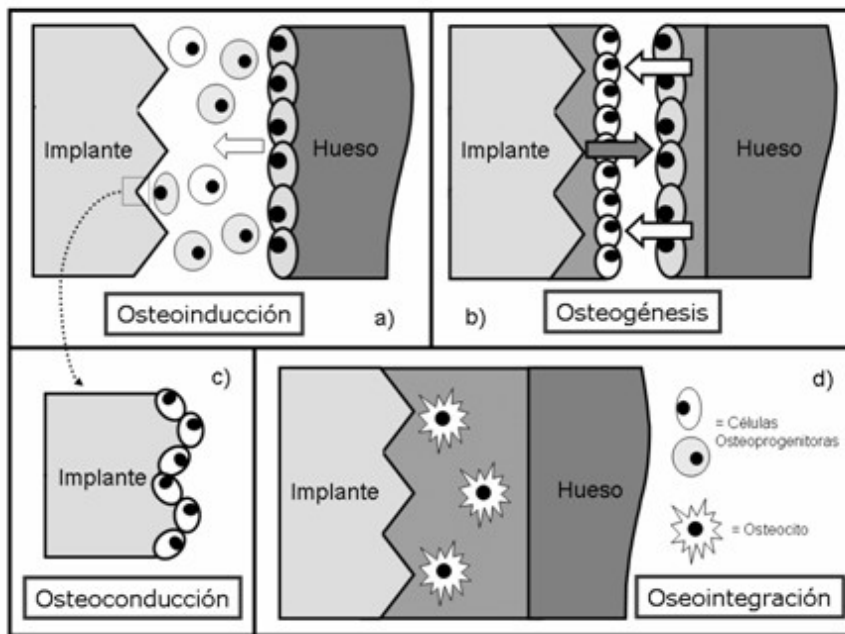


Figura 4: Mecanismos involucrados en el proceso de oseointegración. Imagen: Vanegas C, Landinez NS, Garzón-Alvarado DA. Generalidades de la interfase hueso-implante dental. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 2009.

Osteogénesis: es la deposición de nueva matriz ósea por parte de estas células. Puede ocurrir por contacto, cuando el nuevo hueso se forma desde la superficie del implante (Figura 4-b, flecha gris) o a distancia, cuando lo hace desde la superficie de hueso circundante (Figura 4-b, flecha blanca).

Osteoconducción (Figura 4-c): es la colonización de la superficie del implante por los osteoblastos.

Las características físicas y químicas del titanio hacen que se cumpla con las etapas descritas razón de su extendido uso en prótesis e implantes ya que el material por sí solo es capaz de osteointegrarse. Sin embargo, existen factores que independientemente de las cualidades del titanio como biomaterial, deben ser tenidos en cuenta para que el proceso de osteointegración no fracase. Mónaco y Dinatale [29] señalan los siguientes factores relacionados con la práctica quirúrgica: la carga prematura del sistema, la invaginación del periostio, el recalentamiento del hueso durante la preparación quirúrgica (no deben superarse los 47 °C), la colocación del implante con exceso de presión que puede provocando necrosis ósea, que el implante no se ajuste al sitio de

implantación de forma exacta y una incorrecta esterilización del material; generan condiciones que de producirse conducirían al fracaso del proceso de implantación. De darse cualquiera de las condiciones anteriores puede producirse el fracaso del proceso de implantación y la cohesión entre el material y el tejido no será de **oseointegración**, sino de **fibrointegración**, proceso que se caracteriza por la formación de tejido fibroso entre el hueso y el implante. Ambos casos se ilustran en forma esquemática en la Figura 5. El encapsulamiento de la pieza de titanio en tejido de cicatrización fibroso mal diferenciado crea movimientos que lleva a reacciones inflamatorias exageradas de la mucosa y finalmente al fracaso del proceso de osteointegración.

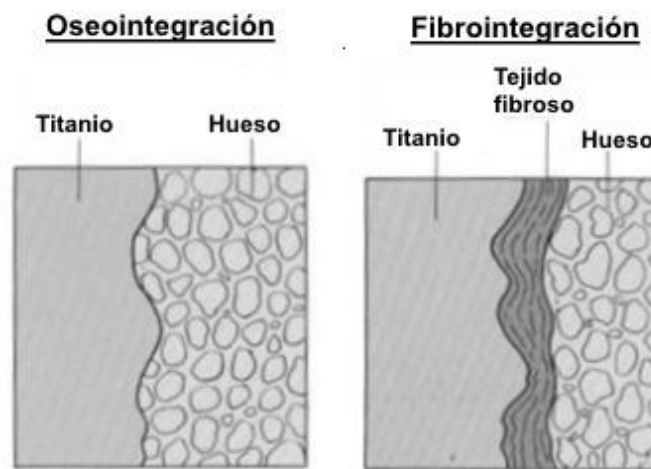


Figura 5: Esquema de titanio oseointegrado y fibrointegrado.

<http://www.slideshare.net/indiadentalacademy/osseo-integration-of-dental-implants>. Última visita 12/08/2019

Un ejemplo común de encapsulamiento fibroso es el que se da en prótesis dentales, causa frecuente de falla del proceso de implantación. Pequeños movimientos y cargas prematuras sobre el implante pueden desencadenar la formación de tejido blando entre el implante y el hueso evitando la osteointegración. **Este fenómeno se podría prevenir acelerando el proceso de osteointegración aprovechando la bioactividad de la hidroxiapatita actuando en conjunto con el titanio** [30]. Las similitudes físicas y químicas de este cerámico con la parte inorgánica del hueso contribuye a suplir la falta de propiedades osteoinductivas en los sustratos de titanio acelerando la osteointegración de la prótesis .

1.5. La hidroxiapatita

Los aloinjertos óseos son materiales constituidos de hueso natural, osteoconductores y hasta cierto punto osteoinductores, usados en cirugía de reparación ósea. Pero presentan el problema de tener

baja osteogénesis y pueden generar reacciones inmunológicas además de tener una baja resistencia mecánica. La familia de las cerámicas del fosfato de calcio (apatitas) son materiales biodegradables, biocompatibles y bioactivos. Su parecido con la parte inorgánica del hueso los convierte en buenas alternativas a los autoinjertos y aloinjertos [31].

Dentro de la familia de las apatitas, la hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) es el principal componente inorgánico de los huesos (~ 70% del tejido óseo) presenta ventajas sobre otros biomateriales, que incluyen buena biocompatibilidad, bioactividad y protocolos de síntesis relativamente simples para la fabricación. Este cerámico se combina con polímeros naturales o sintéticos o factores de crecimiento celular para imitar la estructura natural del hueso con el fin de lograr la formación y regeneración ósea. [32]. Desde el punto de vista biológico la combinación titanio-hidroxiapatita se podría usar en la fabricación de prótesis endoóseas.

En la práctica clínica la hidroxiapatita se usa en implantes dentales, sistemas percutáneos, aumento de la cresta alveolar, ortopedia, cirugía maxilofacial, cirugía espinal y algunos otros usos. En estas aplicaciones los diferentes tipos de fosfatos de calcio se utilizan como recubrimientos de piezas metálicas para mejorar la bioactividad del material base o como rellenos, ya que promueven los procesos de osteointegración.

Los distintos tipos de cerámicos de fosfato de calcio se pueden clasificar según el modo en que reaccionan con el medio biológico en: cerámicos reabsorbible y cerámicos bioactivos. En un medio biológico la estabilidad a largo plazo de las fases cerámicas de fosfatos de calcio dependen considerablemente de la temperatura, del contenido de agua y de las características propias del medio circundante con el que van a interactuar [33], [34]. A temperatura corporal sólo dos fosfatos de calcio son estables en un medio acuoso como los fluidos corporales: para un $\text{pH} < 4.2$, la Brushita o fosfato dicálcico y para un $\text{pH} > 4.2$, la hidroxiapatita. A temperaturas más elevadas se presentan otros fosfatos de calcio tales como el fosfato tricálcico o fosfato tetracálcico. Estos últimos, a $37\text{ }^\circ\text{C}$ pueden reaccionar con los fluidos corporales para formar hidroxiapatita [35]. La microestructura es también importante puesto que una estructura porosa tiende a aumentar la solubilidad de dichas fases.

Otro de los factores que influye en las aplicaciones de los fosfatos de calcio, en particular la hidroxiapatita, son sus propiedades mecánicas. Factores tales como: el grado de porosidad del material, módulo elástico y resistencia a la corrosión influyen en la resistencia mecánica y la resistencia a fatiga. En general, las cerámicas de la familia de los fosfatos de calcio son poco resistentes a la tracción en medio fisiológico. Por esta razón, clínicamente se utilizan en forma de polvo o gránulos, en implantes dentales con postes metálicos de refuerzo, recubrimientos sobre implantes metálicos, implantes porosos sometidos a cargas bajas en los que el hueso en crecimiento actúa como refuerzo y fase bioactiva en materiales compuestos.

1.6. ¿Influye la hidroxiapatita en la bioinducción del titanio?

Con el fin de aportar propiedades bioinductivas a la superficie de las prótesis de reemplazo óseo de titanio, se ha intensificado el uso de recubrimientos de hidroxiapatita. Sin embargo los beneficios

del uso de este material en la interfase entre el hueso y la superficie del implante no son categóricos teniendo opiniones a favor y en contra.

Kim et al. [36] plantea el interrogante acerca de si es necesario un recubrimiento de hidroxiapatita en una prótesis ortopédica fabricada de titanio. En los resultados publicados por este autor se indica que en los estudios clínicos que realizó a un grupo de pacientes a los que se les practicó una operación de reemplazo total de cadera con seguimientos clínicos con más de 15 años, no se observó una diferencia sustancial en la respuesta del desarrollo óseo al comparar prótesis de titanio con la superficie del vástago recubiertas con hidroxiapatita y las muestras de control sin recubrimiento. Las conclusiones del estudio indican que el éxito en el proceso de implantación y la durabilidad del implante son atribuibles a la geometría de las prótesis, la edad de los pacientes y a los procedimientos quirúrgicos seguidos en la implantación. Otros trabajos han estudiado la bioactividad de la hidroxiapatita. Por ejemplo, en [37] se analiza la cinética de crecimiento de osteoblastos humanos en muestras de hidroxiapatita sintética macroporosa con porosidad abierta, el estudio muestra que la colonización del material fue exitosa pero ocurrió a menor velocidad que en las muestras de control que eran de material plástico. En [38] se analizaron los efectos bioactivos en un sustrato de Ti-6Al-4V recubierto con un sistema de doble capa en el que se depositaron tres tipos distintos de partículas biocerámicas, que en todos los casos la reacción de las partículas con el medio generó el depósito de una película superficial que bloqueaba los defectos o poros del recubrimiento. Este bloqueo dio como resultado una mayor resistencia a la difusión de especies electroactivas dificultando que el medio biológico alcance el sustrato metálico, mejorando la resistencia a la corrosión en el periodo de tiempo analizado, pero que no modificó la cinética de deposición osteoblástica. Estos autores coinciden en indicar que la incorporación de hidroxiapatita al sustrato metálico no aporta ninguna ventaja desde el punto de vista de la bioactividad al material base.

Por otro lado en [39], se indica que el proceso de integración hueso-prótesis se puede acelerar con la incorporación de materiales bioactivos tales como: hidroxiapatita, fosfato tricálcico o bio-vidrios en la interfase recubrimiento-tejido dado que estos materiales bioactivos tienen una respuesta biológica específica en la interacción del material que influye en la formación de una unión fuerte con el tejido receptor [40], las propiedades y los procesos de osteointegración de materiales recubiertos con hidroxiapatita por el método de plasma-sprayed, muestran ventajas respecto del material no recubierto y fijado mediante cementación, ya que acelera y mejora la fijación del implante en el primer estadio de su colocación siendo este un factor determinante en el éxito a mediano y largo plazo en la implantación ya que el recubrimiento actúa como acelerador de los procesos de anclaje y fijación de la prótesis. Las conclusiones expuestas en [36], [37], [38], [39] [40], indican dos criterios en la interpretación de resultados para la utilización de hidroxiapatita como recubrimiento:

- 1- La conveniencia del recubrimiento de hidroxiapatita ya que mejora la bioactividad y
- 2- Que la hidroxiapatita no aporta nada al proceso de osteointegración.

Los criterios 1 y 2 indican dos posibles efectos de la hidroxiapatita como agente bioinductor para sustratos de titanio y a pesar de la contradicción que plantean; acotan el problema de los primeros procesos de fijación del implante al estudio de la **interfase hueso-implante**. Si bien el enfoque no es

nuevo [41], en el estudio de biomateriales se debe tener en cuenta que la estructura del implante de titanio tiene poca influencia en la respuesta del tejido durante la evolución clínica de los procesos de fijación y crecimiento óseo que fijan la prótesis. Por este motivo, resulta ventajoso elegir un implante con un diseño de superficie que garantice la estabilidad durante el período de cicatrización asegurando una buena osteointegración. Esto depende de factores biológicos y sistémicos del paciente y de las características del implante y su superficie. Tomando como ejemplo un implante dental, una adecuada osteointegración está sujeta a la aceptación del implante por parte de los tejidos vivos sin la formación de tejido fibroso en la interfase hueso-implante y sin la presencia de síntomas de inflamación severa. La interfase debe considerarse como el resultado de la interacción de un conjunto de factores que modulan la respuesta biológica y que determinan el éxito de la osteointegración [28]. Por esta razón es que distintos autores siguen estudiando técnicas de fabricación de un biomaterial de titanio al que se le pueda incorporar hidroxiapatita en el proceso. Es de destacar que en las conclusiones de Kim et al.[36], respecto de la respuesta del tejido óseo para prótesis de titanio recubiertas de hidroxiapatita en el largo plazo, no tienen en cuenta los primeros estadios de los fenómenos de osteointegración que a priori son difíciles de estudiar in-vivo, ya que la principal herramienta es el estudio radiográfico o se realiza mediante procedimientos que implican la extracción de la prótesis. Por otro lado las técnicas usadas en la modificación de las superficies de implantes de titanio han mostrado una mejora en las propiedades bioinductivas respecto de las superficies de titanio sin tratar [42]. Resultados similares se han observado en materiales de titanio obtenidos mediante tecnologías aditivas usando recubrimientos de hidroxiapatita [43] En este sentido, son los resultados de ensayos in-vitro la herramienta que permite por el momento cuantificar la ventaja de los recubrimientos de hidroxiapatita.

1.6.1. La hidroxiapatita como recubrimiento en prótesis. Métodos de deposición

Estudios en animales y ensayos clínicos sugieren que modificaciones a la bioactividad de las superficies de los implantes dentales mejoran la osteointegración de los mismos. [44].

De las distintas técnicas que utilizan recubrimientos y tratamientos superficiales en metales para inducir o mejorar la bioactividad, algunos estudios indican que la hidroxiapatita es uno de los pocos materiales que se utiliza puro como recubrimiento en superficies de titanio. Para este recubrimiento los resultados de estudios in-vitro realizados a compuestos de titanio recubiertos con hidroxiapatita, mostraron una mejora en el proceso de diferenciación celular respecto de las muestras de control de titanio. Los resultados indican que el recubrimiento promueve eficientemente la formación de tejido óseo nuevo en situaciones in-vivo [45].

Un objetivo común que se fijan los investigadores que trabajan en las distintas técnicas de deposición de hidroxiapatita sintética sobre superficies metálicas, es generar un proceso que dé como resultado una hidroxiapatita con características físico-químicas similares a las de la hidroxiapatita del hueso humano [46], [47], [48]. Esta semejanza se evalúa analizando parámetros

como la relación Ca/P (1,67 para hidroxiapatita humana) para verificar similitud en la relación estequiométrica además de analizar parámetros cristalográficos que permitan establecer una relación entre la estructura cristalina y propiedades osteoinductivas de la hidroxiapatita.

En la manufactura de implantes a escala, la técnica más difundida para la deposición de capas de hidroxiapatita sobre titanio es la proyección por plasma-spray [49], [50]. El proceso se usa para la deposición de recubrimiento por plasma o la deposición química de vapor asistida por plasma (Plasma spray) con el objeto de modificar las propiedades superficiales de los materiales, aplicando capas ultrafinas de diferentes grupos moleculares o monómeros sobre objetos y superficies que pueden volverse hidrofóbicas o hidrófilas, resistentes a los rayones o a la corrosión o funcionalizadas para permitir la unión con otros materiales. Si bien esta técnica presenta ventajas a la hora de su implementación, posee algunos problemas debido a los efectos de la temperatura del proceso y a la falta de afinidad química entre el titanio y la hidroxiapatita.

En [51] se utiliza la técnica para depositar distintos tipos de recubrimientos (hidroxiapatita, hidroxiapatita-TiO₂, hidroxiapatita-ZrO₂), sobre sustrato de Ti-6Al-4V. El estudio indica que como resultados de la pulverización de plasma, hay descomposición de hidroxiapatita en forma de fosfato de calcio, formación de fase CaTiO₃ nanoestructurada, TiO₂ y CaZrO₃. Debido a que la microestructura del recubrimiento tal como se pulveriza presenta porosidad y partículas no fundidas en la superficie, se requirió un tratamiento térmico luego de la deposición.

En [52] usando el mismo procedimiento para depositar hidroxiapatita sobre Ti-6Al-4V, indican que en los ensayos de adhesión celular la superficie recubierta con hidroxiapatita mostró una mejor aptitud para la colonización con osteoblastos humanos. En [53] la técnica se usa para depositar un recubrimiento de Mg-Sr-hidroxiapatita en Ti-6Al-4V, indicando una mejora en la fuerza de adhesión del revestimiento después de un tratamiento térmico (500°C- 600°C durante 3h). En este caso los ensayos de citotoxicidad mostraron una mayor tasa de proliferación de células MC3T3-E1, respecto de las muestras de control.

Otra técnica usada en la deposición de sustratos cerámicos sobre metales es el proceso sol-gel. Se trata de un proceso de síntesis y deposición química para la obtención de materiales cerámicos y vítreos. El proceso implica la transición de un sistema desde una fase líquida (sol) hasta una fase sólida (gel) mediante reacciones químicas de hidrólisis y condensación de los precursores metálicos. Con esta tecnología se obtienen materiales cerámicos basados en óxidos inorgánicos. En el caso del titanio, se usa para depositar recubrimientos a base de fósforo y calcio para formar la hidroxiapatita, a través de medios químicos a partir de soluciones, permitiendo la deposición de capas finas de recubrimiento en piezas de formas complejas y de manera económica. Las ventajas de la técnica sol-gel es su capacidad para producir recubrimientos homogéneos, con buenas propiedades mecánicas debido a la presencia de estructuras granulares nanocristalinas [54]. En [55] se indica la eficiencia de la técnica sol-gel para depositar una película delgada de hidroxiapatita sobre un sustrato de titanio poroso (tamaño de poro 100–200 μm). La capa de hidroxiapatita se obtiene por sol-gel sumergiendo el sustrato metálico en un baño a 80 °C. El proceso se completa con un tratamiento térmico a 450 °C durante 5 horas, para disminuir la porosidad del recubrimiento y adecuar la cristalinidad de la hidroxiapatita, destacando el autor las ventajas del método en la mejora de la bioactividad del titanio. La misma técnica se usa en [56] para mejorar las funciones biológicas y la resistencia a la corrosión en un sustrato de Ti-6Al-4V mediante la aplicación de

hidroxiapatita combinada con cerio. Los estudios de viabilidad celular con células MG-63 mostraron una buena proliferación celular. Este estudio sugiere que la adición de cerio a la hidroxiapatita promueve la bioactividad para una rápida osteointegración y promueve una mayor resistencia a la corrosión de la aleación Ti-6Al-4V. Los autores que usan la técnica de sol-gel coinciden en que la semejanza cristalográfica de la hidroxiapatita se logra en todos los casos con un tratamiento térmico que se realiza luego de la deposición y en la mejora que aporta este tratamiento a las condiciones de la hidroxiapatita para la colonización celular.

En [57] se explica que en el caso de prótesis articulares de titanio recubiertas con hidroxiapatita, las experiencias in-vivo muestran que el éxito en la fijación de la prótesis al sustrato óseo depende entre otros factores de la buena adhesión de la hidroxiapatita al metal base.

No se encontraron para este trabajo datos mecánicos que cuantifiquen la fuerza de adhesión entre estos materiales, resultando que la fijación se da por algún tipo de adhesión o interferencia mecánica al no verificarse uniones químicas entre titanio e hidroxiapatita

En [58] se explica que en el método de deposición de hidroxiapatita por plasma-spray, debido a la temperatura del proceso y a que el enfriamiento de la hidroxiapatita no se produce en condiciones controladas, se verifica la presencia de fases cerámicas con estructura total o parcialmente amorfa en la capa de hidroxiapatita depositada. Ésto no favorece la bioactividad del recubrimiento ya que aumenta la solubilidad de la hidroxiapatita en medios fluidos biológicos. En el trabajo se indica que en el estudio microscópico realizado en un sustrato de aleación Ti-6Al-7Nb recubierta con hidroxiapatita depositada por aspersión térmica a plasma sobre la superficie de las muestras, no se consiguió una buena adhesión del sustrato al metal base, indicando el autor que la falta de unión se debe a las diferencias volumétricas de los distintos coeficientes de expansión térmica de los materiales en el enfriamiento. En un estudio similar [59] se informa que se obtuvo una buena adhesión del depósito de hidroxiapatita sobre el sustrato de titanio, utilizando la misma técnica, obteniendo una hidroxiapatita con una cristalinidad superior al 50 %. El porcentaje de fases amorfas disminuyó considerablemente al calentar el sustrato metálico a una temperatura de 600 °C. Indica éste autor que la temperatura de recristalización de la fase amorfa de la hidroxiapatita depositada por proyección por plasma se da en el rango de temperatura de 500 - 700 °C y el calor residual del proceso aportaría la energía necesaria para la recristalización de la hidroxiapatita. Se destaca que para estas técnicas de deposición de recubrimientos, se necesita realizar un tratamiento térmico para optimizar la cristalinidad de la hidroxiapatita obtenida sintéticamente (sol-gel) o bien depositada por la técnica de plasma-spray independientemente del origen de la hidroxiapatita. Trabajos consultados [60], [61], [62] coinciden en indicar tratamientos térmicos para mejorar la cristalinidad de la hidroxiapatita depositada por métodos biomiméticos en distintos tipos de sustratos. Se destaca que en estos trabajos no se indican datos relacionados con las variaciones volumétricas asociadas con los diferentes coeficientes de dilatación de los materiales, para las temperaturas de proceso usadas para aumentar la cristalinidad de la hidroxiapatita.

Resumiendo, la hidroxiapatita es un material cuyas características físico-químicas lo hacen apto para promover procesos de reconstitución ósea, pero por tratarse de un material cerámico, se deben tener en cuenta las limitaciones de su aplicación en piezas de reemplazo óseo que deban soportar distintos tipos de cargas. Por este motivo, para prótesis se ha creído conveniente el uso de materiales con una menor rigidez, recubiertos con hidroxiapatita. En el caso de las prótesis de

titanio, se presentan problemas derivados de la falta de afinidad química entre el titanio y la hidroxiapatita depositada superficialmente. **Una manera económica de superar esta falta de afinidad es la fabricación de compuestos mediante la técnica pulvimetalurgia.**

1.7. Titanio material para prótesis óseas.

Basado en el estudio de la respuesta al proceso de biointegración del titanio en la actualidad se puede decir que es un material probado y de uso extendido apto para la fabricación de prótesis. Sin embargo la experiencia clínica ha mostrado que una vez colocadas las prótesis pueden presentar problemas que limitan su vida útil. En el corto plazo la aparición de un cuadro inflamatorio se toma como señal de rechazo del material por parte del organismo. El otro problema que se puede presentar después de un tiempo y con la prótesis en uso, es el deterioro del tejido óseo circundante al implante (resorción ósea) que eventualmente lleva al fracaso del proceso de osteointegración.

Sin tener en cuenta los problemas de la práctica clínica se puede establecer una relación entre las causas del fallo de la prótesis y el material acotando las áreas de trabajo para limitar o prevenir las posibles causas que podrían interrumpir en proceso de osteointegración. Para el titanio, según el tiempo transcurrido, en el **corto plazo** los problemas se relacionan con la **superficie del implante** y en el **largo plazo** los problemas se deben a la **mayor rigidez del metal en relación al del hueso.**

1.7.1. Modificaciones hechas al titanio para prevenir stress shielding.

Para resolver los problemas asociados al stress shielding en las prótesis óseas de titanio, los estudios buscan aprovechar la biocompatibilidad natural de este metal y buscar aleaciones con un módulo elástico menor.

1.7.2. Aleaciones de titanio de bajo modulo.

Distintos trabajos señalan las ventajas de utilizar una aleación de titanio tipo beta ($Ti\beta$) para prevenir el stress shielding en prótesis. Este grupo de aleaciones contienen elementos en solución (V, Nb, Ta, Zr) que estabilizan la fase beta del titanio a temperatura ambiente y dan como resultado un material con módulo elástico inferior al del titanio CP, manteniendo las propiedades de osteointegración [63], [64], [65]. En [66] se destaca esta característica de las aleaciones de titanio beta incluida la aleación $Ti-35Nb-5Ta-7Zr$ con un módulo elástico de 55 GPa valor que es la mitad del titanio CP. El autor señala que este valor es alto si se lo compara con el hueso cortical e indica que estas aleaciones presentan algunos problemas en la adhesión con el hueso, por eso propone la utilización de espumas metálicas de titanio, materiales en los que se puede controlar las propiedades mecánicas con un adecuado control del porcentaje de porosidad, señalando además que las espumas metálicas presentan características superficiales que favorecen la osteointegración.

1.7.3. Titanio poroso ¿Cómo es que los poros modifican la rigidez de un material?

Ashby [67] señala que el parámetro físico más importante que se emplea en la práctica para definir las propiedades mecánicas, térmicas o eléctricas de una espuma metálica en relación con las propiedades del sólido, es la densidad relativa (ρ/ρ_s), parámetro que indica la densidad de la espuma en relación a la densidad del material sólido para un mismo volumen. La fracción de poros o porosidad resulta entonces igual a: $1 - (\rho/\rho_s)$. Las espumas metálicas tienen una densidad relativa de 0,02 a 0,35-0,40. Cuando se analizan las propiedades mecánicas se debe tener en cuenta que los poros generan una reducción de la sección resistente neta y a esto se le puede sumar en algunos casos la irregularidad de las superficies de los poros que debe ser tomada en cuenta debido a los efectos de concentración de tensiones. La influencia de estos factores se observa al comparar la resistencia mecánica de dos probetas del mismo material y la misma geometría, una porosa y la otra densa; la resistencia mecánica del material poroso será menor. La aclaración se hace porque en este trabajo no se busca modificar las características mecánicas de un material dado, y sí generar condiciones de fabricación de un compuesto poroso con propiedades mecánicas específicas.

Actualmente, las máquinas que utilizan las tecnologías aditivas de impresión 3D se aplican a una amplia variedad de materiales. En piezas metálicas, la tecnología aditiva hace posible fabricar componentes de geometría compleja de manera eficiente a partir de polvos metálicos. Estos métodos utilizan una fuente de energía en forma de láser para unir capas de polvo para fabricar piezas con un muy buen grado de terminación que requieren pocos o nulos procesos posteriores para el acabado final. [68]. Como se vio, la buena combinación de resistencia mecánica y biocompatibilidad hace del titanio un material apto para la fabricación de prótesis que deban actuar funcionalmente cargadas. Las tecnologías aditivas permiten adecuar la arquitectura interna de los poros de manera tal que los valores de módulo elástico del compuesto poroso estén dentro del rango de valores de los del hueso cortical, hecho que previene el problema del stress shielding. Por otro lado, en los materiales para reemplazo óseo la porosidad establece un compromiso entre la resistencia mecánica y un tamaño de poro que favorezca la adhesión y colonización de las superficies con células osteoblásticas, fundamentalmente en el inicio del proceso de osteointegración, además de espacio interconectados que promuevan la vascularización y formación de nuevos tejidos.

En [69] se detalla la fabricación de un compuesto poroso de titanio CP grado 1 obtenido por manufactura aditiva, destacando las ventajas del titanio CP por su mejor respuesta a las cargas cíclicas en relación a aleaciones de titanio Ti-6Al-4V. El trabajo analiza una variable propia del proceso de impresión y su influencia en las propiedades mecánicas del compuesto, estableciendo una relación entre el ancho del haz de láser usado en la impresión y las propiedades mecánicas del compuesto. En los resultados se indica que para un puntal de 120 μm el compuesto tiene módulo elástico de 0,58 GPa y 81% de porosidad y con un puntal de 230 μm las características mecánicas son: 2,61 GPa y 66% de porosidad. Se indica como conclusión general del trabajo que las tecnologías aditivas permiten una adecuada combinación de propiedades mecánicas: alta resistencia

y bajo módulo elástico, mostrando la ventaja constructiva del método para fabricar compuestos porosos de titanio, indicando que con ésta técnica de fabricación, el porcentaje de porosidad depende del área de impresión y limitando de esta forma el tamaño mínimo de poro que se puede imprimir.

Otra técnica de impresión 3D es la que se usa para fabricar compuestos partiendo de una mezcla de titanio en polvo y un material aglutinante que permite imprimir una pieza que posteriormente debe ser sinterizada para conseguir la densificación del titanio. La técnica se denomina Powder Injection Molding (PIM). En [70] se analiza la influencia de las variables en un proceso de impresión 3D para un compuesto fabricado a partir de una mezcla de Ti CP, alcohol polivinílico hidrolizado en polvo y una base acuosa (Ti and PVA). Con ésta mezcla se fabricó un compuesto en estado pastoso para imprimir muestras en verde con impresora 3D, las que se sinterizaron en un rango de temperaturas de 800 a 1400 C, obteniendo un material con porosidad en el rango de 17 a 44% y módulo elástico entre 0,77 a 11,46 GPa. El trabajo muestra la influencia de la temperatura de sinterizado en la porosidad del material además del aumento en las propiedades mecánicas con el aumento de la temperatura de sinterizado indicando por último, que no se encontró evidencia de que el espesor de capa impresa influyera en las propiedades finales del compuesto. La técnica presenta además la ventaja de no llevar el titanio a estado líquido para conseguir la densificación del metal. La misma técnica es usada en [71] para fabricar un compuesto de titanio poroso con propiedades bioinductivas, a partir de una mezcla de Ti-6Al-4V en polvo, un aglutinante, NaCl como separador e hidroxiapatita como agente bioactivo. Se sintetizan muestras a 1350 °C en vacío, obteniendo un compuesto con módulo elástico de 0.3 GPa y 37.03 % de porosidad. Si bien el valor del módulo elástico está dentro del rango del hueso humano, la temperatura de sinterizado está por encima de la indicada para los cambios de fase de la hidroxiapatita y de las reacciones químicas entre titanio e hidroxiapatita no aportando el autor datos biológicos del compuesto.

