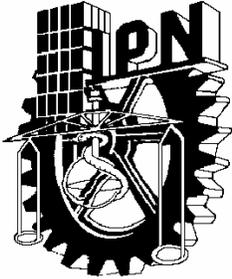


INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

**CENTRO DE INVESTIGACION EN CIENCIA
APLICADA Y TECNOLOGIA AVANZADA**



CICATA UNIDAD LEGARIA

**Desarrollo de la Porosidad en Hidroxiapatita
y en Recubrimientos Cerámicos
para uso Ortopédico**

TESIS

Que para obtener el grado de:

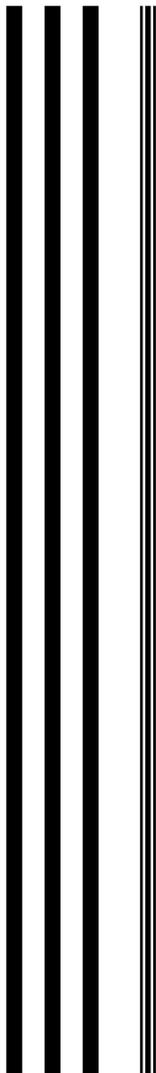
"Doctor en Tecnología Avanzada"

PRESENTA:

M. en C. María Magdalena Méndez González

Director: Dr. Juan Valerio Cauich Rodríguez

Co-director: Dr. José Antonio Calderón Arenas





INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de México, D.F. siendo las 11:00 horas del día 31 del mes de mayo del 2006 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICATA-IPN para examinar la tesis de grado titulada: "**Desarrollo de la Porosidad en Hidroxiapatita y Recubrimientos Cerámicos para uso Ortopédico**"

Presentada por el alumno:

MENEZ **GONZALEZ** **MARIA MAGADELNA**
Apellido paterno materno nombre(s)

Con registro:

A	0	3	0	1	8	9
---	---	---	---	---	---	---

aspirante al grado de: **DOCTOR EN TECNOLOGIA AVANZADA**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Director de tesis

Dr. Juan Valerio Caúch Rodríguez

Codirector de tesis

Dr. José Antonio Calderón Arenas

Dr. José Antonio Irán Díaz Góngora

Dr. José Guzmán Mendoza

Dr. Miguel Angel Aguilar Frutis

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

Dr. José Antonio Irán Díaz Góngora



**CENTRO DE INVESTIGACION
EN CIENCIA APLICADA Y
TECNOLOGIA AVANZADA**



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de México, D.F. el día 12 del mes junio del año 2006, el (la) que suscribe MARIA MAGDALENA MENDEZ GONZALEZ alumno (a) del Programa de Tecnología Avanzada con número de registro A030189, adscrito a CICATA-LEGARIA-IPN, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. José Antonio Calderón Arenas y cede los derechos del trabajo intitulado DESARROLLO DE LA POROSIDAD EN HIDROXIAPATITA Y RECUBRIMIENTOS CERAMICOS PARA USO ORTOPEDICO, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección mmendez@esfm.ipn.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

M. en C. María Magdalena Méndez González

Nombre y firma

CONTENIDO GENERAL

	Página
GLOSARIO	vi
RELACION DE FIGURAS	viii
RELACIÓN DE TABLAS	x
RELACION DE FOTOGRAFIAS	xi
RESUMEN	1
ABSTRACT	4
CAPITULO 1 Introducción, justificación y objetivos	6
1.1 Introducción	6
1.2 Justificación	9
1.3 Objetivos	13
CAPITULO 2 Antecedentes y generalidades	14
2.1 Generalidades	14
2.2 Biomateriales utilizados como sustitutos del tejido óseo	16
2.3 Fosfatos de calcio	18
2.4 Composición de la hidroxiapatita	19
2.5 Biocompatibilidad de la hidroxiapatita	22
2.6 Obtención de la hidroxiapatita	25
A. Métodos sintéticos	25
B. Hidroxiapatita porosa	26
C. Hidroxiapatita natural	27
1. Huesos humanos	27
2. Huesos de animales	29
2a. Hueso de animales vertebrados	29
2b. Hueso de animales marinos	30
2.7 Obtención de recubrimientos de hidroxiapatita	31

A.	Recubrimientos por plasma térmico	34
B.	Recubrimientos por ablación láser	35
2.8	Técnicas para la caracterización de hidroxiapatita y recubrimientos	37
A.	Difracción de rayos X	37
B.	Microscopia electrónica de barrido	37
C.	Microscopia electrónica de transmisión	38
D.	Técnica fotoacústica en configuración de transmisión de calor	38
E.	Técnicas de solubilidad	38
2.9	Propiedades mecánicas de la hidroxiapatita	39
2.10	Propiedades térmicas de la hidroxiapatita y de los sustratos metálicos	40
CAPITULO 3 Síntesis de hidroxiapatita y obtención de recubrimientos		41
3.1	Síntesis de la hidroxiapatita	41
A.	Preparación de soluciones	42
B.	Reacción de síntesis	42
C.	Obtención de hidroxiapatita en forma de polvo	42
3.2	Obtención de pastillas de hidroxiapatita porosa	43
3.3	Obtención de recubrimientos	44
A.	Recubrimientos por plasma térmico	44
1.	Preparación de los sustratos metálicos	44
2.	Obtención de la solución utilizada en el plasma	44
B.	Recubrimientos por ablación láser	45
1.	Preparación de los sustratos metálicos	46
2.	Obtención del plasma mediante pastillas de hidroxiapatita	46
CAPITULO 4 Caracterización		47
4.1	Comportamiento del pH durante la síntesis de la hidroxiapatita	47
4.2	Difracción de rayos x de hidroxiapatita y de recubrimientos	48
A.	Difracción de hidroxiapatita en polvo	48
1.	Efecto del tratamiento térmico	48
2.	Hidroxiapatita sintética y comercial	50
B.	Difracción de pastillas de hidroxiapatita	51
1.	Hidroxiapatita compacta	51
2.	Hidroxiapatita porosa	54

4.3	Difracción de rayos x de los recubrimientos	56
	A. Recubrimientos por plasma térmico sobre titanio comercialmente puro	56
	B. Recubrimientos por ablación láser	57
4.4	Microscopia de pastillas de hidroxiapatita	58
	A. Pastillas de hidroxiapatita compacta	58
	B. Pastillas de hidroxiapatita porosa	59
4.5	Microscopia de los recubrimientos	63
	A. Recubrimientos por plasma térmico sobre titanio comercialmente puro	63
	1. Hidroxiapatita con PVA	64
	2. Hidroxiapatita con PVP	65
	3. Hidroxiapatita con CMC	66
	4. Hidroxiapatita con PEOX	67
	B. Recubrimientos por plasma térmico sobre acero inoxidable 316L	68
	1. Hidroxiapatita con PVA	68
	2. Hidroxiapatita con PVP	69
	3. Hidroxiapatita con CMC	70
	4. Hidroxiapatita con PEOX	71
	C. Recubrimientos por ablación láser sobre titanio comercialmente puro	72
	D. Recubrimientos por ablación láser sobre acero inoxidable 316L	72
4.6	Microscopia de hueso	73
	A. Hueso duro o cortical de animal vertebrado	74
	1. Microscopia óptica en la dirección longitudinal y transversal de la porosidad	74
	2. Microscopia electrónica de barrido en la dirección longitudinal y transversal de la porosidad	75
	B. Hueso trabecular ó esponjoso de animal vertebrado	76
	1. Microscopia electrónica de barrido en la dirección longitudinal y transversal de la porosidad	76
4.7	Microscopia de sustratos metálicos	76
	A. Sustratos de acero inoxidable 316L	77
	B. Sustratos de titanio comercialmente puro	77
4.8	Propiedades mecánicas de hidroxiapatita y sustratos metálicos	78
	A. Pruebas de compresión en hidroxiapatita	79

4.9	Difusividad térmicas de hueso, hidroxiapatita y substratos metálicos	80
	A. Técnica fotoacústica	81
	B. Difusividad térmica	82
CAPITULO 5 Análisis de resultados		85
5.1	Comportamiento del pH durante la síntesis de la hidroxiapatita	85
5.2	Difracción de Rayos x	85
	A. Hidroxiapatita en polvo	85
	B. Pastillas de hidroxiapatita	86
	C. Pastillas de hidroxiapatita porosa	86
5.3	Microestructura de hueso y recubrimientos porosos	86
	A. Recubrimientos por plasma térmico sobre titanio	86
	B. Recubrimientos por plasma térmico sobre acero 316L	86
	C. Recubrimientos por ablación láser sobre titanio y acero 316L	87
5.4	Microestructura de substratos metálicos	87
5.5	Propiedades Mecánicas de las pastillas de hidroxiapatita	87
5.6	Difusividad Térmica	88
CAPITULO 6 Conclusiones, recomendaciones y perspectivas		89
6.1	Conclusiones	89
6.2	Recomendaciones	90
6.3	Perspectivas	90
Bibliografía		91

RELACIÓN DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Diagrama de equilibrio ternario para el sistema CaO-P ₂ O ₅ -H ₂ O	19
2	Proyección de los grupos PO ₄ ³⁻ de la hidroxiapatita en el plano basal (001)	20
3	Proyección de los iones de hidroxiapatita en el plano basa (001)	21
4	Representación esquemática de la estructura interna del hueso	25
5	Vista de una sección de un hueso humano donde aparece el hueso duro ó cortical (A) y el hueso duro ó esponjoso (B)	28
6	Instrumentación para el recubrimiento por Plasma Térmico	35
7	Instrumentación para el recubrimiento por Ablación Láser	36
8	Variación del pH en función del tiempo durante la obtención de hidroxiapatita	47
9	Patrones de Difracción de rayos-x de hidroxiapatita. a) sin tratamiento térmico y b) con tratamiento térmico a 800°C durante 2 horas	50
10	Patrones de difracción de hidroxiapatita sintética y comercial	51
11	Patrones de rayos x de la pastilla HA+25PVA. a)80°C, b) 200°C, c) 400°C y d) 800°C	52
12	Patrones de rayos x de la pastilla HAp+25CMC. a) 80°C, b) 200°C, c) 400°C y d) 800°C	53
13	Patrones de rayos x de la pastilla HAp+25PVP. a) 80°C, b) 200°C, c) 400°C y d) 800°C	53
14	Patrones de rayos x de la pastilla HAp+25PEOX. a) 80°C, b) 200°C, c) 400°C y d) 800°C	54
15	Difracó gramas de hidroxiapatita con 25% p/p de polímeros, liofilizadas y TT 800°C de 2 h. a) HA, b) HA+25PVA <u>8L</u> , c) HA+25CMC <u>8L</u> , d) HA+25PVP <u>8L</u> y e) HA+25PEOX <u>8L</u> .	55
16	Patrones de difracción de los recubrimientos de hidroxiapatita con 5% de polímero. a) HA, b) Ti+HA5PVA, c) Ti+HA5CMC, c) Ti+HA5PVP y d) Ti+HA5PEOX.	56
17	Patrones de difracción de los recubrimiento de hidroxiapatita sobre titanio comercialmente puro y acero inoxidable 316L. a) HA, b) Ti+HA y c) Acero316L+HA.	57
18	Observación del recubrimiento. a) vista normal y b) vista perpendicular	63

19	Estructura del hueso	73
20	Hueso de animal vertebrado	74
21	a) Montaje Experimental de la técnica Fotoacústica, b) Configuración de transmisión de calor con incidencia trasera	81
22	Difusividad térmica vs presión de compactación. a) Hidroxiapatita y b) hueso	83
23	Comportamiento de la Amplitud vs Frecuencia	84

RELACIÓN DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
1	Compuestos de Fosfato de Calcio probados en organismos vivos	18
2	Posiciones de los átomos dentro de la celda unitaria de HA	21
3	Propiedades Mecánicas de Hueso y del Fosfato de Calcio	24
4	Recubrimientos de Hidroxiapatita y Procesos de Deposición	31
5	Nomenclatura de los recubrimientos obtenidos por plasma térmico	45
6	Nomenclatura de los recubrimientos obtenidos por Ablación Láser	46
7	Posición 2θ de reflexiones de rayos-x de la HA con TT a 800°C durante 2hs.	49
8	Nomenclatura de las muestras	51
9	Condiciones de liofilizado	54
10	Nomenclatura de las muestras liofilizadas	55
11	Propiedades mecánicas de diferentes materiales	79
12	Comportamiento a la compresión de hidroxiapatita compacta y porosa	80
13	Difusividad térmica de hueso, hidroxiapatita y substratos metálicos	83

RELACIÓN DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía	Descripción	Página
1	Morfología de la hidroxiapatita con 25% en peso de polímero y tratamiento térmico de 800°C. a) HA+25PVA <u>8</u> , b) HA+25PVP <u>8</u> , c) HA+25CMC <u>8</u> y d) HA+25PEOX <u>8</u> .	58
2	Morfología de HA+25PVA <u>8L</u> . (Hidroxiapatita con 25% de PVA, TT de 800°C y liofilizada).	59
3	Morfología de HA+25PVP <u>8L</u> . (Hidroxiapatita con 25% de PVP, TT de 800°C y liofilizada).	60
4	Morfología de HA+25CMC <u>8L</u> . (Hidroxiapatita con 25% de CMC, TT de 800°C y liofilizada).	61
5	Morfología de HA+25PEOX <u>8L</u> . (Hidroxiapatita con 25% de PEOX, TT de 800°C y liofilizada).	62
6	Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PVA depositado sobre Titanio comercialmente puro. Ti+HA5PVA a), b) y c) vista perpendicular y d) vista normal.	64
7	Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PVP sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5PVP. a) vista perpendicular y b) vista normal.	65
8	Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de CMC sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5CMC. a) y b) vista perpendicular y c) vista normal.	66
9	Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PEOX sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5PEOX. a) y b) vista perpendicular y c) vista normal.	67
10	Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PVA sobre acero inoxidable 316L, Ace316L+HA5PVA, a) y b) vista perpendicular, c) y d) vista normal.	68
11	Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PVP sobre acero inoxidable 316L, Ace316L+HA5PVP. a) y b) vista perpendicular y c) vista normal.	69
12	Recubrimiento de de Hidroxiapatita con 5% de CMC sobre acero inoxidable 316L, Ace316L+HA5CMC. a) y b) vista perpendicular y c) vista normal.	70
13	Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PEOX sobre acero inoxidable 316L, Ace316L+HA5PEOX. a) y b) vista perpendicular y c) vista normal.	71

14	Recubrimiento de Hidroxiapatita sobre titanio comercialmente puro. a) y b) vista normal a la dirección de depositación.	72
15	Recubrimiento de Hidroxiapatita sobre Acero Inoxidable 316L.	73
16	Morfología de los poros del hueso duro. a) longitudinal y b) transversal.	75
17	Microestructura de los poros del hueso duro. a) longitudinal y transversal	75
18	Microestructura de los poros del hueso trabecular. a) longitudinal y b) transversal	76
19	Microestructura del acero inoxidable 316L	77
20	Microestructura del titanio comercialmente puro. a) estructura de fase α , b) estructura martensítica.	78

GLOSARIO

Alo injerto. **Implante artificial o natural modificado.**

Auto injerto. **Injertos provenientes del mismo individuo receptor.**

Biocompatibilidad. Capacidad de un material para desempeñarse en una aplicación específica con una respuesta apropiada del sistema biológico huésped.

Biodegradación. Alteración sufrida por el biomaterial o dispositivo implantado que implica la pérdida de su integridad o capacidad de funcionamiento al ser expuesto al medio fisiológico natural o simulado.

Biomaterial. Material sintético, natural o natural modificado, destinado a estar en contacto e interactuar con el sistema biológico.

Biomaterial sintéticos. Material no vivo utilizado en un aparato médico y que debe interactuar con sistemas biológicos.

Biomateriales de origen natural. Biomateriales naturales como el colágeno purificado, fibras proteicas (seda, lana, cabello, etc.), polisacáridos (algodón y derivados, materiales celulósicos) y tejidos tratados.

Dispositivo médico. Es un instrumento, equipo, implemento, maquina, implantes reactivo o articulo similar que incluye partes o accesorios para uso en el diagnostico, cura, alivio o tratamiento de una dolencia y que no debe ejercer ninguna acción farmacológica, ni inmunológica, ni metabólica, en el interior o en la superficie del cuerpo humano.

Hueso duro, denso o cortical. Tejido óseo con estructura densa, generalmente presente en los huesos planos, exterior de los huesos cortos y largos, y diáfisis de los huesos largos.

Hueso trabecular, esponjoso o cancelar. Tejido óseo con estructura porosa o reticulada, generalmente presente en el interior de los huesos cortos y epífisis de los huesos largos.

Implante. Cualquier producto destinado a ser introducido parcialmente en el cuerpo humano mediante intervención quirúrgica y a permanecer allí después de dicha intervención durante un periodo de al menos treinta días.

Injerto. Porción de tejido u órgano completo que se implanta en el cuerpo humano para la corrección de un defecto o el reemplazo total o parcial de un órgano o de su función.

Macrófagos. Leucócitos no linfáticos, monocitos maduros

Material bioactivo. Material que tiene la capacidad de establecer intercambio químico y de formar enlaces interfaciales con el tejido vivo, favoreciendo los procesos de integración y crecimiento de nuevo hueso.

Material biocompatible. Material que resulta inerte o presenta interacciones mínimas con el medio fisiológico.

Material biomédico. Material no debe inducir su separación, reacción inflamatoria o de cuerpo extraño, no debe provocar respuesta del sistema inmunológico, no debe ser tóxico originalmente, ni tampoco los productos de su descomposición, no debe ser bioabsorbible al extremo de su destrucción en el medio biológico siendo eliminado naturalmente, ni debe alterar genéticamente las células adyacentes.

Monolitos. Leucocitos, macrófagos inmaduros.

Osteoblasto. Célula formadora de hueso que secreta la matriz ósea.

Osteocito. Osteoblasto maduro rodeado de matriz ósea.

Osteoclasto. Célula grande, multinucleada, que destruye la matriz ósea.

Osteoconducción. Capacidad de ciertos biomateriales de proporcionar una superficie biocompatible sobre la cual migra y crece el tejido óseo en contacto directo con la superficie.