Una de las ventajas que suman las tecnologías aditivas a la fabricación de objetos, es la posibilidad de hacer **Materiales Funcionalmente Graduados**. Estos materiales se caracterizan por tener propiedades (densidad, rigidez, conductividad, etc) que varían de forma suave en una dirección dada. En materiales para prótesis es de interés obtener propiedades graduales en la distribución química, graduación de la arquitectura estructural o de la porosidad. En [72] se muestra el potencial de la técnica selective laser melting (SLM) para fabricar scaffold de titanio CP con capas longitudinales de distinta porosidad. Desde el punto de vista de la rigidez de los materiales, en los materiales funcionalmente graduados el control de propiedades mecánicas se basa en el control del porcentaje de porosidad de cada capa impresa. En [73] se muestra el potencial de la técnica para fabricar compuestos multicapa con capas de distintos metales. Una limitación de la tecnología de impresión 3D es que para materiales porosos la geometría de las estructuras se genera usando funciones matemáticas pudiendo imprimirse solo retículas de geometría regular, dificultándose por el momento replicar la estructura del hueso humano [74]. En [75] se aplica el concepto de material funcionalmente graduado para fabricar un compuesto de titanio-hidroxiapatita donde cada capa se imprime aumentando el porcentajes de hidroxiapatita (0 a 5% de hidroxiapatita). El compuesto como está planteado sería para su aplicación en prótesis y los resultados publicados muestran el potencial en este sentido, pero los resultados del análisis microestructural revelan que en la matriz de titanio, en las adyacencias de las partículas de hidroxiapatita, se presentan estructuras de grano propias de un proceso de solidificación heterogénea, hecho que se incrementa con el aumento en

los porcentajes de HA. Además, se informa la detección de compuestos en la interface producto de las reacciones entre el titanio y la hidroxiapatita que ocurren por encima de los 800 C, descritos en [76] y en [66]

1.8. Superficies de implantes y osteointegración

Además del stress shielding en las prótesis de titanio, otro de los aspectos relacionados con la porosidad en los procesos de osteointegración en el corto plazo que debe ser tenido en cuenta para una rápida fijación de la prótesis, es el relacionado a la interfase entre el medio biológico y la superficie del material implantado. En el caso del titanio se puede operar sobre:

1- La morfología de la superficie del implante.

2- Introducir modificaciones mediante cambios químicos o el agregado de agentes que actúen en la interfase hueso-implante para favorecer la osteointegración (factores de crecimiento, recubrimientos).

En [65] se explica que un proceso completo de osteointegración puede llevar varios meses. Por esta razón se trabaja en modificaciones, en el material de las prótesis, que impliquen una mejora en la absorción de nutrientes que favorezcan la adhesión celular. En términos generales se busca con los tratamientos, modificar en condiciones controladas; la superficie de los implantes con procesos que operen sobre la rugosidad del material, creando morfologías específicas o que incorporen agentes que reduzcan los tiempos de la biointegración. En [77] se indica que la porosidad óptima de un implante que estimula de manera eficiente el crecimiento óseo, está en el rango de 20 a 50% con un tamaño de poro de 100 μm a 400 μm . En base en estos datos la superficie de un implante se puede modificar:

Incorporando recubrimientos superficiales, por ejemplo mediante Proyección térmica; proceso con el cual se depositan compuestos a base de calcio y fósforo mediante la técnica plasma spray. Los mismos materiales se pueden depositar mediante mojado en soluciones que contengan estos elementos y posterior tratamiento térmico cuando se trata de biocerámicos.

En el caso del titanio se utiliza hidroxiapatita (componente cerámico del hueso) como material de recubrimiento, pero este material no forma una unión fuerte con el metal base y se desprende debido a la falta de afinidad química con el titanio y a la diferencia de coeficiente de dilatación térmica de ambos materiales.

Incrementando la rugosidad de las superficies de los implantes mediante la técnica de enarenado o grabado ácido para crear microcavidades para mejorar la adhesión celular. Head [78] señala que las técnicas para modificar la superficie de los implantes se plantean como una alternativa al procedimiento de fijación de las prótesis con cementos acrílicos. El uso de cementos tiene la ventaja de una rápida fijación de la prótesis al hueso pero la alta rigidez que adquieren una vez concluido el fraguado acentúa el problema del stress shielding y como consecuencia adicional se puede producir el desprendimientos de partículas de cemento a medida que progresa el deterioro de la zona afectada.

1.9. Pulvimetalurgia del Titanio poroso

Una forma sencilla y económica usada en la fabricación de titanio poroso por pulvimetalurgia, es la técnica de partículas espaciadoras, donde el titanio poroso se obtiene a partir de una mezcla de titanio en polvo y otro material usado como espaciador. La porosidad en el titanio se consigue como consecuencia de la eliminación del espaciador en alguna de las etapas del proceso

En [79] se hace hincapié en el potencial de la técnica para fabricar titanio poroso usando titanio coloidal. El trabajo analiza la influencia de la porosidad en función de las distintas variables del proceso: temperatura (900 °C a 1300 °C) y tamaño de partícula del titanio en polvo (65 µm a 375 µm). De los resultados informados, son de relevancia los que indican que para una porosidad en el rango de 30% a 35%, el titanio poroso obtenido presentaba un módulo elástico en el rango de 10 a 30 GPa. Esta adaptación de la biofuncionalidad del titanio denso muestra el potencial de la técnica. En [80] fabrican titanio poroso usando una mezcla de titanio y magnesio como fuente de poros, el que se evapora durante el sinterizado en vacío a 1250 °C. La porosidad promedio informada para el compuesto es de 48% con tamaño de poro de 70 µm a 150 µm, donde los poros con tamaño superior a 75µm son los formados por el espaciador, por debajo de este tamaño la porosidad es intrínseca del proceso. El módulo elástico informado es de $3,99 \pm 0,12$ GPa. En [81] la porosidad de titanio se consigue mezclándolo con urea la que se quema durante el sinterizado a 1250 °C. La porosidad en el compuesto está en el rango de 55–75% con un módulo elástico de 3–6.4 GPa, y tamaño de poro en el rango de 200µm –500µm. Si bien el titanio poroso se puede obtener con distinta clase de partículas espaciadoras, el método no resuelve algunas limitaciones que pueden plantear preocupaciones en la práctica clínica, principalmente debido a la naturaleza bioinerte del titanio [82]

1.9.1 Pulvimetalurgia del compuesto Titanio – hidroxiapatita.

La misma técnica pulvimetalúrgica usada para fabricar titanio poroso se utiliza para la fabricación de compuestos de titanio-hidroxiapatita [83]. Este método, eficiente y de bajo costo, permite fabricar compuestos de matriz metálica de titanio que mezclado con hidroxiapatita resulta en un material donde las interferencias mecánicas que se generan al quedar ocluida la partícula de hidroxiapatita en la matriz metálica, solucionan en parte los problemas asociados a la falta de unión en la interfase metal-cerámico. En este compuesto las propiedades mecánicas que aporta el titanio se combinan con las propiedades bioactivas de la hidroxiapatita. Sin embargo, existen problemas en el procesamiento del material y por eso, en la fabricación del compuesto se deben tener en cuenta los mecanismos de difusión y compatibilidad entre las dos fases, además de las interacciones entre hidroxiapatita y titanio.

1.9.2. Sinterizado. Problemas con la mezcla titanio-hidroxiapatita

En [84] se analizan los resultados obtenidos en la fabricación de un compuesto hecho a partir de titanio en polvo e hidroxiapatita humana sinterizados a 1000 °C en atmósfera de argón. El autor indica que las muestras presentaban pobres propiedades mecánicas una vez retiradas del horno o se desgranaban completamente a los pocos días de fabricadas. En [85] se analizan las reacciones que se producen entre los elementos de un composite de hidroxiapatita y titanio obtenido por sinterizado para probetas fabricadas con una relación de mezcla de 80% hidroxiapatita–20% de titanio y 90% de hidroxiapatita–10% titanio, sinterizadas a 1100 °C en vacío (6×10^{-3} Pa). El estudio indica que luego del tratamiento térmico se verificó la conversión completa del compuesto metal-cerámico en compuestos cerámicos no quedando rastros del titanio metálico. Señala el autor que los resultados del análisis XRD mostraron patrones consistentes con hidroxiapatita, fosfatos tricálcicos (α -TCP), titanato de calcio ($\text{Ca}_2\text{Ti}_2\text{O}_5$) y otros productos en menor medida y no se encontraron restos de titanio metálico. En [86] se indica que es un hecho bien documentado que la hidroxiapatita es estable hasta los 1250 °C en aire y hasta los 1050 °C en vacío, pero en presencia de titanio se vuelve reactiva por debajo de los 1000 °C. Este autor trabajó sintetizando un compuesto hecho a partir de polvos de titanio e hidroxiapatita en vacío (presión de vacío menor a $1,333 \times 10^{-3}$ Pa) y temperatura de 1000 °C, se indica en el trabajo que con el análisis XRD no se detectó la existencia de fases de titanio metálico e hidroxiapatita coexistiendo por separado como se presentan en las prótesis comerciales, sino que los materiales se encontraban formando distintos compuestos químicos. Estos resultados coinciden con los publicados en [85] que señalan que la descomposición de la hidroxiapatita inducida por el titanio comienza cuando se supera la temperatura de 800 °C, lo que sugiere que el titanio cataliza la descomposición térmica de la hidroxiapatita. A la misma conclusión se llega en [86] donde además se indica que la humedad ambiente es un factor que favorece la descomposición del óxido de titanio (TiO_2) cuando el proceso se realiza al aire.

Distintos autores han trabajado en la fabricación de un compuesto titanio hidroxiapatita usando la técnica pulvimetalúrgica. En [87] se analizan las microestructuras de un compuesto de titanio puro e hidroxiapatita (5% y 10% de hidroxiapatita) fabricado por método pulvimetalúrgico usando tres temperaturas de sinterizado (900, 1000 y 1150 °C). El análisis XRD indica la presencia de las fases TiO_2 , CaO, CaTiO y CaTiO_3 . El autor informa que la presencia de TiO_2 y CaO superficial, favorece la biocompatibilidad del compuesto pero no tiene en cuenta las modificaciones de la cristalinidad de la hidroxiapatita, que se producen con las temperaturas de sinterizado usadas en el trabajo.

En el desarrollo de compuestos de titanio-hidroxiapatita para uso biomédico, se trabaja en establecer relaciones entre las variables de fabricación con la viabilidad biológica. En [88] se analiza la influencia de un compuesto de titanio-hidroxiapatita en distintos porcentajes (0 a 20%), sinterizados en un rango de temperatura de 900 °C a 1300 °C, informando que los mejores resultados desde el punto de vista bioactivo in-vitro se obtuvieron para las muestras fabricadas a 900 °C. Las propiedades mecánicas mejoraron con el aumento de la temperatura de sinterizado. A

1300 °C se observó una drástica disminución en la bioactividad, lo que coincide con la aparición de fases α -TCP y β -TCP de la hidroxiapatita, altamente solubles.

1.9.3. Compuesto titanio poroso-hidroxiapatita

A pesar de los cambios que ocurren en un compuesto de titanio-hidroxiapatita para las temperaturas usuales de sinterizado del titanio (900°C a 1350°C), algunos autores usan el método para fabricar titanio poroso con hidroxiapatita. Se busca de esta forma adecuar la biofuncionalidad del titanio denso combinándolo con un material bioinductivo como la hidroxiapatita. En [89] partiendo de la aleación Ti-6Al-4V en polvo se usa la técnica pulvimetalúrgica para fabricar un compuesto de titanio poroso con hidroxiapatita usando cloruro de sodio como partículas espaciadoras. El espaciador se retira de compuesto previo al proceso de sinterización diluyendo el cloruro de sodio en agua destilada. El compuesto se densifica sinterizando a 1350 °C en vacío. Los resultados de la caracterización mecánica indican un descenso en las propiedades mecánicas del compuesto a medida que aumenta el contenido de hidroxiapatita en el material. Informa además el autor, que el análisis de XRD mostró la presencia de la fase β -TCP de la hidroxiapatita en el compuesto sinterizado. En [90] se analiza un compuesto de titanio poroso reforzado con hidroxiapatita-zirconia (HA-) (90% titanio, 6% hidroxiapatita y 4% zirconia (ZrO_2)). La adaptación biofuncional se consigue con la técnica de partículas espaciadoras con cloruro de sodio como espaciador, que se retira del compuesto previo a la sinterización en atmósfera de argón a 1000 °C. Señala el autor que la técnica es eficiente en combinar en un mismo compuesto titanio e hidroxiapatita y que desde el punto de vista mecánico, la zirconia aumenta levemente la dureza de la matriz metálica. Informa además que en la caracterización XRD de la estructura se detectaron compuestos $Ca_3(PO_4)_2$ y $CaTiO_3$ producto de la reacción entre titanio e hidroxiapatita a las temperaturas de sinterizado usadas en este trabajo. Los valores de módulo elástico están comprendidos dentro del rango del hueso humano (1,67 - 7,20 GPa).

1.10 . Fabricación de prótesis de titanio comerciales.

Los estudios sobre biomateriales en base titanio analizados en este trabajo presentan limitaciones de las condiciones de laboratorio para fabricar probetas con geometría igual a la de una prótesis comercial. En el caso de las prácticas de laboratorio se resuelve simplificando la geometría del material (cilíndricas generalmente), lo que facilita las condiciones de ensayo para la caracterización mecánica. Esta simplificación en la geometría se aplica también a estudios biológicos que en general no consideran aspectos biofuncionales que requieren de una adecuación del material a las condiciones del funcionamiento corporal. Debido al aumento de la expectativa de vida a nivel mundial y según los índices publicado por la **WORLD HEALTH ORGANIZATION** [91] en 2019 y al incremento en la demanda de prótesis de distinto tipo, es necesario tener en cuenta que los biomateriales de titanio poroso, deben presentar además de las propiedades que permiten la osteointegración, cualidades que los hagan adecuados para conformar los distintos tipos de prótesis según los métodos de fabricación de escala disponibles.

Los procesos para la fabricación de prótesis comerciales de titanio más utilizados son:

Prótesis fundidas: piezas obtenidas a partir del colado de metal en estado líquido en molde.

Prótesis forjadas: piezas conformadas por deformación del metal en estado plástico forjarle mediante forjado..

Prótesis mecanizadas: piezas obtenidas con proceso de arranque de viruta en máquinas herramientas

Prótesis sinterizada: pieza obtenida a partir de metal en polvo compactado y posterior densificado del material mediante tratamiento térmico.

Una alternativa actual a estas opciones es la fabricación de piezas con procesos derivados de las **tecnologías aditivas**. Estas permiten generar geometrías complejas usando como método para la densificación del material la unión por fusión de partículas metálicas en polvo, usando como fuentes de calor un haz láser. La flexibilidad en la generación de estructuras que posee este proceso de manufactura, permite adaptar las características mecánicas del titanio para evitar el fenómeno de stress shielding. Por otro lado el proceso de densificación del titanio genera en las superficies de las piezas fabricadas efectos en la microestructura, la topografía de la superficie, la rugosidad y la humectabilidad que influyen en la formación de apatita durante el proceso de osteointegración [92] La primera intervención quirúrgica de cadera en la que se usó una prótesis impresa de titanio se hizo en 2007 [93]. En todos los procesos de manufactura mencionados la modificación de factores superficiales o la incorporación de elementos que mejoren las propiedades de osteointegración se realiza en una etapa posterior al conformado de la prótesis. En este sentido se debe tener en cuenta que en el caso de los recubrimientos con cerámicas bioactivas no se verifica una buena unión con el sustrato metálico de titanio.

1.11. Hipótesis

Una de las condiciones que debe cumplir todo material para remplazo óseo es que debe poder osteointegrarse. Esta condición implica que el material debe integrarse al tejido óseo sin interferir en los procesos de formación y crecimiento óseo, que ocurren naturalmente al igual que en la curación de una fractura de hueso. En este sentido el material debe tener una serie de características superficiales y mecánicas que deben ser consideradas en su desarrollo.

En el caso del titanio para prótesis, la introducción de poros permite adecuar las condiciones del metal adaptando la biofuncionalidad y las condiciones superficiales del material para favorecer la colonización de la superficie con células osteoblásticas. Si se tienen en cuenta los aspectos biofuncionales en un proceso de osteointegración, el titanio poroso en una prótesis sometida a distintos tipo de sollicitaciones mecánicas, deberá ser un material con una resistencia tal que le permita soportar los primeros estadios del proceso de osteointegración, manteniendo la integridad estructural del entorno. Por otro lado, si el proceso de osteointegración se completa exitosamente, el material implantado deberá formar parte integral del tejido óseo sin modificarlo.

Desde el punto de vista de la fabricación de prótesis a escala Rodriguez-Contreras [94] propone la pulvimetalurgia como una alternativa viable para la fabricación de titanio poroso, combinada con partículas espaciadoras La pulvimetalurgia genera estructuras porosas que imitan bien al tejido óseo dado el carácter aleatorio de la geometría y distribución de los poros, y tiene una buena respuesta en aplicaciones de regeneración ósea [95]

Para el titanio poroso se debe considerar que un material con porosidad interconectada distribuida homogéneamente está en condiciones de fallar en cualquier punto del volumen ya que también la distribución de defectos es homogénea. Teniendo en cuenta esto, se puede plantear como una solución a este problema, un material metálico de titanio, con gradiente de porosidad, donde parte de la sección aporte resistencia mecánica y el resto de las secciones permitan igualar el módulo elástico al del hueso cortical. Una manera de obtener simultáneamente estas propiedades es producir titanio con porosidad radial donde, modulando la distribución de poros, se pueda tener un centro denso que aporte resistencia mecánica y porosidad de valor creciente hacia la periferia, con poros de tamaño específico que promuevan la osteointegración. Por otro lado, la técnica pulvimetalúrgica posibilita la fabricación de compuestos a partir de polvos sin afinidad química. En este sentido el agregado de un cerámico bioactivo como la hidroxiapatita combinado con la porosidad interconectada y los poros de la superficie aportaría propiedades osteoinductivas al titanio poroso. Un material con las características descritas presenta condiciones potenciales para ser usado en implantología ósea.

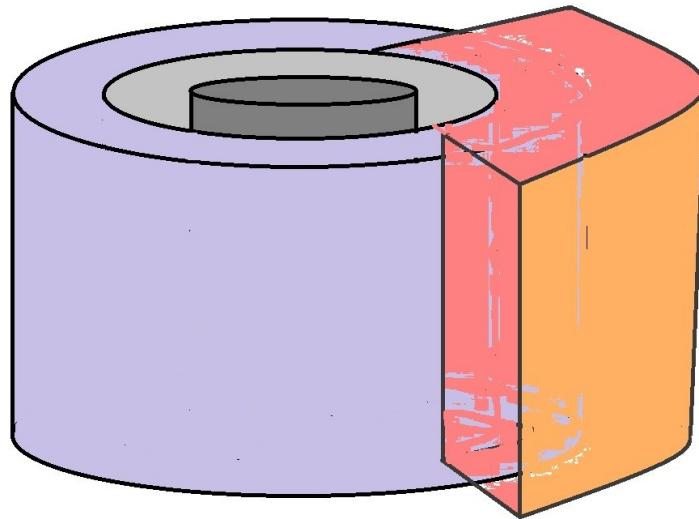


Figura 6: Esquema de distribución de porosidad en una probeta cilíndrica con porción de hueso osteointegrado.

En la Figura 6 se muestra un esquema de una probeta cilíndrica con centro denso y porosidad creciente hacia la periferia y se esquematiza la forma en que, de progresar un proceso de osteointegración, el tejido óseo crecería alrededor del material y entre los huecos en la sección porosa. Las partículas de hidroxiapatita ocluidas en los poros superficiales serían puntos de anclaje del compuesto dado que las propiedades osteoinductivas de este cerámico acelerarían la fijación del tejido óseo, factor que favorece al proceso osteointegración

Un material con estas características tendría como ventajas:

- 1.- Que el centro soportaría solicitaciones mecánicas hasta completar el proceso de osteointegración.
- 2.- Que se podría regular la rigidez global del material, adaptando la porosidad de manera tal que una vez finalizado el proceso de remodelación ósea la diferencia de módulo elástico entre material implantado y el tejido óseo no produzca el fenómeno de stress shielding, acortando la vida útil del implante.
- 3.- Que controlando la porosidad en la superficie del material, tamaño y geometría de poro, más el agregado de materiales bioactivos se podría acelerar el proceso de osteointegración.
- 4.- Que la porosidad superficial permitiría el crecimiento de hueso en el seno del material, lo que generaría un anclaje mecánico entre hueso y titanio además de la unión propia del proceso de osteointegración.
- 5.- Que el proceso pulvimetalúrgico utilizado permitiría la incorporación de hidroxiapatita en polvo, teniendo este procedimiento la ventaja de mantener ocluida la hidroxiapatita dentro de los poros del material, evitando que se desprenda por falta de afinidad química con el titanio.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Desarrollar un compuesto de titanio poroso e hidroxiapatita mediante técnica pulvimetalúrgica que posea una adecuada combinación de propiedades bioinductivas y mecánicas que permitan integrarlo en un proceso de osteointegración.

2.2. Objetivos particulares

- 1.- Desarrollar un proceso pulvimetalúrgico para fabricar un compuesto de titanio poroso e hidroxiapatita, estable en el tiempo, con gradiente de porosidad, con propiedades mecánicas similares a las del hueso cortical y porosidad superficial con morfología adecuada para el desarrollo de un proceso de adhesión y crecimiento óseo
- 2.- Establecer la influencia de las variables de fabricación del material (mezcla, metodología de compactación de polvos y temperaturas de sinterizado) en su relación con la porosidad y las propiedades mecánicas del compuesto, mediante caracterización mecánica y análisis digital de imagen metalográfica.
- 3.- Determinar para el compuesto de titanio poroso e hidroxiapatita con gradiente de porosidad la respuesta citotóxica mediante ensayos in-vitro y ensayos in-vivo, para determinar la aptitud del compuesto para ser implantado y que desarrolle un proceso adecuado de adhesión y regeneración ósea, usando el índice de calidad del hueso formado como parámetro para cuantificar el proceso.

3. Materiales y Métodos

3.1. Trabajos de laboratorio

En este trabajo se realizaron distintas experiencias para establecer los pasos adecuados de la técnica pulvimetalúrgica, para la fabricación de un material de Titanio (Ti) con gradiente de porosidad que además contengan hidroxiapatita (HA).

En la fabricación del material poroso se usó una mezcla de hidruro de titanio (TiH_2) en polvo (SIGMA-ALDRICH, -325 mesh) y bicarbonato de amonio (NH_4HCO_3) como agente espaciador. Previo a la mezcla de los materiales en polvo, al bicarbonato de amonio se le extraía la humedad en desecador de vacío.

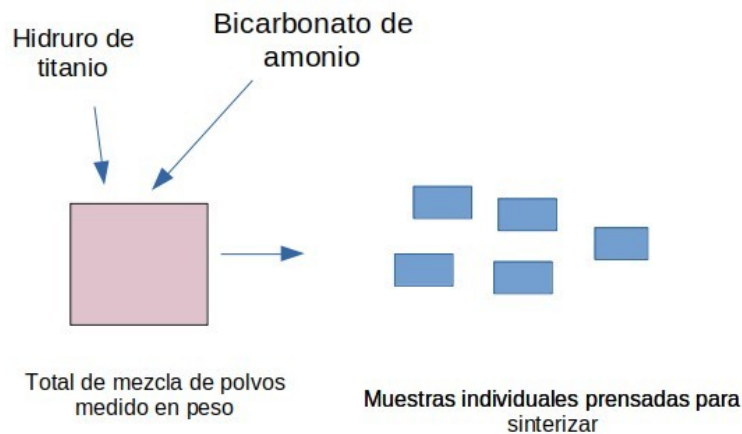


Figura 7: Esquema de los pasos seguidos en la preparación de los verdes para sinterizar

La Figura 7 muestra un esquema del procedimiento para preparar los verdes para sinterizar. Los porcentajes de porosidad se consiguieron midiendo la proporción en peso de cada polvo correspondiente al volumen de porosidad buscado en cada muestra.

En cada grupo de muestras, para la preparación de los verdes se seguía la siguiente secuencia: se mezclaba primeramente el total en peso de las cantidades de hidruro de titanio y bicarbonato de amonio, usando mezclador en Y de manera de obtener una distribución homogénea en la mezcla de los polvos y luego se fraccionaba el peso correspondiente a cada muestra individual para compactar y sinterizar.

Para la operación de mezclado se estableció un tiempo de 30 minutos y luego se fraccionaban los pesos correspondientes a cada muestra individual. Los distintos gradientes de porosidad se lograron controlando los porcentajes en peso de mezcla de hidruro de titanio y bicarbonato de amonio según cada caso estudiado y controlando la secuencia de llenado de las matrices de compactación. Un

procedimiento similar se usó para fabricar un compuesto de titanio con gradiente de porosidad conteniendo hidroxiapatita de origen bovino.

La compactación de los verdes se llevó a cabo utilizando matrices metálicas cilíndricas uniaxiales de doble y simple efecto de diámetros 6, 8 y 12 mm (Figura 8). La fuerza necesaria para alcanzar la presión previamente establecida según cada caso se aplicó con máquina de ensayos universal Amsler (Figura 9). En la compactación de los verdes de las distintas muestras se usó un rango de presiones que va de 40 a 390 MPa. Las muestras fueron sinterizadas en horno eléctrico con cámara tubular de acero inoxidable con entrada y salida de gases.

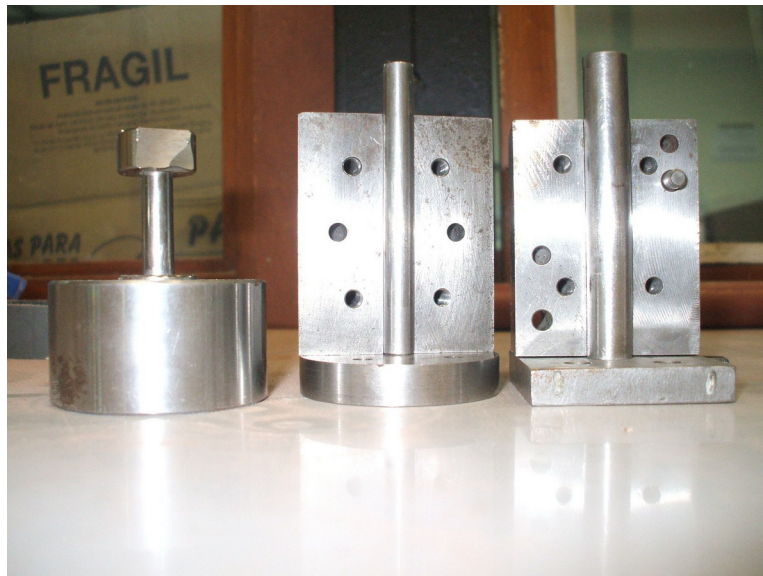


Figura 8: Matrices de compactado. De izq. a der. Diam 6mm, Diam.8, Diam. 12.

El proceso de sinterizado se realizó siguiendo siempre los mismos pasos; una vez colocadas las muestras en la cámara del horno, se inició el calentamiento bajo atmósfera controlada. El ciclo de calentamiento presentaba dos escalones isotérmicos (plateaux), el primer paso para conseguir la sublimación del bicarbonato de amonio a 200 °C durante 30 minutos. Y el segundo escalón a 500 °C de 30 minutos para provocar la deshidruración del hidruro de titanio (TiH₂). Finalmente se continuó el calentamiento hasta alcanzar la temperatura máxima de sinterizado, donde los tiempos y temperaturas se fijaron según cada caso estudiado. Como atmósfera protectora se utilizó gas Argón 5.0 (marca: PRAXAIR). En todos los tratamientos térmicos las probetas fueron calentadas junto con el horno una vez cerrada la cámara y previo barrido de gases con gas argón para eliminar el oxígeno de la cámara de sinterizado. Una vez transcurrido el tiempo fijado para el tratamiento térmico, las probetas se enfriaban dentro de la cámara manteniendo la atmósfera protectora hasta una temperatura inferior a los 100°C para prevenir la formación de óxidos de titanio superficiales en las probetas.



Figura 9: Operación de compactado.

3.1.1. Caracterización

A las muestras obtenidas en el sinterizado se les realizaron ensayos para determinar características físicas y mecánicas. Los datos obtenidos de los distintos análisis se usaron no solo para la determinación de las características mecánicas finales del material sino además como controles en pasos intermedios de proceso, los que permitieron corregir problemas surgidos en los trabajos que no fueron tenidos en cuenta al momento de plantear las hipótesis para la fabricación del material.

3.2.1. Preparación de muestras, ensayos y equipos

Para los estudios macro y microscópico las muestras fueron preparadas para su observación mediante técnica metalográfica. Para el manipuleo en las tareas de pulido se encapsularon las muestras con resina epoxi preacelerada comercial. En el desbaste se utilizó papel de lija al agua con carburo de silicio como abrasivo (granulometrías 200-400-600-1000-1200-1500) y para el pulido final, alúmina para pulido metalográfico (granulometría 2 μm) y pasta de diamante para pulido metalográfico (granulometría 1 μm).

Para el estudio micrográfico se utilizó lupa estereoscópica KONEX 20X y 40X, microscopio optico para metalografía, Leitz (hasta 1000X) en ambos casos con cámara MOTIC 3.2 adosada y software para el análisis de imágenes MOTIC IMAGE 2.0. Además se usó microscopio electrónico FE-SEM Sigma Carl Zeiss (LAMARX, FAMAF) para el estudio topográfico de alta resolución y SEM-EDS para la caracterización y cuantificación de los elementos químico individuales.