Osteoinducción. Capacidad de estimular la formación de hueso mediante la actividad osteoblastica.

Osteointegración. Conexión estructural y funcional entre hueso e implante sin intervención de tejido fibroso, ni inflamación crónica.

Prótesis. Es un dispositivo que substituye un miembro, un órgano o un tejido. Pueden ser internas o externas. Se utilizan para substituir una parte de la anatomía que ha sido dañada, enfermada o desgastada.

Temperatura de transición vítrea del polímero (Tg). Es una propiedad de la parte amorfa de un polímero. Por debajo de ella la movilidad es limitada y no existe suficiente energía térmica para que los segmentos de cadena se muevan: el polímero se encuentra en un estado vítreo. La Tg puede medirse de diferentes maneras, ya que el cambio en la morfología del polímero va acompañado de bruscos cambios en las propiedades como índice de refracción, capacidad calorífica, conductividad térmica, constante dieléctrica, módulos mecánicos, volumen específico entre otras.

RESUMEN

Hidroxiapatita porosa sobre sustratos metálicos o en forma de pastilla fue obtenida mediante la adición de aditivos poliméricos.

La hidroxiapatita fue sintetizada en forma de polvo con una relación calcio/fósforo de 1.67, correspondiente a la hidroxiapatita estequiométrica.

La síntesis fue realizada mediante la reacción química por precipitación de: $10\text{Ca}(\text{OH})_2 + 6\text{H}_3\text{PO}_4 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 18\text{H}_2\text{O}$.

El precipitado obtenido fue decantado a la temperatura ambiente y secado a 80°C. Posteriormente fue finamente molido y mezclado con alguno de los siguientes polímeros solubles en agua: poli (alcohol vinílico), PVA, poli (pirrolidona vinílica), PVP, carboximetil celulosa, CMC y poli (óxido de etileno), PEOx.

La mezcla precipitado/polímero fue compactada mediante una prensa hidráulica aplicando una carga de 50Kg.

La temperatura de la mezcla se elevó hasta alcanzar la temperatura de transición vítrea del polímero (T_g) o su punto de fusión (T_m) y se mantuvo a esa temperatura durante 15 minutos.

Las pastillas fueron hidratadas y posteriormente liofilizadas durante 75 hrs. Finalmente, fueron tratadas térmicamente durante dos horas a 200, 400 y 800°C, con el fin de eliminar el polímero y posteriormente fueron sometidas a pruebas de compresión para conocer su resistencia mecánica, en una máquina Instron.

Los recubrimientos de hidroxiapatita fueron obtenidos mediante las técnicas de ablación láser y plasma térmico utilizando sustratos metálicos de titanio comercialmente puro y acero inoxidable 316L.

Para los recubrimientos obtenidos mediante la técnica de plasma térmico se emplearon mezclas homogéneas de hidroxiapatita y soluciones acuosas del polímero respectivo. Con esta técnica se obtuvieron recubrimientos de hasta 100 μm de espesor.

Para los recubrimientos obtenidos por la técnica de ablación láser, se empleó una pastilla compacta de hidroxiapatita sobre la que se hizo incidir un láser para producir el plasma de hidroxiapatita que fue proyectado en forma de pluma orientada hacia el sustrato metálico.

La caracterización estructural de las pastillas y de los recubrimientos se llevó a cabo mediante las técnicas de Microscopía Óptica, Microscopía Electrónica de Barrido y Difracción de rayos x.

Los resultados obtenidos mostraron que la hidroxiapatita obtenida en este trabajo, presentó una densidad de 3.099g/ml, correspondiente al 98.2% del valor teórico de 3.156 g/ml.

La hidroxiapatita comercial utilizada para referencia, presentó una densidad de 2.78g/ml (correspondiente al 88% del valor teórico) lo que sugiere que debido a su alta densidad, la hidroxiapatita sintética garantiza propiedades mecánicas adecuadas para aplicaciones biomédicas.

Las pastillas obtenidas con poli(alcohol vinílico) y carboximetil celulosa que fueron sometidas a tratamiento térmico de 400°C presentaron poros interconectados de 40µm de diámetro.

De igual forma, las pastillas que contenían poli(pirrolidona vinílica) y sometidas a tratamiento térmico a 200°C, presentaron poros interconectados de 50 µm de diámetro. En ambos casos, la cristalinidad no fue alterada por el tratamiento térmico.

Los recubrimientos obtenidos por plasma térmico también presentaron porosidad interconectada con poros de hasta 100µm de diámetro.

Sin embargo los recubrimientos obtenidos por la técnica de Ablación Láser no presentaron porosidad. Observándose partículas completamente esféricas de 5 µm de diámetro, distribuidas uniformemente sobre toda la superficie del sustrato.

Los resultados estructurales obtenidos por difracción de rayos x para los diferentes recubrimientos correspondieron al patrón de difracción de la hidroxiapatita estequiométrica, lo que muestra que durante el proceso de depositación, la hidroxiapatita no se descompuso en otras fases.

Por lo que se concluyó que ambos métodos de depositación utilizados permiten la obtención de recubrimientos de hidroxiapatita que no se descomponen durante la proyección sobre el sustrato.

Las mediciones de difusividad térmica obtenidas en hidroxiapatita y hueso compactado de animal vertebrado, mostraron una buena compatibilidad térmica de (74%) entre la hidroxiapatita y el hueso.

Fue observada, una diferencia de un orden de magnitud entre los valores de difusividad térmica de los sustratos metálicos y los valores correspondientes a la hidroxiapatita y al hueso.

Fue observada una diferencia tres veces mayor entre la difusividad térmica del titanio y del acero.

También se concluye que tanto las pastillas porosas así como los sustratos metálicos recubiertos son candidatos potenciales para ser usados como relleno en cavidades óseas o en implantes metálicos recubiertos ya que ambos presentaron tamaños de poros y porosidad interconectada similares a las de la estructura ósea.

Esto a su vez, puede permitir la regeneración ósea natural y la creación de una mejor interfase entre el hueso natural y el recubrimiento.

Los recubrimientos de hidroxiapatita pueden ser un medio eficaz para producir superficies bioinertes adecuadas a la transmisión de carga y movimiento en implantes y prótesis articulares, reduciendo de esta forma el riesgo de daño por desgaste abrasivo.

También los recubrimientos de hidroxiapatita porosa pueden contribuir decisivamente a mejorar la adhesión entre prótesis y hueso, sin necesidad de tener que recurrir al empleo de cementos poliméricos, e induciendo una efectiva interconexión entre el tejido óseo y la superficie de la prótesis mediante un proceso de fijación natural.

ABSTRACT

Porous hydroxyapatite tablets and porous hydroxyapatite coatings on metal substrates were obtained by the addition of polymeric additives. Stoichiometric HA (Ca/P=1.67) was prepared by the chemical reaction of $10\text{Ca}(\text{OH})_2 + 6\text{H}_3\text{PO}_4 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 18\text{H}_2\text{O}$.

The precipitated obtained was decanted at room temperature and dried at 80°C. It was finely ground and mixed with one of the following water soluble polymers: poly (vinyl alcohol), PVA, poly (vinyl pyrrolidone), PVP, carboxymethyl cellulose, CMC, and poly (ethylene oxide), PEOx. Tablets were obtained by mixing HA and the polymer after compression at 50 Kg using a hydraulic press.

In order to obtain porous tablets, the temperature of the tablet was increased up to either the glass transition temperature (T_g) or the melting point of the polymer (T_m) and kept at this temperature for 15 minutes.

Tablets were hydrated and lyophilized for 75 hours. In order to remove the polymer, tablets were thermally treated at 200°C, 400°C and 800°C for 2 hours in a furnace. An Instron machine obtained the mechanical properties of these tablets in compression.

Hydroxyapatite coatings on either stainless steel or titanium were obtained by both plasma spraying and laser ablation. In order to obtain the plasma spraying coatings made use a homogeneous mixture of HA and aqueous solutions of the polymers. When the coatings were obtained by laser ablation a hydroxyapatite tablet was used as target and the feather pointed plasma was directed towards the titanium substrate.

Both tablets and coatings were characterised by scanning electron microscopy and x-ray diffraction. Their structural characterisation revealed that HA obtained by the precipitation method exhibited a density of 3.099 g/ml corresponding to 98.2% of their theoretical value of 3.156 g/ml.

A commercial HA used as control exhibited a density of 2.78 g/cm³. It's corresponding to 88% of their theoretical value. These findings suggested that the HA obtained was suitable for biomedical use.

Tablets obtained with either PVA or CMC as a polymeric additive and thermally treated at 400°C exhibited an interconnected porous structure of approximately 40 μm. On the other hand, tablets containing PVP and thermally treated at 200°C showed interconnected pores of 50 μm. In both cases, crystallinity was not altered during the heat treatment.

Coatings obtained by plasma spraying also exhibited interconnected porous of 100 μm while coatings obtained by laser ablation did not show any porosity. Instead, they exhibited spherical particles of 3 μm uniformly distributed over the substrate.

The diffraction patterns of the deposited HA were similar to that of the powder obtained by the precipitation method suggesting that no significant changes occurred during the coating procedure i.e. no other calcium compound were found.

The thermal diffusivity measurements made on hydroxyapatite a bull bone, showed a good thermal compatibility about 74%, between the hydroxyapatite and bone.

A difference of one order in magnitude between thermal diffusivity of metallic substrates was observed in opposition with the thermal diffusivity values obtained to the hydroxyapatite and bone. This result means important characteristics to consider in biomedical applications.

It was concluded that porous hydroxyapatite obtained as tablets or coatings on metal substrates are potential candidates for using them in medicine in applications such as fillers of osseous cavities and implants of improved biocompatibility.

Their porous interconnected structure, resemble a natural bone allowing not only bone in growth but also the creation of a better interface between bone and a metallic implant.

The hydroxyapatite coatings could be a good way to produce a suitable bio inert surface to the transmit ion of charges and movement on implants and joints prosthesis, reducing in this form the risk of damage by abrasive wear and tear.

The porous hydroxyapatite coatings to be contribute in a decisive way to increase the adhesion between bone and prosthesis, without the polymeric cement inducing an effective interconnection between the osseous tissue and the surface of the prosthesis by a natural fixing.

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Durante la década de los 70's, con el propósito de ayudar a resolver el problema de los aflojamientos asépticos e incluso fracturas que se observaban en los componentes sustitutivos de articulaciones óseas o de prótesis que se fijan al hueso mediante cementos acrílicos, surgió la idea de aumentar la superficie de contacto entre el hueso y la prótesis por medio de técnicas de implantación sin cemento.

Estas técnicas tienen como objetivo principal conseguir una mejor integración y evitar concentraciones de esfuerzos que permitan obtener anclajes más durables, basándose principalmente en el crecimiento de aproximación y de integración que experimenta el tejido óseo en las microestructuras abiertas¹.

A consecuencia de que la hidroxiapatita puede ser reabsorbida por los osteoclastos se produce una fijación excelente de la prótesis debido a la formación de interfases indefectibles entre el hueso y el implante o su recubrimiento.

El concepto de implantes y recubrimientos porosos de hidroxiapatita con tamaños de poros y porosidades interconectadas similares a las de la estructura ósea han sido introducidos de manera reciente².

Los implantes porosos de hidroxiapatita ofrecen propiedades inertes y estabilidad mecánica en la interfase desarrollada cuando el hueso crece dentro de los poros dando como consecuencia la fijación biológica.

Sin embargo, los cerámicos porosos están limitados para aplicaciones de baja o nula carga. Cuando la carga no es un requerimiento primario, los cerámicos porosos inertes pueden proporcionar un implante funcional³.

El tamaño mínimo de los poros debe ser lo suficientemente grande para permitir la integración mediante el crecimiento de los vasos sanguíneos y capilares, que aseguren la irrigación de las células óseas.

Además esta estructura porosa favorece el crecimiento óseo en el implante dando una fijación y reparación oseointegrada.

La biocompatibilidad de la hidroxiapatita y las similitudes de su estructura cristalina con la del hueso mineral son de gran interés para que se considere su utilización como material de relleno en defectos óseos.

Además de que la hidroxiapatita es un material bioactivo que genera un enlace químico entre el hueso y el implante, reduce el movimiento que está generalmente asociado con fracturas y promoción de la colonización del hueso⁴.

Debido a esto, la obtención de una estructura porosa e interconectada, con tamaño de poros óptimos para la vascularización, en adición con las propiedades de integración y osteoconducción, representa una buena alternativa para utilizar la hidroxiapatita como sustituto óseo.

En el presente trabajo se estudia el desarrollo de la estructura porosa tanto en pastillas como en recubrimientos de hidroxiapatita.

En el presente estudio se incluyó la síntesis de la hidroxiapatita y mediante la adición de aditivos poliméricos, la obtención de estructuras porosas interconectadas.

Los recubrimientos porosos de hidroxiapatita se obtuvieron mediante las técnicas de Ablación Láser y Plasma Térmico, sobre sustratos metálicos de titanio comercialmente puro y acero inoxidable 316L.

La caracterización estructural de las hidroxiapatitas porosas y de los recubrimientos se llevó a cabo mediante las técnicas de difracción de rayos x, microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido.

De igual forma, se realizaron estudios básicos de las propiedades mecánicas en compresión de las pastillas y se realizaron mediciones de difusividad térmica en

hidroxiapatita, hueso animal y substratos metálicos de titanio y acero 316L, con el propósito de determinar la compatibilidad térmica entre el hueso y la hidroxiapatita, la cual ha sido poco estudiada hasta ahora.

La determinación de la difusividad térmica que es una cantidad extremadamente sensible a la composición y micro estructura de los materiales es fundamental en el estudio de las propiedades físicas de los biomateriales, debido a que estos materiales están en contacto con el tejido que ellos reemplazarán, sobre todo por el prolongado tiempo en el que estarán en el cuerpo humano.

La difusividad térmica (α) da una medida del flujo de calor que se propaga a través de un medio y su importancia radica en que es única para cada material, al igual que el coeficiente de absorción óptico, lo cual permite su caracterización térmica⁵.

Este es el caso de los polvos y los materiales porosos, en los cuales α depende del tipo de estructura porosa y su grado de porosidad⁶.

El trabajo se presenta ordenado de la siguiente forma: en el primer capítulo se incluyen la introducción, la justificación y los objetivos. El segundo capítulo presenta los antecedentes, generalidades y trabajos previos sobre el estudio de la porosidad y de los recubrimientos de las prótesis óseas. En el capítulo tercero se describe la síntesis de la hidroxiapatita y la obtención de los recubrimientos sobre substratos metálicos.

En el cuarto capítulo se presenta la caracterización realizada a las pastillas y a los recubrimientos. En este capítulo se incluye: la obtención de la hidroxiapatita, la preparación de las pastillas y recubrimientos porosos, su caracterización por medio de la difracción de rayos x, y microscopía electrónica de barrido y la caracterización térmica mediante mediciones de difusividad térmica de hidroxiapatita, hueso y substratos metálicos.

En el quinto capítulo se reportan y analizan los resultados. El sexto capítulo presenta las conclusiones, las recomendaciones y las perspectivas. La última sección fue destinada para las referencias bibliográficas utilizadas en este trabajo.

1.2 Justificación

Desde hace más de un siglo se vienen dedicando esfuerzos dirigidos a encontrar materiales con las características adecuadas para la restauración o sustitución del tejido óseo en los seres humanos.

Esta necesidad ha determinado no sólo el interés de encontrar tales materiales sino que constantemente se elaboran nuevas tecnologías para perfeccionarlos y dotar a los cirujanos de biomateriales “ideales” que cumplan con las exigencias más modernas en este campo.

En una fase inicial, la búsqueda de tales materiales se realizó en la propia fuente natural de hueso, dando paso a lo que se conoce como el “injerto óseo”.

Ya en 1889 Senn reportó el uso de hueso de bovino descalcificado con ácido muriático para el relleno de defectos óseos causados al remover tumores o por osteomielitis.

Por otro lado una práctica común que se mantuvo durante mucho tiempo consistió en rellenar el defecto con sangre coagulada, logrando la restauración por el crecimiento ulterior del tejido blando.

El empleo de los diferentes tipos de injerto óseo ha perdurado hasta nuestros días a pesar de las limitaciones y riesgos quirúrgicos⁷.

Por estas razones, así como por el propio desarrollo científico y tecnológico, se ha trabajado intensamente con el objetivo de disponer de materiales artificiales con características adecuadas que permitan disminuir y en algunos casos eliminar el uso del injerto.

Hoy día se encuentran en el mercado y en fase de investigación una gran cantidad de sustancias y dispositivos médicos de diferente procedencia y constitución química, que con éxitos variables se destinan a la sustitución del tejido vivo en medicina y odontología.

En particular los materiales bioactivos, han tenido un desarrollo y aplicaciones crecientes en los últimos años con excelentes resultados.

Cuando es necesario restaurar un defecto óseo, el hueso autógeno continúa empleándose como auto injerto en la cirugía reconstructiva.

Es usado para el tratamiento de las articulaciones, en la restauración de pérdida ósea, defectos traumáticos, etc.

Los inconvenientes presentados por los diferentes tipos de injerto óseo al ser aplicados en la cirugía de reconstrucción, determinaron la necesidad de buscar otros materiales naturales o sintéticos que pudieran sustituir al injerto, con mejores resultados prácticos y clínicos⁸.

Entre las propiedades más buscadas en estos biomateriales se encuentra la osteoinducción, esta propiedad parece estar reservada a las proteínas formadoras de hueso descritas por Urist y que forman parte de la matriz ósea.

Dentro de todos los materiales estudiados como biomateriales de sustitución ósea, los que han tenido una mejor aceptación han sido los compuestos de sales cálcicas (fosfatos cálcicos, carbonatos cálcicos, sulfatos cálcicos) debido a su mayor afinidad con los materiales integrantes de la matriz ósea⁹.

Las cerámicas bioactivas, tales como hidroxiapatita o la β -TCP fueron introducidas en los años 70's por su similitud en el contenido mineral del hueso, el cual es principalmente una apatita carbonatada.

Sin embargo, su fabricación por métodos de sinterización a temperaturas altas, representa una dificultad en su aplicación ya que condicionan su forma y tamaño. Este hecho causa en ocasiones problemas de adaptación o fijación en la cavidad del hueso donde ellas tienen que ser introducidas¹⁰.

En México (información del Instituto Nacional de Ortopedia, 1996) la sustitución de tejido óseo patológico o traumático se basa en métodos tradicionales: implantación de hueso liofilizado, segmentos metálicos y/o metacrilato¹¹.

Por otra parte, en los servicios médicos donde existe una cultura clínica sobre los materiales y dispositivos biocompatibles las limitaciones están dadas por los altos precios de importación de los mismos.

Esto justifica los esfuerzos por realizar estudios sobre los biomateriales y el desarrollo de dispositivos que permitan aumentar la vida útil de los implantes y disminuir los traumas y riesgos inherentes por repetición de intervenciones quirúrgicas.

Mucho más si se toma en cuenta que el alto precio de las biocerámicas y los dispositivos para implantes recubiertos con ellas está dado en gran parte por el "Know how" de las patentes transnacionales.

Los metales inertes han sido los primeros materiales metálicos aplicados en la implantología, pero su alto costo y los inconvenientes debido a su alta conductividad térmica encausaron los estudios hacia la búsqueda de otros sustitutos biocompatibles.

El titanio puro y las aleaciones de aluminio-titanio-vanadio resultaron prometedores a la vez que satisfacían las exigencias económicas, algunos aceros inoxidable y aleaciones de cromo y cobalto también fueron aplicados aunque los resultados clínicos de estos últimos resultaron definitivamente inferiores. No obstante los metales constituyen un grupo de gran importancia en el universo de los biomateriales y desempeñan un papel esencial en la ortopedia y la odontología¹².

En años recientes la utilización de materiales cerámicos para recubrimientos de metales ya sea para su uso industrial o en la implantología se ha incrementado como por ejemplo, en las prótesis de cadera, rodilla, hombros y las raíces dentarías.

La obtención de recubrimientos cerámicos de fosfato de calcio y particularmente de hidroxiapatita sobre metales para ser empleados en implantes óseos, tanto para la reconstrucción como para la sustitución de huesos en diferentes especialidades médicas, se ubica dentro de los desarrollos tecnológicos más avanzados en el mundo.

Actualmente se realizan estudios de recubrimientos de materiales cerámicos biocompatibles, no sólo de hidroxiapatita, con el objetivo de lograr implantes de mayor calidad y con una mayor vida útil.

Un implante metálico con un recubrimiento de material biocompatible y bioactivo es el requerimiento del desarrollo y de la continua mejoría de la atención médica a nivel nacional e internacional.

El abatimiento de los costos con una producción nacional competiría grandemente con la internacional y ahorraría los altos costos de intervenciones quirúrgicas y horas-hombre de los pacientes tratados.

Por otro lado, los implantes porosos de hidroxiapatita ofrecen propiedades inertes y estabilidad mecánica en la interfase desarrollada cuando el hueso crece dentro de los poros dando como consecuencia la fijación biológica.

Los requerimientos mecánicos de las prótesis, sin embargo, se restringen severamente al uso de cerámicos porosos de baja resistencia, así como para aplicaciones sin carga.

Cuando la carga no es un requerimiento primario, los cerámicos porosos inertes pueden proporcionar un implante funcional¹³.

El tamaño mínimo de los poros debe ser suficientemente grande para permitir la integración por crecimiento de los vasos sanguíneos y capilares, que aseguren la irrigación de las células óseas.

Además esta estructura porosa favorece el crecimiento óseo en el implante dando una fijación y reparación óseo integrada.

La biocompatibilidad de la hidroxiapatita y las similitudes de su estructura cristalina con la del hueso mineral son de gran interés para que se considere su utilización como material de relleno en defectos óseos.

Además de que la hidroxiapatita es un material bioactivo que genera un enlace químico entre el hueso y el implante reduciendo los micro movimientos que son una de las causas de fractura y promoción de la colonización del hueso.

En este sentido, el obtener una estructura porosa e interconectada, con tamaños de poros óptimos para la vascularización aunado con propiedades de integración y osteoconducción, hacen a las pastillas de hidroxiapatita porosa y los recubrimientos porosos una alternativa viable como sustituto óseo.

Una de las justificaciones más favorecidas para el uso de recubrimientos bioactivos sobre implantes ortopédicos tiene que ver con la posibilidad de formar una interfase a través de un mecanismo de unión que va más allá del simple entrelazado mecánico característico de los otros métodos de fijación.

Durante el proceso de recuperación de los tejidos en la cercanía del implante, ocurre una *ínter digitalización* entre el colágeno del hueso y el carbonato de calcio recristalizado de la hidroxiapatita.

1.3 Objetivos

Objetivo general

Desarrollar hidroxiapatitas y recubrimientos con estructuras porosas que promuevan el crecimiento óseo hacia el interior del implante.

Objetivos específicos

- ❖ Síntesis de hidroxiapatita estequiométrica Ca/P 1.67.
- ❖ Obtención de hidroxiapatitas porosas mediante la adición de polímeros solubles en agua.
- ❖ Obtención de recubrimientos de hidroxiapatita porosa depositados sobre titanio comercialmente puro y acero inoxidable 316L, mediante aditivos poliméricos.
- ❖ Caracterización estructural y térmica de hidroxiapatita y de recubrimientos

Capítulo 2

ANTECEDENTES

§ 2.1 GENERALIDADES

La Ciencia de los Biomateriales se considera como uno de los prototipos más característicos de campos de investigación y desarrollo totalmente interdisciplinario, cuyo crecimiento más espectacular se ha producido predominantemente durante las dos últimas décadas.

Este desarrollo es paralelo al de materiales avanzados con propiedades físico-químicas muy características que han sido el resultado de estrategias de síntesis y preparación, planteadas por equipos de investigación de reconocido prestigio internacional¹⁴.

En este sentido, el área de biomateriales ocupa una posición especial entre la Medicina, Biología, Física, Química e Ingeniería, de tal forma que desde un punto de vista académico se considera a la Biotecnología y la Bioingeniería como dos disciplinas interconectadas estrechamente¹⁵.

Quizá uno de los principales incentivos del desarrollo de la Ciencia de Biomateriales ha sido la imperiosa necesidad de encontrar, desarrollar y utilizar materiales biocompatibles, es decir, aquellos que induzcan una respuesta apropiada con el medio fisiológico¹⁶.

Los Biomateriales son utilizados para reparar, restaurar o reemplazar tejidos u órganos humanos que han sufrido daños irreversibles.

Atendiendo a su origen, los biomateriales pueden ser naturales como el colágeno purificado, fibras proteicas (seda, lana, cabello, etc.), polisacáridos (algodón y derivados, materiales celulósicos) y tejidos tratados (pericarpio, aloinjertos, etc.).

Estos materiales son en general complejos, heterogéneos y difícilmente caracterizables y procesables^{17,18}.

Los biomateriales sintéticos pueden ser metales, cerámicos o polímeros y han sido denominados por varios autores “Materiales Biomédicos” para diferenciarlos de los biomateriales de origen natural.

La principal propiedad de estos materiales es su compatibilidad con los tejidos del cuerpo humano, propiedad que se define a partir de una serie de observaciones médicas, ya que el material no debe inducir su separación, reacción inflamatoria o de cuerpo extraño, no debe provocar respuesta del sistema inmunológico, no debe ser tóxico originalmente, ni tampoco los productos de su descomposición, no debe ser bioabsorbible al extremo de su destrucción en el medio biológico siendo eliminado naturalmente, ni debe alterar genéticamente las células adyacentes¹⁹.

La cirugía ortopédica necesita realizar en muchas ocasiones resecciones masivas de tejido óseo (tumores, infecciones, cirugía protésicas, etc.) las cuales producen cavidades óseas extensas debilitadas por las pérdidas del hueso.

Estas cavidades presentan una disminución en la resistencia mecánica y por lo tanto son tributarias de complicaciones como la aparición de fracturas patológicas, aflojamientos precoces en la cirugía endoprotésica, etc. Para evitar estas complicaciones se ha recurrido a la utilización de injertos óseos.

El injerto mas usado es el auto injerto, pero este tiene la limitación del propio paciente, no siendo suficiente para rellenar cavidades extensas.

El otro tipo de injerto habitualmente usado es el aloinjerto, el cual es parcial o totalmente desmineralizado, aunque su utilización está muy desacreditada debido al alto índice de reacciones de hipersensibilidad que puede producir, así como la posibilidad de servir de vehículo de transmisión de enfermedades infecciosas.

Por otra parte, la utilización de los bancos de huesos (huesos humanos o bovinos liofilizados o sinterizados) para obtención de alo injerto representa un costo económico importante para su mantenimiento.

Estos hechos han dado lugar a que en los últimos años numerosos autores propongan la utilización de materiales inertes como sustitutos del hueso.

La propiedad mas buscada en estos biomateriales ha sido la osteoinducción, es decir, la capacidad de estimular la formación de hueso.

Sin embargo, no se ha podido demostrar esta propiedad en ninguno de los materiales estudiados.

Parece ser que la capacidad de osteoinducción esta reservada a las proteínas formadoras de hueso y que forman parte de la matriz ósea.

Otras propiedades deseables de estos materiales son tanto la resistencia mecánica como la osteoconducción.

Aunque tampoco se ha llegado totalmente a un acuerdo en cuanto a la necesidad de que los biomateriales tengan que ser reabsorbidos y en el caso que esto suceda tampoco existe un consenso en si debe ser en un plazo de tiempo corto o largo²⁰.

§ 2.2 BIOMATERIALES UTILIZADOS COMO SUSTITUTOS DEL TEJIDO ÓSEO

Los inconvenientes presentados por los diferentes tipos de injerto óseo al ser aplicados en la cirugía de reconstrucción, determinaron la necesidad de buscar otros materiales naturales o sintéticos que pudieran sustituir al injerto, obteniéndose mejores resultados prácticos y clínicos.

Osborn y Weiss en 1978, subdividieron los materiales implantados, como biotolerables, bioinertes y bioactivos, de acuerdo a la interacción que presenta el tejido con el material implantado²¹.

Por otra parte, en 1983, Heimke y Griss²² clasificaron los materiales implantados y probados para la sustitución del hueso biológico en cinco grupos:

- Materiales suficientemente biocompatibles (acero inoxidable, cemento de poli metacrilato de metilo)
- Materiales biocompatibles (aleaciones de Co, Cr, Mo, polietileno de alto peso molecular)
- Materiales bioinertes (cerámicas de Al_2O_3 de alta pureza)
- Materiales biodegradables (fosfatos tricálcicos porosos)
- Materiales que influyen positivamente en la formación del hueso (cerámicas de fosfato de calcio y algunos vidrios que contiene fosfato de calcio)

Dentro de los materiales citados anteriormente, las cerámicas han despertado un gran interés en los últimos años.

Sus características como materiales biocompatibles son ampliamente reconocidas pero no siempre ha sido posible materializar todo su potencial, debido a ciertas dificultades que se presentan en las técnicas de fabricación.

Las cerámicas tanto bioactivas como inertes han sido ampliamente utilizadas en diferentes situaciones clínicas.

Sin embargo, la fragilidad de estos materiales tiende a limitar sus aplicaciones clínicas hacia áreas donde la naturaleza de los esfuerzos sea predominantemente en compresión.

El trabajo publicado en 1969, por Levitt et al., sobre las biocerámicas de fosfato de calcio comenzó a despertar un gran interés en estos materiales.

Ellos expresaron que aunque las apatitas se habían sometido a intensivas investigaciones por muchos años, no existían métodos efectivos para la formación de polvos de apatita en formas sólidas hasta ese entonces, previendo el estudio del uso potencial de las biocerámicas de fosfato de calcio²³.

Desde ese momento, las biocerámicas de fosfato de calcio se han ganado un lugar distintivo en el campo de la investigación de los biomateriales.

Es interesante observar que mientras muchas publicaciones tratan con pruebas clínicas con humanos y animales, menos de un tercio son resultados de técnicas experimentales.

Las patentes tratan casi exclusivamente con métodos de preparación, innovaciones técnicas y la construcción de implantes específicos.

El extenso número de patentes otorgadas hasta ahora enfatiza las grandes expectativas que la comunidad médica tiene de los biomateriales de fosfato de calcio.

Dado el rango de composiciones químicas disponibles en cerámicas bioactivas y el hecho de que la hidroxiapatita pura es raramente usada, se ha propuesto el término cerámica de fosfato de calcio.

Cada cerámica de fosfato de calcio individual se define por su propio y único conjunto de propiedades físicas y químicas²⁴.

§ 2.3 FOSFATOS DE CALCIO

En la Tabla 1, se presentan los compuestos más conocidos, utilizados para la sustitución del hueso en estudios con organismos vivos, así como su relación calcio/fósforo²⁵.

Tabla 1. Compuestos de Fosfato de Calcio probados en organismos vivos

MATERIAL	FÓRMULA QUÍMICA	RELACIÓN Ca/P
Fosfato monocálcico hidratado	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)\text{H}_2\text{O}$	0.50
Fosfato Dicálcico dihidratado (Brushita)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.00
α - Fosfato tricálcico	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.50
β - Fosfato tricálcico (Witlokita)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
Hidroxiapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67
Fosfato octacálcico pentahidratado	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_5 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33
Fosfato dicálcico anhidro (Monetita)	CaHPO_4	1.00
Fosfato tetracálcico (Hilgenstokita)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2.00

Las cerámicas de fosfato de calcio fueron clasificadas como bioactivas, porque se observó un mayor contacto entre la cerámica y el hueso.

Hasta ahora sólo los implantes de fosfato de calcio, fosfato tricálcico y la hidroxiapatita son los materiales utilizados con mayor frecuencia clínicamente, siendo la cerámica de fosfato tricálcico la que se integra fácilmente con el hueso y termina por ser absorbida sustituyendo al hueso.

Por otra parte las cerámicas de hidroxiapatita, cuando se sinterizan de manera correcta, son materiales sin signos significativos de absorción en aplicaciones en seres vivos.

Algunas ventajas adicionales de las cerámicas bioactivas de fosfato de calcio incluyen una baja conductividad térmica y eléctrica, propiedades elásticas similares a las del hueso y el control de la velocidad de degradación *in vivo*; además, mediante el control de las propiedades físico-químicas del material existe la posibilidad de que la cerámica funcione, como enlace o puente entre el tejido y el implante cerámico, lo cual, puede ser variable con el tiempo, la temperatura y la atmósfera.

2.4 COMPOSICION DE LA HIDROXIAPATITA

La cerámica de fosfato de calcio más utilizada como material biomédico es la hidroxiapatita, HA. Este material es el componente mineral más importante de los tejidos óseos y posee una estructura similar a la fase mineral de dientes y huesos²⁶.

La fórmula química de la hidroxiapatita es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Existen diferencias en la composición química de la hidroxiapatita natural y la producida en el laboratorio.

La hidroxiapatita sintética estequiometrica contiene 39.9%Ca, 8.5%P y 3.38%OH y tiene una relación calcio/fósforo (Ca/P) estequiométrica de 1.67.

Desde el punto de vista termodinámico, la hidroxiapatita es la única fase estable en el sistema de los fosfatos de calcio en soluciones acuosas bajo condiciones normales. La hidroxiapatita pertenece al sistema $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$.

En la Figura 1, se muestra el diagrama de equilibrio ternario para este sistema, donde se observan las posiciones de los principales compuestos de dicho sistema²⁷.

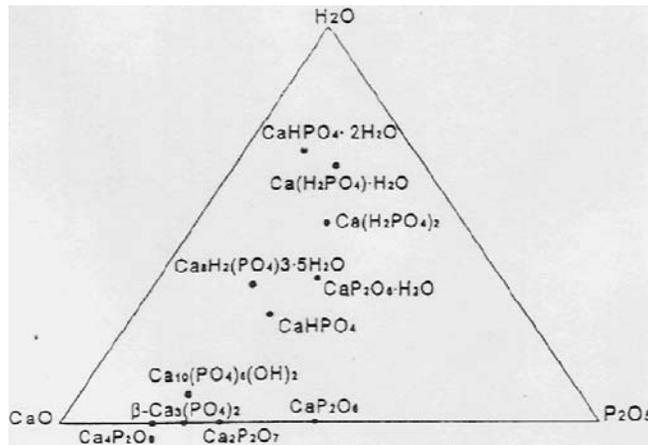


Figura 1. Diagrama de equilibrio ternario para el sistema $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$

La hidroxiapatita natural no sólo contiene iones de P^- , Ca^{2+} , y OH^- sino que contiene también pequeñas cantidades de CO_3^{2-} , Mg^{2+} , Na^+ y trazas de elementos como F^- , Cl^- y K^+ y la relación calcio/fósforo difiere del valor estequiométrico.

En el hueso, por ejemplo, se tiene un 26.7% de Ca^{2+} , 12.47% de PO_4^{3-} , 3.88% de CO_3^{2-} , 0.436% de Mg^{2+} , 0.731% de Na^+ , 0.055% de K^+ , 0.08% de Cl^- y 0.07% de F^- .

Actualmente el término hidroxiapatita cubre una amplia gama de estequiometrias. El valor teórico de la relación molar calcio/fósforo de 1.667, sin embargo, se reporta desde 1.62 hasta 1.69.

La composición es un parámetro de suma importancia ya que la biodegradación y el comportamiento mecánico del material, por ejemplo, dependen de ella^{28,29}.

Cuando la relación $Ca/P > 1.667$, la cerámica horneada a $T > 1000^\circ C$ está compuesta generalmente de otras fases tales como $HA + CaO$. Si, por el contrario, $Ca/P < 1.667$ se tiene $HA + [Ca_3(PO_4)_2]$.

La hidroxiapatita tiene una estructura hexagonal con los siguientes parámetros de red $a = b = 9.42 \text{ \AA}$ y $c = 6.88 \text{ \AA}$.

La hidroxiapatita consiste de un esqueleto de tetraedros PO_4^{3-} , dos átomos de oxígeno están en un plano horizontal; los otros dos están en un eje paralelo al eje C.

En una celda unitaria los tetraedros PO_4^{3-} están divididos en dos capas, a una altura de $\frac{1}{4}$ y $\frac{3}{4}$ del cristal, respectivamente.