A partir del análisis digital las imágenes de las muestras metalográficas se establecieron parámetros tales como: porosidad y parámetros morfológicos de los poros como área y perímetro para determinar el factor de forma F_f . En el cálculo del F_f se usó la ecuación [1].

$$F_f = \frac{1}{W} \quad [1]$$

donde W es la redondez del poro y se determina con la ecuación [2]

$$W = \frac{(\text{Perímetro})^2}{(4\pi \times \text{Area})} \quad [2]$$

La determinación de porosidad volumétrica del material se llevó a cabo siguiendo norma ASTM C373-88, usando balanza digital OHAUS, rango 0-1000 g, apreciación: 0,01 g. Además el uso del software MOTIC IMAGE 2.0 permitió determinar valores de porosidad que se compararon con los obtenidos con el método volumétrico.

Los parámetros obtenidos con el análisis digital de imágenes metalográficas se usaron para el cálculo del módulo elástico del compuesto a partir de la porosidad (P) y del factor de forma (F_f) de los poros usando la relación de Nielsen [96], ecuación [3].

$$E_N = E_T \frac{\left(1 - \frac{P}{100}\right)^2}{1 + \left(\frac{1}{F_f} - 1\right) \times \frac{P}{100}} \quad [3]$$

Donde, E_T es el módulo elástico teórico del material libre de poros, P es la porosidad del compacto y F_f es el factor de forma de los poros del compacto. Los resultados del módulo elástico estimados mediante la relación de Nielsen se compararon con los resultados de la medición de módulo elástico obtenido mediante ensayo de compresión.

La determinación de la dureza obtenida en la secuencia de pasos de fabricación indicada en la Figura 9 se realizó mediante ensayo de microdureza Vickers con Durómetro LEITZ. Carga 25 g. durante 15 s.

El módulo de elasticidad se calculó a partir de ensayos de compresión estática en máquina de ensayos universal INSTRON, perteneciente al INTI Córdoba. Se ensayaron muestras con dos geometrías.

1.- Muestras cilíndricas. Diam. 8 mm y 10 mm de altura y

2.- Muestras cilíndricas. Diam. 12 mm, 10 mm de altura.

En todas las muestras ensayadas en compresión en las que se determinó módulo elástico, este parámetro se indica como E_E (módulo elástico experimental).

3.3. Características particulares del proceso de fabricación de material con porosidad radial. Etapas

A continuación se indican las características particulares de los pasos seguidos para determinar la menor temperatura a la que se podía sinterizar el material en las condiciones planteadas para la obtención de un compuesto de titanio con gradiente de porosidad radial que además permitiera la incorporación de hidroxiapatita en el proceso de sinterizado.

3.3.1. Determinación de la mínima temperatura de sinterizado

Para determinar la menor temperatura a la que se podía sinterizar el hidruro de titanio (TiH_2) se siguió el proceso iterativo indicado en la Figura 10. Modificando las temperaturas y tiempos de tratamiento, las muestras obtenidas se preparaban mediante técnica metalográfica para su observación al microscopio, seguida de la medición de dureza con microdurómetro en distintos puntos de la sección transversal, con el fin de determinar la continuidad estructural del material. Se adoptó como criterio que la estructura obtenida era homogénea si los valores de dureza medidos presentaban una variación de ± 10 puntos de dureza alrededor de un valor dado. Para esta condición de homogeneidad estructural, se fijaba el tiempo de sinterizado para esa temperatura. De no presentarse homogeneidad de dureza, se repetía el procedimiento aumentando el tiempo del tratamiento térmico.

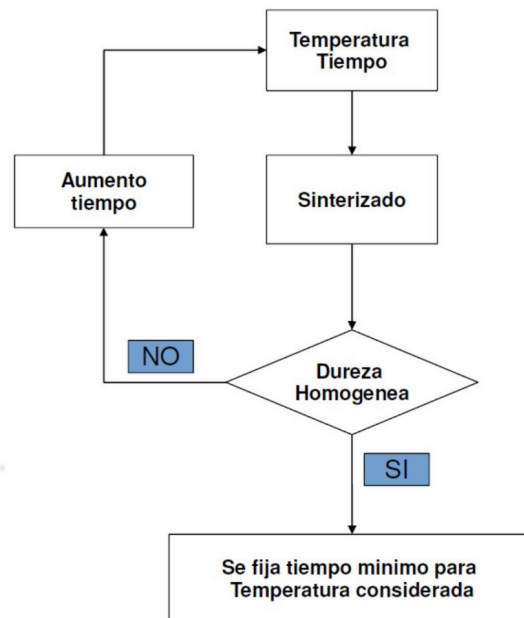


Figura 10: Esquema de la secuencia de pasos seguida para la determinación de la menor temperatura de sinterizado de material compactado de hidruro de titanio en polvo..

Todas las muestras fabricadas para esta etapa fueron compactadas en una matriz cilíndrica uniaxial de simple efecto de 8 mm de diámetro. La presión de compactación utilizada fue de 390 MPa, con muestras de 1 g de hidruro de titanio. Las primeras muestras se sinterizaron a una temperatura de 1000 °C y un tiempo de 1 hora con atmósfera de Argón 5.0. De esta manera se establecieron los primeros valores de referencia de dureza. El proceso se continuó con la misma secuencia bajando la temperatura de sinterizado en escalones de 200 °C hasta los 600 °C. Una vez establecidos los tiempos para cada temperatura estudiada, se prepararon grupos de muestras para caracterizar mecánicamente con ensayo de compresión estático y realizar estudio metalográfico. En la Tabla 3 se indica la designación de las probetas fabricadas en esta etapa para referencias posteriores.

<i>Nomenclatura usada para designar las probetas obtenidas a distinta temperatura de sinterizado siguiendo el esquema de la Figura 9.</i>	
Designación	
Muestras sinterizadas a 600 °C	Ti ₆₀₀
Muestras sinterizadas a 800 °C	Ti ₈₀₀
Muestras sinterizadas a 1000 °C	Ti ₁₀₀₀

Tabla 3: Probetas de titanio. Designación según temperatura de sinterizado.

3.3.2. Método de obtención de gradientes de porosidad

En este trabajo se busca producir un compuesto de titanio con gradiente de porosidad. Esto tiene por finalidad obtener un compuesto con módulo elástico menor al que tendría una probeta si fuese de titanio denso del mismo volumen y geometría. En este sentido el método desarrollado apuntó a fabricar una probeta cilíndrica con distribución de porosidad radial donde la porosidad aumenta desde el centro de la probeta de titanio denso hacia la periferia porosa (Figura 11). Teniendo en cuenta la dificultad práctica de generar con los medios usados en este trabajo un material con variación continua de porosidad radial en la Figura 11 ilustra un esquema de un compuesto con capas concéntricas con distinta porosidad.

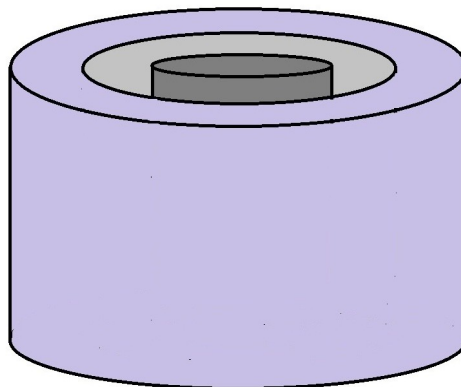


Figura 11: Esquema de material con porosidad radial. La porosidad varía desde el centro denso hacia la periferia porosa.

La fabricación de probetas con gradiente de porosidad se realizó en dos etapas. Primeramente se trabajó en la obtención de muestras con gradiente longitudinal de porosidad (**a**) para analizar las características de la interfaces y en una segunda etapa se desarrollaron métodos para la fabricación de muestras con porosidad radial (**b**).

a. Pasos para la obtención de material con gradiente de porosidad longitudinal

Para la fabricación de probetas con gradiente de porosidad longitudinal se utilizó una matriz cilíndrica diámetro 8 mm para el compactado uniaxial. Las capas se dispusieron en la matriz según

el esquema mostrado en la figura indicada en la Tabla 4 (cuadro derecho). Las capas se prepararon con distintos porcentajes en peso de hidruro de titanio y bicarbonato de amonio según la porosidad deseada. El porcentaje de porosidad de las muestras se consideró igual al porcentaje de bicarbonato de amonio que va a sublimar. Cada capa se hizo con un peso total de 0,25g de mezcla. La proporción de mezcla de cada capa se indica en la Tabla 4, esto es, el volumen correspondiente a cada componente calculado según el peso de material equivalente al volumen correspondiente a la porosidad deseada. Para el llenado de la matriz se usaron dos métodos de compactado de los verdes.

1.- Se colocó la fracción de polvo correspondiente a cada capa y se iba compactando individualmente cada capa.

2.- Se fueron colocando las fracciones de polvo correspondiente a cada capa y se compactó todo el conjunto.

Para la compactación de los verdes se aplicaron presiones de 390 MPa y 140 MPa. El ciclo térmico seguido en el sinterizado fue: 30 min a 200 °C, para la eliminación del bicarbonato de amonio por sublimación. 30 min a 500 °C para la etapa de deshidruración y 90 min a 800 °C para sinterizar el titanio. Las muestras obtenidas fueron caracterizadas metalográficamente.

PORCENTAJE DE MEZCLA DE CADA CAPA.		
Capa 1	25 % TiH ₂	75% NH ₄ HCO ₃
Capa 2	40 % TiH ₂	60% NH ₄ HCO ₃
Capa 3	60 % TiH ₂	40% NH ₄ HCO ₃
Capa 4	80 % TiH ₂	20% NH ₄ HCO ₃
Capa 5	100 % TiH ₂	...

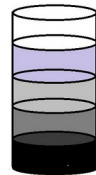


Tabla 4: Los porcentajes indicados representan la proporción en volumen ocupado por cada componente en cada capa. Imagen de la derecha: esquema indicativo de distribución de las capas longitudinales.

b. Pasos para la obtención de material con gradiente de porosidad radial

La proporción de polvos de cada capa se hizo igual que en el procedimiento usado para la obtención de los compuestos con gradiente de porosidad longitudinal (a). Para el compactado se usaron matrices cilíndricas metálicas de diámetro creciente. Los diámetros usados fueron 6, 8 y 12 mm (Figura 7). Las proporciones de constituyentes de las capas se indican en la Tabla 5 según las relaciones en volumen de cada material. En el cuadro derecho de la Tabla 5 se indica un esquema de la probeta.

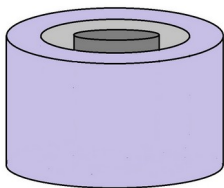
PORCENTAJE DE POROSIDAD DE CADA CAPA RADIAL.			
Centro	100 % TiH ₂		
Capa intermedia	80 % TiH ₂	20 % NH ₄ HCO ₃	
Capa externa	60 % TiH ₂	40 % NH ₄ HCO ₃	

Tabla 5: Los porcentajes indicados representan la proporción en volumen ocupado por cada componente en cada capa. Imagen de la derecha: esquema indicativo de la distribución radial de capas.

El procedimiento general consistió en aplicar individualmente la presión de compactación en cada una de las capas de la muestra. Primero se compactó el centro de la probeta en la matriz diámetro 6 mm usando solo hidruro de titanio. El verde obtenido se colocó centrado en la matriz de diámetro 8 mm donde se añadió la mezcla de polvos de hidruro de titanio y bicarbonato de amonio hasta enrasar con el verde de 6 mm de diámetro. La mezcla de polvos añadida se preparó para obtener una capa con 20 % de porosidad y se aplicó presión para densificar el verde, repitiendo el procedimiento para una tercera capa con 40% porosidad. Las presiones de compactación de los verdes usadas fueron 140 MPa para la capa externa y 40 MPa para las capas intermedia y central. Para la fabricación de material con gradiente de porosidad radial se replantearon algunas de las condiciones de fabricación hechas para el material con gradiente de porosidad longitudinal. Los pasos seguidos para la determinación de las presiones de compactación y el criterio adoptado para su elección se discuten en el punto 4.6.

Debido a las nuevas condiciones adoptadas y con las presiones de compactación fijadas para el compuesto con gradiente de porosidad radial se fabricaron muestras individuales con 20 %, 40 % de porosidad y de titanio denso, todas compactadas a 140 MPa (presión máxima de compactación usada en esta etapa). Estas muestras se hicieron para poder caracterizar mecánicamente cada capa por separado. El ciclo térmico seguido en la fabricación de las muestras fue el mismo que en las probetas con gradiente de porosidad longitudinal. Las probetas obtenidas fueron caracterizadas mediante ensayo de compresión y estudio metalográfico.

Dado que para la fabricación del material con porosidad radial se adoptó una presión de compactación de 40 MPa para las capas centrales e intermedias y para la capa externa se adoptó una 140 MPa que además es la presión final de compactación del verde para sinterizar, se indica la nomenclatura usada para las muestras fabricadas en estas condiciones para referencias posteriores (Tabla 6).

Compuesto compactado a 140 MPa. Designación de las muestras.	
Titanio denso	Ti ₁₄₀
Titanio con 20 % de porosidad	Ti+20 ₁₄₀
Titanio con 40 % de porosidad	Ti+40 ₁₄₀
Compuesto con gradiente de porosidad	Ti _{Grad140}

Tabla 6: Designación de las muestras compactadas a 140 MPa

3.3.3. Método de fabricación de un compuesto de titanio con gradiente de porosidad conteniendo hidroxiapatita

Con las mismas condiciones de fabricación planteadas para el compuesto Ti_{Grad140} se fabricó material modificando la composición de la capa externa. Se fabricaron probetas cilíndricas con centro de titanio denso, zona intermedia con 20% de porosidad y la capa externa con 20% de porosidad y 20% en volumen de hidroxiapatita.

3.4. Caracterización biológica

Desarrollado el proceso de fabricación pulvimetalúrgico, se planteó la necesidad de evaluar el desempeño del material en condiciones de funcionamiento reales asociadas a medios biológicos. Lamentablemente un estudio de biocompatibilidad completo que permitiría indicar como biomaterial al compuesto de titanio con gradiente de porosidad e hidroxiapatita propuesto (punto 3.3.3), está fuera del alcance de este trabajo. Por ello, se realizaron estudios biológicos básicos in-vitro e in-vivo con el objeto de analizar la respuesta biológica del material, desarrollado.

Los ensayos in-vitro se realizaron según Norma ISO 10993 (5), para determinar la citotoxicidad del material y para ver la capacidad de adhesión y proliferación celular y los ensayos in-vivo se realizaron según Norma ISO 10993(6) para evaluar la capacidad de osteointegración del compuesto.

3.4.1. Metodología de ensayos in-vitro

Se realizaron ensayos para determinar si en los compuestos desarrollados era posible el crecimiento y la adhesión celular osteoblástica. Los ensayos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biocompatibilidad del Dpto. de Química de la FCEFyN-UNC. La evaluación de la citotoxicidad en biomateriales es una de las primeras exigencias en la serie de ensayos indicados en la Norma ISO 10993(5) para que un material sea aprobado como biomaterial. Los detalles de la metodología de ensayo se indican en el Anexo 1. También se realizó un estudio de difracción de rayos X (DRX) para determinar los posibles cambios estructurales de la hidroxiapatita y la posible formación de diferentes compuestos por reacción de la misma. Para ello, se analizó una muestra de titanio con hidroxiapatita en un difractómetro Philips PW1800/10. LAMAX-FAMAF. Los ensayos se realizaron usando tres tipos de muestras: titanio denso (Ti_D), titanio poroso (Ti_{Por}) y titanio con un 20% en volumen de hidroxiapatita bovina (Ti_{HA20%})

3.4.2. Consideraciones y metodología de ensayos in-vivo.

Alvarez y Nakajima [97] explican que en el caso particular de estudios de regeneración ósea el uso de animales permite analizar condiciones de carga funcional del hueso y permite el estudio de su estructura tridimensional ya que en el hueso la geometría es compleja y se dificulta el estudio en su totalidad usando andamios (scaffolds) para el crecimiento celular. Dado el tamaño de las probetas en función de los sitios de implantación previstos y por tratarse de ensayos cuyo objetivo es tener información de la respuesta bioinductiva del material, solo se estudiaron algunos aspectos de la respuesta biológica del material sin tener en cuenta aspectos biofuncionales. Para el diseño del modelo experimental se tuvieron en cuenta las consideraciones bioéticas [98] y las regulaciones de SENASA (Resolución 617/2012).

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar provenientes del Bioterio de la FCEFYN-UNC, estos roedores presenta ventajas en la experimentación para estudios preliminares de remodelación ósea [99], como los llevados a cabo en este trabajo. Según las consideraciones hechas por Baker et al. [100] se eligió como sitio de implantación el fémur por tratarse del hueso largo de mayor calibre que poseen los animales elegidos. Baker et al., indican que el menor diámetro de este hueso en ratas Wistar adultos jóvenes (10 a 14 semanas de edad) es de $3,18 \pm 0,11$ mm y $3,33 \pm 0,15$ mm respectivamente. Estas dimensiones fueron usadas para definir la geometría y el tamaño del implante. En este caso se usó un modelo de implantación transcortical. Para la fabricación del material destinado a los implantes se diseñó y fabricó el instrumental de compactado de manera tal de mantener las condiciones de prensado de los verdes para sinterizar indicadas en el punto 3.3.2. b, y tener probetas con un tamaño adecuado para su implantación en el fémur de las ratas (Figura 12).



Figura 12: Matrices usadas para la fabricación de implante para ratas.

Para el implante se definió una geometría cilíndrica con un diámetro de 2 mm y 2mm de altura, tomando como referencia el tamaño del fémur del sujeto experimental y considerando que estas dimensiones daban margen suficiente para realizar la trepanación en el sitio de implantación y cumplir con la condición de estabilidad primaria en el proceso de remodelación ósea. Se usó una fresa de diámetro 2 mm en la trepanación del hueso de manera tal que coincidiera con el diámetro del implante para asegurar el contacto con el hueso. Para la colocación de los implantes se usaron 12 ratas macho de 8 a 12 semanas de edad para garantizar madurez ósea y se fijó un período de curación de cuatro semanas posterior a la implantación.

Se colocaron tres tipos de implante: 12 de titanio denso (Ti_D), 6 de titanio poroso (Ti_{Por}) y 6 de titanio con hidroxiapatita ($Ti_{HA20\%}$). La fabricación de los implantes se hizo en las mismas condiciones que las muestras de los ensayos in-vitro. Los implantes se colocaron de a pares en los individuos, uno por cada fémur. Uno de titanio denso (implante de control) y uno de los otros dos tipos en el fémur restante. La colocación se realizó siguiendo el modelo quirúrgico preestablecido [101]. Transcurridas las 4 semanas previstas para evaluar el proceso de osteointegración, se retiraron las muestras y se realizó estudio radiográfico para verificar en forma preliminar los resultados del proceso. El estudio se realizó mediante placas radiográficas empleando equipo odontológico de rayos X. Para las placas radiográficas se fijaron como parámetro: 10 cm de distancia entre placa y muestra; parámetros eléctricos: 10mA, 80kV, tiempo de exposición: 0,8 s. Se emplearon placas radiográficas de tamaño estándar para radiografía intraoral (30mm x 40mm). En la preparación de las muestras para estudio macro y microscópico, dado que el material metálico se encontraba en contacto con tejido orgánico, los pasos seguidos para su preparación incluyeron algunos procedimientos destinados a preservar las características del tejido para su estudio posterior. La preparación de las muestras se realizó siguiendo la técnica histológica descrita en [101]. En la Tabla 7 se indica un resumen de los pasos para la preparación de las muestras.

Secuencia de pasos seguidos en la preparación de muestras		
PROCEDIMIENTO	DESCRIPCIÓN	TIEMPOS
Fijación	Formol 100%	15 días
Deshidratación	Acetona 50% - Agua destilada 50 % el volumen	24 hs.
Deshidratación	Acetona 100 %	24hs
	Acetona 50% - monómero 50 %	24hs
	Monómero 100 %	24hs
Inclusión Resina poliéster	Monómero + catalizador	24hs
Corte manual con sierra		
Reinclusión Resina poliéster para manipuleo en pulido	Monómero + catalizador	24hs
Preparación de muestras metalográficas	Pulido con lija al agua de granulometría creciente (Nro. 220 a 2000)	

Tabla 7: Resumen de pasos seguidos en la preparación de muestras biológicas para evaluar proceso de osteointegración.

En el análisis macroscópico se usó una lupa estereoscópica KONEX (20X y 40X) con cámara MOTIC adosada y software MOTIC IMAGE 2.0 para análisis de imágenes. Además se hicieron imágenes con microscopio electrónico de barrido FE-SEM Sigma, Carl Zeiss, del Laboratorio LAMARX, FAMA-UNC. Con el estudio se obtuvieron imágenes topográficas de alta resolución y análisis EDS para la detección y cuantificación de los elementos químicos presentes en cada

muestra implantada. En la Figura 13 se ilustra con imagen de microscopía electrónica, uno de los implantes de titanio poroso luego de extraída la muestra y preparada para su observación.

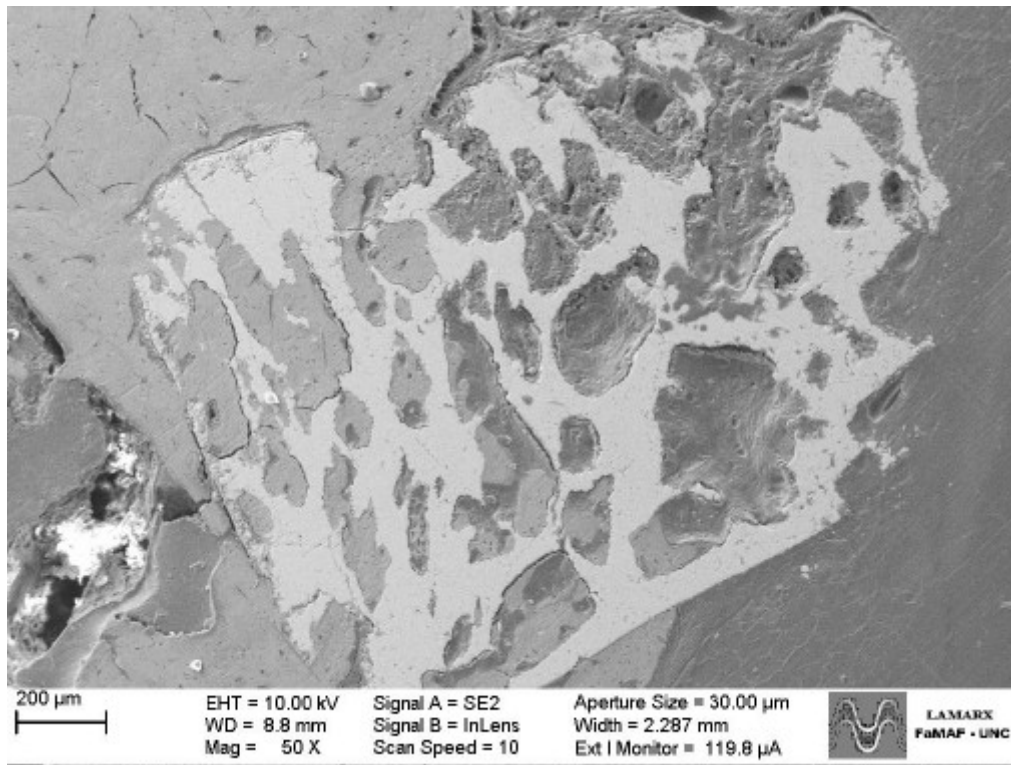


Figura 13: Muestra de titanio poroso preparada para evaluar el proceso de osteointegración. Imagen SEM. LAMARX, FAMAFA.

3.4.3. Parámetros usados para indicar índice de calidad de hueso regenerado. BIC y relación Ca/P.

Las técnicas aplicadas en la actualidad para evaluar biocompatibilidad se indican en la Norma ISO 10993-6, aunque distintos autores usan otras técnicas para evaluar y cuantificar la calidad del hueso regenerado en el proceso de osteointegración. Estas técnicas miden parámetros tales como el BIC (Bone to Implant Contact) o bien indicando la relación calcio-fósforo [102], [103], [104], [105], [106], [107]. Para la evaluación de los índices de calidad de hueso, es útil definir la metodología de estudio. Estas se pueden clasificar en métodos invasivos y no invasivos o in-vivo y ex-vivo. Los estudios in-vivo se basan principalmente en la utilización de placas radiográficas y estudios de tomografía con reconstrucción 3D. En cuanto a los análisis ex-vivo se utiliza microscopía óptica, microscopía confocal, microscopía electrónica y estudios histológicos bajo tinción, de los cuales la Norma ISO 10993-6 sólo recomienda un estudio macroscópico para estudiar las zonas de contacto implante-tejido y uno histológico para analizar la presencia de ciertas células. La evaluación ex-vivo ofrece mayores posibilidades en la evaluación del proceso de osteointegración que los realizados in-vivo. En este trabajo se usaron dos técnicas para evaluar la osteointegración de los implantes colocados en ratas además de los estudios radiográficos.

3.4.3.a. BIC (Bone to Implant Contact)

El **BIC** se define como la relación entre el perímetro hueso-implante en contacto directo (sin la presencia de fibrointegración) y el perímetro del implante expresada en tanto por ciento. Ecuación [4]. En este caso se usaron imágenes SEM 2D con una magnificación de 50X. El relevamiento de los perímetros se hizo con la asistencia del software libre FIJI para procesamiento de imágenes. En la Figura 14 se muestra a modo de ejemplo, la imagen de un implante poroso donde los perímetros de las zonas en contacto hueso-implante están resaltados en rojo y el perímetro total del implante en amarillo.

$$BIC = \frac{(\text{Perímetro implante en contacto con hueso})}{(\text{Perímetro total del implante})} \times 100 \quad [4]$$

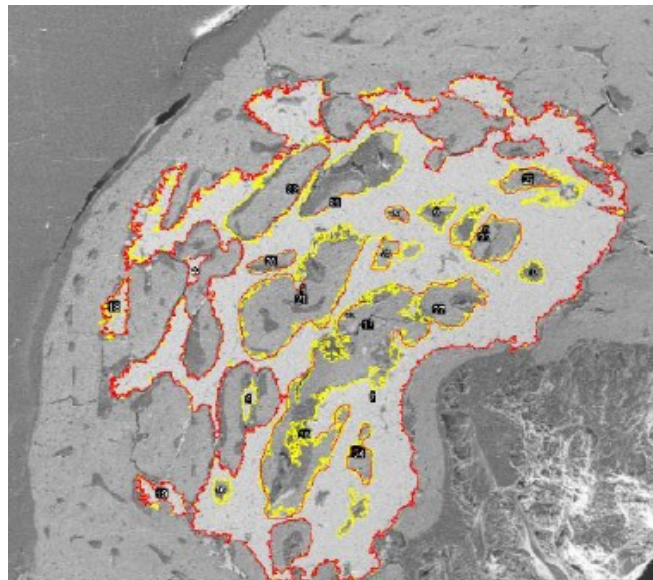


Figura 14: Muestra de titanio poroso osteointegrado. En la imagen SEM se indican los perímetros de contacto hueso - implante (rojo) y perímetro total (amarillo).

3.4.3.b. Relación calcio-fósforo (Ca/P)

La relación Ca/P se usa como índice de la calidad de las apatitas formadas alrededor del material del implante comparando los valores que se obtienen de las apatitas formadas en el proceso de osteointegración con el valor de la relación estequiométrica para la hidroxiapatita. La cuantificaciones de Ca y P se realizaron con microscopio SEM-EDS. Para cada muestra de material implantado se calcularon las relaciones Ca/P con el fin de establecer si el biomaterial fabricado e implantado en un medio biológico era capaz de promover un proceso de osteointegración. En la Figura 15 se muestra el material implantado (en verde) rodeado de apatita (zonas oscuras). La técnica EDS permite cuantificar los valores de materiales individuales para la región observada.

Estos datos se usaron para cuantificar la relación Ca/P e indicar la calidad de las apatitas formadas alrededor del hueso Figura 16.

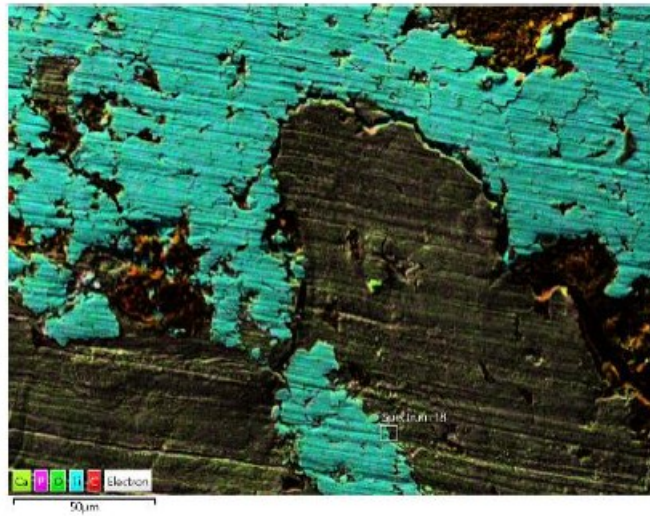


Figura 15: Imagen SEM EDS de una muestra de titanio poroso en contacto con apatita.

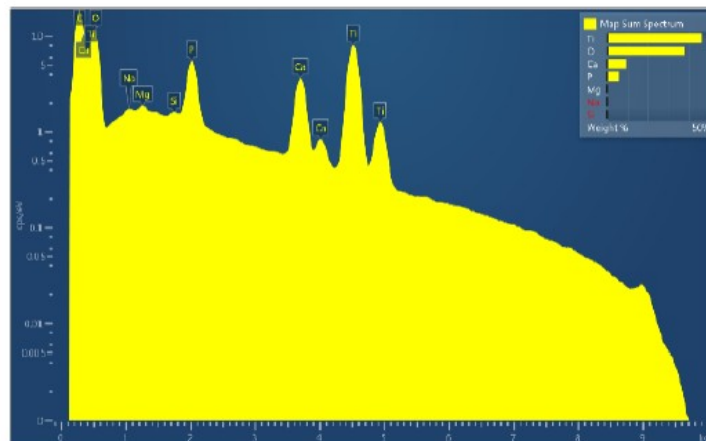
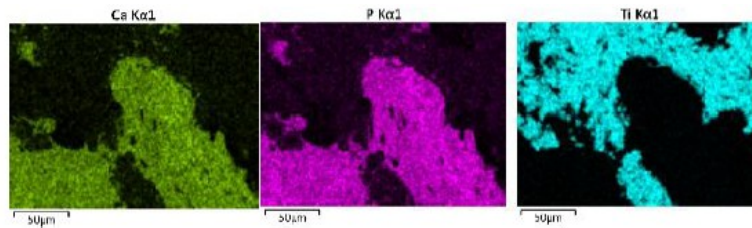


Figura 16: Ejemplo de cuantificación de Ca, P y Ti en una muestra de titanio poroso.

4. Resultados y discusión

El análisis de antecedentes de este trabajo muestra que el tema fue tratado siempre separando la parte mecánica de la parte biológica. Por una parte están los trabajos que analizan las propiedades mecánicas del titanio y su variación al incorporarle poros con distintas técnicas [69], [72], [81] y por otra parte, varios investigadores han analizado el efecto de la presencia de hidróxiapatita sobre la unión con el tejido óseo [39], [40], [42].

Sin embargo, no se han encontrado antecedentes de trabajos similares al presente donde se trate el fenómeno mecánico y biológico simultáneamente en un biomaterial obtenido con un proceso de fabricación que no modifique microestructuralmente los materiales componentes. Esto marca la originalidad de éste trabajo.

Por otro lado, resulta original la incorporación de la hidroxapatita, ya no como recubrimiento del titanio sino incorporada al mismo en forma de partículas. La presencia de partículas superficiales de hidroxapatita en la matriz metálica genera puntos de material bioactivo que mejoraría las primeras etapas de adhesión celular. Además, de esta manera se evita el inconveniente de la diferencia de propiedades entre el metal y el cerámico, la que puede provocar la fractura y desprendimiento del revestimiento. La incorporación de partículas de hidroxapatita requiere el uso de temperaturas bajas de sinterizado para que sus propiedades no se vean afectadas. Aquí se consiguió sinterizar el titanio a 800 °C manteniendo buenas propiedades, lo que también es original de este trabajo.

Como en este trabajo se plantea estudiar un método para fabricar, mediante técnica pulvimetalúrgica, un compuesto de titanio con porosidad radial que además contenga hidroxapatita. Nos encontramos ante la necesidad de establecer una temperatura de tratamiento térmico que provea propiedades mecánicas adecuadas en la matriz de titanio y que además permita incorporar hidroxapatita en el proceso.

4.1. Criterio de elección del material metálico y atmosfera de sinterizado

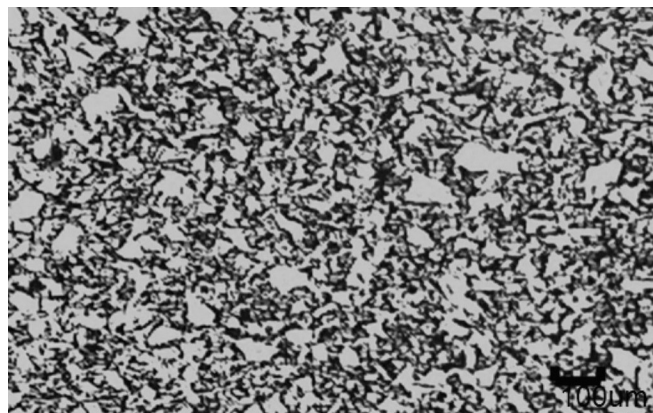
De las alternativas comerciales con las cuales se podría trabajar para obtener piezas por sinterizado de titanio, en este trabajo se definió un criterio con base a lo establecido en [108] donde se propone el uso de polvo de hidruro de titanio (TiH_2) en vez de titanio en polvo. Una forma común de producir titanio metálico en polvo es por un proceso de hidruración y deshidruración, donde la hidruración de titanio se realiza para fragilizar el metal permitiendo de esta forma la molienda, seguido de un proceso de deshidruración para obtener el polvo de titanio, de manera tal que es el hidruro de titanio un producto intermedio en el proceso. Señala este autor algunas ventajas en la densificación de muestras hechas a partir de hidruro de titanio respecto de las de titanio: partículas más pequeñas que se fragmentan durante la compactación, poros más pequeños en los verdes de sinterizado e indica que la eliminación del hidrógeno en el sinterizado produce un efecto de limpieza en las partículas mejorando la actividad química del titanio. Esto coincide con lo informado en [109] donde se señalan las ventajas de sinterizar a partir de polvo de hidruro de titanio en vez de titanio. Indica este autor que una de las ventajas del hidruro de titanio en el sinterizado se da en la deshidruración ya que el flujo de hidrógeno ayuda a desoxidar las superficies de las partículas mejorando de esta manera la unión y reduciendo la porosidad al final del proceso, en [110] se explica que el proceso de deshidruración comienza en el rango de temperatura entre 350 -

400 °C verificando una pérdida del 90 % a los 780 – 850 °C. Por otro lado en [111] se analiza la influencia en las propiedades para sinterizar titanio CP usando atmósferas de argón y en vacío, indicando que la atmósfera de argón da mejores propiedades debido a la insolubilidad de este gas en el titanio a la temperatura de sinterización. Esto inhibe la evolución de los poros y el desprendimiento de estos en los límites de grano durante la sinterización. Como resultado, la sinterización en argón puede dar lugar a diferencias significativas en la porosidad intrínseca del titanio, en el tamaño de poro residual, la distribución y la morfología en comparación con la sinterización en vacío.

En este trabajo se usó hidruro de titanio como fuente de titanio y en todos los tratamientos térmicos de sinterizado se usó argón como atmósfera protectora

4.2. Estudio de la temperatura en el sinterizado

Con el material base metálico seleccionado se buscó integrar un compuesto titanio-hidroxiapatita mediante un proceso de sinterizado para obtener una configuración de porosidad radial en la estructura metálica. Trabajos consultados coinciden en indicar que la temperatura de sinterizado para el polvo de titanio CP está en el rango de 900 °C a 1300 °C, sin embargo en este rango ocurre un aumento de la reactividad del titanio en presencia de hidroxiapatita, que comienzan a partir de los 800 °C dando como resultado un material que presenta pobres propiedades mecánicas [84]. En este sentido las primeras experiencias realizadas apuntaron a estudiar la posibilidad de bajar la temperatura de sinterizado para evitar la reacción entre el titanio y la hidroxiapatita. Por tal razón se iniciaron los trabajos de laboratorio estudiando hasta que nivel era posible disminuir la temperatura de sinterizado de un compactado de hidruro de titanio. Para establecer las condiciones de sinterizado para obtener un compuesto en base titanio a baja temperatura se realizaron experiencias de sinterizado de titanio (a partir de hidruro de titanio) a 1000°C, 800°C, 600°C y 500°C. Se determinó que la menor temperatura a la que se podía sinterizar era 600 °C. En las muestras sinterizadas a 500 °C, se verificó algún grado de sinterizado obteniéndose una estructura metálica que permitía el manipuleo, pero el material se desgranaba al ejercer fuerza en forma manual. No se realizaron pruebas para temperaturas menores a 500 °C.



*Figura 17: Ti₆₀₀. Microestructura de Ti.
Temperatura de sinterizado 600°C*

En las Figuras 17, 18 y 19 se muestra la microestructura del material obtenido para las distintas temperaturas de sinterizado: 1000°C, 800°C, 600°C.

Para la muestra Ti_{600} (Figura 17), el estudio metalográfico reveló una estructura porosa con distribución homogénea. Esta porosidad, intrínseca de sinterizado, presenta poros de forma irregular predominando las geometrías con ángulos vivos propios de un proceso de sinterizado incompleto.

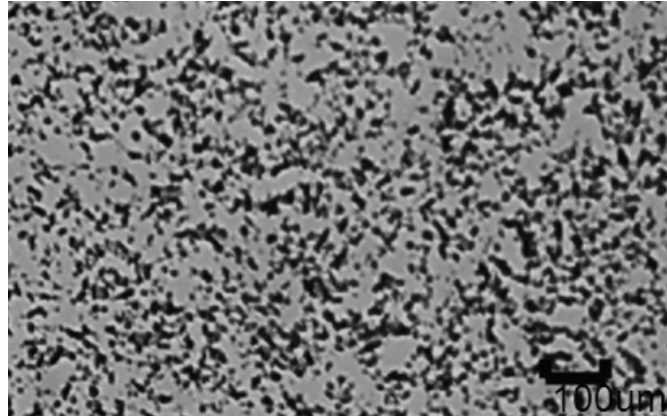


Figura 18: Ti_{800} . Microestructura de Ti. Temperatura de sinterizado 800°C

En la muestra Ti_{800} (Figura 18) el material presenta una estructura de poros menos angulosa que en Ti_{600} . La porosidad en Ti_{800} es predominantemente cerrada y se observan algunas zonas con coalescencia de poros. Para la muestra Ti_{1000} se observa una marcada disminución de la porosidad. Los poros en estas muestras son de forma predominantemente esferoidal (Figura 19), con porosidad cerrada.

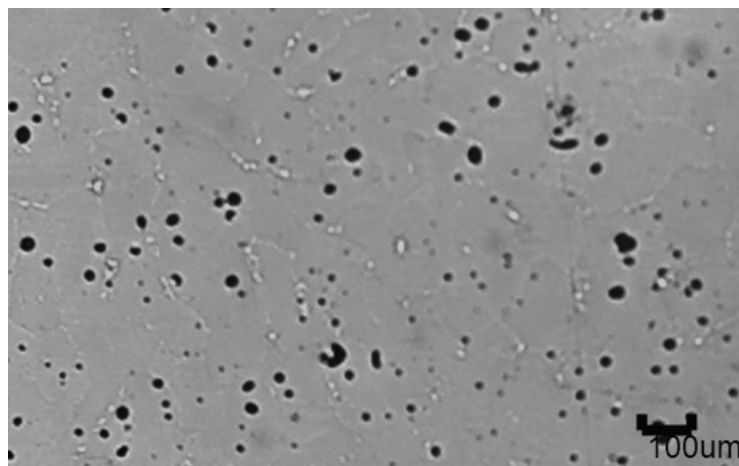


Figura 19: Ti_{1000} . Microestructura de Ti. Temperatura de sinterido 1000°C

Con las muestras obtenidas con sinterizados a 1000°C, 800°C y 600°C se realizaron ensayos de compresión. Basado en los resultados obtenidos en la caracterización mecánica se buscó un criterio de elección de temperatura de sinterizado que permitiera la incorporación de hidroxiapatita en el proceso para mejorar la bioactividad además de tener en cuenta aspectos biofuncionales del titanio inherentes a la estructura porosa del material. Los datos de la Tabla 8 (temperatura de sinterizado [T°C], dureza H[mV], porosidad aparente Pa [%], módulo elástico E_E [GPa]), muestran que con el aumento de la temperatura de sinterizado, la evolución de los parámetros mecánicos (E_E) de los distintos compuestos es consistente con los resultados esperados para este tipo de procesos al igual que la evolución de la geometría de los poros [112]. Esto es, a medida que aumenta la temperatura de tratamiento térmico en el compuesto se verifica un aumento en el valor del módulo elástico (E_E) con una disminución de la porosidad y la porosidad evoluciona a geometrías cada vez más compactas y cerradas.

Material	T [°C]	H [mV]	P _A [%]	E _E [GPa]
Ti ₆₀₀	600	125-130	12.9	23.2
Ti ₈₀₀	800	195-226	6.89	52,5
Ti ₁₀₀₀	1000	369-385	4.2	81,3

Tabla 8: Caracterización mecánica de las muestras Ti₆₀₀, Ti₈₀₀, Ti₁₀₀₀.

La temperatura para la descomposición térmica de la hidroxiapatita depende de factores tales como: método y condiciones de fabricación o síntesis, cantidad y tipo de impurezas presentes, aditivos, atmósfera de trabajo y otros factores como tamaño de muestra, tamaño de partícula y velocidad de calentamiento además se debe tener en cuenta que los cambios en la hidroxiapatita se dan en el rango de temperatura de 850 °C a 1400 °C [113]. En este trabajo, según los objetivos planteados, en la elección de la temperatura de sinterizado se tuvieron en cuenta dos aspectos:

1. Los valores de módulo elástico medidos para las muestras fabricadas a las temperaturas de sinterizado seleccionadas: 1000°C, 800°C y 600°C.
2. Los efectos de las temperatura de trabajo en la hidroxiapatita cuando esta se encuentra en presencia de titanio.

El valor del módulo elástico medido en las muestras sinterizadas a 1000 °C (81,3 GPa) está por encima del módulo elástico del hueso cortical. Un compuesto fabricado en estas condiciones traería aparejados los problemas derivados del apantallamiento de tensiones (stress shielding). Por otro lado, para esta temperatura de sinterizado, ya se produce la descomposición de la hidroxiapatita motivo por el cual se descartó esta temperatura para el tratamiento térmico.

Para las muestras sinterizadas a 600 °C el módulo elástico medido (23,2 GPa) está dentro de los valores del hueso cortical.

En las muestras sinterizadas a 800 °C el valor del módulo elástico (52,5 GPa) es mayor al del hueso cortical y en este caso se tiene margen para adecuar las propiedades mecánicas y biológicas del compuesto por dos vías.

A- Incorporando exprofeso poros en el seno del metal de manera tal de bajar el módulo elástico del compuesto y al mismo tiempo adecuar en el proceso el tamaño de los poros para optimizar la adhesión de células osteoblásticas.

B- Incorporando hidroxiapatita. 800°C es la temperatura de sinterizado más baja de inicio de los procesos de reacción entre titanio e hidroxiapatita y de descomposición de la hidroxiapatita en otro tipo de fosfatos cálcicos. En un compuesto de titanio-hidroxiapatita sinterizado en estas condiciones, los lugares ocupados por las partículas de hidroxiapatita funcionarían como huecos dada la falta de afinidad química del biocerámico con el titanio y en consecuencia se podría operar sobre las propiedades mecánicas del compuesto de manera análoga a la descrita en **A**, incorporando al compuesto un material con propiedades bioactivas.

En este trabajo se optó por esta temperatura de sinterizado (800 °C), que como se indicó es la temperatura más baja de inicio de los procesos de reacción química entre titanio e hidroxiapatita y de transformación de la hidroxiapatita en otro tipo de fosfatos de calcio.

4.3. Porosidad intrínsecos, tamaño, cantidad y distribución de poro. Análisis para Ti₆₀₀-Ti₈₀₀-Ti₁₀₀₀

En la Tabla 9, se indican los resultados obtenidos del análisis digital de las imágenes metalográficas. Los datos indican porcentaje de porosidad (**P_A**), medida según norma ASTM C373-88 y de manera digital (**P_D**), el rango de valores de factor de forma (**F_f**) más frecuente en cada muestra y el porcentaje de porosidad con poro de área menor al valor indicado (columna de la derecha en Tabla 9).

Muestra	P _A (%)	P _D (%)	F _f	A (μm ²)
Ti ₆₀₀	12.9	14	0.4-0.75 (60 %)	< 2413 (92 %)
Ti ₈₀₀	6.89	6	0.7-0.86 (70 %)	< 1588 (89 %)
Ti ₁₀₀₀	4.2	3.3	0.75-0.88 (90 %)	< 282.6 (85 %)

Tabla 9: Resultados de análisis digital de imágenes metalográficas de Ti₆₀₀, Ti₈₀₀, y Ti₁₀₀₀.

Mediante el análisis de las estructuras porosas con mapeo digital de las imágenes metalográficas se estableció la relación entre el área (**A**) y el Factor de forma (**F_f**) para una muestra dada. La gráfica de la Figura 20 muestra esta relación para los materiales obtenidos según las distintas temperatura de sinterizado (nomenclatura indicada en Tabla 3).

Un análisis comparativo entre las tres muestras indicó que para la Ti₆₀₀ se obtuvo el material con mayor porcentaje de porosidad intrínseca (**P_A**), recordando que además, tiene el menor módulo elástico **E_E** (Tabla 8). Para esta muestra, el área de poro se encuentra por debajo de 2413 μm² comprendiendo este valor al 92 % de la porosidad total (Tabla 9). El resto de la porosidad tiene valores mayores. En la gráfica de la Figura 21 se indica la distribución del tamaño de poro en función del **F_f** para una muestra Ti₆₀₀. Se puede ver que los poros de mayor tamaño son los que presentan menor **F_f** y este valor crece a medida que disminuye el área de los poros tendiendo el valor a la unidad. Para las condiciones de sinterizado planteadas los poros de menor tamaño son los

que más se aproximan a la forma esferoidal luego del tratamiento térmico. Para este caso el 60 % de los poros tienen un F_f que está entre 0,40 y 0,75.

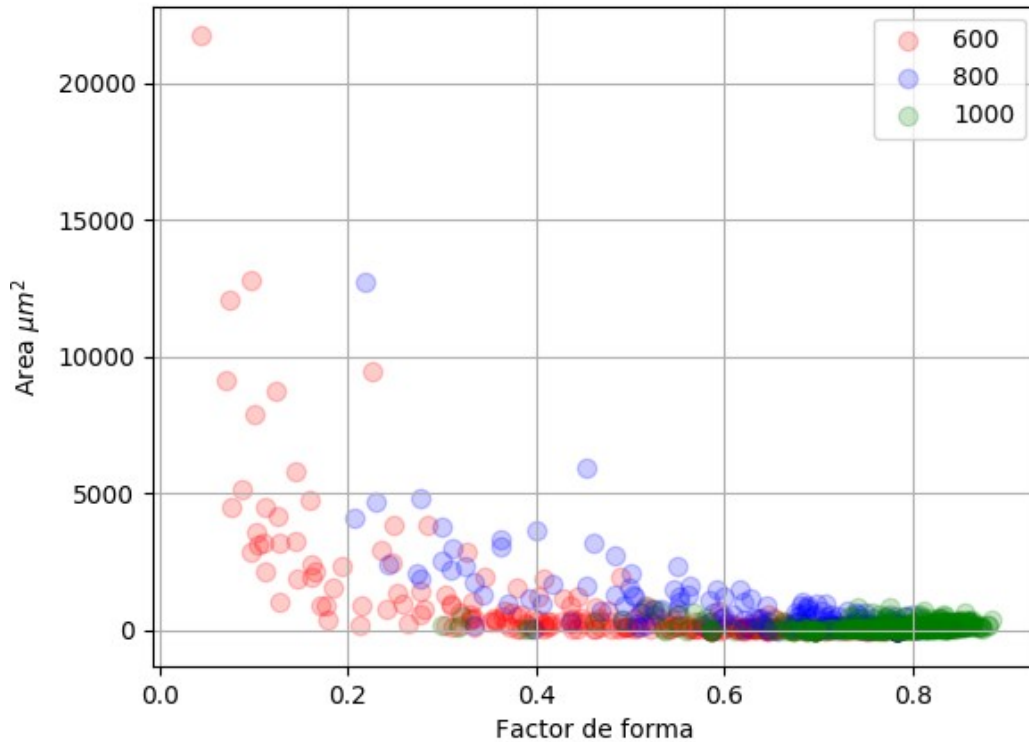


Figura 20: Distribución de las áreas de poro en función del factor de forma para material sinterizado a las temperaturas indicadas. Muestras Ti_{600} – Ti_{800} – Ti_{1000}

En las muestras Ti_{800} se observa un aumento en las propiedades mecánicas. Paralelamente se ve una reducción en los porcentajes de porosidad P_A (Tabla 8 y 9) y en los poros se verifica un aumento en el valor del F_f , estando el 70% de la porosidad comprendido en el rango de 0,7 a 0,86, y el 89 % de los poros tienen tamaño inferior a $1588 \mu m^2$ (Tabla 9). Del análisis de la distribución de área de poro en función de F_f en Ti_{800} se vio un aumento en los valores inferiores de este parámetro respecto de lo observado en Ti_{600} (desplazamiento de la nube de puntos hacia la derecha en la gráfica de la Figura 22), además de un porcentaje mayor de poros con F_f aproximándose al valor 1; esto es, una proporción mayor de poros cuya geometría tiende a la esferoidización. Además se puede observar a simple vista (Figura 18), que se reduce la cantidad de poros interconectados.

En la muestra Ti_{1000} se obtuvo el material con mayor valor de módulo elástico E_E (Tabla 8), 4,2 % de porosidad cerrada (P_A) con un tamaño de poro que en su mayoría está por debajo de los $400 \mu m^2$ y el 90 % de los poros tiene un F_f comprendido entre el 0,75 y 0,88 (Tabla 8 y Figura 23).

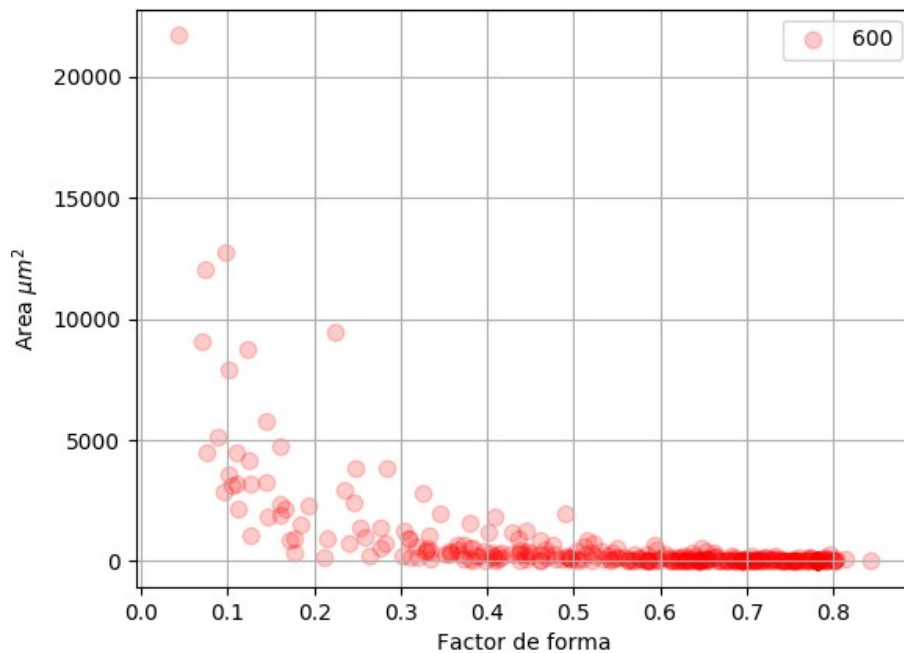


Figura 21: Distribución de tamaño de poro en función del factor de forma (F_f) para Ti_{600} .

Las muestras sinterizadas a 1000 °C se usaron como referencia comparativa para las demás muestras dado que esta temperatura asegura una buena densificación del polvo de titanio [114], pero esta temperatura no permite la incorporación de hidroxiapatita ya que ocurren los procesos de reacción entre titanio e hidroxiapatita.

El análisis de los resultados de esta primera etapa se usó para indicar un criterio de selección de un tratamiento térmico de sinterizado en el que se pudiera aunar una mejora en la bioactividad y en la biofuncionalidad del material.

El análisis digital de la porosidad intrínseca en Ti_{600} mostró que el 92 % de los poros tiene un área con tamaño por debajo de 2413 μm^2 . En este análisis no se tiene en cuenta la geometría de los poros.

En [115] se indica basado en ensayos de adhesión celular, un tamaño mínimo de poro de 50 μm para conseguir un buen proceso de adhesión de células osteoblásticas a una superficie porosa. Este valor hace referencia al diámetro equivalente del poro, esto es, el diámetro que tendría el poro si la superficie en el plano de observación del microscopio fuese circular. Este parámetro es el que habitualmente se usa para indicar el tamaño de poro. En nuestro caso, en Ti_{600} los poros mas grandes observados, si se consideran áreas circulares, tienen un diámetro equivalente de 55 μm (ver Figura 17). La distribución del tamaño de poro en función del F_f (Figura 21), muestra que la mayoría de los poros tienen un tamaño menor a 55 μm con un F_f comprendido en el rango de 0,40 a 0,75. El material fabricado en estas condiciones no sería adecuado como biomaterial dado que el tamaño predominante no favorece la adhesión de células osteoblásticas

Con las muestras Ti_{800} y Ti_{1000} y sólo considerando el tamaño de área predominante indicado en la Tabla 9, se ve que el tamaño de poro disminuye.

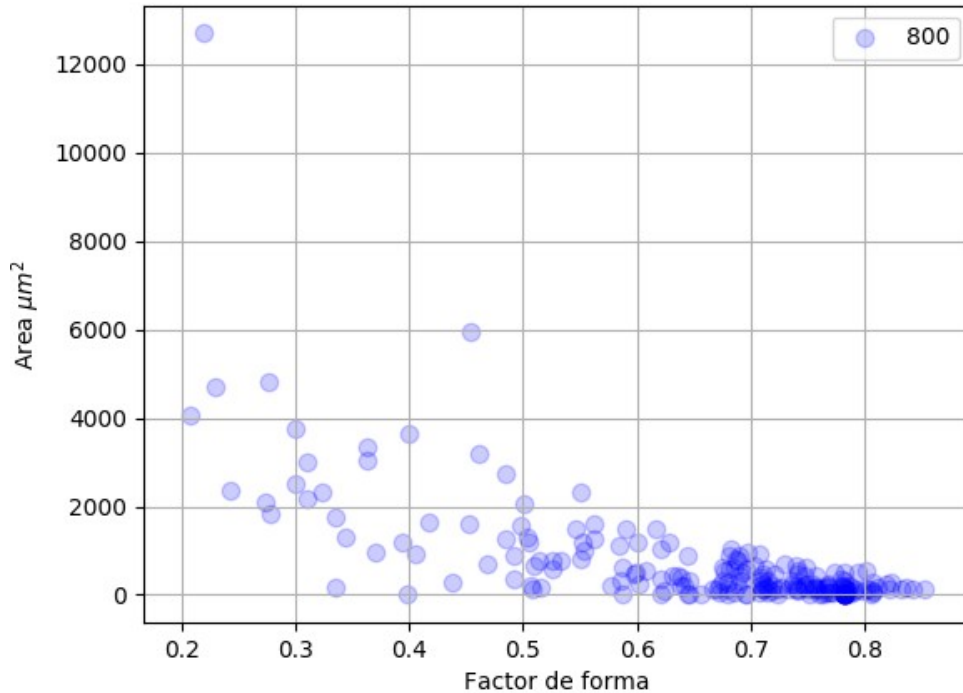


Figura 22: Distribución de tamaño de poro en función del factor de forma (F_f) para Ti_{800} .

4.4. Relación de la estructura porosa con la bioinducción y bioactividad

Desde el punto de vista bioinductivo se puede establecer una dependencia entre tamaño de poro y bioactividad del material, en [115] se indican las ventajas de usar estructuras porosas en la fabricación de prótesis ortopédicas, indicando que estas estructuras favorecen la adhesión y el crecimiento de tejido óseo. El análisis y clasificación de los factores que influyen en las superficies para implantes indica que se requieren espacios con tamaño superior a $50 \mu\text{m}$ para que el proceso de remodelación ósea progrese [116]. Distintos autores han estudiado este fenómeno. En [117] se analizan materiales porosos caracterizando la dependencia del tamaño del poro y la fuerza de adherencia luego de producido el proceso de osteointegración. En este trabajo se indica que la fuerza de corte y la rigidez aumentan a medida que disminuye el tamaño de poro y los mejores resultados obtenidos por este autor para la adhesión ósea, se dan en el rango de $175 \mu\text{m}$ a $235 \mu\text{m}$. En el caso de los materiales de titanio porosos, distintos autores han analizado la bioactividad en función del tamaño de poro superficial. En [118] el estudio de aleaciones sinterizadas a partir de $Ti-Al6-V4$ en polvo logrando una porosidad uniforme con el agregado de hidruro de titanio (TiH_2) con un tamaño de poro de $90-190 \mu\text{m}$ mostró que con este rango de porosidad se consigue una buena respuesta en el proceso de remodelación ósea. Los resultados indicados en [81] y [119] para ensayos de adhesión celular osteoblástica indican que el rango de $200 \mu\text{m}$ a $500 \mu\text{m}$ es el que

genera las mejores condiciones para este proceso. En este sentido los resultados para Ti_{600} , Ti_{800} y Ti_{1000} , en relación al tamaño de poro indican que este material no tendría a priori una respuesta óptima en el proceso de remodelación ósea. Esto se tuvo en cuenta en la incorporación de agentes separadores que dieran como resultado un material con porosidad cuyo tamaño promedio estuviera entre 100-500 μm .

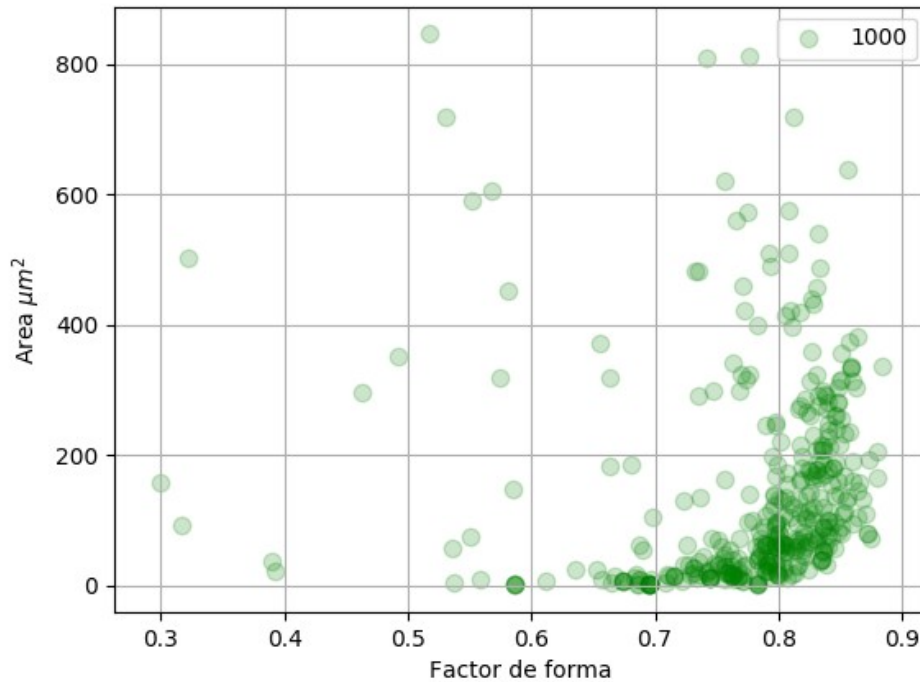


Figura 23: Distribución de tamaño de poro en función del factor de forma (F_f) para Ti_{1000} .

A partir de las consideraciones anteriores, se determino que el proceso para obtener el material compuesto titanio-hidroxiapatita con las características buscadas debería fabricarse siguiendo el siguiente ciclo térmico: temperatura de sinterizado 800 °C y un tiempo de 90 minutos, además de los 30 minutos a 200 °C para eliminar el bicarbonato de amonio y 30 minutos a 500 °C para el proceso de deshidruración.