La Figura 2, muestra una proyección de los grupos PO_4^{3-} en el plano basal (001). Los tetraedros PO_4^{3-} están distribuidos de tal manera que existen dos tipos de canales perpendiculares al plano basal^{30,31}.

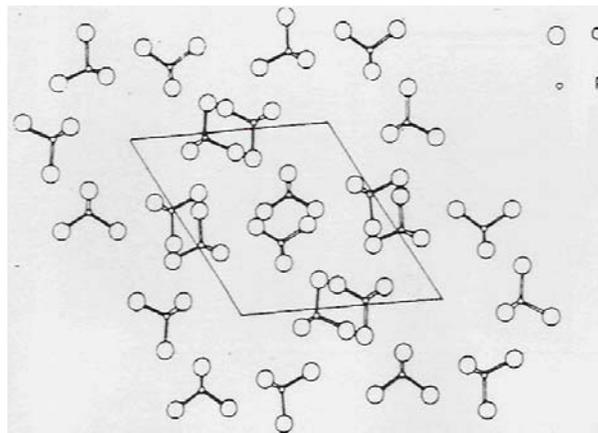


Figura 2. Proyección de los grupos PO_4^{3-} de la hidroxiapatita en el plano basal (001)

La estructura cristalina está constituida de columnas de Ca^{2+} y átomos que pertenecen a los aniones fosfato PO_4^{3-} , donde estos átomos forman las paredes de canales paralelos al eje hexagonal. Los grupos hidroxilo OH^- están dentro de estos canales.

Los átomos de calcio ocupan dos series de posiciones $\text{Ca}^{2+}(\text{I})$ en tetragonales y $\text{Ca}^{2+}(\text{II})$ en hexagonales; los grupos OH^- ocupan posiciones desordenadas arriba y debajo de los triángulos que forman los $\text{Ca}^{2+}(\text{II})$ como puede observarse en la proyección de los iones de hidroxiapatita en el plano basal (001) que se muestra en la Figura 3³².

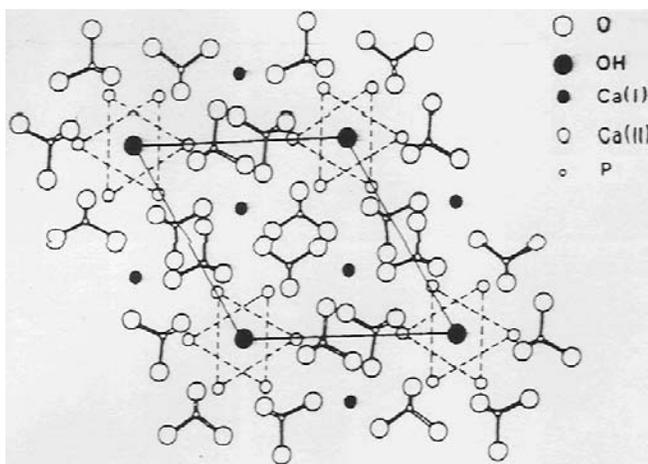


Figura 3. Proyección de los iones de hidroxiapatita en el plano basa (001)

La hidroxiapatita permanece estable hasta 1200°C bajo condiciones normales de presión y temperatura y pierde sus iones hidroxilo (OH^-) de forma paulatina, al transcurrir el tiempo.

Las posiciones calculadas de los átomos dentro de cada celda unitaria se muestran en la Tabla 2³³.

Tabla 2. Posiciones de los átomos dentro de la celda unitaria de HA.

ÁTOMO	ÁTOMOS POR CELDA UNITARIA	X	Y	Z
Ca(I)	4	0.333	0.667	0.666
Ca(II)	6	0.246	0.993	0.328
P	6	0.400	0.369	0.192
O(I)	6	0.329	0.484	0.295
O(II)	6	0.589	0.466	0.496
O(III)	12	0.348	0.259	0.632
OH	2	0.000	0.000	0.875

§ 2.5 BIOCMPATIBILIDAD DE LA HIDROXIAPATITA

La biocompatibilidad de los fosfatos de calcio y de la hidroxiapatita sintética ha sido sugerida no solamente por su composición sino también por los resultados obtenidos en su implantación *in vivo*, los cuales han demostrado la ausencia de toxicidad local o sistémica, no provocando inflamación o respuesta a cuerpo extraño.

Varios investigadores han demostrado la aposición directa de hueso nuevo a la hidroxiapatita. Este contacto es directo, sin que intervenga tejido fibroso^{34,35}.

La formación de enlaces internos entre la neoformación ósea y la hidroxiapatita constituye una gran ventaja del uso de ésta como sustituto del injerto óseo.

Generalmente se ha observado que durante las primeras horas posteriores a la implantación, se produce una ligera fase inflamatoria.

En este tiempo, varias células, incluyendo macrófagos, invaden el sitio quirúrgico, comienzan a fagocitar los residuos celulares inactivos y aparece el ataque a la superficie de las partículas de HA.

Como resultado se obtiene la formación de una capa química de apatita cuya apariencia es similar a la apatita biológica.

Al mismo tiempo los preosteoblastos son programados para su conversión en osteoblastos y migran hacia el borde del defecto óseo así como hacia la superficie de las partículas de HA.

Estos osteoblastos comienzan así a depositar osteoide sobre la superficie de la HA. La revascularización se lleva a cabo a expensas del calcio y fosfato del sitio de implantación.

La hidroxiapatita y la formación osteoide actúan como sitios de nucleación epitaxial para la formación de la apatita biológica.

A las tres semanas la hidroxiapatita es revestida con fibroblastos y osteoblastos donde intervienen capas de mineralización osteoides.

La formación de hueso continua hasta que el defecto es restaurado y sucesivamente es remodelado, disminuyendo el área de osteoides entre el nuevo hueso y las partículas de hidroxiapatita^{36,37}.

Otra propiedad de la hidroxiapatita es que ésta aparentemente no presenta reabsorción significativa.

En ciertas aplicaciones clínicas, especialmente en odontología, esto constituye una ventaja más no así en las situaciones donde se desea un implante que pueda ser eventualmente reabsorbido dejando espacio para ser ocupado por el hueso nuevo.

Se ha encontrado que la velocidad de biodegradación es una función de la microporosidad de una cerámica.

Las conocidas como hidroxiapatitas densas que tienen muy baja o ninguna porosidad se degradan muy poco.

LeGeros y colaboradores han estudiado la degradación y bioreabsorción de varias cerámicas *in vitro* e *in vivo*.

Sus hallazgos indican que todas las cerámicas de fosfatos de calcio, incluyendo la hidroxiapatita son biodegradables en diferentes proporciones^{38,39}.

La hidroxiapatita no exhibe propiedades osteoinductoras, sin embargo, demuestra osteoconducción cuando es implantada en defectos óseos.

La formación del hueso comienza desde el borde del defecto y es conducido a través del implante formando un puente de hueso e hidroxiapatita. Eventualmente, este hueso inmaduro es remodelado.

Cuando la HA es implantada en tejido subcutáneo, no hay formación de hueso como es de esperarse. Las partículas son rodeadas de tejido fibroso con ligera inflamación.

Las hidroxiapatitas densas han demostrado ser superiores cuando se usan para el mantenimiento y aumento de rebordes alveolares, sin embargo, su aplicación en ortopedia ha sido menos frecuente.

A pesar de que sus propiedades mecánicas son similares a las del hueso duro ó cortical (ver Tabla 3), resultan aún muy frágiles para su uso como sustitutos del tejido duro⁴⁰.

La naturaleza altamente biocompatible y osteoconductor de la hidroxiapatita la convierte en un material muy atractivo para ser empleado como sustituto del injerto óseo.

Sin embargo, su uso está limitado a regiones del esqueleto donde no se soporten cargas considerables dada su naturaleza quebradiza y poco tenaz.

Tabla 3. Propiedades Mecánicas de Hueso y de Fosfato de Calcio.

MATERIAL	RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN (MPa)	RESISTENCIA A LA TRACCION (MPa)	MODULO DE ELASTICIDAD (GPa)
HUESO			
Duro ó Cortical	137.8	68.9	13.8
Trabecular ó Esponjoso	41.4	3.5	-----
FOSFATO DE CALCIO			
Denso	208.7 – 895.7	68.9 – 192.9	34.5 – 103.4
Poroso	6.9 – 68.9	2.48	-----

Sus propiedades mecánicas no permiten construir con ella grandes piezas más sin embargo, es muy utilizada para la reconstrucción ósea, reconstrucción maxilofacial, el llenado de vacíos dejados por extracciones dentales para evitar la resorbsión ósea posterior, vacíos provocados por diferentes patologías o traumas en tejidos óseos del cuerpo humano.

La capacidad de la hidroxiapatita para promover el crecimiento óseo depende no solamente de su composición química sino también de la presencia de poros.

La invasión ósea es favorecida por la presencia de poros mayores de 100 µm.

De igual forma mediante el aumento de la porosidad, el área de contacto entre el tejido y el implante se incrementa con lo cual se reduce la concentración de esfuerzos de la interfase⁴¹

La microestructura también juega un papel importante en la degradación del material, se considera que un material totalmente denso es más estable y en cambio los porosos son más degradables.

Incluso en ocasiones los efectos de la microestructura opacan a los efectos químicos^{42,43}.

§ 2.6 OBTENCIÓN DE LA HIDROXIAPATITA

A. MÉTODOS SINTÉTICOS

La hidroxiapatita sintética se ha producido desde el siglo pasado por diferentes métodos. El estudio de sus propiedades y características es un problema complejo debido a que factores como la temperatura, la presión, el pH, etc. influyen en las transformaciones de este compuesto.

Además, es conveniente considerar que durante el proceso de transformación de la hidroxiapatita provocada por el aumento de temperatura, se pasa gradualmente del sistema óxido de calcio, pentóxido de fósforo y agua ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$) al sistema óxido de calcio y pentóxido de fósforo ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5$).

Y que para cada uno de estos sistemas hay un número considerable de posibles compuestos que se pueden formar.

Entre los métodos más utilizados para la obtención de la hidroxiapatita sintética se encuentran los siguientes:

- *Precipitación de ácido fosfórico H_3PO_4 sobre una suspensión de hidróxido de calcio Ca(OH)_2 .*
- *Precipitación de la solución acuosa de nitrato de calcio ($\text{Ca(NO}_3)_2$) con hidroxifosfato de amonio ($(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4\text{OH}$)⁴⁴.*
- *Utilizando nitrato de calcio tetrahidratado ($\text{Ca(NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) y fosfato hidrogenado de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), ajustando el pH de la reacción entre 11 y 12 con hidróxido de amonio (NH_4OH)⁴⁴.*
- *Mediante la hidrólisis de fosfato de calcio o fosfato tetracálcico en soluciones que contengan iones OH^- , F^- , CO_3^{2-} ó HPO_4^{2-} a temperaturas entre 37°C y 100°C .*
- *Por medio de reacciones en solución de compuestos de calcio a temperatura de 25°C a 37°C .*
- *Mediante reacciones de estado sólido de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaCO}_3$ y $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{CaCO}_3$ a temperaturas entre 900°C y 1300°C usualmente con flujo de vapor de agua.*
- *Por la técnica de vía húmeda mediante la solubilización de fosfato de calcio en solución acuosa a 100°C , con un pH entre 7 y 12 y una temperatura de envejecimiento de 25°C .*
- *Mediante soluciones acuosas del sistema $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$ en condiciones hidrotérmicas de temperatura y presión ($> 100^\circ\text{C}$ y $> 1 \text{ atm.}$).*
- *Por el método sol-gel ($\text{Gel}+\text{Ca}^{2+}+\text{PO}_4^{3-}$) a 60°C con un pH entre 7 y 10.*
- *Mediante fundido de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-CaF}_2$, CaCl_2 a 1650°C .*

A partir de los métodos antes mencionados se obtiene la hidroxiapatita en forma de un precipitado blanco, que después del secado requiere de un tratamiento térmico de aproximadamente 800°C durante una hora para obtener un polvo con una cristalinidad suficiente para obtener resultados confiables con el análisis por difracción de rayos X.

También se ha desarrollado un método para lograr el crecimiento de hidroxiapatita en forma de fibras⁴⁵.

B. HIDROXIAPATITA POROSA

Monroe y sus colaboradores en 1971, observaron la formación de porosidad al mezclar hidroxiapatita sintética con celulosa coloidal y concluyeron que si se lograba controlar el porcentaje de porosidad sería posible promover el crecimiento de tejido óseo dentro de los poros y en consecuencia se obtendría una mejor adhesión del tejido con el dispositivo implantado.

Debido a que la hidroxiapatita puede ser reabsorbida por los osteoclastos se obtiene una fijación excelente de la prótesis y una interface indetectable entre el hueso y el recubrimiento o entre el hueso y el implante.

Unos años más tarde, Muller y Lynch implantaron hidroxiapatita porosa en la cresta ilíaca de conejos y observaron que el hueso creció dentro de los poros de la cerámica dos semanas después de haberse realizado el implante⁴⁶.

La hidroxiapatita porosa en forma de bloques ha sido aplicada clínicamente para el relleno de los defectos óseos causados al remover tumores⁴⁷.

Uchida et al., reportaron los resultados obtenidos en 67 pacientes implantados con hidroxiapatita en un periodo de 6 años.

De sus experimentos en animales, estos autores concluyeron que en los defectos mayores de 7 cm de diámetro en la región de la metafisis o de 2 cm o más en la diafisis se requiere la adición de hueso autólogo, pero los defectos más pequeños pueden ser rellenos únicamente con hidroxiapatita⁴⁸.

C. HIDROXIAPATITA NATURAL

1. HUESOS HUMANOS

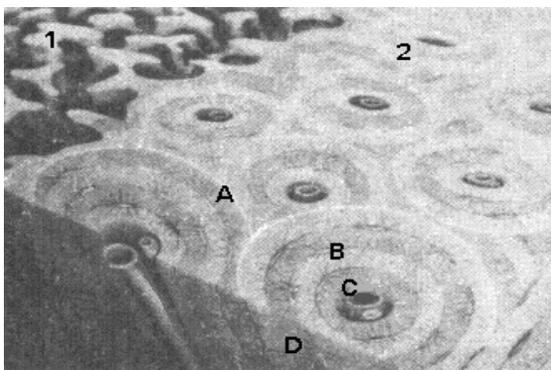
En 1926, los investigadores Gross y Mehmel determinaron que el principal componente inorgánico mineral presente en el esmalte dental, dentina y en los huesos es la hidroxiapatita; también encontraron que las principales diferencias entre las hidroxiapatitas biológica y sintética están relacionadas con las relaciones de concentraciones calcio/fósforo (Ca/P), con las dimensiones de la celda unitaria y con sus frecuencias de absorción en el espectro infrarrojo⁴⁹.

En el cuerpo humano se encuentran en promedio 780 g de fósforo, de los cuales casi el 85% está presente en los huesos como hidroxiapatita. La composición aproximada de los huesos humanos de adulto, después de eliminar el agua es:

Hidroxiapatita	60%
Colágeno	30%
Lípidos, proteínas, polisacaridos, etc.	10%

El hueso está constituido por largas cadenas de proteínas, principalmente de colágeno, reforzadas por un depósito mineral (mayoritariamente hidroxiapatita). La microestructura del colágeno puede ser descrita en términos de cilindros concéntricos de capas sucesivas de colágeno alrededor de los vasos sanguíneos.

Estos cilindros se disponen de tal manera que forman una macroestructura trabecular interconectada tridimensionalmente tal como se muestra en la Figura 4⁵⁰.



- 1 Soporte inorgánico del**
hueso esponjoso constituido
por hidroxiapatita
- 2 Estructura del hueso duro ó**
cortical
- A Anillos concéntricos de**
colágeno-hidroxiapatita
- B Osteocitos**
- C Vasos Sanguíneos**
- D Canalículos**

Figura 4. Representación esquemática de la estructura interna del hueso.

Longitudinalmente a los canales ocupados por los vasos sanguíneos, existen pequeños espacios donde se alojan las células hematopoyéticas y millares de canales.

El colágeno a su vez contiene multitud de microcristales de hidroxiapatita. El balance de compuestos inorgánicos y orgánicos varía según el tipo de hueso, la edad del individuo, etc.

En el ámbito macroscópico, el hueso tiene una apariencia razonablemente densa (hueso duro ó cortical) el cual constituye la mayor parte estructural de los huesos largos tales como el fémur, la tibia, etc. y también se encuentra en la forma conocida como “hueso trabecular ó esponjoso”, más poroso, encontrado en las costillas, pelvis y otros⁵¹.

La Figura 5, muestra una sección microscopica del hueso humano. En la parte mineral del hueso algunos de los fosfatos que lo constituyen se encuentran sustituidos por carbonatos y fosfatos hidrogenados.

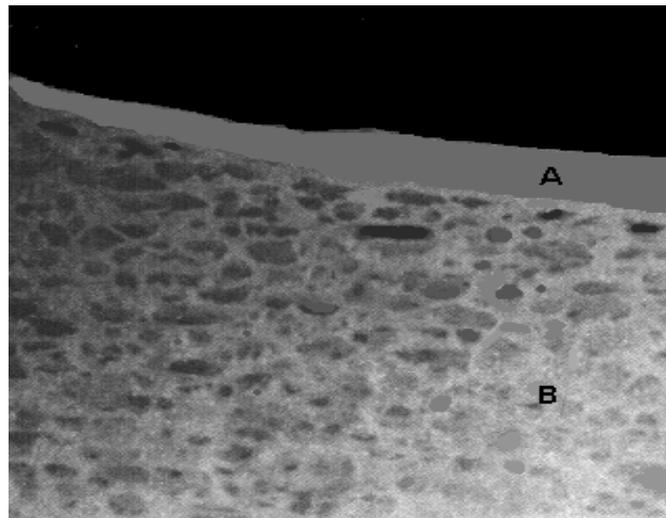


Figura 5. Vista de una sección de un hueso humano.
(A) hueso duro ó cortical y (B) hueso trabecular ó esponjoso

Estos constituyentes presentan vacantes tanto aniónicas como catiónicas⁵¹. La hidroxiapatita dental (dentina) contiene algo de carbonato y cantidades pequeñas de flúor, magnesio, sodio, etc.

El hecho de que algunos de los iones hidroxilo (OH) de la hidroxiapatita del esmalte estén sustituidos por iones flúor mejora la resistencia a las caries y disminuye la solubilidad en medio ácido.

El esmalte dental es más duro y rígido que el interior del diente, el esmalte está formado por hidroxiapatita y queratinas donde el contenido orgánico del esmalte es de aproximadamente 1%.

De acuerdo a lo reportado por Gross y Mehnel, las muestras de huesos tienen una relación Ca/P de 1.50 mientras que la estequiometría de la hidroxiapatita pura es de 1.67, esta diferencia se atribuye principalmente a que el fósforo se encuentra unido a otros cationes.

El crecimiento del hueso involucra la formación inicial de un material amorfo que mediante un proceso sumamente complejo y a temperatura corporal (37°C) cristaliza en forma de agujas dentro de las fibras de colágeno⁵².

En el hueso, la fase mineral está compuesta principalmente de cristales microscópicos de fosfatos de calcio dentro de los cuales la hidroxiapatita es la más importante.

Otras fases minerales presentes en el hueso son el fosfato dicálcico ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$), el fosfato de calcio dibásico (CaHPO_4), el fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) y algunas fases amorfas de fosfato de calcio.

La razón principal por la cual no se utiliza el hueso mismo como implante, está en el hecho de que no siempre está disponible la cantidad necesaria de hueso natural para realizar el implante⁵³.

2. HUESOS DE ANIMALES

2a. HUESO DE ANIMALES VERTEBRADOS

A pesar de algunos esfuerzos en este sentido, el hueso de animales vertebrados no es considerado aún como sustituto del injerto óseo, ya que provoca fuerte respuesta inmunológica.

La eliminación de las proteínas tiene a disminuir esta respuesta, pero también se extraen las proteínas osteoconductoras⁵⁴.

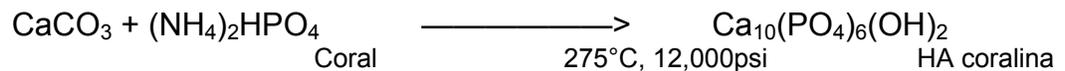
Los estudios han demostrado fehacientemente la pérdida de la respuesta osteogénica cuando este tipo de injerto es implantado en tejido duro o blando^{55,56}.

Sin embargo se han obtenido algunos productos como: BioOssTM, Osteograf-NTM y BonAp, derivados del hueso bovino donde la composición, la cristalinidad y la macroporosidad de la hidroxiapatita cambia en mayor o menor grado, dependiendo de la temperatura de sinterización⁵⁷.

2b. HUESO DE ANIMALES MARINOS

Por otro lado, uno de los biomateriales porosos de hidroxiapatita que ha recibido mucha atención es la obtenida de corales marinos.

Los exoesqueletos coralinos de las familias *Porites* y *Gonioporas* son sometidos a un proceso de intercambio hidrotérmico para transformar el carbonato de calcio CaCO₃, en presencia del fosfato de amonio, (NH₄)₂HPO₄, en hidroxiapatita^{58,59,60,61,62,63}.



El material así obtenido presenta una estructura porosa y tridimensional interconectada muy similar a la del hueso esponjoso que facilita la penetración del tejido hacia el interior del implante.

La resistencia mecánica aumenta considerablemente con la invasión del nuevo hueso, lo cual posibilita el empleo de las hidroxiapatitas porosas para restaurar o sustituir fragmentos óseos como por ejemplo en neurocirugía y otras especialidades.

En un estudio sobre 206 pacientes implantados con hidroxiapatita porosa, en cirugía endobucal para el relleno de cavidades óseas, defectos periodontales y tratamientos alveolares, se reportó un 97% de éxito en las reparaciones, no observándose respuestas locales o generales adversas.

Los casos de fracaso de los implantes están asociados a las técnicas quirúrgicas y exfoliación de partículas⁶⁴.

§ 2.7 OBTENCION DE RECUBRIMIENTOS

Existe un creciente interés por el uso de la hidroxiapatita para el recubrimiento de implantes ortopédicos y el uso clínico y experimental de implantes metálicos recubiertos con hidroxiapatita.

El recubrimiento consigue disponer de un material osteoconductor en contacto con el entorno óseo, transformando una superficie no bioactiva en bioactiva.

Además protege al sustrato del ataque químico y separa al sustrato del tejido circundante, para evitar reacciones negativas.

Haciendo biocompatible el conjunto, teniendo siempre presente que, desde el punto de vista de las propiedades mecánicas, el soporte metálico es el más importante para prótesis óseas

Los recubrimientos de hidroxiapatita y otros cerámicos han sido obtenidos mediante las técnicas que se aprecian en la Tabla 4.

Tabla 4. Recubrimientos de Hidroxiapatita y Procesos de Deposición.

<i>Método de Aplicación</i>	<i>Material del sustrato</i>
Sputtering	Aleaciones de Titanio
Electro-depositación	Titanio
Slip casting	Titanio
Deposición por láser pulsante	Aleaciones de Ti-6Al-4V
Deposición Electroforésica	Aleaciones de Titanio
Frit enameling	Aleaciones Co-Cr
Plasma Térmico	Aleaciones de Ti-6Al-4V, Acero Inoxidable 316L, Titanio
Plasma Spraying	Aleaciones de Ti-6Al-4V, Acero inoxidable 316L
HVOF	Aleaciones de Ti-6Al-4V
Sol-Gel	Titanio
Organo-químico	HA
Biomimético	Polímeros
Polimérico	Titanio
Presión Isostática de Calor	HA
Ablación Láser	Acero Inoxidable 316L, Titanio

Estas técnicas difieren en términos del espesor del recubrimiento, adhesión al sustrato, densidad y consecuentemente de las fases presentes en el recubrimiento.

Los recubrimientos pueden clasificarse como gruesos o finos y alternamente como de alta o baja temperatura dependiendo del proceso.

Ejemplos de procesos que comúnmente producen recubrimientos finos son: sputtering, depositación de láser pulsante, biomimético, sol-gel, organo-químico o polimérico; siendo estos tres últimos los procesos a baja temperatura.

Los recubrimientos gruesos pueden ser producidos por electro-depositación, hidrólisis, presión isostática de calor y spray térmico.

Sin embargo, el método de plasma spraying es el método más utilizado por los fabricantes de recubrimientos de implantes dentales y ortopédicos.

Por otro lado, la severidad de las condiciones mecánicas y ambientales experimentadas por los implantes en el cuerpo humano requieren que los materiales empleados en su fabricación cumplan con varios criterios básicos.

- Compatibilidad con los tejidos y los procesos fisiológicos del cuerpo humano (biocompatibilidad).
- Alta resistencia a la degradación ambiental en condiciones que incluyen pH arriba de 6.3 y efectos abrasivos asociados con el movimiento relativo entre las superficies articulares.
- Alta resistencia a la abrasión, combinada con fricción mínima entre las superficies articulares.
- Alta resistencia a la fractura por fatiga y bajo esfuerzos que involucren componentes tanto uniaxiales como de corte (tensión, compresión, flexión y torsión).

Debido a estos requerimientos, los elementos de soporte de los implantes ortopédicos, tales como vástagos femorales en las prótesis para el reemplazo de cadera, son fabricados principalmente de materiales metálicos tales como el titanio y sus aleaciones, las aleaciones de cobalto y los aceros inoxidable austeníticos.

Por otra parte, los elementos articulares, los cuales son sometidos esencialmente a esfuerzos compresivos durante el funcionamiento de la articulación, son fabricados a partir de materiales metálicos, cerámicos de alta resistencia y polímeros.

Ejemplos de la utilización de estos materiales son la cabeza femoral en prótesis totales modulares y el componente articular del acetábulo en las prótesis totales de cadera.

El buen funcionamiento a largo plazo de un implante ortopédico requiere de una selección cuidadosa de los materiales y los diseños apropiados para cada aplicación.

Sin embargo, el éxito del implante a largo plazo depende de la efectividad de la interfase con el tejido adyacente para transmitir los esfuerzos durante la actividad del paciente.

La integridad física de la interfase biomaterial-tejido y la estabilidad mecánica del implante dependen básicamente de dos factores: de la efectividad del mecanismo de oseointegración del biomaterial y de la respuesta biológica del sistema inmunológico a la presencia física del implante y partículas, tanto del biomaterial como del tejido óseo, producidas por el desgaste y la corrosión.

En años recientes se ha observado una creciente actividad de investigación sobre el uso de recubrimientos cerámicos bioactivos sobre sustratos metálicos.

Recubrimientos a base de fosfatos (hidroxiapatita o fosfatos de calcio multifásicos) se han empleado para crear recubrimientos superficiales con espesores de 50 a 100 μm .

Estos permiten el enlace entre el biomaterial y el tejido a una escala mucho más fina que con las técnicas de fijación de implantes más usadas (fijadores mecánicos y cementos óseos).

Aunque aún persisten ciertos problemas relacionados con la uniformidad de los recubrimientos y la estabilidad a largo plazo de la unión, el principio de fijación del implante vía superficies bioactivas está firmemente establecido.

Recubrimientos logrados mediante el depósito por plasma de hidroxiapatita sobre implantes de titanio son usados clínicamente en la actualidad.

Los recubrimientos bioactivos se emplean principalmente sobre implantes ortopédicos metálicos de titanio y sus aleaciones.

La razón de esta preferencia sobre otros sustratos metálicos está basada en la observación de que el titanio puede formar una interfase más próxima al tejido óseo mineralizado en comparación con las aleaciones de cobalto y los aceros inoxidables.

Sin embargo, las distancias de aproximación del colágeno mineralizado a implantes fabricados con titanio varían desde 200 \AA hasta 1 μm .

Esta amplia variación hace posible distinguir los diferentes biomateriales con respecto a las características de la interfase y no justifica la preferencia hacia el titanio como material de sustrato.

El problema clínico más importante asociado con las artroplastias de articulaciones está asociado con el deterioro progresivo del tejido óseo adyacente a los implantes.

Esto tiene como resultado que el paciente sufra dolor y/o la migración del implante.

Por lo tanto, este proceso de osteólisis debe ser considerado como una indicación mayor de inestabilidad mecánica y probable pérdida de la integridad de la estructura hueso-implante⁶⁵.

Por otro lado, el costo de estas prótesis es muy elevado limitando su aplicación. Una alternativa más económica puede ser el uso del acero inoxidable.

Para esto es necesario desarrollar una interfase adecuada entre el acero inoxidable y la hidroxiapatita.

En el presente trabajo se estudió la obtención de hidroxiapatitas porosas y de recubrimientos de hidroxiapatita porosa, con la finalidad de resolver el problema de osteólisis y el subsecuente aflojamiento de las prótesis cuando son usados implantes metálicos no cementados de reemplazo total de cadera⁶⁶.

A continuación se expone una breve descripción de los procesos de plasma térmico y ablación láser, utilizados en el presente trabajo, para obtener recubrimientos de hidroxiapatita depositada sobre sustratos de acero inoxidable 316L y titanio comercialmente puro.

A. RECUBRIMIENTOS POR PLASMA TÉRMICO

La técnica de plasma térmico se caracteriza por tener una densidad energética alta y por que la temperatura de las partículas pesadas (iones) y la temperatura de los electrones son iguales.

Además, tiene una densidad electrónica alta (10^{13} a 10^{16} cm^{-3}) y bajas energías de los electrones del orden de 1 a 2 eV.

Los recubrimientos se obtiene, proyectando polvo de hidroxiapatita sobre el sustrato a presión atmosférica. La Figura 6, muestra una representación esquemática del proceso.

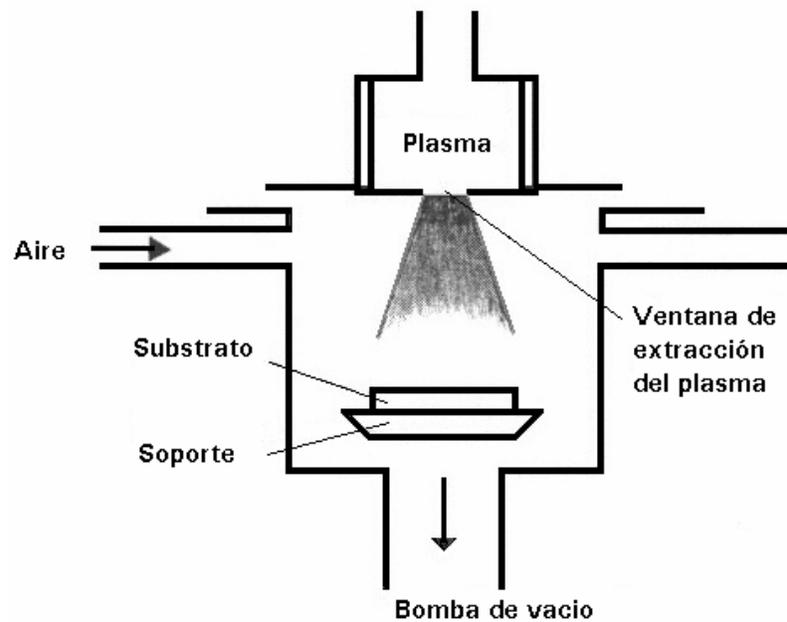


Figura 6. Instrumentación para el recubrimiento por Plasma Térmico.

B. RECUBRIMIENTOS POR ABLACIÓN LÁSER

La técnica de ablación láser consiste en el empleo de un haz láser en la región Uv, con longitud de onda de 308 nm y de alta potencia, que se orienta hacia un blanco determinado .

El proceso es llevado a cabo en una cámara de alto vacío. La Figura 7, muestra la representación esquemática del proceso experimental.

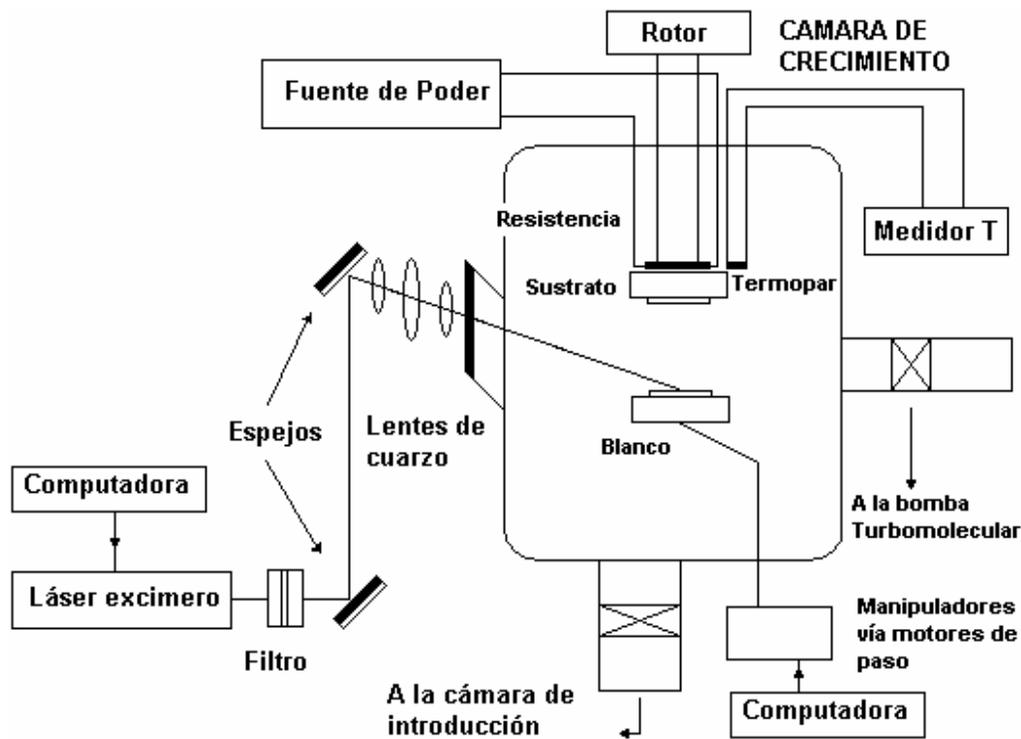


Figura 7. Instrumentación para el recubrimiento por Ablación Láser

§ 2.8 TÉCNICAS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE HIDROXIAPATITA Y RECUBRIMIENTOS

Las técnicas empleadas para investigar las propiedades cristalinas de los compuestos de fosfato de calcio son: difracción de rayos-X, microscopía electrónica de barrido y de transmisión.

La técnica para investigar las propiedades térmicas de la hidroxiapatita y los sustratos metálicos, aplicada en este trabajo es la técnica foto-acústica, en una configuración de transmisión de calor.

En la determinación de la solubilidad se emplean procesos electroquímicos similares a los procesos de corrosión, debido a su mayor flexibilidad y facilidad de control.

Cada una de estas técnicas reporta información específica y cada técnica tiene sus limitaciones, por lo que es necesario combinarlas para obtener una caracterización más precisa y confiable.

A. DIFRACCIÓN DE RAYOS-X

Los patrones de difracción de rayos-X aportan información sobre las diferentes fases presentes, cuando tienen una concentración mayor del 1% en peso, la pureza del material (fases simples o múltiples), la cristalinidad de las fases presentes, el porcentaje de cristalinidad, tamaño y forma aproximada del cristal, los parámetros de red y la diferencia estructural.

B. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

La técnica de microscopía electrónica de barrido, describe la morfología del cristal de las diferentes fases presentes. Sin embargo, no aporta información suficiente cuando se utiliza para caracterizar la superficie de los recubrimientos obtenidos por la técnica de plasma térmico.

C. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN

La microscopía electrónica de transmisión se utiliza para corroborar la información que la microscopía electrónica de barrido proporciona acerca del tamaño y forma del cristal, para demostrar la presencia de defectos en la red y para demostrar el proceso de disolución asociado con el material.

D. TÉCNICA FOTO ACÚSTICA EN CONFIGURACIÓN DE TRANSMISIÓN DE CALOR

La Técnica foto acústica en configuración de calor, esta basada en suponer que una capa de gas, se expande y contrae en la interfase gas-sólido, por lo que actúa como un pistón vibratorio sobre la mayor parte del volumen del gas de la celda foto-acústica, el cual obedece a un proceso adiabático.