4.5. Análisis del material con gradiente de porosidad

4.5.1. Porosidad longitudinal

En base a los ensayos anteriores se desarrollaron las experiencias para producir un material de titanio con porosidad longitudinal. Fijados los parámetros para el sinterizado, se realizaron experiencias para verificar que los procedimientos previstos dieran un material con gradiente longitudinal de porosidad con continuidad estructural en la matriz de titanio.

A continuación, se analizarán además de los resultados finales, algunos resultados parciales de las etapas del trabajo que incluyen resultados para muestras que fueron descartadas. La aclaración se hace dado que en la discusión se tienen en cuenta algunos aspectos del carácter iterativo del trabajo experimental.

En la primera muestra del material con gradiente de porosidad longitudinal, se vio en la capa con mayor porcentaje de bicarbonato de amonio (mayor porosidad), que el material no presentaba buenas propiedades mecánicas ya que se desgranaba al tacto (capa superior en la Figura 24). El estudio metalográfico realizado a la misma muestra, reveló falta de unión entre las capas, hecho que se observa a simple vista en la Figura 24. El material presenta grietas o discontinuidades parciales que se desarrollan coincidentemente con la unión entre capas.

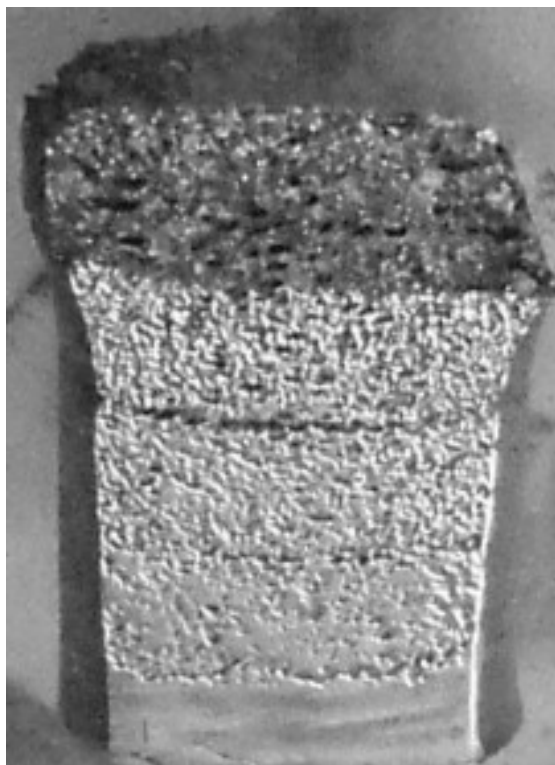


Figura 24: Sección de muestra con porosidad longitudinal. Compuesto fabricado según método indicado en punto 3.3.2 b.

Un primer análisis de las variables del proceso de preparación de las muestras para sinterizar (granulometría de los materiales, método de llenado de la matriz de compactado, presiones de compactado), indicaría que el efecto no deseado de la falta de unión entre las capas podría producirse en la etapa de la fabricación del verde. Experiencias realizadas con la operación de llenado y compactado según lo indicado en el punto 3.3.2. a 1; revelaron falta de unión entre las capas luego de la aplicación de la fuerza de compactación. La aplicación en forma individual de la fuerza de compactación para cada capa no genera una buena unión en el verde. En estas experiencias se vio además que la falta de unión entre capas se acentuaba a medida que se incrementaba la presión de compactación ya que no se producía la unión de las capas a medida que se agregaban en la matriz de compactado. De estas primeras experiencias se descartó del material la capa que tenía previsto un 75 % de porosidad, fijando como máximo la cantidad de bicarbonato de amonio mezclada con titanio de manera tal que diera un 60 % de porosidad y se modificó el procedimiento de fabricación de los verdes según lo indicado en el punto 3.3.2 a 2. En [120] se indica que una baja presión de compactación mejora la unión entre las capas para material sinterizado a partir de Ti CP con porcentajes de porosidad longitudinal crecientes. Con las pruebas realizadas en este trabajo se obtuvieron buenos resultados usando una presión de compactación de 140 MPa. Para las muestras fabricadas con estas nuevas condiciones, el estudio metalográfico reveló una estructura homogénea sin separación entre capas (Figura 25). Estos resultados coinciden con lo informado en [121] que usando la pulvimetalurgia con partículas espaciadoras se obtuvo un compuesto con porosidad longitudinal en tres capas, sinterizando a 1300 °C en vacío. El trabajo muestra la eficiencia del proceso para fabricar un compuesto con características mecánicas que lo harían apto para prevenir el stress shielding (18,5 GPa para 11% de porosidad y a 12 GPa para 35,5 % de porosidad)

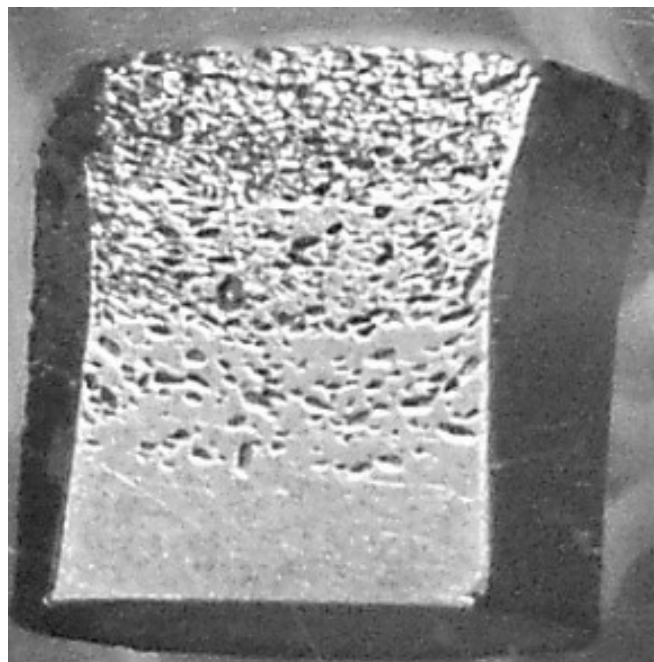


Figura 25: Sección de muestra con porosidad longitudinal.

4.5.2. Porosidad radial

A partir de resultados anteriores se continuó con la fabricación de muestras con porosidad radial, siguiendo el mismo criterio de fabricación del material con porosidad longitudinal. Se tuvo en cuenta la dificultad práctica de fabricar una muestra cilíndrica con gradiente de porosidad radial con variación continua de porosidad, desde un centro macizo hacia la periferia porosa. Por este motivo se optó por fabricar un material donde la porosidad aumentara en forma discreta del centro a la periferia (Figuras 26 y 27).



Figura 26: Muestra de compuesto con porosidad radial preparada para estudio metalográfico.



Figura 27: Muestra metalográfica de compuesto con porosidad radial. Corte transversal.

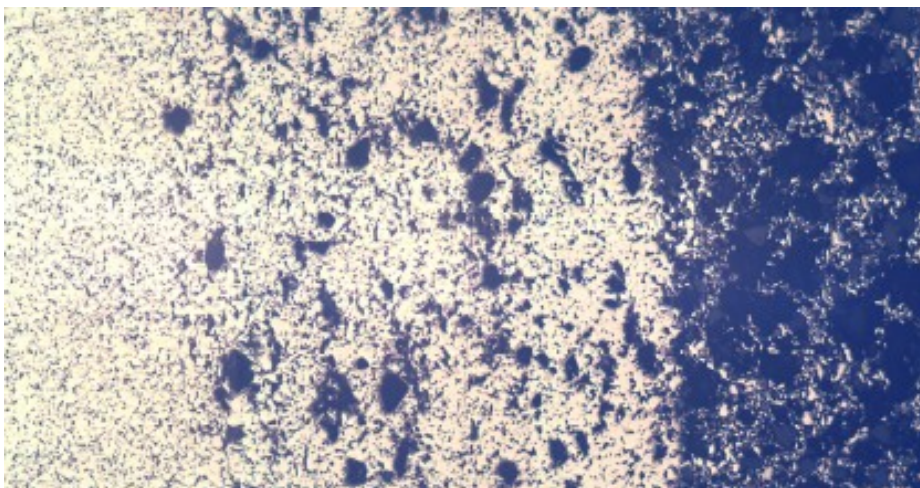


Figura 28: Sección de muestra con porosidad radial. Detalle de las tres capas. Imagen compuesta.

En el estudio metalográfico del material con porosidad radial designado $Ti_{Grad140}$ se observó una estructura similar a la obtenida para el material con porosidad longitudinal; el material presenta continuidad estructural entre capas y no se observan discontinuidades en la interfase de cambio de porosidad (Figura 28). En la imagen, la zona de la izquierda corresponde al centro macizo, en el centro de la imagen se ve la capa con 20 % de poros y en la izquierda la capa con 40 % de poros.

En la Tabla 10 se indican los datos de la caracterización mecánica del material fabricado usando 140 MPa como presión de compactación máxima para el material con porosidad radial, además de datos de muestras fabricadas de acuerdo a las nuevas condiciones de compactación conteniendo distintos grados de porosidad. En la tabla 10 se indica porosidad aparente (P_A), resistencia máxima a la compresión (R) y módulo elástico experimental (E_E)

Material	P_A (%)	R (MPa)	E_E (GPa)
Ti ₁₄₀	12,3	640 -654	18
Ti+20 ₁₄₀	30 - 32,7	198 - 210	10 - 21
Ti+40 ₁₄₀	53 - 55	28 - 40	3
Ti _{Grad140}	17,4 - 18	630 - 650	16 -20

Tabla 10: Datos caracterización mecánica de material Ti con gradiente de porosidad radial.

El estudio metalográfico mostró que en las muestras Ti+20₁₄₀ (Figura 29) y Ti+40₁₄₀ (Figura 30), además de la porosidad generada por sublimación de bicarbonato de amonio, está presente en el material la porosidad intrínseca de sinterizado. Un análisis visual simple permite ver la heterogeneidad del tamaño de los poros. En el caso de la porosidad intrínseca esta es más pequeña que la generada expofeso cuando se las compara visualmente. Para las muestras con 40 % de porosidad se observa un aumento de la porosidad interconectada hecho que dificulta la individualización de los poros.

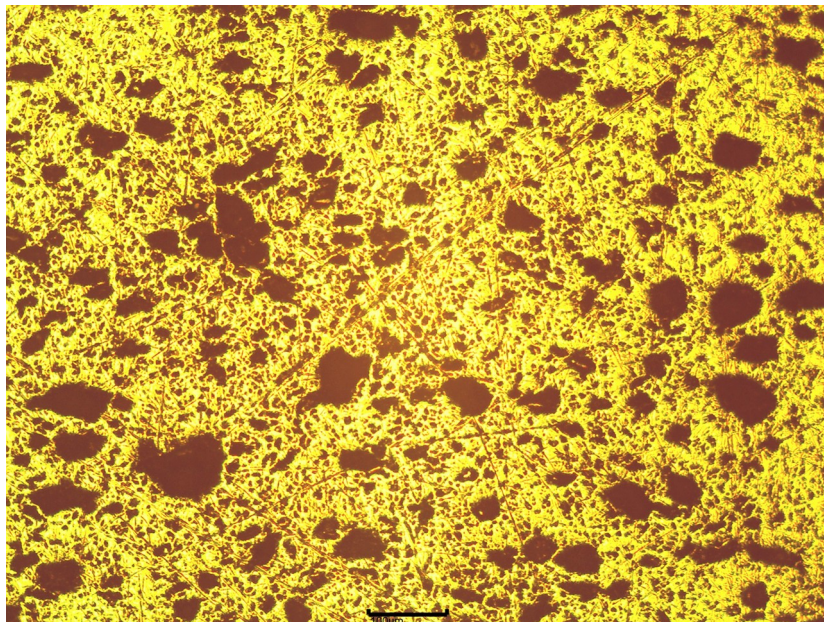


Figura 29: Ti_{Grad140} . Sección de muestra con porosidad radial con 20 % de porosidad.

La porosidad del material presenta distribución homogénea con poros que en promedio tienen un tamaño que está en el rango de 100 μm a 200 μm . La medición de la porosidad reveló discrepancias entre los valores de porosidad medidos mediante el método de Arquímedes y los porcentajes de porosidad previamente establecidos en el estudio metalográfico para cada tipo de muestra (Tabla 10). Esta diferencia se atribuye al aumento de la porosidad intrínseca debida a la baja en la presión de compactación de los verdes, hecho que no fue tenido en cuenta al momento de la preparación de los polvos, previo al compactado de los verdes. De los valores de porosidad indicados en la Tabla 10 se observa que si al valor de porosidad previsto para las muestras Ti+20₁₄₀ y Ti+40₁₄₀ se le suma el valor de porosidad intrínseca medido en las muestras Ti₁₄₀ se obtiene un valor próximo al valor medido con Arquímedes.

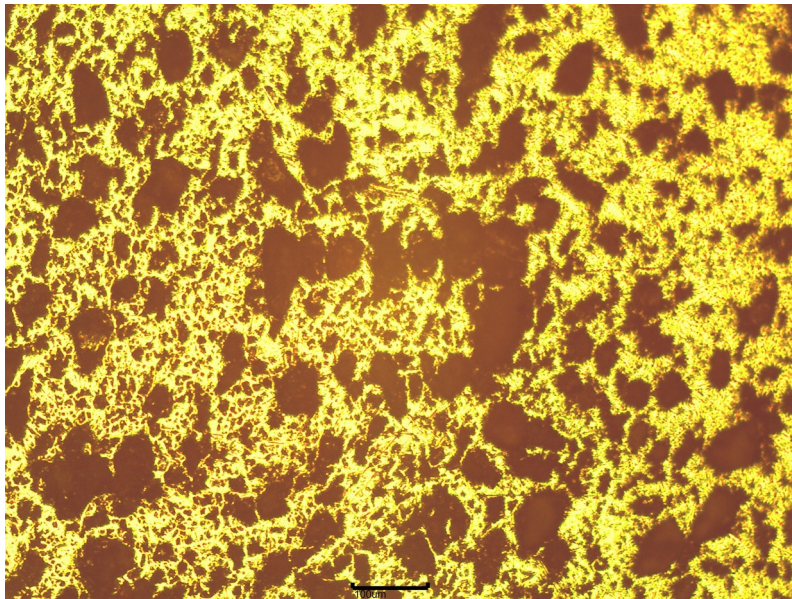


Figura 30: Ti_{Grad140} . Sección de muestra con porosidad radial con 40 % de porosidad.

4.6. Propiedades mecánicas del material

Dada la obvia relación entre resistencia mecánica y porosidad en materiales porosos, Nielsen [96] desarrolló un modelo para calcular el módulo elástico de un material homogéneo, isotrópico, compuesto por dos fases de geometría arbitraria. Específicamente para materiales porosos propone:

$$E_N = E_{Ti} \frac{\left(1 - \frac{P}{100}\right)^2}{1 + \left(\frac{1}{Ff} - 1\right) \times \frac{P}{100}} \quad [3]$$

donde E_N es el módulo elástico del material poroso, E_{Ti} módulo elástico teórico del material considerado (titanio para este trabajo. $E_{Ti} = 110$ GPa), P porcentaje de porosidad y F_f factor de forma.

Para Ti_{600} , Ti_{800} y Ti_{1000} , el análisis de la evolución del F_f a medida que aumenta la temperatura de sinterizado, muestra una tendencia al redondeo en la geometría de los poros. Numéricamente esto significa que este parámetro tiende a 1 a medida que aumenta la temperatura. Con el análisis de distribución de F_f en función del área del poro se buscó indicar un valor representativo del total de la porosidad para calcular el módulo elástico del material para las distintas condiciones de sinterizado. En la Tabla 11 se indican los valores de E_N calculados con la porosidad medida con método de Arquímedes y la valores de F_f considerando rangos de frecuencia presentes en mayor proporción, valores promedio y el valor mas frecuente en cada muestra. Los datos del análisis se muestran en el Anexo 1.

$F_f (Ti_{600})$	E_N (GPa)	$F_f (Ti_{800})$	E_N (GPa)	$F_f (Ti_{1000})$	E_N (GPa)
0.4-0.75 (60% de los poros)	62 a 72	0.54-0.86 (70% de los poros)	84 a 88	0.75-0.88 (90 % de los poros)	95 a 96
valor más frecuente 0.75	71	valor más frecuente 0.7	86	valor más frecuente 0.75	95
valor promedio 0.82	69	valor promedio 0.7	86	valor promedio 0.82	95.4

Tabla 11: Valores de módulo elástico estimado con modelo de Nielsen para distintos valores de F_f

Debido a que la temperatura indicada para el inicio de la descomposición de la hidroxiapatita combinada con titanio debe ser menor a 800 °C, se analizó el valor del módulo elástico estimado según el modelo de Nielsen en función de los rangos de F_f correspondientes a los porcentajes de porosidad presentes en mayor proporción en los compuestos sinterizados a 800 °C y 600 °C.

En Ti_{800} se vio que el valor de E_N va de 84 GPa para un F_f de 0,54 hasta 88 GPa para 0,86, quedando el valor promedio de 86 GPa para el E_N estimado con el F_f más frecuente. Por otro lado, del análisis de la relación de las áreas y su correspondiente F_f en Ti_{800} se observó que si bien se presentan en un número reducido, son los poros de mayor área los que presentan menor valor de F_f . Esta tendencia se acentúa en Ti_{600} .

En la Tabla 12 se indican los valores de módulo elástico experimental E_E medidos en la caracterización mecánica hecha por compresión uniaxial para Ti_{600} , Ti_{800} y Ti_{1000} y el módulo elástico calculado con el modelo de Nielsen (E_N). Los valores de E_N se determinaron con el valor promedio del F_f y la porosidad medida con Arquímedes para cada muestra. Comparados E_N y E_E se ve que la brecha entre valores disminuye a medida que aumenta la temperatura de sinterizado o considerando la porosidad del material la brecha aumenta con el aumento de la porosidad.

Muestra	E_E [GPa]	E_N [GPa]
Ti ₆₀₀	23,2	69
Ti ₈₀₀	52,5	86
Ti ₁₀₀₀	81,3	95,4

Tabla 12: Módulo elástico de las muestras Ti₆₀₀, Ti₈₀₀, Ti₁₀₀₀ medido por compresión E_E y calculado con modelo de Nielsen E_N

En base a los resultados obtenidos se observó la dificultad de determinar el valor de E_N debido a la incertidumbre al indicar un valor de F_f , dado el rango de variación que tiene este parámetro para una misma muestra aun sólo considerando porosidad intrínseca de sinterizado (Tabla 11). También se vio que fijando un valor de F_f para el cálculo de E_N no hay coincidencia entre este valor y el valor de E_E para una misma muestra.

A partir de lo indicado anteriormente se plantearon entonces dos interrogantes:

- 1.- ¿Cuál debería ser el valor de F_f adoptado para calcular E_N ?
- 2.- Según los valores de E_N y E_E determinados en este trabajo ¿Cuál debería ser el valor adoptado que mejor representa al material dado lo heterogéneo de la estructura?

Considerando los distintos valores de E_N indicados en la Tabla 11, es claro que E_N se calculó con valores de F_f de los grupos de poros que se encuentran en mayor proporción, de manera tal que no se tuvo en cuenta a los poros de mayor tamaño, ya que estos se encuentran en baja proporción en el material. De este modo este criterio deja fuera del cálculo de E_N para Ti₆₀₀ y Ti₈₀₀ a los poros más grandes que son los poros con F_f más bajo. Esta condición indica que son los poros más grandes los que presentan la geometría más tortuosa, esto es, la geometría con mayor cantidad de concentradores de tensiones. A esta característica del material se le puede atribuir la discrepancia entre valores de módulo elástico medido por compresión uniaxial y estimados con el modelo de Nielsen. Con el ensayo de compresión uniaxial la acción simultánea sobre toda la estructura de las fuerzas compresivas da como resultado un valor integrado de resistencia mecánica y de módulo elástico, incorporando el efecto de amplificación de tensiones locales de los concentradores de tensiones presentes en los poros más grandes. En el caso de la estimación con el modelo de Nielsen, la presencia en menor número de los poros grandes no influye en los valores de F_f adoptados en cada caso ya que tienen poca incidencia en el cómputo de los valores promedio de F_f cuando se consideran los rangos de valores más frecuentes. Según el criterio expuesto es que los resultados informados en este trabajo de módulo elástico estimado con el modelo de Nielsen dan valores superiores a los obtenidos por compresión uniaxial debido a que no se considera la influencia de los poros de mayor tamaño en el cálculo de E_N . Esta característica es más notoria en Ti₆₀₀. En [122] se indica la misma diferencia señalando que los valores medidos por compresión uniaxial son menores a los estimados con el modelo de Nielsen atribuyendo esta diferencia a causas inherentes a la metodología de ensayo y tomando los valores de E_N como el valor teórico del material. Es de notar que, los valores de módulo elástico informados para titanio poroso calculados con el modelo de Nielsen fueron obtenidos usando valores promedio de F_f .

4.7. Muestras compactadas a 140 MPa

Teniendo en cuenta la disminución en la presión de compactación de 390 MPa a 140 MPa que permitió la unión de las capas en la etapa de fabricación de los verdes del material con gradiente de porosidad, en la Tabla 13 se indican los datos obtenidos en la caracterización mecánica con ensayo de compresión uniaxial del material fabricado en las nuevas condiciones y el mismo parámetro calculado con la expresión [3] para materiales porosos. El cálculo de E_N se hizo usando valores promedio de F_f . En el caso del material con gradiente de porosidad radial ($Ti_{Grad140}$) se usó un promedio de F_f de las tres capas de la muestra.

Material	E_N (GPa)	E_E (GPa)
Ti_{140}	56	18
$Ti+20_{140}$	22,5	15,5
$Ti+40_{140}$	6,5	3
$Ti_{Grad140}$	43,5	18

Tabla 13: Valores de Módulo elástico E_E y E_N en material compactado a 140 MPa.

Comparando los valores de módulo elástico experimental (E_E) y calculado según el modelo de Nielsen (E_N) en función de la porosidad medida con el método de Arquímedes se verificó en todos los casos que E_N es superior a E_E para un mismo porcentaje de porosidad. Esto coincide con el hecho de que para Ti_{140} , $Ti+20_{140}$ y $Ti+40_{140}$ la brecha entre valores de E_E y E_N disminuye a medida que aumenta el porcentaje de porosidad en el material. (Figura 31).

Analizando más en detalle el material compactado a 140 MPa se ve que en Ti_{140} , $Ti+20_{140}$ y $Ti+40_{140}$ el aumento en la porosidad, se da con un crecimiento en el tamaño de los poros (Figuras 29 y 30). Con el agregado del agente espaciador se obtuvo una estructura con dos tipos de porosidad: una, la porosidad intrínseca de sinterizado debida a la menor presión de compactación usada en los verdes y la porosidad generada ex-profeso con los separadores, con poros en el rango de 100 μm a 200 μm . Este rango en los tamaños de poro es según las publicaciones consultadas en este trabajo, apto para el desarrollo de un proceso de osteoinducción.

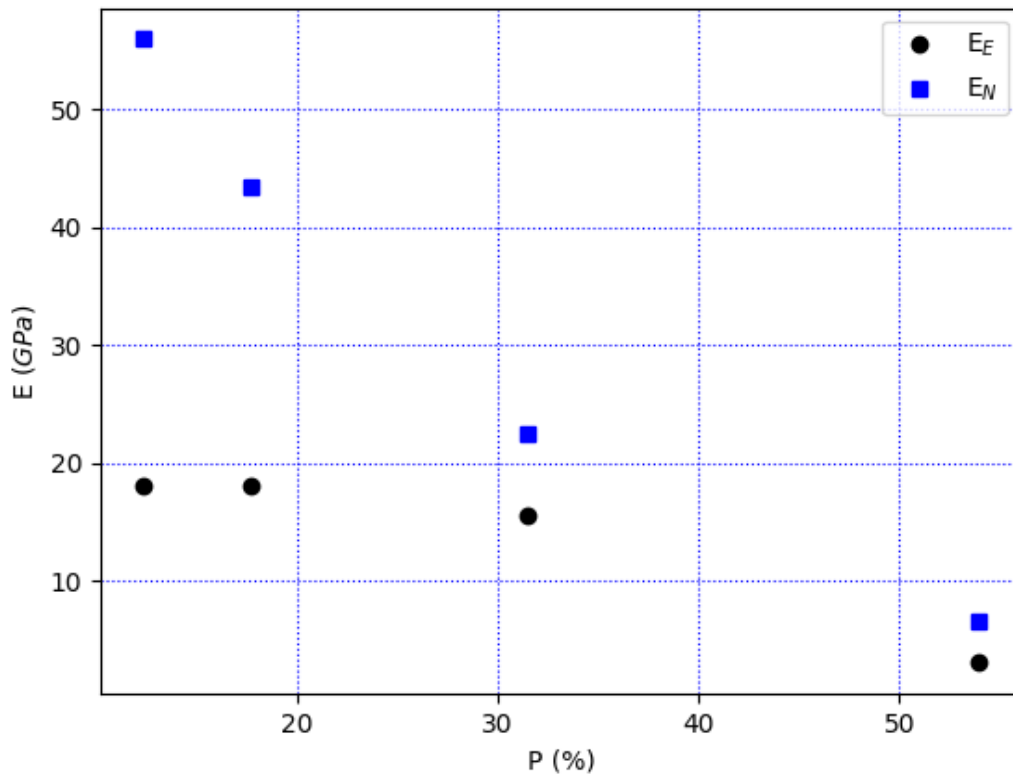


Figura 31: Módulo elásticos E_E , E_N en función de la porosidad.

Para el caso de la muestra Ti_{140} y $Ti_{Grad140}$ los datos de los ensayos de compresión mostraron en ambos materiales, valores de resistencia mecánica similares (Tabla 13, Figura 31). Si se comparan los valores de módulo elástico experimental (E_E) en las muestras $Ti+20_{140}$ y $Ti+40_{140}$ con $Ti_{Grad140}$ los valores de módulo elástico medidos en el material con gradiente de porosidad ($Ti_{Grad140}$: 16 – 20 GPa) son superiores y están en el rango de valores indicados para el hueso cortical.

Dado el carácter heterogéneo de la estructura con porosidad radial planteada para este material y a que los valores de módulo elástico en Ti_{140} y $Ti_{Grad140}$ están dentro del mismo rango, surge la pregunta: ¿cómo inciden las distintas capas de porosidad radial en la resistencia mecánica a compresión del material?

Los datos indicados en [120] para muestras cilíndricas de titanio con porosidad radial de tres capas obtenidas por pulvimetalurgia con partículas espaciadoras (muestra cilíndrica: centro 20%, capa intermedia 40%, capa externa 60%). El autor afirma que la resistencia del material la aporta el núcleo denso cuando la probeta es sometida a un esfuerzo de compresión uniaxial que se aplica hasta la rotura. La conclusión se basa en el análisis del modo en que rompe el material. El autor señala que luego del ensayo, en algunas probetas el núcleo y la capa intermedia mantuvieron la integridad estructural mientras que la capa exterior que es la de mayor porcentaje de porosidad colapsa bajo la acción de la carga, desprendiéndose parcialmente de la muestra, señalando que este modo de romper del compuesto se debe a la alta porosidad interconectada en la intercara entre la

capa exterior y la capa intermedia. En este sentido los resultados de [120] coincide con los de [122] en indicar que la baja en la resistencia mecánica del compuesto de titanio que fabricaron se debe a "factores intrínsecos del material no contemplados durante la fabricación y que se manifiestan cuando el material es sometido a una carga uniaxial de compresión".

En este trabajo la caracterización mecánica de Ti_{140} y $Ti_{Grad140}$ mostró valores similares de resistencia mecánica y módulo elástico. Esto indica que en el caso del compuesto con porosidad radial, es el núcleo denso el que soporta las cargas.

Teniendo en cuenta las consideraciones hechas en los párrafos anteriores, respecto de los valores de módulo elástico calculados con el modelo de Nielsen y no pudiendo fijar un criterio que permitiera adoptar un valor de F_F representativo para las muestras analizadas, en este trabajo se adoptaron los valores de módulo elástico experimental (E_E), para indicar las características mecánicas de los distintos compuestos fabricados.

Con esta consideración se indica que el biomaterial de titanio con gradiente de porosidad sinterizado a 800 °C, sería apto para uso implantológico dado que presenta un módulo elástico de 18 GPa para una porosidad total del 18% con una capa externa con una porosidad de 54% y tamaño de poro de 100 μ m a 200 μ m.

Los materiales metálicos con gradiente de porosidad actualmente entran dentro del concepto de materiales funcionalmente graduados, denominación aplicada a compuestos fabricados con tecnologías aditivas [123]. Se debe tener en cuenta que las limitaciones respecto de la generación de geometrías irregulares que imiten la morfología interna del hueso natural hacen que las tecnologías aditivas sólo se usen en diseños que tienen como objeto minimizar los efectos del stress shielding. En este sentido sigue siendo la técnica pulvimetalurgia con partículas espaciadoras una alternativa económica y eficiente que permite fabricar compuestos de titanio, compatibilizando propiedades biofuncionales y bioinductivas. En [124] se aplica el concepto de porosidad radial para fabricar un compuesto con centro macizo con una y dos capas de porosidad, la que se consigue compactando aglomerados de distinto tamaño de Ti y Ti-10Nb-3Mo alrededor de un centro cilíndrico de titanio denso y sinterizando todo el conjunto a 1150 °C en vacío. El estudio analiza la variación en los parámetros mecánicos del material a medida que aumenta el diámetro central de titanio macizo mostrando que ambos parámetros aumentan con el aumento del diámetro central del compuesto. El autor establece que es la capa con menor porosidad la que aporta la resistencia mecánica del conjunto. Esto coincide con lo observado en [124] y en este trabajo para las muestras Ti_{140} y $Ti_{Grad140}$. Por otro lado en [124] se indica que la porosidad del material es producto de los espacios libres entre aglomerados luego de la compactación de los verdes para sinterizar. El compuesto sería apto para usarse en un proceso de osteointegración indicando esta aptitud del material sólo en base a los porcentajes de porosidad de las capas, sin tener en cuenta el tamaño y la forma de los poros. Usando un proceso pulvimetalúrgico con partículas espaciadoras muy similar al usado en [120] en [125] se estudia la influencia de la porosidad en la resistencia mecánica de un compuesto cilíndrico, con porosidad radial y con distinta configuración en la distribución de las capas. Los compuestos fabricados con titanio CP en polvo, NaCl y NH_4HCO_3 como espaciadores se usan para fabricar capas con porosidades de 0 a 60 %, sinterizando a una temperatura de 1250 °C en vacío, con un tamaño final de poro de 100 a 200 μ m, porosidad cerrada y con porcentajes que no hacen apta para la osteointegración. La caracterización de las propiedades mecánicas realizada para cada

porcentaje de porosidad en forma individual, da para 20% de porosidad un módulo elástico de 11,5 GPa cuando usa NH_4HCO_3 como espaciador. El autor informa que los resultados más prometedores los tuvo para una configuración radial de porosidad creciente con 20% de porosidad en el centro, 40 % en la capa intermedia y 60% en la capa exterior, indicando que el módulo elástico del compuesto es el de la capa con 20% porosidad que es la de la capa con menor porosidad.