La señal foto acústica generada es capturada y filtrada, con la frecuencia de referencia del chopper, mediante un amplificador lock-in.

Finalmente, la señal filtrada se registra y almacena por un computador, obteniendo un archivo de datos de la amplitud y la fase de la señal foto acústica en función de la frecuencia de modulación.

E. TÉCNICAS DE SOLUBILIDAD

En la determinación de la solubilidad se emplean procesos electroquímicos similares a los procesos de corrosión, debido a su mayor flexibilidad y facilidad de control.

Comúnmente se mezcla el compuesto de interés en cantidades mayores a su solubilidad en un medio acuoso durante una cantidad de tiempo apropiado a una temperatura específica.

La mezcla se filtra y se analiza para determinar la cantidad disuelta.

Se realizan mediciones del pH ya que éste varía de acuerdo a la cantidad disuelta, también se estudian los efectos de área específica ya que muchos compuestos cambian su forma física mientras se encuentran suspendidos en un medio líquido y la solubilidad de la forma final es diferente a la solubilidad de la forma inicial.

§ 2.9 PROPIEDADES MECÁNICAS DE LA HIDROXIAPATITA

Las propiedades mecánicas de los cerámicos de fosfato de calcio dependen de su composición y de su micro estructura.

Los valores reportados para la resistencia a la compresión, resistencia a la tensión, resistencia a la flexión y dureza, difieren de un experimento a otro debido a la diferencia en composición, geometría de la muestra y método de prueba.

Por ejemplo, Royer en 1993, analizó la influencia de la estequiometría de la hidroxiapatita en la resistencia a la flexión y reportó que cuando existe una gran cantidad de fosfato tricálcico o cuando éste es el componente mayoritario de la muestra, la resistencia a la flexión es baja (~29 MPa), y cuando el componente mayoritario es hidroxiapatita pura la resistencia a la flexión es máxima (~150 MPa)⁶⁷.

El tamaño de grano de las muestras también depende de la composición del material inicial y de su preparación.

Las propiedades mecánicas de la hidroxiapatita son similares a las de los componentes más resistentes del hueso.

Su modulo elástico varia entre 40 y 100 GPa, frente a 74 GPa del esmalte dental, 21 GPa de la dentina y 12 a 18 GPa del hueso compacto.

Sin embargo, su resistencia mecánica, en forma de compactos densos de hidroxiapatita es del orden de 100MPa, disminuyendo drásticamente dicha resistencia en el caso de compactos porosos.

Por otro lado, de acuerdo a Peelen et al., estos cerámicos se pueden clasificar como densos (máximo 5% de poros), micro porosos (poros menores de 100 μm) y los macro porosos (poros mayores de 100 μm)^{68,69}.

§ 2.10 PROPIEDADES TÉRMICAS DE HIDROXIAPATITA, HUESO Y DE SUBSTRATOS METÁLICOS

Se ha comprobado que los recubrimientos de hidroxiapatita sobre substratos de acero 316L y titanio, sirven de barrera biológica para reducir la toxicidad y corrosión de los metales usados en los implantes^{70,71}.

El estudio y la determinación de las propiedades físicas, químicas y biológicas de los materiales usados en los implantes es fundamental desde el punto de vista de la biocompatibilidad que estos materiales deben presentar con el tejido que reemplazarán⁷².

Por lo tanto el conocimiento de las propiedades físicas como las mecánicas, térmicas y eléctricas nos aportan información importante la cual nos ayuda en la elección de biomateriales para sustituir algún tipo de tejido.

En el presente trabajo se determinó la difusividad térmica mediante la técnica foto acústica, en una configuración de transmisión de calor. En el año de 1976 Rosencwaig y Gersho expusieron la primera descripción teórica del efecto foto-acústico en sólidos sobre la base de ondas térmicas.

Esta se basa en suponer que una capa de gas, se expande y contrae en la interfase gas-sólido, por lo que actúa como un pistón vibratorio sobre la mayor parte del volumen del gas de la celda foto acústica, el cual obedece a un proceso adiabático.

Aplicando el modelo unidimensional de difusión calor de Rosencwaig y Gersho, se encuentra que para muestras ópticamente opacas ($\beta^{-1} \ll l_s$), la amplitud de la señal foto acústica esta dada por:

$$A = C \frac{1}{f \sqrt{\left(\cosh\left(2\sqrt{f/f_c}\right) - \cos\left(2\sqrt{f/f_c}\right) \right)}} \quad (1)$$

Donde $f_c = \alpha/\pi l_s^2$ es la frecuencia de corte, y representa la frecuencia de modulación para la cual la longitud de difusión térmica de la muestra es igual al espesor de la misma ($\mu = l_s$). Ajustando los datos experimentales con la expresión (1) se puede obtener la f_c y así obtener el valor de la difusividad térmica (α).

Capítulo 3

SINTESIS DE HIDROXIAPATITA Y OBTENCIÓN DE RECUBRIMIENTOS

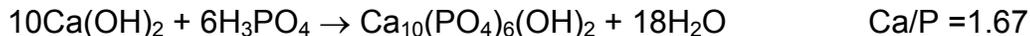
Para la obtención de la hidroxiapatita y de los recubrimientos de hidroxiapatita se aplicaron las siguientes técnicas y procedimientos:

- Síntesis de la hidroxiapatita por el método químico de precipitación.
- Adición de aditivos poliméricos.
- Caracterización de pastillas y recubrimientos mediante las técnicas de microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido.
- Caracterización estructural de los polvos, pastillas y recubrimientos por difracción de rayos-x.
- Determinación de las propiedades mecánicas de las pastillas de hidroxiapatita porosa mediante pruebas de compresión.

§ 3.1 SÍNTESIS DE LA HIDROXIAPATITA

La hidroxiapatita se sintetizó en forma de polvo con una relación calcio/fósforo, Ca/P de 1.67 correspondiente a la hidroxiapatita estequiométrica.

Estos polvos se obtuvieron mediante la siguiente reacción química (precipitación):



La reacción anterior se llevó a cabo utilizando los siguientes reactivos :

- a) Hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) con un 97.3% de pureza, con 0.3% HCl, 0.03% cloruros, 0.05% sulfuros, 0.003% Pb, 0.02% Fe, 0.5% Mg y 1.7% CaCO_3 como impurezas, marca Sigma-Aldrich.
- b) Ácido fosfórico (H_3PO_4) con 85% de pureza y 0.0003% cloruros, 0.0005% nitratos, 0.003% sulfatos, 0.001% CH_3COOH , 0.20% álcalis, 0.0001% As, 0.003% Fe y 0.001% Pb como impurezas, marca Sigma-Aldrich.

A. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

La solución de ácido fosfórico fue preparada a una concentración de 0.3 molar (0.3M H_3PO_4) mientras que la solución de hidróxido de calcio tuvo una concentración de 0.5 molar (0.5M $\text{Ca}(\text{OH})_2$).

B. REACCIÓN DE SÍNTESIS

La síntesis de la hidroxiapatita se llevó a cabo mediante la adición por goteo de la solución de ácido fosfórico (7 ml/min), sobre la suspensión de hidróxido de calcio, manteniendo la temperatura a 40°C y agitación constante durante todo el proceso.

El ácido se añadió hasta obtener un pH de 12.2 ± 0.1 después del cual, la mezcla se agitó durante dos horas.

Posteriormente, la solución se dejó reposar durante una semana con el objeto de asegurar que la reacción fuera completa y se obtuviera el precipitado.

De esta reacción se obtuvo un precipitado de color blanco y de apariencia gelatinosa.

C. OBTENCIÓN DE HIDROXIAPATITA EN FORMA DE POLVO

El precipitado obtenido fue separado por decantación y secado a 80°C en una estufa durante 24 h.

Una vez seco, el precipitado fue calcinado a 800°C durante 2 h utilizando un crisol de alumina con el fin de eliminar impurezas y estabilizar las fases meta estables.

Finalmente, la hidroxiapatita fue molida manualmente utilizando un mortero de ágata hasta obtener un tamaño de partícula menor a 0.125 mm.

La cristalinidad de la hidroxiapatita se determinó por difracción de rayos x.

§ 3.2 OBTENCIÓN DE PASTILLAS DE HIDROXIAPATITA POROSA

Pastillas porosas de hidroxiapatita fueron obtenidas después de mezclar hidroxiapatita con los polímeros solubles en agua siguientes:

Poli alcohol Vinílico, PVA, ($M_w = 40K$, $d \geq 500\mu m$ Polyscience)

Carboximetil celulosa, CMC, ($M_w = 250K$, $d = 221\mu m$, Polyscience)

Poli vinil pirrolidona, PVP, ($M_w = 40K$, $d \geq 500\mu m$ Sigma-Aldrich).

Poli óxido de etileno, PEOX, ($M_w = 450K$, $d = 125\mu m$, Union Carbide)

La mezcla hidroxiapatita-polímero 12.5, 25 y 50% p/p fue homogeneizada y colocada dentro de un cilindro metálico y posteriormente compactada con la ayuda de un émbolo metálico y una prensa hidráulica aplicando una fuerza de 500 kgf.

A continuación la temperatura de la mezcla fue elevada hasta alcanzar la temperatura de transición vítrea del polímero o su punto de fusión.

Posteriormente las pastillas fueron sometidas a tratamientos térmicos a 200, 400 y 800°C durante dos horas.

Finalmente, las muestras fueron hidratadas y liofilizadas con el fin de obtener así una estructura porosa interconectada.

La micro estructura de las muestras fue observada por microscopia electrónica de barrido y la cristalinidad de la hidroxiapatita fue determinada por difracción de rayos-x

§ 3.3 OBTENCIÓN DE RECUBRIMIENTOS

A. RECUBRIMIENTOS POR PLASMA TÉRMICO

El equipo utilizado para obtener los recubrimientos por plasma térmico, fue desarrollado en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, de México.

Este equipo cuenta con una antorcha de plasma con capacidad controlable de 0 a 50kw, un generador de plasma, un reactor de pirólisis, un sistema de absorción de gases y un sistema de monitoreo de gases.

Este plasma térmico se caracteriza por tener una densidad energética alta y por que la temperatura de las partículas pesadas (iones) y la temperatura de los electrones son iguales.

Además tiene una densidad electrónica alta (10^{13} a 10^{16} cm^{-3}) y bajas energías de los electrones del orden de 1 a 2 eV.

1. PREPARACIÓN DE LOS SUBSTRATOS METÁLICOS

Se cortaron laminillas de titanio puro y acero inoxidable 316L de 2 cm de ancho, 2.5 cm de largo y 2 mm de espesor. Estas placas fueron desbastadas con lija del número 100 y pulidas a espejo con pasta de diamante de 0.25 μm .

Su micro estructura fue observada por microscopia óptica y microscopia electrónica de barrido.

2. OBTENCIÓN DE LA SOLUCIÓN UTILIZADA EN EL PLASMA

Con el propósito de obtener recubrimientos con 100 μm de espesor y estructura porosa, fueron preparadas soluciones de hidroxiapatita con 5, 12.5, 25 y 50% p/p de polímero.

Las concentraciones de polímero que imposibilitaron la introducción de las soluciones dentro del embolo de inyección del plasma. Fueron las de 12.5, 25 y 50%.

Por lo que la solución que fue utilizada para obtener los recubrimientos, fue de hidroxiapatita con 5% de polímero diluido en agua desionizada.

Esta fue colocada en el embolo de inyección para introducirse con un flujo de 4ml/min de forma tangencial al interior del cañón de plasma.

Los recubrimientos fueron depositados sobre sustratos metálicos de titanio y acero 316L.

La Tabla 5, muestra la nomenclatura de los recubrimientos.

Tabla 5. Nomenclatura de los recubrimientos obtenidos por plasma térmico

Substrato	HA + polímero	Nomenclatura del Recubrimiento
Titanio	HA+5%PVA	Ti+HA5PVA
	HA+5%CMC	Ti+HA5CMC
	HA+5%PVP	Ti+HA5PVP
	HA+5%PEOX	Ti+HA5PEOX
Acero 316L	HA+5%PVA	Ace316L+HA5PVA
	HA+5%CMC	Ace316L+HA5CMC
	HA+5%PVP	Ace316L+HA5PVP
	HA+5%PEOX	Ace316L+HA5PEOX

La hidroxiapatita fue introducida al interior de la columna del plasma debido al efecto venturi y proyectada sobre los sustratos metálicos.

La morfología de los recubrimientos fue observada por microscopia electrónica de barrido.

B. RECUBRIMIENTOS POR ABLACIÓN LÁSER

Para la obtención de recubrimientos por ablación láser se empleó un haz láser de alta potencia en la región UV (longitud de onda de 308 nm), el cual se encontraba orientado hacia una pastilla de hidroxiapatita de 2 cm de diámetro.

Con esta pastilla se generó el plasma, que fue desplazado en forma de pluma orientada hacia el sustrato.

El proceso se llevó a cabo manteniendo la temperatura del sustrato a 400°C en una cámara de alto vacío.

En este trabajo se utilizó como blanco una pastilla de hidroxiapatita de 2 cm de diámetro, en la que se genera un plasma, mismo que se desplaza en forma de pluma orientada hacia la placa de titanio, que se utiliza como sustrato y cuya temperatura se mantiene a 400°C.

La Tabla 6, muestra la nomenclatura de los recubrimientos.

Tabla 6. Nomenclatura de los recubrimientos obtenidos por Ablación Láser

<i>Substrato</i>	<i>Plasma</i>	<i>Nomenclatura del Recubrimiento</i>
Titanio	HA	Ti+HA
Acero 316L	HA	Ace316L+HA

1. PREPARACIÓN DEL LOS SUBSTRATOS METÁLICOS

Las dimensiones de las laminillas de titanio utilizadas como sustratos fueron de 2 cm de largo por 2.5 cm de ancho y 2 mm de espesor.

Estas placas fueron pulidas a espejo con lija del número 600 y pulidas a espejo con pasta de diamante de 0.25 μm .

2. OBTENCIÓN DE LA PASTILLA DE HIDROXIAPATITA UTILIZADA EN EL PLASMA

Pastillas de hidroxiapatita de 2 cm de diámetro y 2 mm de espesor fueron utilizadas para generar el plasma, que fue desplazado en forma de pluma orientada hacia el sustrato.

La morfología de los recubrimientos fue observada por microscopía electrónica de barrido.

Capítulo 4

CARACTERIZACIÓN

§ 4.1 COMPORTAMIENTO DEL pH DURANTE LA SÍNTESIS DE LA HIDROXIAPATITA

Durante la reacción de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y H_3PO_4 se observó que el pH es determinante en la obtención de la hidroxiapatita.

Después de alcanzar un pH inicial de 12.2 ± 0.1 se observó que a partir de los 90 minutos, la solución alcanzaba el pH neutro deseado ($\text{pH} = 7 \pm 0.5$).

La Figura 8, muestra la variación del pH de la solución en función del tiempo durante la obtención de la hidroxiapatita

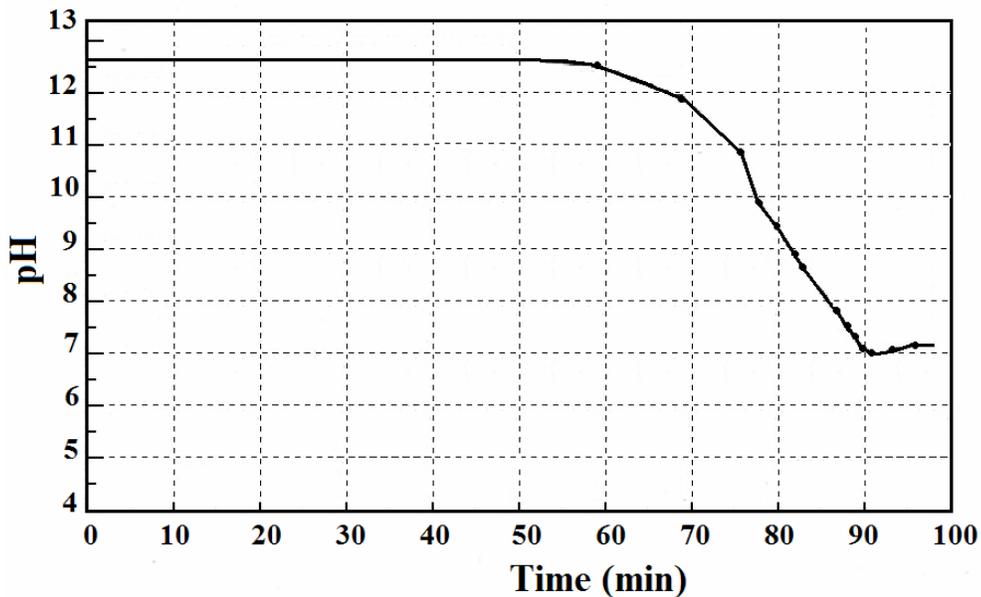


Figura 8. Comportamiento del pH en función del tiempo.

§ 4.2 DIFRACCION DE RAYOS X DE HIDROXIAPATITA Y DE RECUBRIMIENTOS

Para el estudio estructural de la hidroxiapatita mediante la técnica de rayos-x, fue utilizado el difractor SIEMENS-D500 de la Escuela Superior de Física y Matemáticas de Instituto Politécnico Nacional.

El generador de rayos-x con el que cuenta el difractor es el KRISTALLOFLEX 805, cuyo voltaje y corriente utilizados en el estudio fueron de 40 Kv y 20mA, respectivamente.

A. DIFRACCIÓN DE HIDROXIAPATITA EN POLVO

1. EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO

Los compuestos formados antes y después del tratamiento térmico, se identificaron por comparación con los patrones de difracción, de las siguientes tarjetas ASTM (Powder Diffraction File, PDF, 1993):

9-432	Hidroxiapatita sintética
9-169	Whitlockita o fosfato tricálcico en fase β
3-865	Oxido de calcio

Se encuentran presentes las reflexiones de la hidroxiapatita y tres picos, incluidos el de 100% de intensidad relativa en la posición $2\theta = 35.617$.

La posición de las reflexiones de la hidroxiapatita no muestra ningún cambio de fase debida al tratamiento térmico a 800°C con respecto a algún otro fosfato cálcico.

En la Tabla 7, se reportan las posiciones 2θ de las reflexiones de rayos-x de las muestras obtenidas en el laboratorio con tratamiento térmico (T.T) a 800°C durante dos horas.

Tabla 7. Posición 2θ de reflexiones de rayos-x de la HA con TT a 800°C durante 2hs.

Pico No.	ASTM 9-432 Hidroxiapatita 2θ	ASTM 9-169 Whitlockita 2θ	ASTM 3-865 Oxido de calcio 2θ	Hidroxiapatita Sintetica 800°C
1	10.821	10.864		10.80
2		13.641		
3	16.861	17.014		16.80
4		20.227		
5	21.828	21.894		21.80
6	22.927			22.90
7	25.906	25.818		25.90
8		26.526		
9		27.435		
10		27.791		
11	28.146			28.15
12	28.992			29.00
13		29.683		
14		31.046		
15	31.808			31.80
16	32.212			32.20
17		32.481		
18	32.931	33.043		33.00
19		33.516		
20	34.080			34.10
21		34.396		
22		35.141		
23	35.503	35.617	35.617	35.50
24		35.934		
25		37.365		
26		37.889		
27	39.237			39.30
28	39.856	39.833		39.90
29		41.120		

30		41.720		
31	42.056			42.15
32		43.595		
33	43.851	43.781		
34		43.921		44.00
35	44.409	44.573		
36	45.343	45.343		45.35
37	46.749	46.678		46.75
38		47.007		
39	48.139	47.997		48.15
40		48.446		
41	48.659			
42	49.512			49.50
43	50.536	50.345		50.50
44	51.324	51.300	51.365	51.35
45		51.515		
46	52.139			52.20
47	53.198	52.981	53.246	53.25
48	54.480	54.455		
49	55.915	56.184		55.90
50	57.189			57.20
51	58.124			
52		59.560		

La Figura 9, muestra los difractogramas obtenidos para las muestras, sin tratamiento térmico y con tratamiento térmico a 800°C durante 2 horas.

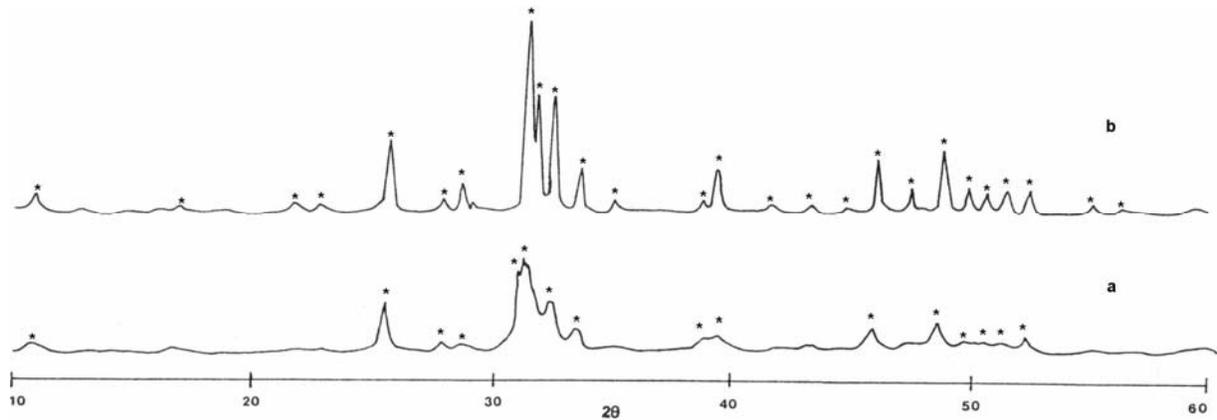


Figura 9. Patrones de Difracción de rayos-x de hidroxiapatita. a) sin tratamiento térmico y b) con tratamiento térmico a 800°C durante 2 horas.

La Figura 9a, presenta el difractograma correspondiente a la hidroxiapatita estequiométrica sin tratamiento térmico. Se observan pequeñas reflexiones que indican que la hidroxiapatita aun no ha cristalizado totalmente.

La Figura 9b, muestra el difracto grama correspondiente a la hidroxiapatita estequiométrica con tratamiento térmico de 800°C durante 2 horas.

Se observan reflexiones bien definidas que indican que la hidroxiapatita ha cristalizado después del tratamiento térmico.

2. HIDROXIAPATITA SINTETICA Y COMERCIAL

En la Figura 10, se compara el patrón de difracción de la hidroxiapatita sintetizada en el laboratorio (ver Figura 10a) con las hidroxiapatitas comerciales de Aldrich y BIOTAL (ver Figura 10b y Figura 10c respectivamente).

En esta figura se puede observar que los patrones de difracción de la hidroxiapatita obtenida en el laboratorio y el de la hidroxiapatita BIOTAL presentan una estructura similar.

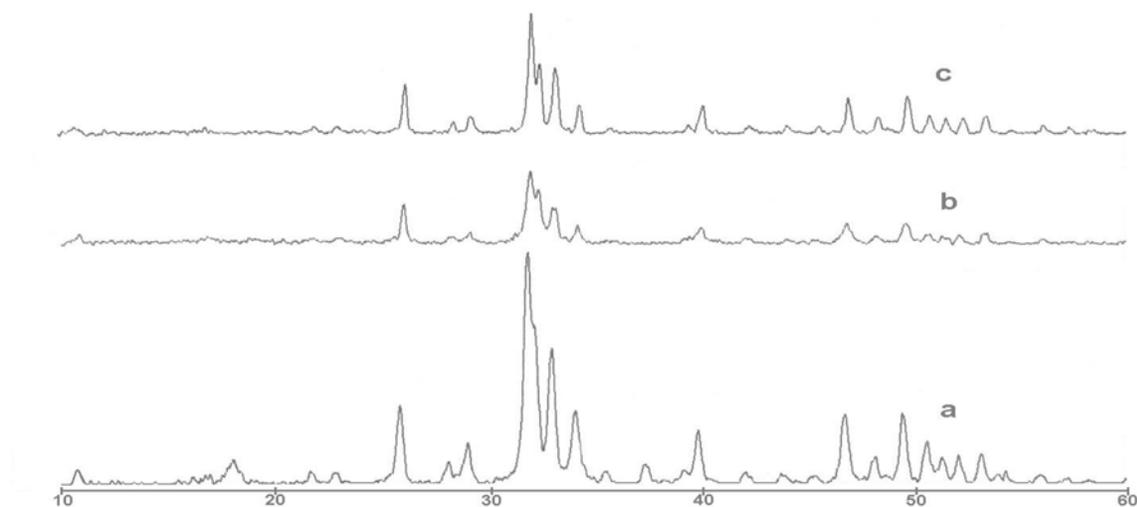


Figura 10. Patrones de difracción de tres hidroxiapatitas. a) hidroxiapatita sintética obtenida en el laboratorio, b) hidroxiapatita Aldrich y c) hidroxiapatita BIOTAL.

B. DIFRACCIÓN DE PASTILLAS DE HIDROXIAPATITA

1. HIDROXIAPATITA COMPACTA

Pastillas de hidroxiapatita compacta con 12.5, 25 y 50 % p/p de PVA, CMC, PVP, y PEOX fueron obtenidas. La nomenclatura de las muestras con relación al porcentaje de polímero y tratamiento térmico correspondiente, se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Nomenclatura de las muestras

Muestra	Polímero %p/p	Tratamiento Térmico °C			Nomenclatura		
Hidroxiapatita	0	Sin tratamiento			HA s/ TT		
HA+PVA	12.5PVA	200	400	800	HA+12PVA ₂	HA+12PVA ₄	HA+12PVA ₈
	25.0PVP	“	“	“	HA+25PVA ₂	HA+25PVA ₄	HA+25PVA ₈
	50.0PVP	“	“	“	HA+50PVA ₂	HA+50PVA ₄	HA+50PVA ₈
HA+PVP	12.5PVP	200	400	800	HA+12PVP ₂	HA+12PVP ₄	HA+12PVP ₈
	25.0PVP	“	“	“	HA+25PVP ₂	HA+25PVP ₄	HA+25PVP ₈
	50.0PVP	“	“	“	HA+50PVP ₂	HA+50PVP ₄	HA+50PVP ₈
HA+CMC	12.5CMC	200	400	800	HA+12CMC ₂	HA+12CMC ₄	HA+12CMC ₈
	25.0CMC	“	“	“	HA+25CMC ₂	HA+25CMC ₄	HA+25CMC ₈
	50.0CMC	“	“	“	HA+50CMC ₂	HA+50CMC ₄	HA+50CMC ₈
HA+PEOX	12.5PEOX	200	400	800	HA+12PEOX ₂	HA+12PEOX ₄	HA+12PEOX ₈
	25.0PEOX	“	“	“	HA+25PEOX ₂	HA+25PEOX ₄	HA+25PEOX ₈
	50.0PEOX	“	“	“	HA+50PEOX ₂	HA+50PEOX ₄	HA+50PEOX ₈

Los patrones de difracción de rayos-x de la hidroxiapatita con 25% en peso de los polímeros PVA, CMC, PVP Y PEOX, después del tratamiento térmico a 200, 400 y 800°C son presentadas en las Figuras 11, 12, 13 y 14 respectivamente

El patrón de rayos-x de la hidroxiapatita a 80°C se incluye como referencia en todas las figuras.

Se presentan aquí, únicamente los difracto gramas correspondientes a las pastillas de hidroxiapatita con 25% en peso de polímero, debido a que las muestras con 12.5 y 50 % en peso de polímero con tratamientos térmicos de 200, 400 y 800°C presentaron un comportamiento cristalográfico similar a estas.

En estas muestras se observó que los patrones de difracción de la hidroxiapatita no fueron alterados significativamente después de la inclusión del polímero y del tratamiento térmico.

A bajas temperaturas de secado tampoco se observó la presencia de un fondo amorfo característico de los polímeros.

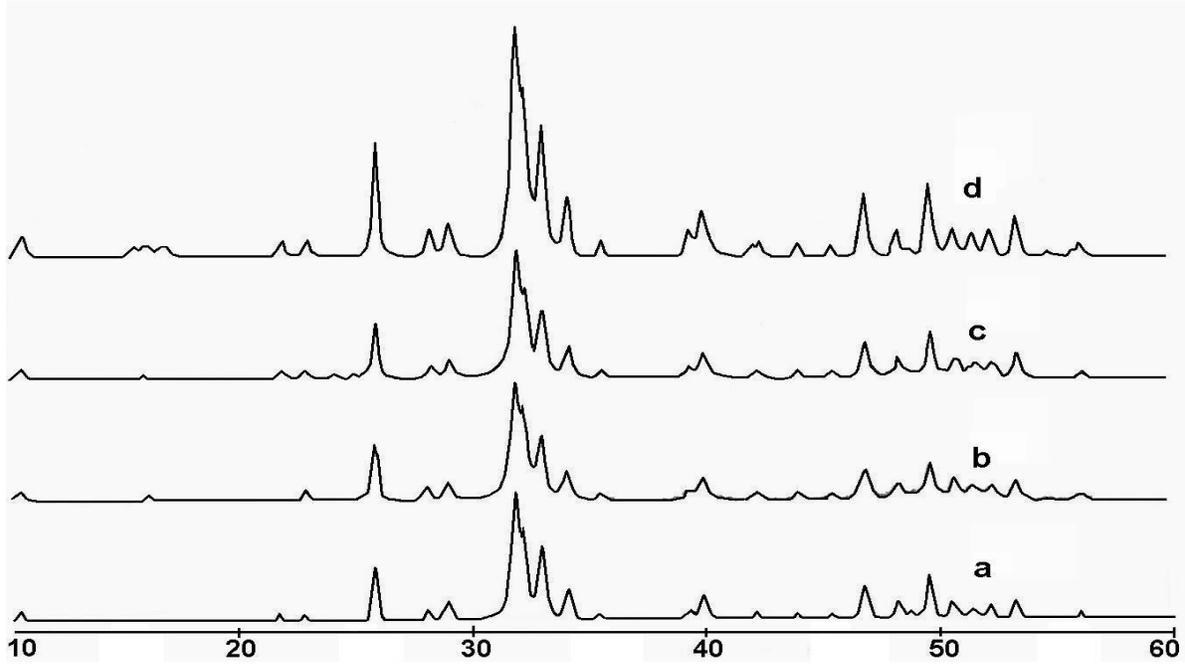


Figura 11. Patrones de rayos-x de la pastilla HA+25PVA. a) 80°C, b) 200°C, c) 400°C y d) 800°C.

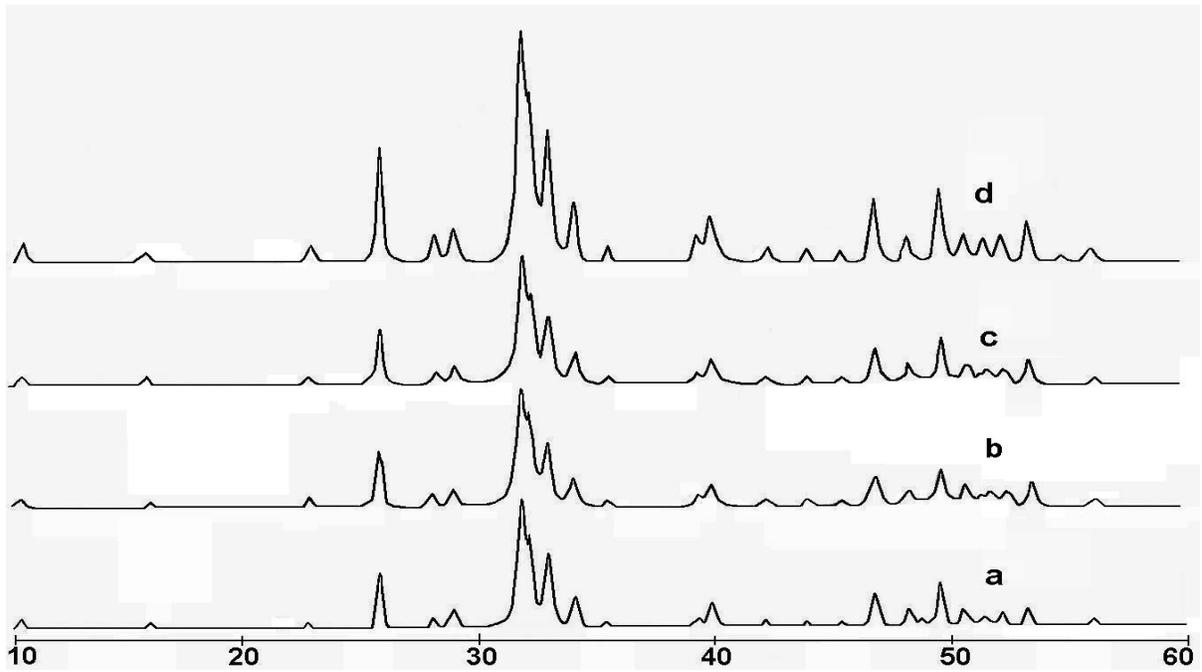


Figura 12. Patrones de rayos x de la pastilla HA+25CMC. a) 80°C, b) 200°C, c) 400°C y d) 800°C.

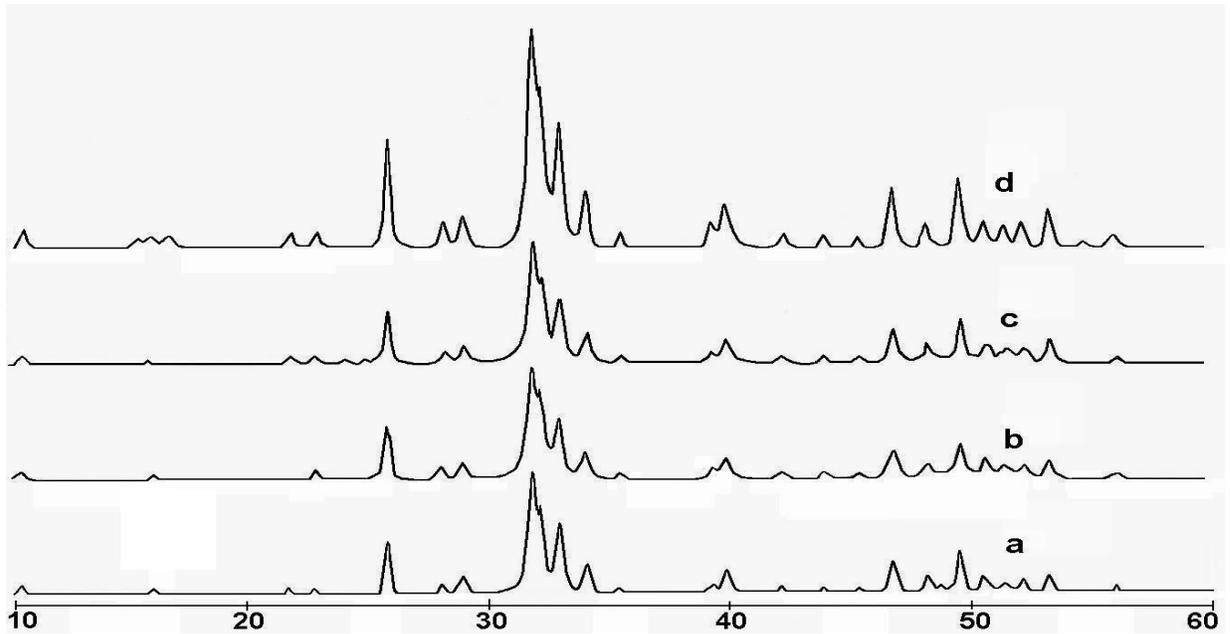


Figura 13. Patrones de rayos x de la pastilla HA+25PVP. a) 80°C, b) 200°C, c) 400°C y d) 800°C.