La técnica pulvimetalúrgica con partículas espaciadoras desarrollada en este trabajo muestra que es un método eficiente para obtener compuestos de titanio poroso con una adecuada combinación de propiedades mecánicas e integridad estructural, que permitirían la osteointegración del compuesto, sin desarrollar un proceso de resorción ósea debido al fenómeno de stress shielding. En los trabajos analizados donde obtienen compuestos de titanio poroso con porosidad radial, en todos los casos la sinterización se realizó a temperaturas superiores a los 1000 °C (1250 °C [89], 1250°C [90], 1150°C [124], 1250°C [120]).

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la biofuncionalidad del compuesto puede conseguirse sinterizando a 800 °C. En estas condiciones el proceso permite la incorporación de partículas de hidroxiapatita al compuesto sin que se produzcan las reacciones entre ésta y el titanio, descritas para temperaturas de sinterizado superiores a los 1000°C.

Existen trabajos que muestran la posibilidad de fabricar compuestos de titanio-hidroxiapatita con la técnica pulvimetalúrgica con el objetivo de mejorar la bioinercia del compuesto. En [126] se plantea utilizar una aleación titanio-niobio (Ti-Nb) como biomaterial en reemplazo de la aleación Ti-4Al-6V, debido a que en los procesos de corrosión que ocurren en esta aleación cuando interactúa con organismos vivos, se produce la liberación de iones metálicos de aluminio que aumentan el potencial de la enfermedad de Alzheimer. Además, la presencia de vanadio en el cuerpo humano puede estar relacionada con varios problemas gastro intestinales, urinarios y del sistema reproductivo, incluidas malformaciones de los fetos. El compuesto fabricado a partir de la mezcla de titanio, niobio e hidroxiapatita en distintos porcentajes se sinterizó a 1200 °C en atmósfera de argón. Los resultados del análisis de la microestructura del material mostraron una disminución en la presencia de fase β a medida que aumenta el contenido de hidroxiapatita, además de la presencia de CaO y CaTiO_3 . En [90] se usa la pulvimetalurgia para fabricar un compuesto de titanio poroso con hidroxiapatita, sinterizado a 1200 °C en atmósfera de argón. El autor informa que no tuvo buenos resultados ya que el compuesto presenta pobres propiedades mecánicas y no posee una integridad estructural suficiente como para una caracterización mecánica. Además, la distribución de poros no es homogénea. Sin embargo, el método se desarrolló con el objeto de unificar en la técnica pulvimetalúrgica con partículas espaciadoras, la posibilidad de adaptar la biofuncionalidad del titanio a aplicaciones de reemplazo óseo mediante la adición de poros y complementar las funciones bioinductivas del compuesto con el inclusion de hidroxiapatita.

Los procedimientos detallados en la sección 3 (Materiales y Métodos), permitieron establecer parámetros para fabricar un material en base a titanio con gradiente de porosidad radial de tres capas concéntricas y que puede incorporar en el proceso hidroxiapatita en la capa externa. Las variables para fabricar el material son: temperatura de sinterizado de 800 °C y presión máxima de compactación de los verdes para sinterizado de 140 MPa, según el proceso descrito en el punto **3.3.2 b**.

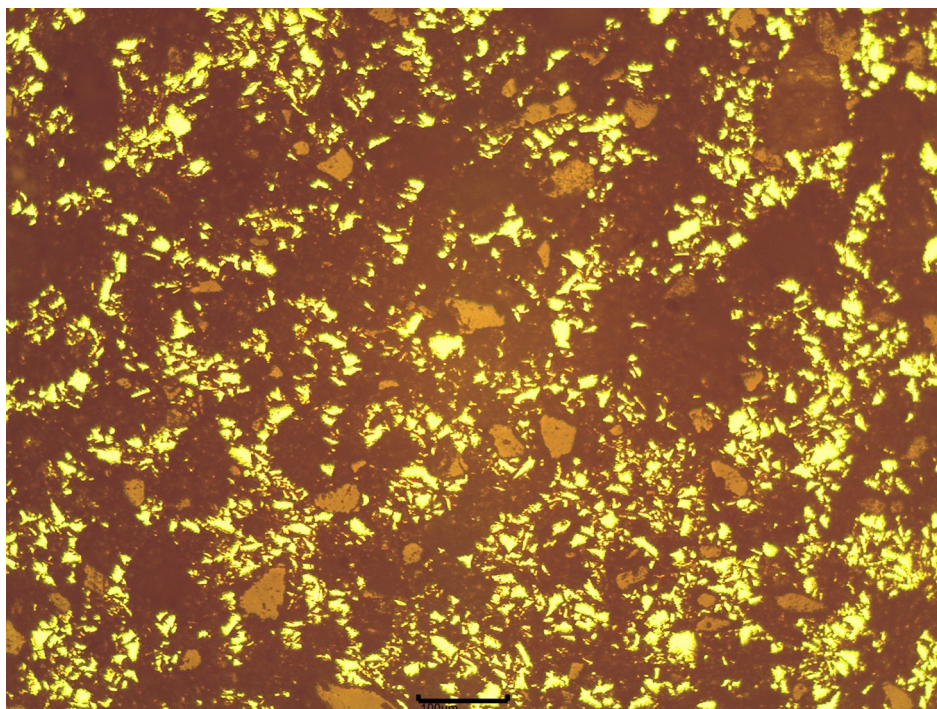


Figura 32: Detalle material gradiente de porosidad. 20 % + 20 % HA. detalle de la capa con HA.

En base a lo anterior se fabricó un compuesto de titanio con gradiente de porosidad radial donde se integraron las propiedades bioinductivas de la hidroxapatita con un tamaño de poro adecuado para la adhesión celular y características mecánicas de biofuncionalidad dadas por la distribución de porosidad radial que haría apto el material, para integrarse al tejido óseo. El material presenta una resistencia mecánica adecuada para soportar los primeros estadios del proceso de osteointegración y una vez integrado podría seguir funcionando como parte integral del hueso regenerado, debido a la similitud en los valores de módulo elástico del compuesto con el hueso cortical. El compuesto final se compone de una parte central de titanio denso, una capa intermedia con 20% de porosidad y una capa exterior con 20% de porosidad y 20% de hidroxapatita en volumen. En la Figura 32 se muestra una micrografía de la capa externa de una probeta conteniendo hidroxapatita.

No se hicieron consideraciones mecánicas acerca del material ni de la influencia de la resistencia mecánica de la hidroxapatita en la capa externa, ya que las características de ésta, solo tienen relevancia desde el punto de vista de la bioactividad del compuesto y se considera a los lugares ocupados con las partículas de hidroxapatita como poros. Consideraciones similares se presentan en [127] El autor usa la técnica pulvimetalúrgica para fabricar probetas cilíndricas con centro de Ti-13Nb-13Zr rodeado de una capa de Ti-Ha porosa, sinterizada a 1100 °C. En el trabajo se informa la presencia de α -Ti, β -Ti, TiO, CaTiO₃, Ca₃(PO₄)₂, donde los últimos dos elementos son producto del aumento de la reactividad del titanio con la hidroxapatita a altas temperaturas. El módulo elástico de los dos compuestos se informa por separado siendo el de del centro de Ti-13Nb-13Zr de 70 GPa y del compuesto titanio poroso hidroxapatita 14,9 GPa. Un biomaterial con estas

características mecánicas no cumple las condiciones de biofuncionalidad para ser considerado como biomaterial

4.8. Caracterización biológica

4.8.1. Ensayos in-vitro

Los ensayos biológicos in-vitro sobre las muestras obtenidas en éste trabajo, para determinar citotoxicidad y adhesión celular mostraron una viabilidad superior al 70% en células Vero para todas las muestras y no se observaron diferencias significativas en la citotoxicidad de las muestras analizadas. Se repitió el ensayo utilizando células NIH3T3 y se obtuvieron resultados similares, con una tasa de viabilidad superior al 70%. De acuerdo a la norma ISO 10993(5), las muestras se consideran no tóxicas siempre que la viabilidad celular sea superior al 70%. El diagrama de difracción de rayos X (XRD) del compuesto $Ti_{HA20\%}$ mostró picos característicos de titanio (cerca de 2θ 40°) e hidroxiapatita en el rango $31^\circ - 34^\circ$ (Figura 33). Los dos materiales se detectaron como sustancia simple lo que sugiere que no tuvieron lugar reacciones entre la hidroxiapatita y titanio no tuvo lugar. Tampoco se detectaron productos de la descomposición de la hidroxiapatita. En la muestra $Ti_{HA20\%}$ la colonización celular se dio por igual sobre titanio e hidroxiapatita.

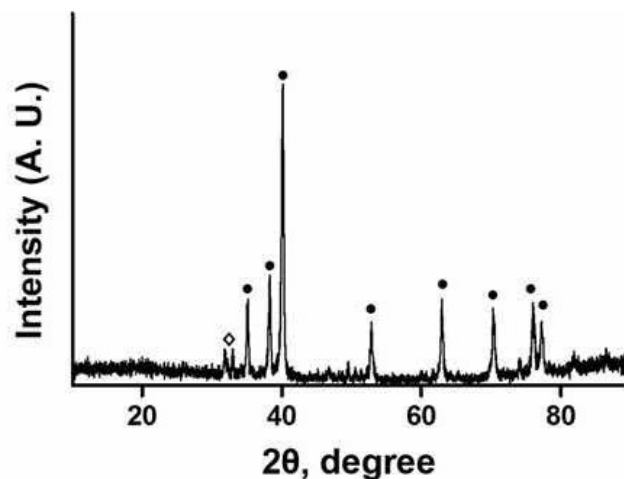


Figure 33: Compuesto $Ti_{HA20\%}$. Picos característicos de titanio (2θ 40°) e hidroxiapatita en el rango $31^\circ - 34^\circ$

4.8.2. Ensayos in-vivo

En la etapa de evaluación de las muestras in-vivo, el análisis radiográfico, el estudio de BIC y la relación calcio-fósforo permitieron hacer una valoración cualitativa y cuantitativa del proceso de osteointegración.



Figura 34: Implante en contacto con hueso.

De los procedimientos realizados para estudiar la respuesta a los procesos de osteointegración entre el material y el tejido vivo en modelos biológicos complejos, el análisis con radiografía de rayos X se usó en las distintas muestras para determinar primeramente la posición del implante en el hueso y hacer una valoración preliminar cualitativa del proceso de osteointegración basado en un análisis visual. Este primer análisis se usó para descartar las muestras en las que el implante no se encontraba adherido al hueso. En la Figura 34, se indica la imagen radiográfica de una de las muestras descartadas en la que el implante se encuentra suelto, debido a la magnitud de la fractura, impidiendo que el proceso de remodelación ósea se completara en los tiempos previstos (cuatro semanas). Luego de la primera selección y mediante el análisis radiográfico, las muestras se clasificaron en tres grupos según el material biológico circundante al implante en el sitio de implantación. Las muestras se agruparon según el implante estuviera en contacto: **a-** con el hueso (Figura 35), **b-** hueso y médula (Figura 36) y **c-** implante en contacto sólo con tejido medular (Figura 37). En las muestras que se encontraban adheridas al hueso se verificó que en todas se formó un callo óseo, esto es, con proceso de remodelación secundaria en curso.



Figura 35: Implante en contacto con hueso

En el análisis del proceso de integración ósea del implante se usó el criterio de evaluación indicado por Cabrini y Guglielmotto [128]. sin embargo, debido a la baja calidad de las radiografías, los resultados en los casos analizados no fueron concluyentes ya que la resolución de las radiografías no permite distinguir entre las muestras en las que efectivamente se tiene tejido óseo adherido al implante y muestras rodeadas con tejido fibroso. Este tipo de tejido fibroso que se ve en algunas radiografías, se conoce como borde radiolúcido. La presencia de borde radiolúcido se usa como un índice cualitativo de falta de integración ósea del implante [128] ya que la membrana fibrosa que recubre el implante es transparente a los rayos X, viéndose en la radiografía como una zona oscura rodeando al implante. Este hecho se debe tomar como un factor de rechazo por parte del organismo receptor al material implantado en el proceso de remodelación ósea .



Figura 36: Implante en contacto con hueso y médula.

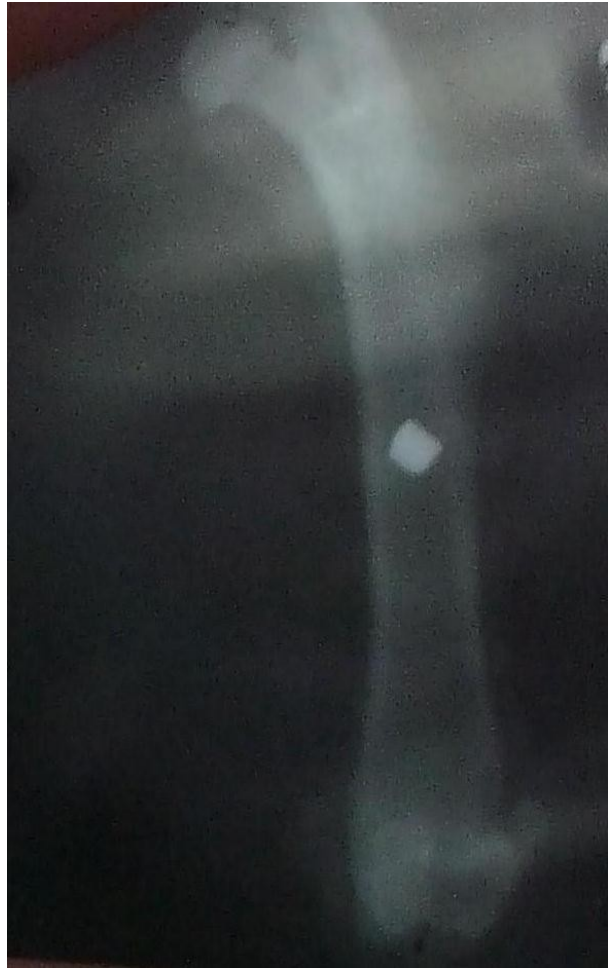


Figura 37: Implante en contacto con médula.

En las imágenes metalográficas se muestran tres ejemplos de implantes adheridos al hueso: titanio denso (Figura 40), titanio poroso (Figura 38) y titanio + hidroxiapatita adherido al hueso (Figura 39). La técnica permite ver la posición de las probetas en el sitio de implantación. En todos los casos analizados se ve una buena interacción entre el material del implante con el medio circundante. En este trabajo, con esta técnica no se pudo determinar alguna característica específicas de la interfase circundante al material implantado que indicara encapsulamiento fibroso. Si bien los resultados obtenidos con las dos técnicas anteriores no pueden ser usados para determinar a priori la calidad de la interfase implante-tejido óseo circundante y no aportan datos cuantitativos que permitan caracterizar el proceso de remodelación ósea, se destaca en particular el estudio radiográfico, porque es el único método de los utilizados que puede ser usado para estudiar el proceso sin tener que extraer el implante para preparar la muestra.

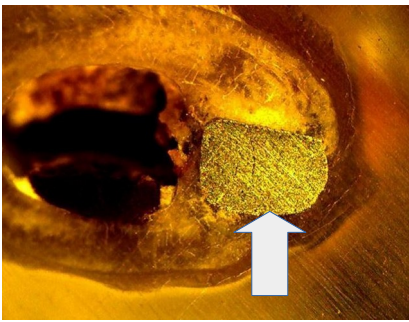


Figura 40: Implante Ti macizo (indicación flecha blanca) en contacto con hueso.



Figura 38: Implante Ti poroso (indicación flecha blanca) en contacto con hueso.

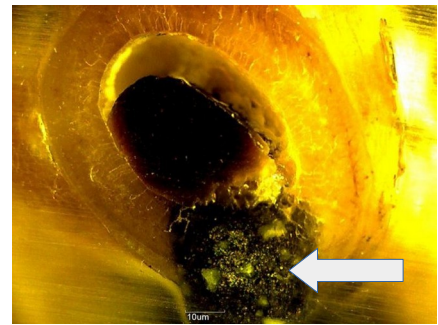


Figura 39: Implante Ti con HA (indicación flecha blanca) adherido al hueso.

4.8.3. Análisis del proceso de osteointegración con SEM-EDS

Para el análisis del proceso de integración implante-hueso se tuvo en cuenta que además del carácter preliminar de las pruebas, los ensayos in-vivo se realizaron usando como modelo animal experimental ratas de la cepa Wistar. En la comparación del parámetro correspondiente a la relación Calcio-Fósforo (Ca/P) se usó el valor indicado por Kourkoumelis and Tzaphlidou [129] que para el fémur de una rata Wistar de 8 semanas de edad midió una relación Ca/P = 1,96 y no se usó el de la hidroxiapatita humana ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$), que es de 1,67.

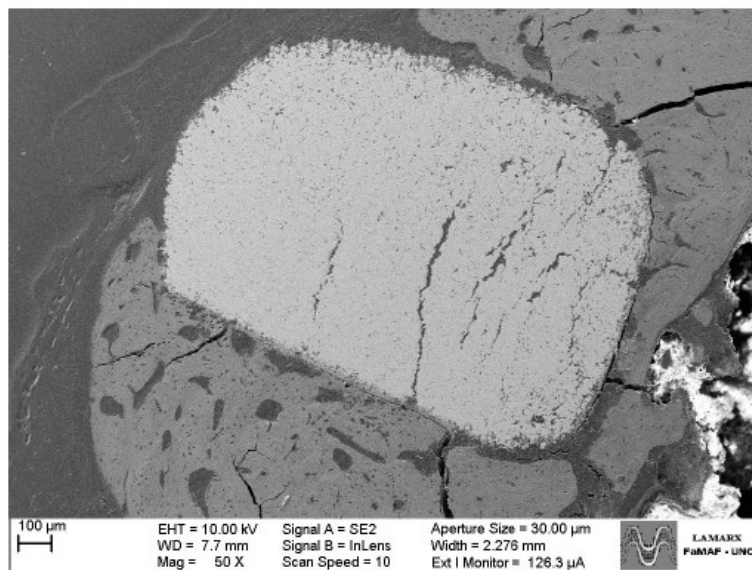


Figura 41: Imagen SEM. Implante titanio denso adherido al hueso. La imagen corresponde a un corte transversal del fémur de una rata cepa Wstar. En la imagen se muestra en primer plano el implante (pieza en gris claro)

Los resultados del escaneo SEM para el análisis topográfico de las muestras, se usaron para relevar los datos usados en el calculo del BIC, parámetro usado para cuantificar el proceso de osteointegración. En las Figuras 41, 42 y 43 se muestran ejemplos de las imágenes de alta

resolución SEM de cada uno de los tipos de muestras analizadas: titanio denso (Figura 41), titanio poroso (Figura 42) y titanio - hidroxiapatita (Figura 43).

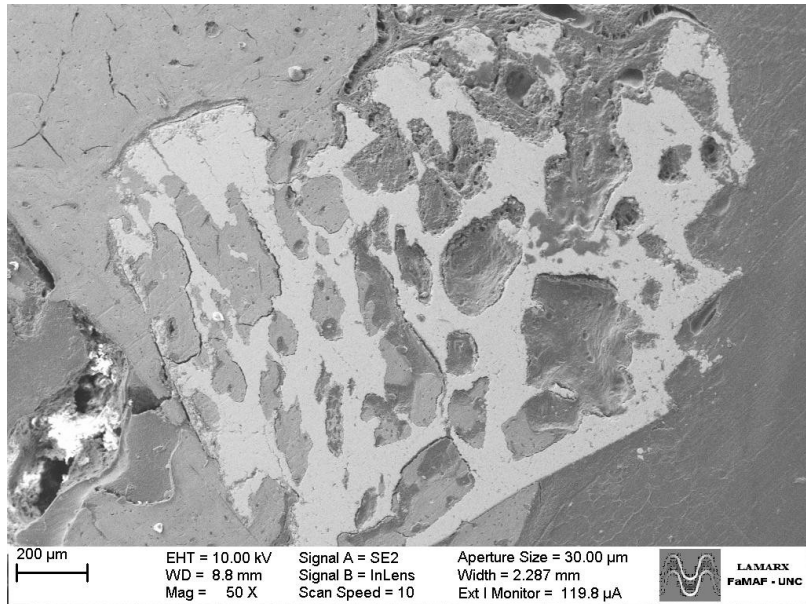


Figura 42: Imagen SEM. Implante titanio poroso adherido al hueso. La imagen corresponde a un corte transversal del fémur de una rata cepa Wstar.

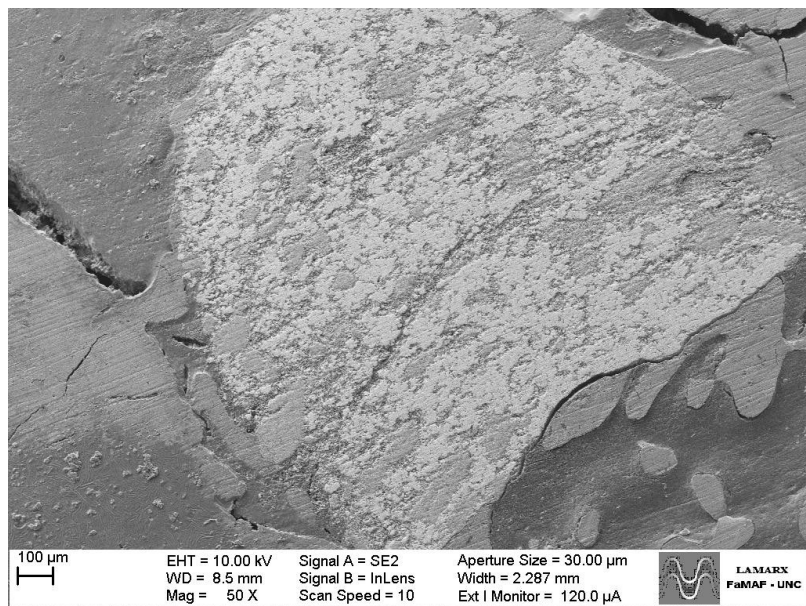


Figura 43: Imagen SEM. Implante titanio-hidroxiapatita adherido al hueso.

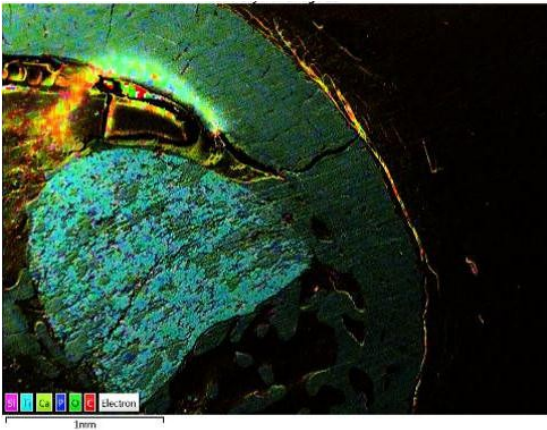


Figura 44. Mapeo completo EDS. Muestra de implante osteointegrado correspondiente a Figura 43.

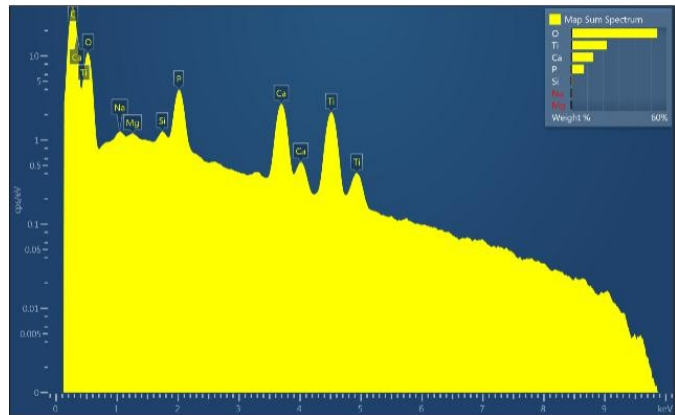


Figura 45. Histograma mapeo SEM-EDS, elementos químicos presentes en mayor porcentaje correspondiente a Figura 43.

La técnica de SEM -EDS además de indicar los porcentajes de elementos presentes en la superficie, permite componer la imagen con la distribución de elementos individuales. En las Figuras 44 y 45 se muestra el escaneo SEM-EDS y el histograma de elementos detectados en la muestra de la Figura 43. Teniendo en cuenta que las apatitas están compuestas principalmente por calcio y fósforo, en las Figuras 48 y 47 se indica la presencia de estos elementos por separado y en la Figura 46 se muestra el titanio correspondiente al implante para la misma muestra. La distribución de los elementos individuales detectados, muestra el contorno del hueso y el implante. En las Figuras 48 y 47 se puede ver en las zonas correspondiente al implante en el interior de los poros, la presencia de calcio y fósforo. La Figura 46 se observa en verde el titanio del implante y zonas oscuras en el interior del implante. Esto es indicativo del crecimiento de apatita en el interior de los poros del implante.

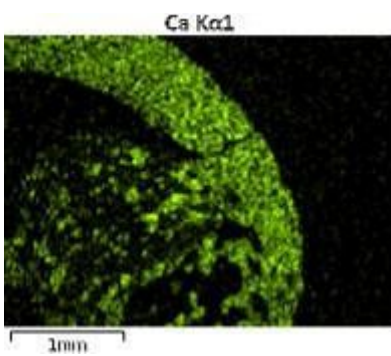


Figura 48. Mapeo SEM-EDS del elemento **calcio** en la muestra de la figura 43

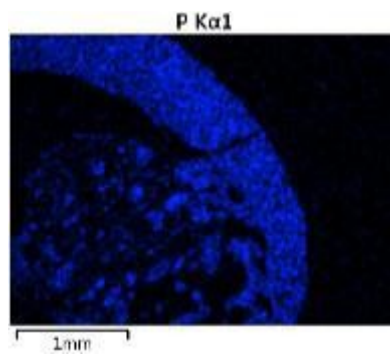


Figura 47. Mapeo SEM-EDS del elemento **fósforo** en la muestra de la figura 43

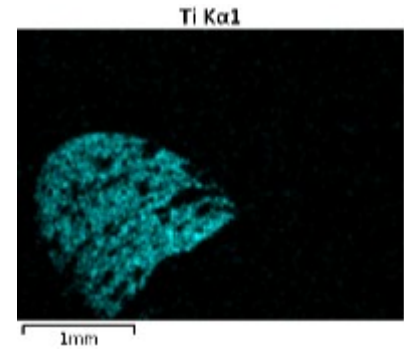


Figura 46. Mapeo SEM-EDS del elemento **titanio** en la muestra de la figura 43

En los tres casos se ve al material del implante rodeado por tejido óseo compacto. Los escaneos con SEM-EDS usados para cuantificar las cantidades de Ca y P indican para las apatitas formadas alrededor del implantes una relación $Ca/P = 1,57$ para muestras de titanio denso.

En las muestras de titanio poroso, la relación Ca/P en la apatita formada alrededor del implante fue de 1,81. Los mapeos de elementos en estas muestras detectaron Ca y P en regiones de la superficie

correspondientes al interior de los poros del material. Resultados similares se vieron en las muestras de titanio + hidroxiapatita donde la relación Ca/P dio 1,71.

En los tres casos analizados, la relación Ca/P medida es inferior al valor indicado en [129] con los mejores resultados para las muestras de titanio poroso y las de titanio+hidroxiapatita. Las consideraciones hechas en [130] señalan que el componente orgánico de las apatitas formadas afecta el ratio Ca/P resultando apatitas deficientes en calcio. De ahí la diferencia en los valores obtenidos en la cuantificación hecha en este trabajo y los valores de referencia indicados en [129]. Esta cuantificación permite indicar que los materiales titanio poroso y titanio+hidroxiapatita, fabricado en las condiciones planteadas en este trabajo, presentan propiedades osteoconductoras superiores a las del titanio denso. Por otro lado el análisis histomorfométrico bidimensional indicó para las muestras de titanio denso un BIC de 23,8 %, las de titanio poroso un BIC de 42,2 % y para las muestras titanio-hidroxiapatita un BIC de 52,1 %. El aumento en los valores de este parámetro en las muestras con hidroxiapatita coincide con lo informado en [131] y [132] donde se indica un aumento de este parámetro en las muestras de titanio recubiertas con hidroxiapatita. En el mismo sentido los resultados indicados en [133] señalan que para implantes puestos en conejos, las muestras de titanio recubierto con hidroxiapatita presentaban una mejor osteointegración a las tres semanas de implantadas, respecto de las mismas muestras de titanio sin recubrimiento. Sin embargo los porcentajes de osteointegración eran similares transcurridas doce semanas. Estos autores coinciden en indicar que para estudios in-vivo del proceso de osteointegración de implantes de titanio con y sin recubrimiento de hidroxiapatita, la mejor respuesta en el corto plazo se obtiene con las muestras recubiertas con hidroxiapatita. Esto permitiría indicar que la hidroxiapatita mejora la respuesta osteoinductiva del implante en las primeras etapas del proceso de osteointegración acelerando la fijación del material implantado. Dada la distribución de la porosidad en el material fabricado en este trabajo, se indica que la mejora en el BIC en las muestras de titanio poroso y titanio-hidroxiapatita, representa una aporte al proceso de osteointegración respecto del los implantes de titanio denso, ya que además de favorecer el proceso de crecimiento óseo, ayuda a la fijación del material al hueso, debido a la interferencia mecánica entre el compuesto y el tejido óseo que crece en el interior de los poros inmovilizando el implante.

5. Conclusión

El objetivo de este trabajo fue fabricar un biomaterial de titanio con gradiente de porosidad radial y conteniendo hidroxiapatita en la superficie.

Como materia prima se usó hidruro de titanio, bicarbonato de amonio e hidroxiapatita bovina, combinándolos mediante la técnica pulvimetalúrgica. Para evitar que ocurran reacciones químicas entre el titanio y la hidroxiapatita a las temperaturas usuales de sinterizado del titanio, que dan como resultado la descomposición de la hidroxiapatita en otros tipos de fosfatos cálcicos frágiles, se bajó la temperatura de sinterización a 800 °C. Esto permitió la incorporación de la hidroxiapatita, evitando su descomposición en contacto con el titanio y permitiendo que mantenga sus propiedades de elemento bioactivo. Al no haber reacción del cerámico con el titanio, las partículas de hidroxiapatita quedan atrapadas en la matriz de titanio y las que aparecen en la superficie de la muestra, sirven como zonas bioactivas dentro del material metálico bioinerte.

Paralelamente se analizó la incorporación de poros distribuidos radialmente en el material. El proceso consistió en ir prensando las diferentes capas, densa en el centro, 20 % de porosidad en la capa intermedia y con 40% de porosidad en la capa superficial, hasta conseguir un material con gradiente de porosidad. Las presiones de compactación usadas fueron 140 MPa para la capa externa y 40 MPa para las capas intermedia y central. El ciclo de sinterizado consistió en un calentamiento escalonado con las siguientes etapas isotérmicas: 30 minutos a 200 °C (etapa de sublimación del separador de bicarbonato de amonio), 30 minutos a 500 °C (etapa de deshidratación del TiH_2) y 90 minutos a 800 °C (etapa de sinterizado), realizado en atmósfera de argón de alta pureza. Finalmente un enfriamiento en horno bajo la misma atmósfera.

La caracterización mecánica por compresión determinó que el compuesto fabricado presenta un módulo elástico experimental de 18 GPa, valor que está dentro del rango del módulo elástico indicado para el hueso cortical (10 a 30 GPa). El compuesto fabricado con porosidad radial presenta en la capa externa un tamaño de poro de 100 a 200 μm , rango que está dentro de los valores indicados como más favorables para que progrese un proceso de osteointegración.

Posteriormente se consolidaron muestras con porosidad radial y con el agregado de hidroxiapatita en la capa externa del compuesto, sinterizándolas en las mismas condiciones anteriores, dando como resultado un compuesto estable en el tiempo donde las partículas de hidroxiapatita quedan fijadas mecánicamente en la matriz de titanio. La incorporación de poros e hidroxiapatita permitió generar condiciones superficiales para favorecer la adhesión celular osteoblástica.

La caracterización biológica se realizó sobre tres tipos de muestras: de titanio denso, titanio poroso y titanio-hidroxiapatita. Los ensayos in-vitro de citotoxicidad realizados con células Vero y NIH3T3 mostraron una viabilidad celular superior al 70%, en las tres muestras. Por otro lado, los ensayos realizados para determinar adhesión celular mostraron que los dos tipos de células utilizadas se adhirieron a los tres tipos de compuesto. En el caso de las muestras de titanio-hidroxiapatita se observó proliferación celular sobre los dos materiales componentes. Según las

especificaciones de la norma ISO 10993-5, estos resultados indican que los compuestos no presentan toxicidad para las células usadas en el ensayo.

Los ensayos in-vivo realizados con implantes fabricados con los tres tipos de compuestos, en ratas de la cepa Wistar, usando el fémur del animal como sitio de implantación, mostraron la viabilidad de un proceso de osteointegración en un modelo biológico complejo. Los índices de calidad de hueso regenerado, BIC y relación Ca/P, de las muestras analizadas indican mejor performance biológica del titanio poroso y del titanio-hidroxiapatita con respecto a las muestras de control de titanio denso, con presencia de apatitas formadas en la interface implante-tejido óseo. Estas apatitas de las muestras porosas y con hidroxiapatita, presentan relaciones Ca/P (1,81 y 1,71, respectivamente) que son muy próximas a las del hueso fémur de rata Wistar (1,96). Los mapeos de elementos detectaron Ca y P en el interior de los poros de la superficie del material implantado.

Es importante destacar que no se observaron diferencias significativas en la calidad de las apatitas formadas alrededor de los dos compuestos de mejor performance, lo que no permite definir una ventaja comparativa para las muestras de titanio-hidroxiapatita respecto de las de titanio poroso. En base a dichos índices de calidad no se puede afirmar que el agregado de hidroxiapatita al compuesto represente un factor de mejora significativa en la bioactividad.

Referencias

- [1] R.T. Bothe, "Reaction of bone to multiple metallic implants", *Surg Gynecol Obstet*, Vol. 71, pp. 598-602, 1940.
- [2] G.S. Leventhal, "Titanium, a metal for surgery", *JBJS*, Vol. 33, pp. 473-474, 1951.
- [3] U. Breine, B. Johansson, P. Roylance, H. Roeckert, y J. Yoffey, "Regeneration of bone marrow. A clinical and experimental study following removal of bone marrow by curettage", *Acta anat.*, Vol. 59, pp. 1, 1964.
- [4] P. Brånemark, U. Breine, R. Adell, B. O. Hansson, J. Lindström, y Å. Ohlsson, "Intra-osseous anchorage of dental prostheses: I. experimental studies", *Scand. J. Plast. Recons Plast. Reconstr. Surg.*, Vol. 3, pp. 81-100, 1969.
- [5] T. Albrektsson, y C. Johansson, "Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration", *Eur. Spine J*, Vol. 10, pp. 96-101, 2001.
- [6] J. Lindhe, N. Lang, y T. Karring, *Clinical periodontology and implant dentistry*, Edit. Blackwell Munksgaard Copenhagen, 2003.
- [7] J. Davies, "Understanding peri-implant endosseous healing", *J Dent Educ*, Vol. 67, pp. 932-949, 2003.
- [8] I. Fernández, T. Hernández, T. Hernández-Gil, A. Alobera Gracia, M. Pingarrón, y L. Blanco Jerez, "Bases fisiológicas de la regeneración ósea i. histología y fisiología del tejido óseo", *Med. Oral. Patol Oral. Cir. Bucal*, Vol. 11, pp. 47-51, 2006..
- [9] L. Marzona, y B. Pavolini, "Play and players in bone fracture healing match", *Clin Cases Miner. Bone Metab*, Vol. 6, pp. 159, 2009.
- [10] R. Marsell, y T. Einhorn, "The biology of fracture healing", *Injury*, Vol. 42, pp. 551-555, 2011.
- [11] L. Gerstenfeld, D. Cullinane, G. Barnes, D. Graves, y T. Einhorn, "Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation", *J. of cell. biochem*, Vol. 88, pp. 873-884, 2003.
- [12] C. Oldani, "El camino del titanio como material de reemplazo óseo", *Rev. de la FCEFYN. UNC*, Vol. 1, pp. 67, 2014.
- [13] F. O'Brien, "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering", *Mat. today*, Vol. 14, pp. 88-95, 2011.
- [14] J. St-Pierre, M. Gauthier, L. Lefebvre, y M. Tabrizian, "Three-dimensional growth of differentiating MC3T3-E1 pre-osteoblasts on porous titanium scaffolds", *Biomater*, Vol. 26, pp. 7319-7328, 2005.
- [15] K. Alvarez, y H. Nakajima, "Metallic scaffolds for bone regeneration", *Materials*, Vol. 2, pp. 790-832, 2009.
- [16] R. Wazen, L. Lefebvre, E. Baril, y A. Antonio Nanci, "Initial evaluation of bone ingrowth into a novel porous titanium coating", *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater*, Vol. 94, pp. 64-71, 2010.
- [17] L. Vasconcellos, Y. Carvalho, R. do Prado, L. de Vasconcellos, M. de Alencastro Graca, y C. Cairo, "Porous titanium by powder metallurgy for biomedical application: characterization, cell cytotoxicity and in vivo tests of osseointegration", *Biomed. Eng-Technol. Appl. Med*, Vol. , pp. 47-74, 2012..
- [18] C. Wen, M. Mabuchi, Y. Yamada, K. Shimojima, Y. Chino, y T. Asahina, "Processing of biocompatible porous Ti and Mg", *Scripta Materialia*, Vol. 45, pp. 1147-1153, 2001.
- [19] F. Gil, y J. Planell Estany, "Aplicaciones biomédicas del titanio v sus aleaciones", *Biomec. Originales*, Vol. , pp. 34-42, 1993.

- [20] X. Liu, P. Chu, y C. Ding, "Surface modification of titanium, ti-tanium alloys, and related materials for biomedical applications", *Mater. Sci. Eng. R Rep*, Vol. 47, pp. 49-121, 2004.
- [21] A. Nouri, P. Hodgson, y C. Wen, Biomimetic porous titanium scaffolds for orthopaedic and dental applications, InTech, 2010.
- [22] I. Braceras, J. Alava, J Oñate, M. Brizuela, L. Garcia, N. Garagorri, J. Viviente, y M. De Maeztu, "Improved osseointegration in ion implantation-treated dental implants", *Surf. Coat. Technol*, Vol. 158, pp. 28-32, 2002.
- [23] D. Calderoni, R. Gilioli, A. Munhoz, R. Macial Filho, C. de Carvalho Zavaglia, C. Salles Lambert, E. Lopes, I. Toro, y P. Kharmandayan, "Paired evaluation of calvarial reconstruction with prototyped titanium implants with and without ceramic coating", *Acta. Cir. Bras*, Vol. 29, pp. 579-587, 2014.
- [24] C. Gabler, C. Zietz, R. Göhler, A. Fritsche, T. Lindner, M. Haenle, B. Finke, J. Meichsner, S. Lenz, y B. Frerich, "Evaluation of osseointegration of titanium alloyed implants modified by plasma polymerization", *Int. J. Mol. Sci*, Vol. 15, pp. 2454-2464, 2014.
- [25] C. Manresa, M. Bosch, y J. Echeverría, "The comparison between implant stability quotient and bone-implant contact revisited: an experiment in Beagle dog", *Clin. Oral. Implants. Res*, Vol. 25, pp. 1213-1221, 2014.
- [26] P. Thomsen, C. Larsson, L. Ericson, L. Sennerby, J. Lausmaa, y B. Kasemo, "Structure of the interface between rabbit cortical bone and implants of gold, zirconium and titanium", *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, Vol. 8, pp. 653-665, 1997.
- [27] P. Fernández Domínguez, "Acción de los antisépticos orales en la osteointegración de implantes dentales en hueso maxilar periodontal", Thesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, 2012
- [28] J. Vanegas, N. Landinez, y D. Garzón-Alvarado, "Generalidades de la interfase hueso-implante dental", *Rev. cuba. investig. bioméd*, Vol. 3, pp. 130-146, 2009.
- [29] E. Guercio Mónaco, and E. Dinatale, "Consideraciones estructurales y biológicas en la osteointegración: Revisión de la literatura", *Acta Odontol. Venez*, Vol. 47, pp. 241-248, 2009.
- [30] M. Guglielmotti., D. Olmedo. y R. Cabrini, R., "Research on implants and osseointegration", *Periodontol 2000*, Vol. 79(1), pp. 178-189, 2019.
- [31] Z. Bal, T. Kaito, F. Korkusuz, et al. , "Bone regeneration with hydroxyapatite-based biomaterials", *Emergent Mater.*, Vol. 3, pp. 521-544, 2020.
- [32] B. Ghiasi, Y. Sefidbakht, S. Mozaffari-Jovin, B., Gharehcheloo, M. Mehrarya, A. Khodadadi, y V. Uskoković., " Hydroxyapatite as a biomaterial—a gift that keeps on giving ", *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, Vol. 46, pp. 1035-1062, 2020.
- [33] H. Newsly, "High temperature behaviour of hydroxy- and fluorapatite: Crystal-chemical implications of laser effects on dental enamel", *J. Oral Rehabil.*, Vol. 4, pp. 97-104, 1977.
- [34] K. Munzenberg, "Brushite octacalcium phosphate, and carbonate-containing apatite in bone", *Clin. Orthop*, Vol. 90, pp. 271-273, 1973.
- [35] S. Duarte Chavez, "Síntesis y caracterización de fosfatos de calcio por el método sol-gel", Thesis Doc, , 2012
- [36] Y. Kim, J. Kim, J. Joo, y J. Won Park, "Is hydroxyapatite coating necessary to improve survivorship of porous-coated titanium femoral stem?", *J. Arthroplasty*, Vol. 27, pp. 559-563, 2012.
- [37] L. Meseguer-Olmo, J. Muñoz-Ruiz, A. Bernabeu-Esclapez, M. Clavel-Sainz Nolla, D. Arcos-Pérez, M. Vallet-Regí, F. López-Prats, A. Lax-Pérez, y C. Meseguer-Ortiz de Villajos, "Cinética de crecimiento in vitro de osteoblastos humanos sobre cerámica porosa de hidroxiapatita", *Rev. Esp. Cir. Ortop*, Vol. 50, pp. 224-232, 2006.
- [38] C. Garcia, S. Ceré, y A. Durán, "Recubrimientos bioactivos sobre aleaciones de titanio depositados por la técnica sol-gel", *Rev. Fac. de Ing. Antioquia*, Vol. , pp. 129-140, 2006.

- [39] M. Echeverry Rendón, J. Castaño, S. Robledo Restrepo, y F. Echeverría, "Materiales y técnicas utilizadas en recubrimientos bioactivos para mejorar procesos de oseointegración", *Rev. Politéc.*, Vol. 8, pp. 75-87, 2015.
- [40] L. Sun, C. Berndt, K. Gross, y A. Kucuk, "Material fundamentals and clinical performance of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings", *J. Biomed. Mater. Res. A*, Vol. 58, pp. 570-592, 2001.
- [41] L. Linder, T. Albrektsson, P. Brånemark, H. Hansson, B. Ivarsson, U. Jönsson, y I. Lundström, "Electron microscopic analysis of the bone-titanium interface.", *Acta Orthop Scand*, Vol. 54, pp. 45-52, 1983.
- [42] A. Kurup, P. Dhattrak, y N. Khasnis, "Surface modification techniques of titanium and titanium alloys for biomedical dental applications: A review.", *Mater. Today. Proc.*, Vol. 39, pp. 84-90, 2021.
- [43] F. Anene, J. Aiza, I. Zainol, A. Hanim, y M. Suraya, "Additively manufactured titanium alloys and effect of hydroxyapatite coating for biomedical applications: A review.", *Proc. Inst. Mech. Eng. C*, Vol. 234, pp. 1450-1460, 2020.
- [44] N. López-Valverde, J. Flores-Fraile, J. Ramírez, B. Macedo de Sousa, S. Herrero-Hernández, y A. López-Valverde, "Bioactive surfaces vs. conventional surfaces in titanium dental implants: a comparative systematic review", *J. Clin. Med.*, Vol. 9, pp. 2047, 2020.
- [45] H. Melero, J. Fernández, y J. Guilemany, "Recubrimientos bioactivos: Hidroxiapatita y titania", *Biomecánica*, Vol. 19, pp. 35-48, 2011.
- [46] M. Londoño, A. Echavarría, y F. De La Calle, "Características cristaloquímicas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas", *Rev. EIA*, Vol. , pp. 109-118, 2006.
- [47] P. Fernigrini, O. Cámara, y F. Oliva, "Síntesis y caracterización de distintas apatitas. Su utilización como biomaterial", *Asoc. Argentina Mater*, Vol. 10, pp. 1-5, 2008.
- [48] A. de S Azevedo, K. Strecker, y H. Gorgulho, "Efeito da temperatura em processos desinterização de pós de hidroxiapatita", *Cerâmica*, Vol. 61, pp. 52-59, 2015.
- [49] G. Muñoz Medina, "Estudio de las propiedades de recubrimientos de hidroxiapatita (HA) depositados por proyección térmica por plasma sobre Ti-6Al-4V", *J. Cs. Ingen.*, Vol. 4, pp. 43-48, 2012.
- [50] G. Zhao, G. Wen, y W. Kun, "Influence of processing parameters and heat treatment on phase composition and microstructure of plasma sprayed hydroxyapatite coatings", *T. Nonferr. Metal. Soc. CHN*, Vol. 19, pp. 463-469, 2009.
- [51] R. Kumari, y J. Majumdar, "Microstructure and surface mechanical properties of plasma spray deposited and post spray heat treated hydroxyapatite (HA) based composite coating on titanium alloy (Ti-6Al-4V) substrate", *Mater. Charact.*, Vol. 131, pp. 12-20, 2017.
- [52] D. Ke, A. Vu, A. Bandyopadhyay, y S. Bose, "Compositionally graded doped hydroxyapatite coating on titanium using laser and plasma spray deposition for bone implants", *Acta. Biomater.*, Vol. 84, pp. 414-423, 2019.
- [53] L. Cao, I. Ullah, N. Li, S. Niu, R. Sun, D. Xia, y X. Zhang, "Plasma spray of biofunctional (Mg, Sr)-substituted hydroxyapatite coatings for titanium alloy implants", *J. Mater. Sci. Technol.*, Vol. 35, pp. 719-726, 2019.
- [54] G. Choi, A. Choi, L. Evans, S. Akyol, y B. Ben Nissan, "A review: Recent advances in sol gel derived hydroxyapatite nanocoatings for clinical applications", *J. Am. Ceram. Soc.*, Vol. 103, pp. 5442-5453, 2020.
- [55] C. Domínguez-Trujillo, E. Peón, E. Chicardi, H. Pérez, J. Rodríguez-Ortiz, J. Pavón, y Y. Torres, "Sol-gel deposition of hydroxyapatite coatings on porous titanium for biomedical applications", *Surf. Coat. Technol.*, Vol. 333, pp. 158-162, 2018.
- [56] B. Priyadarshini, S. Ramya, E. Shinyjoy, L. Kavitha, D. Gopi, y U. Vijayalakshmi, "Structural, morphological and biological evaluations of cerium incorporated hydroxyapatite sol-

- gel coatings on Ti-6Al-4V for orthopaedic applications", *J. Mater. Res. Techno*, Vol. 12, pp. 1319-1338, 2021.
- [57] J. Faig-Martí, y F. Gil-Mur, "Los recubrimientos de hidroxiapatita en las prótesis articulares", *Rev. Esp. Cir. Ortop. Traumatol*, Vol. 52, pp. 113-120, 2008.
- [58] C. Carvalho Zavaglia, R. Silva, J. Santos, C. Pellicari de Lima, "Caracterización de recubrimientos de hidroxiapatita depositadas sobre la aleación Ti-6Al-7Nb a través de aspersión térmica a plasma", *Biomecánica*, Vol. 8, pp. 49-53, 2000.
- [59] A. Fumero, T. da Silva, L. Goyos, C. Alves Jr, H. Reis, M. Queiroz, "Effect of the substrate temperature and projection mode on the cristallinity, wettability and biocompatibility of the hydroxyapatite coating deposited by atmospheric thermal plasma", *Rev. Téc. Fac. Ingen. Univ. Zulia*, Vol. 37, pp. 76-84, 2014.
- [60] M. Canillas, R. Rivero, R. García-Carrodegua, F. Barba, y M. Rodríguez, "Processing of hydroxyapatite obtained by combustion synthesis", *Bol. Soc. Esp. Ceram. V*, Vol. 56, pp. 237-242, 2017.
- [61] A. Stoch, W. Jastrze, E. Długoń, W. Lejda, B. Trybalska, G. Stoch, y A. Adamczyk, "Sol-gel derived hydroxyapatite coatings on titanium and its alloy Ti6Al4V", *J. Mol. Struct*, Vol. 744, pp. 633-640, 2005.
- [62] L. Sequeda, J. Díaz, S. Gutiérrez, S. Perdomo, y O. Gómez, "Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo", *Rev. Colombiana Cs. Q.F*, Vol. 41, pp. 50-66, 2012.
- [63] M. González, D. Rodríguez, F. Gil, J. Peña, y J. Manero, "Estudio de la biocompatibilidad de una nueva aleación beta-titanio de bajo módulo de elasticidad", *Biomecánica*, Vol. 18, pp. 24-28, 2010.
- [64] E. Stranderg, "Caracterización de aleaciones de titanio con bajo módulo elástico y memoria de forma para aplicaciones biomédicas", , Vol. PFC, Cataluña, España, pp. , 2006.
- [65] J. Lario-Femenía, A. Amigó Mata, Á. Vicente-Escuder, F. Segovia-López, y V. Amigó, "Desarrollo de las aleaciones de titanio y tratamientos superficiales para incrementar la vida útil de los implantes", *Rev. metal*, Vol. 52, pp. 84-96, 2016.
- [66] C. Wen, Y. Yamada, K. Shimojima, Y. Chino, H. Hosokawa, y M. Mabuchi, "Novel titanium foam for bone tissue engineering", *J. Mater. Res*, Vol. 17, pp. 2633-2639, 2002.
- [67] M. Ashby, y R. Medalist , "The mechanical properties of cellular solids", *Metallurgical Transactions A*, Vol. 14, pp. 1755-1769, 1983.
- [68] H. Attar, S. Ehtemam-Haghighi, D. Kent, y M. Dargusch , " Recent developments and opportunities in additive manufacturing of titanium-based matrix composites: A review", *Int. J. Mach. Tools Manuf.*, Vol. 133, pp. 85-102, 2018.
- [69] R. Wauthle, S. Ahmadi, S. Yavari, M. Mulier, A. Zadpoor, H. Weinans, y J. Schrooten , " Revival of pure titanium for dynamically loaded porous implants using additive manufacturing", *Mater. Sci. Eng. C*, Vol. 54, pp. 94-100, 2015.
- [70] A. Basalah, S. Esmaeili, y E. Toyserkani, "On the influence of sintering protocols and layer thickness on the physical and mechanical properties of additive manufactured titanium porous bio-structures", *J. Mater. Process. Technol.*, Vol. 238, pp. 341-351, 2016.
- [71] M. Zakaria, M. Ramli, A. Sulong, N. Muhamad, y M. Ismail , " Application of sodium chloride as space holder for powder injection molding of alloy Titanium-Hydroxyapatite composites", *J. Mater. Res. Technol*, Vol. 12, pp. 478-486], 2021.
- [72] C. Han, Y. Li, Q. Wang, S. Wen, Q. Wei, C. Yan, y Y. Shi., "Continuous functionally graded porous titanium scaffolds manufactured by selective laser melting for bone implants", *J Mech Behav Biomed Mater*, Vol. 80, pp. 119-127, 2018.

- [73] L. Yan, Y. Chen, y F. Liou, " Additive manufacturing of functionally graded metallic materials using laser metal deposition", *Addit. Manuf.*, Vol. 31, pp. 100901, 2020.
- [74] X. Zhang, X. Yan, G. Fang, y M. Liu , "Biomechanical influence of structural variation strategies on functionally graded scaffolds constructed with triply periodic minimal surface", *Addit Manuf.*, Vol. 32, pp. 101015, 2020.
- [75] C. Han, Y. Li, Q. Wang, D. Cai, Q. Wei, L. Yang, y Y. Shi, " Titanium/hydroxyapatite (Ti/HA) gradient materials with quasi-continuous ratios fabricated by SLM: material interface and fracture toughness", *Mater. Des.*, Vol. 141, pp. 256-266, 2018.
- [76] A. Kumar, K. Biswas, y B. Basu, " Hydroxyapatite titanium bulk composites for bone tissue engineering applications", *J. Biomed. Mater. Res. A*, Vol. 103(2), pp. 791-806, 2015.
- [77] K. Pałka, y R. Pokrowiecki, "Porous titanium implants: a review", *Adv. Eng. Mater.*, Vol. 20, pp. 1700648, 2018.
- [78] W. Head, D. Bauk, y R. Emerson jr , "Titanium as the material of choice for cementless femoral components in total hip arthroplasty", *Clin. Orthop. Relat. Res.*, Vol. 311, pp. 85-90, 1995.
- [79] I. Oh, N. Nomura, N. Masahashi, y S. Hanada , " Mechanical properties of porous titanium compacts prepared by powder sintering", *Scr. Mater.*, Vol. 49, pp. 1197-1202, 2003.
- [80] J. Sun, Y. Han, y K. Cui, " Innovative fabrication of porous titanium coating on titanium by cold spraying and vacuum sintering.", *Mater. Lett.*, Vol. 62, pp. 3623-3625, 2008.
- [81] W. Niu, C. Bai, G. Qiu, y Q. Wang , "Processing and properties of porous titanium using space holder technique", *Mater. Sci. Eng. A*, Vol. 506, pp. 148-151, 2009.
- [82] A. Civantos, E. Martinez-Campos, V. Ramos, C. Elvira, A. Gallardo, y A. Abarrategi , " Titanium coatings and surface modifications: toward clinically useful bioactive implants", *ACS Biomater. Sci. Eng.*, Vol. 3, pp. 1245-1261, 2017.
- [83] A. Arifin, A. Sulong, N. Muhamad, J. Syarif, y M. Ramli, " Material processing of hydroxyapatite and titanium alloy (HA/Ti) composite as implant materials using powder metallurgy: a review", *Mater. Des.*, Vol. 55, pp. 165-175, 2014.
- [84] C. Oldano, L. Canavosio, and M. Gallo, "Fabrication of a porous Ti-HAP composite", *Actas 2ª Jornadas OBI*, Mar del Plata, Argentina, Setiembre de 2011.
- [85] Y. Yang, K. Kim, C. Agrawal, y J. Ong, "Interaction of hydroxyapatite–titanium at elevated temperature in vacuum environment", *Biomater.*, Vol. 25, pp. 2927-2932, 2004.
- [86] J. Weng, X. Liu, X. Zhang, y X. Ji, "Thermal decomposition of hydroxyapatite structure induced by titanium and its dioxide", *J. Mater. Sci. Lett.*, Vol. 13, pp. 159-161, 1994.
- [87] E. Aygul, S. Yalcinkaya, y Y. Sahin, " Microstructural analysis of sintered pure-titanium and titanium/hydroxyapatite (HA) surgical implant materials under different temperatures and HA doped conditions produced by powder metallurgy", *Mater. Res. Express*, Vol. 7, pp. 035402, 2020.
- [88] R. Youness, M. Taha, y M. Ibrahim , " Effect of sintering temperatures on the in vitro bioactivity, molecular structure and mechanical properties of titanium/carbonated hydroxyapatite nanobiocomposites", *J. Mol. Struct.*, Vol. 1150, pp. 188-195, 2017.
- [89] M. Zakaria, A. Sulong, M. Ramli, B. Ukwueze, W. Harun, y R. Mahmud , "Fabrication of Porous Titanium-Hydroxyapatite Composite via Powder Metallurgy with Space Holder Method", *J. Adv. Manuf. Technol.*, Vol. 12, pp. 37-48, 2018.
- [90] M. Topuz, B. Dikici, y M. Gavgali, " Titanium-based composite scaffolds reinforced with hydroxyapatite-zirconia: Production, mechanical and in-vitro characterization", *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, Vol. 118, pp. 104480, 2021.
- [91] WORLD HEALTH ORGANIZATION, "World health statistics 2019: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals", 2019.

- [92] S. Demirci, R. Dalmış, T. Dikici, M. Tünçay, N. Kaya, y A. Güllüoğlu , "Effect of surface modifications of additively manufactured Ti-6Al-4V alloys on apatite formation ability for biomedical applications", *J. Alloys Compd*, Vol. 887, pp. 161445, 2021.
- [93] Lucía C, (2018, Marzo 15). Tras 10 años, la primera cadera impresa en 3D se mantiene sólida[On line], Available : <https://www.3dnatives.com>.
- [94] A. Rodriguez-Contreras, M. Punset, J. Calero, F. Gil, E. Ruperez, y M. Manero , "Powder metallurgy with space holder for porous titanium implants: A review. ", *J. Mater. Sci. Technol*, Vol. , pp. , 2020.
- [95] A. Boccaccio, A. Uva, M. Fiorentino, G. Mori, y G. Monno, "Geometry design optimization of functionally graded scaffolds for bone tissue engineering: A mechanobiological approach", *PLoS one*, Vol. 11, pp. e0146935, 2016.
- [96] L.F. NIELSEN , "Elasticity and damping of porous materials and impregnated materials", *Journal of the American Ceramic Society*, Vol. 67, pp. 93-98, 1984.
- [97] K. Alvarez, y H. Nakajima, "Metallic scaffolds for bone regeneration", *J. Am. Ceram. Soc*, Vol. 2, pp. 790-832, 2009.
- [98] A. Bottale, C. Riera, y L. Marisa, "Establecimiento de límites microbiológicos internos para áreas clasificadas grado d", *Rev. cuba farm.*, Vol. 50, pp. 30-43, 2016.
- [99] T. Histing, P. Garcia, JH. Holstein, M. Klein, R. Matthys, R. Nuetzi, R. Steck, M.W. Laschke, T. Wehner, y R. Bindl, "Small animal bone healing models: standards, tips, and pitfalls results of a consensus meeting", , Vol. 49, pp. 591-599, 2011.
- [100] H. Baker, J. Lindsey, y S. Wesibroth, *The laboratory rat: biology and diseases*, Elsevier, 2013.
- [101] M. Suarez, M. Rivarola, L. Grinschpun, C. Oldani, S. Maturana, S. Bianchi, J. Amietta, L. Boezio, "Consideraciones sobre la experimentación in vivo en Argentina. Aplicación a un caso particular: Implantes de titanio, titanio poroso y composite de titanio-hidroxiapatita", *Rev. argentina Soc. Biomater.*, 2018.
- [102] B. Moreno, M. Herrero Climent, P. Calvo, C. Bermejo, y M. Sanz Alonso, ""Métodos clínicos para valoración de la estabilidad de la interfase implante-hueso"", *Periodoc. Osteoinc*, Vol. 11, pp. 323-336, 2001.
- [103] O. Guerra Cobián, L. Hernández Pedroso, y , "Evaluación de la estabilidad de implantes dentales mediante análisis de frecuencia de resonancia", *Rev. habanera cienc. médi.*, Vol. 14, pp. 460-469, 2015.
- [104] J. Guerrero Delgado, C. Kathan Rodríguez, y J. Del Río Highsmith , "Protocolo para evaluar la osteointegración", *Gac. den. Ind. prof*, Vol. , pp. 94-109, 2006..
- [105] M. Tzaphlidou, R. Speller, G. Royle, J. Griffiths, A. Olivo , S. Pani S, y R. Longo , "High resolution Ca/P maps of bone architecture in 3D synchrotron radiation microtomographic images", *Appl Radiat Isot*, Vol. 62, pp. 569-575, 2005.
- [106] P. Sotiropoulou, G. Fountos, N. Martini, V. Koukou, C. Michail, N. KandarakisI, G. Nikiforidis G., "Bone calcium/phosphorus ratio determination using dualenergy X-ray method", *Phys. Med*, Vol. 31, pp. 307--313, 2015.
- [107] M. Tzaphlidou, G.Fountos, y D. Glaros , "Bone Hydroxyapatite/Collagen RatioIn Vivo Measurements by X-ray Absorptiometry", *New York Acad. Sci*, Vol. 904, pp. 284-286, 2000.
- [108] I. Robertson, y G. Schaffer, "Comparison of sintering of titanium and titanium hydride powders", *Powder. Metall*, Vol. 53, pp. 12-19, 2010.
- [109] D, Lee, H. Lee, J. Park, S. Shin, y J. Wang, "Sintering of titanium hydride powder compaction", *Procedia Manuf*, Vol. 2, pp. 550-557, 2015.

- [110] N. Peillon, J. Fruhauf, S. Gourdet, J. Feraille, S. Saunier, y C. Desrayaud, "Effect of TiH₂ in the preparation of mmc Ti based with tic reinforcement", *J. Alloys Compd*, Vol. 619, pp. 157-164, 2015.
- [111] S. Luo, B. Liu, J. Tian, y M. Qian, "Sintering of titanium in argon and vacuum: Pore evolution and mechanical properties", *Int.J. Refract. Hard Met*, Vol. 90, pp. 105226, 2020.
- [112], F. Thummler, A. Klein, y R. Oberacker, "Method for powder metallurgical production of structural parts of great strength and hardness from si-mn or si-mn-c alloyed steels", U.S. Patente 4913739A, 1990.
- [113] J. Villora, P. Callejas, y M. Barba Martín-Sonseca, "Métodos de síntesis y comportamiento térmico del hidroxiapatito", , Vol. , pp. , 2002.
- [114] Lopez Padilla, R., "Desarrollo de estructuras porosas de titanio biocompatible, obtenidas por pulvimetalurgia", Thesis, FCEFYN, UNC, Córdoba, Argentina, 2014.
- [115] R. White, J.N Weber, y E. White, "Replamine form: a new process for preparing porous ceramic, metal, and polymer prosthetic materials", *Sci.*, Vol. 176, pp. 922-924, 1975.
- [116] D. Ehrenfest, P. Coelho, B. Kang, Y. Sul, y T. Albrektsson, "Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography", *Trends Biotechnol*, Vol. 28, pp. 198-206, 2010.
- [117] A. Clemow, A. Weinstein, J. Klawitter, J. Koeneman, y J. Anderson, "Interface mechanics of porous titanium implants", *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 15, pp. 73-82, 1981.
- [118] W. Gu, M. Yong, B. Tay, y C. Lim, "Synthesis and bioactivity of porous ti alloy prepared by foaming with tih₂", *is Mater. Sci. Eng. C*, Vol. 29, pp. 1515-1520, 2009.
- [119] C. Xiang, Y. Zhang, Z. Li, H. Zhang, Y. Huang, and H. Tang, "Preparation and compressive behavior of porous titanium prepared by space holder sintering process", *Procedia Engineering*, Vol. 27, pp. 768-774, 2012.
- [120] Y. Torres, P. Trueba, J. Pavón, I. Montealegre, y J. Rodríguez-Ortiz, "Designing, processing and characterisation of titanium cylinders with graded porosity: an alternative to stress-shielding solutions", *Mater. design*, Vol. 63, pp. 316-324, 2014.
- [121] Y. Chen, D. Kent, M. Birmingham, A. Dehghan-Manshadi, G. Wang, C., Wen, y M. Dargusch, " Manufacturing of graded titanium scaffolds using a novel space holder technique", *Bioactive mater*, Vol. 2(4), pp. 248-252, 2017.
- [122] S. Farak, y J. Cabrera, "Obtención y caracterización de TI cp poroso para aplicaciones biomédicas", Tesis Doctoral, 2012.
- [123] R. Mahamood, y E. Akinlabi, "Types of functionally graded materials and their areas of application", *In Functionally graded materials*, Vol. , pp. 9-21, 2017.
- [124] K. Nazari, T. Hilditch, M. Dargusch, y A. Nouri, "Functionally graded porous scaffolds made of Ti-based agglomerates", *J. Mech. Behav. Biomed. Mater*, Vol. 63, pp. 157-163, 2016.
- [125] P. Trueba, E. Chicardi, J. Rodríguez-Ortiz, y Y. Torres, " Development and implementation of a sequential compaction device to obtain radial graded porosity cylinders", *J. Manuf. Process*, Vol. 50, pp. 142-153, 2020.
- [126] A. Farrahnoor, y H. Zuhailawati, " Effects of hydroxyapatite addition on the bioactivity of Ti-Nb alloy matrix composite fabricated via powder metallurgy process. ", *Mater. Today Commun*, Vol. 27, pp. 102209, 2021.
- [127] Y. He, Y. Zhang, J. Zhang, Y. Jiang, y R. Zhou, "Fabrication and characterization of Ti-13Nb-13Zr alloy with radial porous Ti-HA coatings for bone implants", *Mater. Lett*, Vol. 209, pp. 543-546, 2017.
- [128] R. Cabrini, y M. Guglielmo, "Metodología para estimar la osteointegración de metales", *Rev Fac Odont UBA*, Vol. 18, pp. 19-24, 2001.

- [129] N. Kourkoumelis, y M. Tzaphlidou, "Spectroscopic assessment of normal cortical bone: differences in relation to bone site and sex", *Sci. World J.*, Vol. 10, pp. , 2010.
- [130] V. Zaichick, y M. Tzaphlidou, "Calcium and phosphorus concentrations and the calcium/phosphorus ratio in trabecular bone from the femoral neck of healthy humans determined by neutron activation analysis", *Appl. Radiat Isot.*, Vol. 58, pp. 623-627, 2003.
- [131] S. Vercaigne, J. Wolke, I. Naert, y J. Jansen, "A histological evaluation of TiO₂-gritblasted and Ca-P magnetron sputter coated implants placed into the trabecular bone of the goat: part 2", *Clin. Oral. Implants Res*, Vol. 11, pp. 314-324, 2000.
- [132] D. Nikolidakis, J. Van Den Dolder, J. Wolke, P. Stoelinga, y J.Jansen, "The effect of platelet rich plasma on the bone healing around calcium phosphate coated and non-coated oral implants in trabecular bone", *issue engineering*, Vol. 12, pp. 2555-2563, 2006.
- [133] K. Gotfredson, A. Wennerberg, C. Johansson, L. Skovgaard, and E. Hjørting-Hansen , "Anchorage of TiO₂-blasted, HA-coated, and machined implants: An experimental study with rabbits", *J. Biomed. Mater. Res*, Vol. 29, pp. 1223-1231, 1995.
- [134] T. Mosmann, "Rapid Colorimetric assay for cellular and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays", *J. Immunol. Methods*, Vol. vol. 65, pp. pp.55-63, 1983.

6. Anexo.

Anexo1

6.1. Metodología de ensayos in-vitro

Los ensayos in-vitro fueron los de citotoxicidad y viabilidad celular, analizando la adhesión celular en tres tipos de compuestos: titanio denso (Ti_D), titanio poroso (Ti_{Por}) y titanio con un 20% en volumen de hidroxiapatita bovina ($Ti_{HA20\%}$). El ciclo térmico de sinterizado para obtener las muestras a analizar fue: 30 min a 200 °C (sublimación de separador), 30 min a 500 °C (deshidratación) y 60 min a 800 °C (sinterizado, en atmósfera de argón 5.0). Presión de compactación de los verdes 140 MPa en matriz metálica cilíndrica 8 mm de diámetro.

Preparación de extractos de compuesto Ti_D , Ti_{Por} y $Ti_{HA20\%}$.

Se prepararon extractos de todos los compuestos Ti_D , Ti_{Por} y $Ti_{HA20\%}$. Para evaluar el potencial citotóxico, las muestras esterilizadas se colocaron en medio de cultivo celular DMEM suplementado (SIGMA) y fueron incubadas en atmósfera humidificada con 5% de CO_2 a 37 °C durante 72 horas. Transcurrido este tiempo se retiraron las muestras y se extrajo extracto al 100% que se completó con la adición de suero fetal bovino (SFB) (10% v/v). Para el ensayo de citotoxicidad se usaron diluciones del extracto al 75%, 50% y 25%.

Cultivo de células

Los experimentos se realizaron usando la célula epitelial Vero y células NIH3T3 fibroblásticas (CIQUIBIC-Argentina). Ambas líneas celulares se cultivaron en DMEM con SFB al 10%, 4 mM de L-glutamina (Gibco), 4 mM de piruvato de sodio (Sigma) y 10,000 UI / mL de penicilina con 10.000 μ g / ml de estreptomina en atmósfera humidificada a 37 °C con 5% de CO_2 . Las células se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 10,000 células por pocillo e incubadas en medio DMEM. El medio de cultivo se reemplazó cada 3 días.

Ensayo de citotoxicidad.

El estudio de citotoxicidad se hizo mediante el ensayo de MTT [134] (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol) de acuerdo con ISO 10993-5 . Las células Vero o NIH3T3 se sembraron en placas con medio de cultivo, durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se retiró el medio y se agregó extracto de los diferentes compuestos. Después de 24 horas, las células se enjuagaron con solución salina tamponada con buffer fosfato (PBS) y 50 μ L de 1 mg / ml de MTT en DMEM y se incubaron a 37 °C durante 1,5 horas. Los compuestos de formazán formados se disolvieron agregando alcohol isopropílico. La absorbancia se cuantificó a 595 nm usando un lector de microplacas Multiskan Spectrum. El porcentaje de viabilidad celular se calculó según la

densidad óptica medida para cada condición de incubación con respecto a la densidad óptica determinada para células cultivadas en DMEM suplementado x 100.

Evaluación de adhesión celular

Se sembraron células NIH3T3 en la superficie de los compuestos. Las muestras se colocaron en placas de 24 pocillos a una densidad de 10.000 células / pocillo y en cubreobjetos de vidrio como controles. Luego fueron incubadas en medio de cultivo DMEM suplementado. La adhesión celular NIH3T3 se observó usando microscopio Nikon Eclipse TE2000-U con filtro de fluorescencia (rango 340-360 nm) para DAPI para determinar la presencia de núcleos. El número de células que crecen en superficies de cada compuesto fue estimado con software Image J. La morfología de las células unidas a la superficie de $Ti_{HA20\%}$ fue examinado por SEM a 1 kV con aumento variable (2000 X y 5000X) (LAMARX-UNC).

Anexo 2

6.2. Consideraciones hechas en el análisis de la porosidad de las muestras Ti_{600} , Ti_{800} , Ti_{1000} mediante análisis digital de imágenes metalográficas

La metodología de estudio correspondiente al análisis digital de la imagen a una muestra de Ti_{600} , Ti_{800} y Ti_{1000} (Figuras 50, 54 y 58) se indica a continuación.

Los datos obtenidos (área de poro y su correspondiente perímetro) a partir de la binarización de la imagen con Motic Image , se usaron en el cálculo del factor de forma de cada poro y establecer una relación de distribución de estos parámetros. Figuras 49, 53 y 57.

Para el análisis de frecuencias se estableció el número de clase de la muestra usando la regla de Sturges:

$$C = 1 + 3,222 (\log n) \quad [4]$$

donde **C**: clase, **n**: número de poros contabilizados en el análisis. En las tablas se indica además del número de clases el tamaño de cada clase.

El criterio se usó para agrupar los datos correspondientes a la porosidad de cada muestra según el área de poro (tablas 15, 19 y 23) y según el factor de forma de cada poro (tablas 17, 21 y 25).

Las distribuciones de datos se agruparon usando dos criterios de frecuencia:

1. Analizando frecuencia de área de poro. Tabla 14, 18 y 22.
2. Analizando frecuencia de factor de forma Tabla 16, 20 y 24.

Las gráficas de las figuras 51, 55, y 59 muestran los resultados del análisis. Según criterio 1

Las gráficas de las figuras 52, 56 y 60 muestran los resultados del análisis. Según criterio 2

El análisis se hizo para establecer un criterio de elección de Factor de forma para el cálculo de módulo elástico basado en el modelo de Nielsen. Punto 4.7, Tabla 11

Ti₆₀₀.

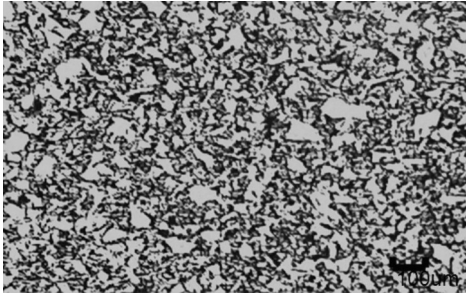


Figura 50: Micrografía Ti₆₀₀

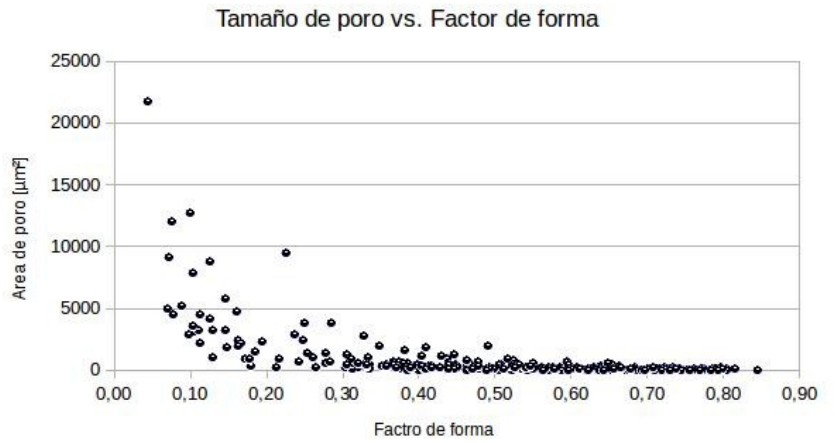


Figura 49. Distribución de áreas de poros en función del Factor de forma. Ti₆₀₀.

Nro. de poros	337
Maximo	21.716,00
Minimo	1,00
AV	21715
Nro de clase	9,14
tamaño de cla	2.412,78

Tabla 15. Datos de tamaño de área. Ti₆₀₀

Rango de area de poro		Frec abs	Frec rel.
1,0	2.413,8	312	92,58%
2.413,8	4.826,6	15	4,45%
4.826,6	7.239,3	3	0,89%
7.239,3	9.652,1	4	1,19%
9.652,1	12.064,9	1	0,30%
12.064,9	14.477,7	1	0,30%
14.477,7	16.890,4	0	0,00%
16.890,4	19.303,2	0	0,00%
19.303,2	21.716,0	1	0,30%

Tabla 14. Tamaño de área de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti₆₀₀

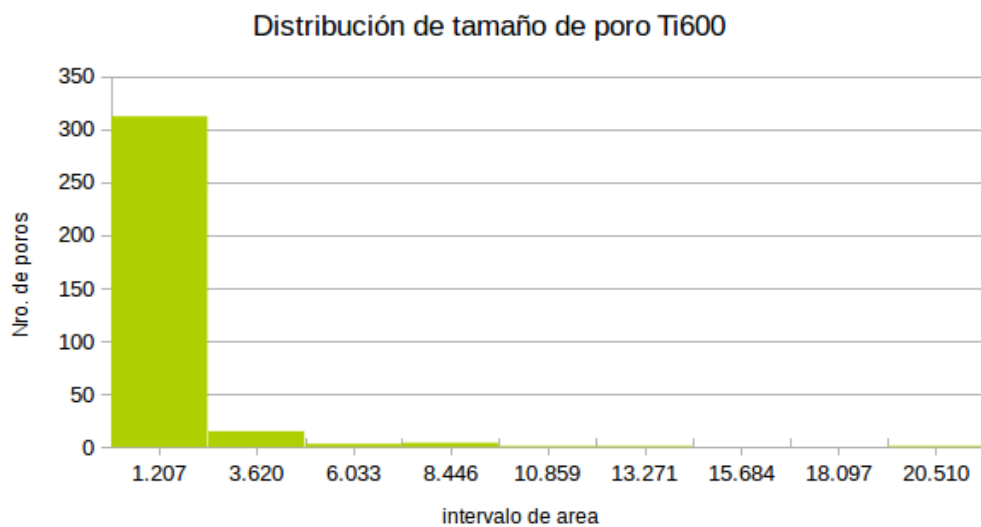


Figura 51. Frecuencia de tamaño de poro. Ti₆₀₀.

Cant. Poros	337
max	0,84
min	0,04
AV	0,80
-nro clase	9,14
tamaño de clase	0,09

Tabla 17. Datos de Factor de forma de área. Ti_{600}

Rango de frec de los Ff	Frec abs	Frec rel.
0,04	18	5,36%
0,13	14	4,17%
0,22	15	4,46%
0,31	30	8,93%
0,40	36	10,71%
0,48	37	11,01%
0,57	60	17,86%
0,66	64	19,05%
0,75	62	18,45%

Tabla 16. Factor de forma de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti_{600}

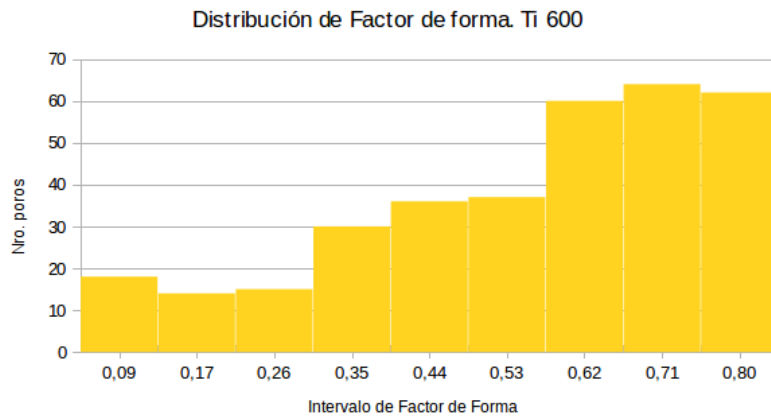


Figura 52. Frecuencia de Factor de forma. Ti_{600} .

Ti₈₀₀.

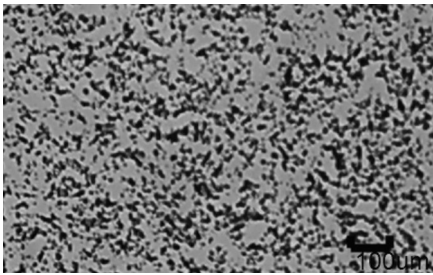


Figura 54. Micrografía Ti₈₀₀

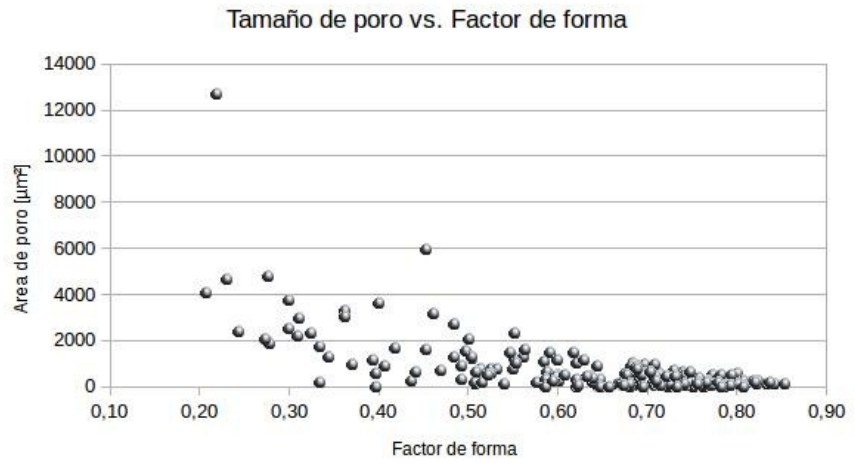


Figura 53. Distribución de áreas de poros en función del Factor de forma. Ti₈₀₀.

Nro. poros	219,00
Maximo	12.698,00
Minimo	1,00
AV	12.697,00
Nro Clase	8,55
tamaño de cla	1.587,13

Tabla 19. Datos de tamaño de área. Ti₈₀₀

CLASE		Frec abs	Frec rel.
1,00	1.588,13	196,00	89,09%
1.588,13	3.175,25	15,00	6,82%
3.175,25	4.762,38	6,00	2,73%
4.762,38	6.349,50	2,00	0,91%
6.349,50	7.936,63	0,00	0,00%
7.936,63	9.523,75	0,00	0,00%
9.523,75	11.110,88	0,00	0,00%
11.110,88	12.698,00	0,00	0,00%

Tabla 18. Tamaño de área de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti₈₀₀

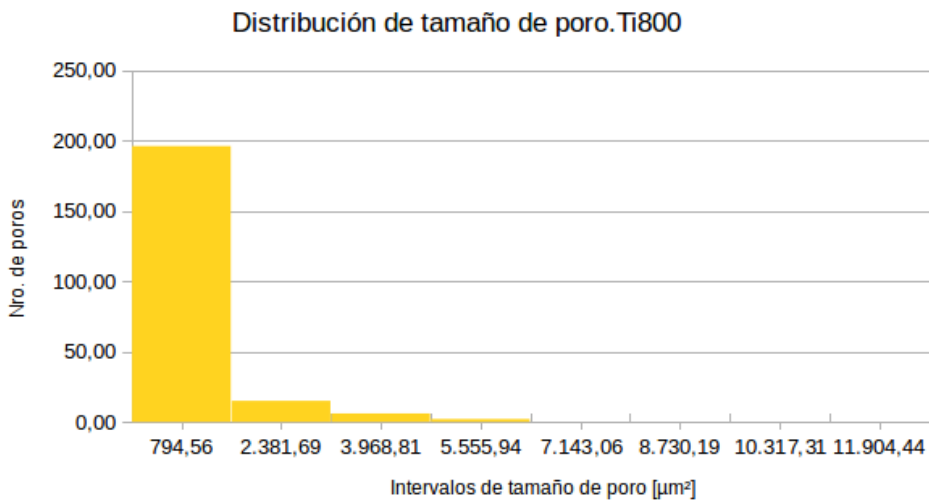


Figura 55. Frecuencia de tamaño de poro. Ti₈₀₀.

Nro. poros	219
max	0,85
min	0,21
AV	0,65
-nro clase	8,54
tamaño de cla	0,08

Tabla 21. Datos de Factor de forma de Ti_{800} forma de área.

CLASE		Frec abs	Frec rel.
0,21	0,29	6	2,74%
0,29	0,37	11	5,02%
0,37	0,45	10	4,57%
0,45	0,54	19	8,68%
0,54	0,62	20	9,13%
0,62	0,70	43	19,63%
0,70	0,78	61	27,85%
0,78	0,86	49	22,37%

Tabla 20. Factor de forma de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti_{800}

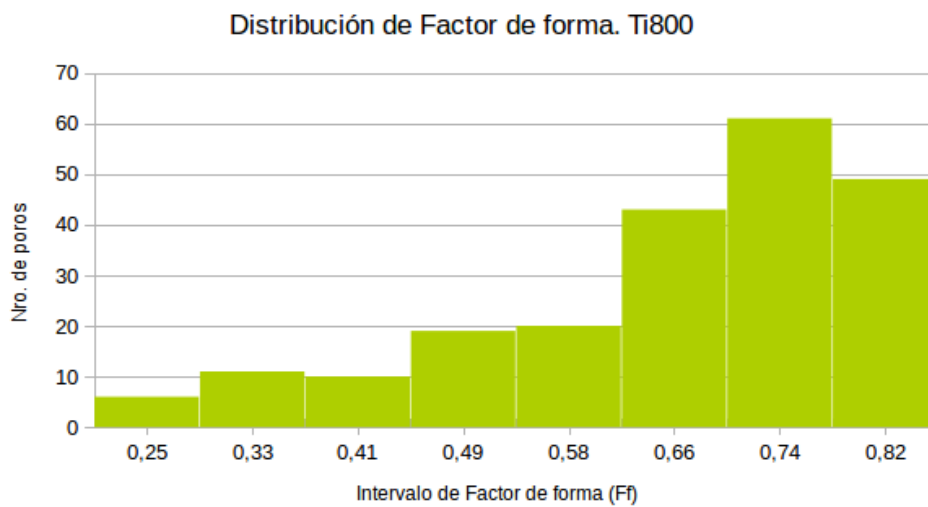


Figura 56. Frecuencia de Factor de forma. Ti_{800} .

Ti₁₀₀₀.

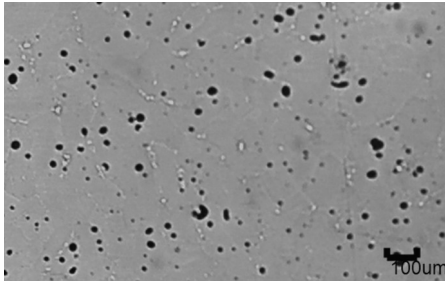


Figura 58. Micrografía Ti₁₀₀₀.

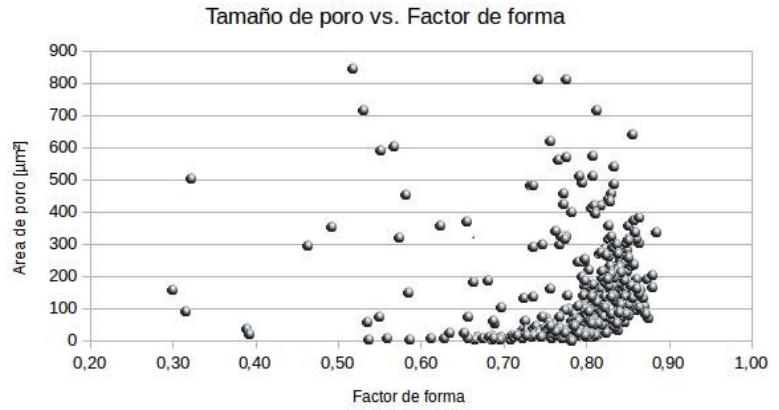


Figura 57. Distribución de áreas de poros en función del Factor de forma. Ti₁₀₀₀.

Nro. poros	402
Maximo	846
Minimo	1
AV	845
Num. de Clase	9,39
tamaño de cla	93,89

Tabla 23. Datos de tamaño de área. Ti₁₀₀₀

CLASE		Frec abs	Frec rel.
1,00	94,89	220	54,86%
94,89	188,78	79	19,70%
188,78	282,67	38	9,48%
282,67	376,56	32	7,98%
376,56	470,44	12	2,99%
470,44	564,33	9	2,24%
564,33	658,22	6	1,50%
658,22	752,11	2	0,50%
752,11	846,00	3	0,75%

Tabla 22. Tamaño de área de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti₁₀₀₀.

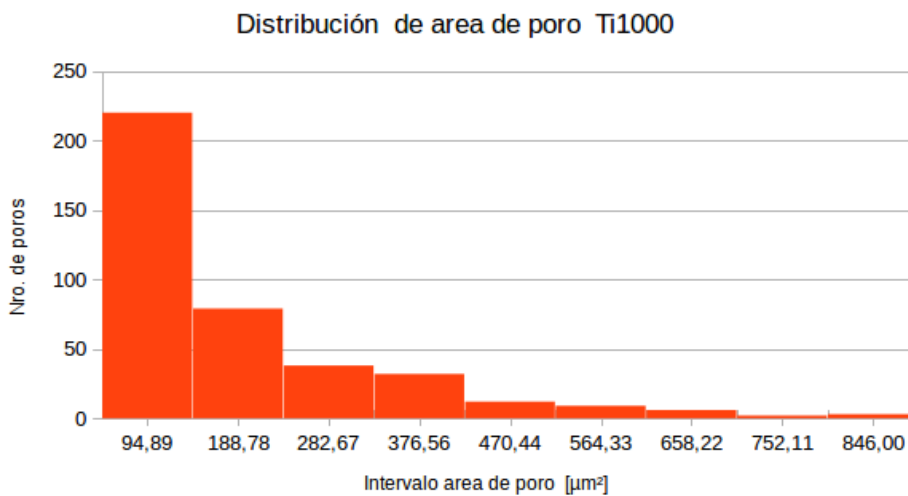


Figura 59. Frecuencia de tamaño de poro. Ti₁₀₀₀.

Nro.poros	402
max	0,88
min	0,30
AV	0,58
-nro clase	9,39
tamaño de cla	0,06

Tabla 25. Datos de Factor de forma de área. Ti_{1000}

CLASE		Frec abs	Frec rel.
0,30	0,36	2	0,50%
0,36	0,43	2	0,50%
0,43	0,49	2	0,50%
0,49	0,56	7	1,75%
0,56	0,62	10	2,49%
0,62	0,69	20	4,99%
0,69	0,75	52	12,97%
0,75	0,82	153	38,15%
0,82	0,88	150	37,41%

Tabla 24. Factor de forma de poro según la frecuencia agrupada por clase. Ti_{1000}

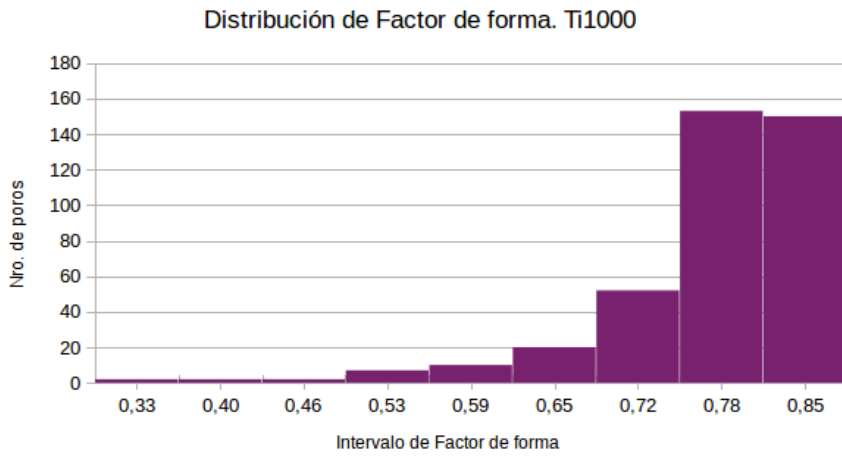


Figura 60. Frecuencia de Factor de forma. Ti_{1000} .