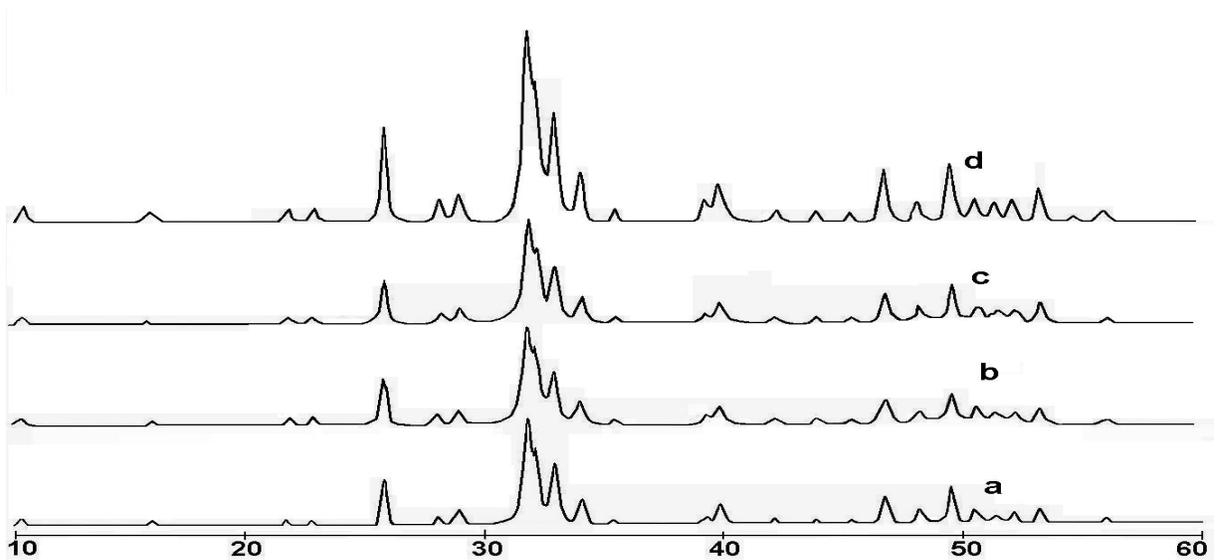


Figura 14. Patrones de rayos x de la pastilla HA+25PEOX. a) 80°C, b) 200°C, c) 400°C y d) 800°C.

2. HIDROXIAPATITA POROSA

Con la finalidad de obtener la porosidad en las muestras de hidroxiapatita, se realizó un proceso de liofilizado. El proceso de liofilización, se realizó en el Laboratorio del Banco de Tejidos del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.

Las muestras fueron hidratadas previamente con agua desionizada hasta obtener un valor de humedad entre 7 y 8% similar a la del tejido duro.

Las condiciones de liofilizado se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Condiciones de liofilizado

Etapa	Tiempo (Hrs.)	Temperatura (°C)
Pre-carga	1:00 a 3:00	- 35
Preparación	3:00 a 3:20	- 35
Secado Primario	3:20 a 4:20	- 35
	4:20 a 24:00	- 20
	24:00 a 46:20	+10
Secado Final	49:20 a 75:10	+35

La nomenclatura de las muestras con relación al porcentaje de polímero y tratamiento térmico correspondiente, después del proceso de liofilizado, se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10. Nomenclatura de las muestras liofilizadas

Muestra	Polímero %p/p	Tratamiento Térmico °C			Nomenclatura		
		200	400	800			
HA+PVA	12.5PVA	200	400	800	HA+12PVA2L	HA+12PVA4L	HA+12PVA8L
	25.0PVP	“	“	“	HA+25PVA2L	HA+25PVA4L	HA+25PVA8L
	50.0PVP	“	“	“	HA+50PVA2L	HA+50PVA4L	HA+50PVA8L
HA+PVP	12.5PVP	200	400	800	HA+12PVP2L	HA+12PVP4L	HA+12PVP8L
	25.0PVP	“	“	“	HA+25PVP2L	HA+25PVP4L	HA+25PVP8L
	50.0PVP	“	“	“	HA+50PVP2L	HA+50PVP4L	HA+50PVP8L
HA+CMC	12.5CMC	200	400	800	HA+12CMC2L	HA+12CMC4L	HA+12CMC8L
	25.0CMC	“	“	“	HA+25CMC2L	HA+25CMC4L	HA+25CMC8L
	50.0CMC	“	“	“	HA+50CMC2L	HA+50CMC4L	HA+50CMC8L
HA+PEOX	12.5PEOX	200	400	800	HA+12PEOX2L	HA+12PEOX4L	HA+12PEOX8L
	25.0PEOX	“	“	“	HA+25PEOX2L	HA+25PEOX4L	HA+25PEOX8L
	50.0PEOX	“	“	“	HA+50PEOX2L	HA+50PEOX4L	HA+50PEOX8L

Los patrones de difracción de rayos-x de la hidroxiapatita con 25% en peso de los polímeros PVA, CMC, PVP Y PEOX, liofilizadas y con tratamiento térmico a 800°C de 2 h, son presentados en la Figuras 15. Se incluye como referencia el patrón de rayos-x de la hidroxiapatita a 80°C.

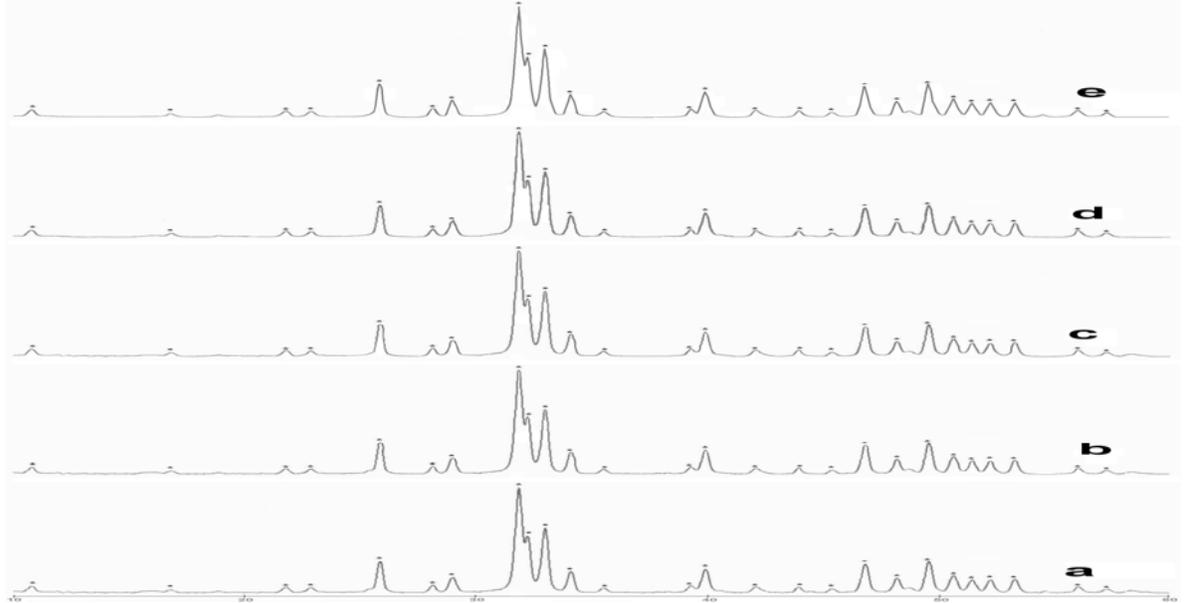
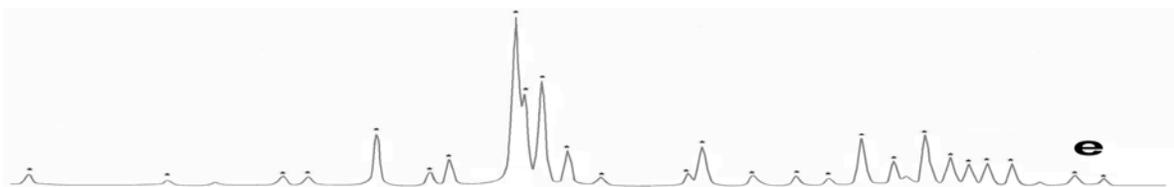


Figura 15. Difractó gramas de hidroxiapatita con 25% p/p de polímeros, liofilizadas y TT 800°C de 2 h. a) HA, b) HA+PVA₂₅L8, c) HA+CMC₂₅L8, d) HA+PVP₂₅L8 y e) HA+PEOX₂₅L8.

§ 4.3 DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE LOS RECUBRIMIENTOS

A. RECUBRIMIENTOS POR PLASMA TERMICO SOBRE TITANIO COMERCIALMENTE PURO

En la Figura 16, se muestran los patrones de difracción de rayos-x de los recubrimiento de hidroxiapatita con 5% en peso de los polimeros PVA, CMC, PVP y PEOX depositados sobre titanio comercialmente puro. Se incluye el patrón de difracción de rayos-x de la hidroxiapatita sintética como referencia.



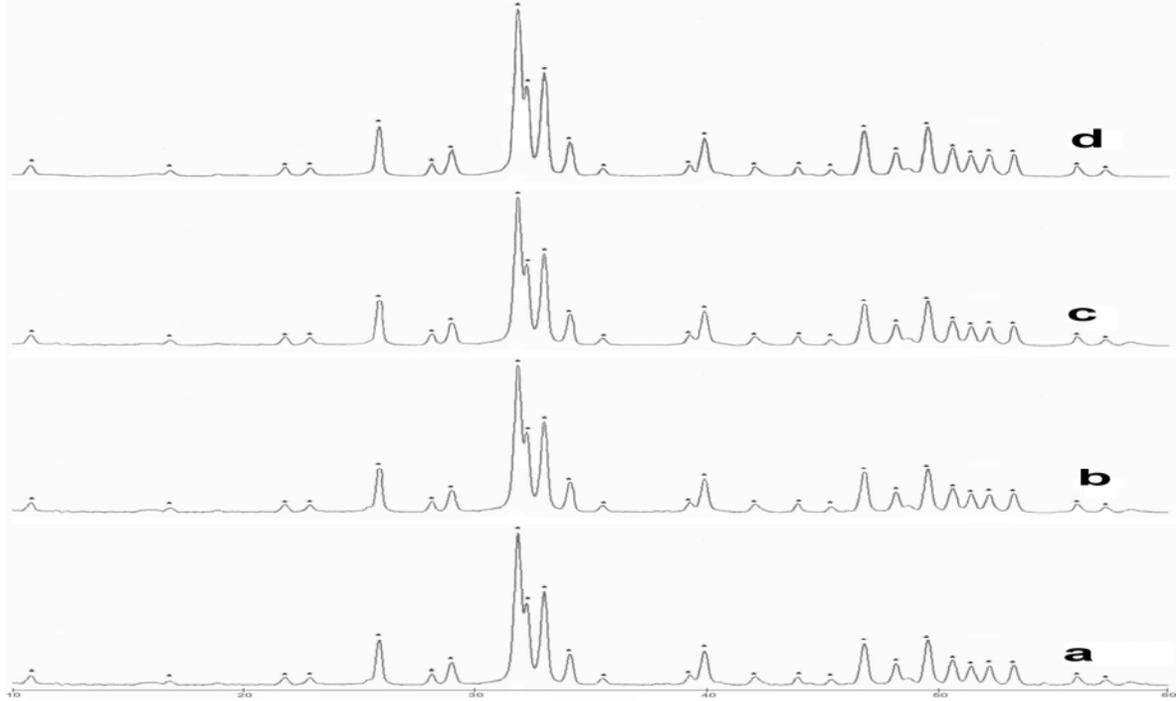
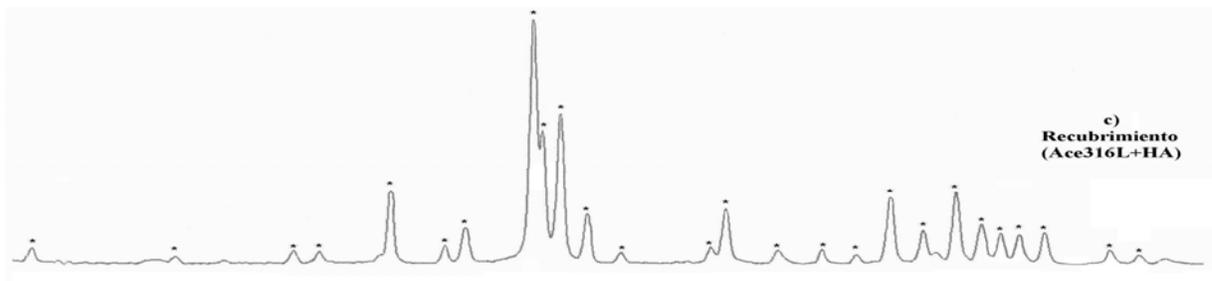


Figura 16. Patrones de difracción de los recubrimientos de hidroxiapatita con 5% de polímero. a) HA, b) Ti+HA5PVA, c) Ti+HA5CMC, c) Ti+HA5PVP y d) Ti+HA5PEOX.

B. RECUBRIMIENTOS POR ABLACIÓN LÁSER SOBRE TITANIO COMERCIALMENTE PURO Y ACERO INOXIDABLE 316L

En la Figura 17, se muestran los patrones de difracción de rayos-x de los recubrimiento de hidroxiapatita depositado sobre titanio comercialmente puro y acero inoxidable 316L. Se incluye el patrón de difracción de la hidroxiapatita sintética como referencia.



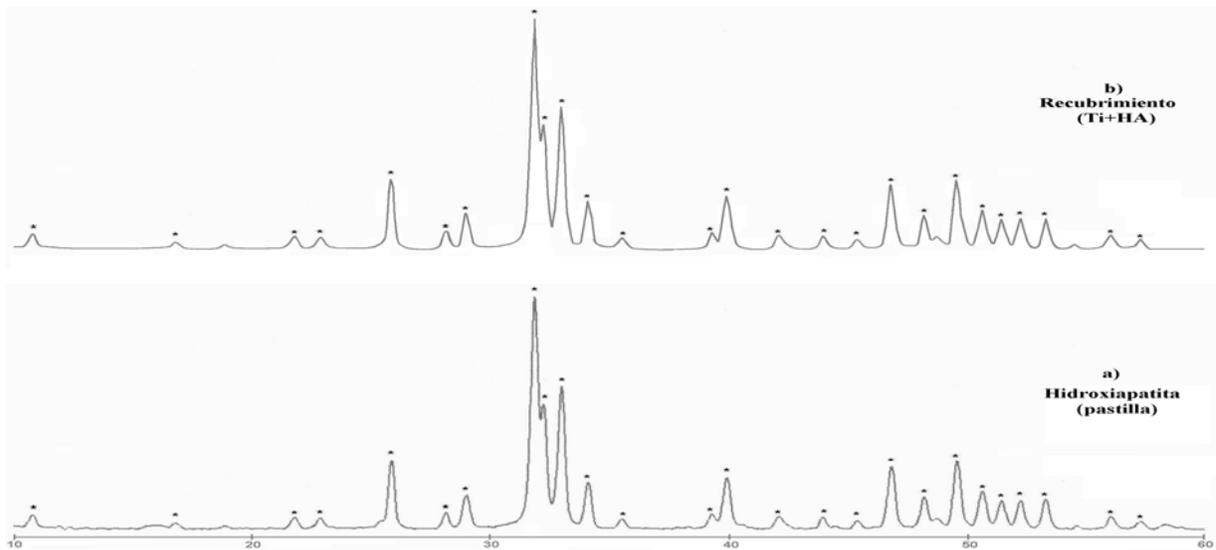


Figura 17. Patrones de difracción de los recubrimiento de hidroxiapatita sobre titanio comercialmente puro y acero inoxidable 316L. a) HA, b) Ti+HA y c) Acero316L+HA.

§ 4.5 MICROSCOPIA DE RECUBRIMIENTOS

La microestructura de los recubrimientos fue observada en dirección normal y perpendicular a la deposición del recubrimiento, tal como muestra la Figura 18.

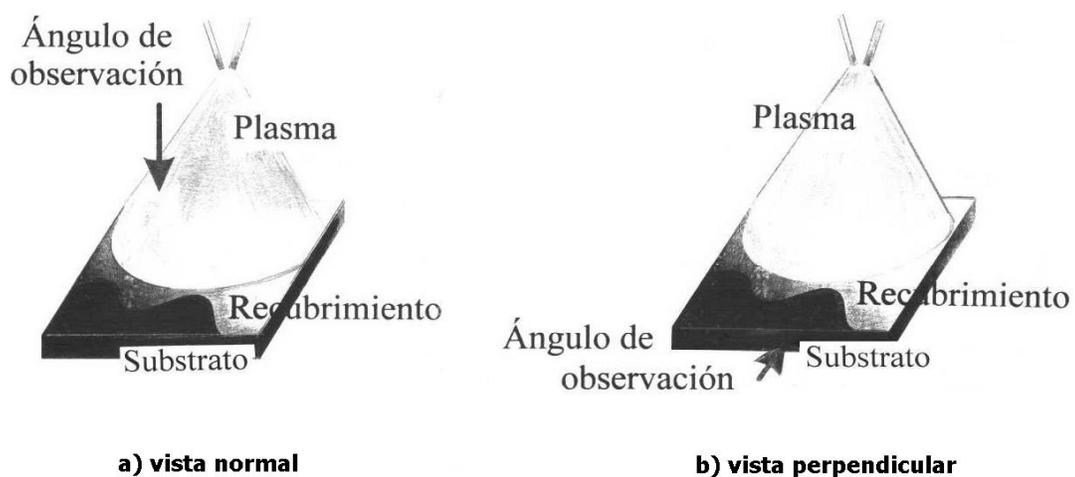


Figura 18. Observación del recubrimiento. a) vista normal y b) vista perpendicular.

Fue utilizado para este estudio, un microscopio electrónico de barrido *Stereo Scan 440 Cambridge-Leica*.

Con el propósito de observar adecuadamente la microestructura , se deposito una capa de oro de 100°A de espesor sobre el recubrimiento, utilizando el equipo *Desk II Cold Sputter/Etch Unit, Denton Vacuum Inc.* de la Escuela Superior de Física y Matemáticas del Instituto Politécnico Nacional.

A. RECUBRIMIENTOS POR PLASMA TÉRMICO SOBRE TITANIO

La morfología de los recubrimientos de hidroxiapatita con 5% en peso de PVA, PVP, CMC y PEOX depositados sobre titanio comercialmente puro, se muestran en las Fotografías 6, 7, 8 y 9 respectivamente.

1. HIDROXIAPATITA CON PVA

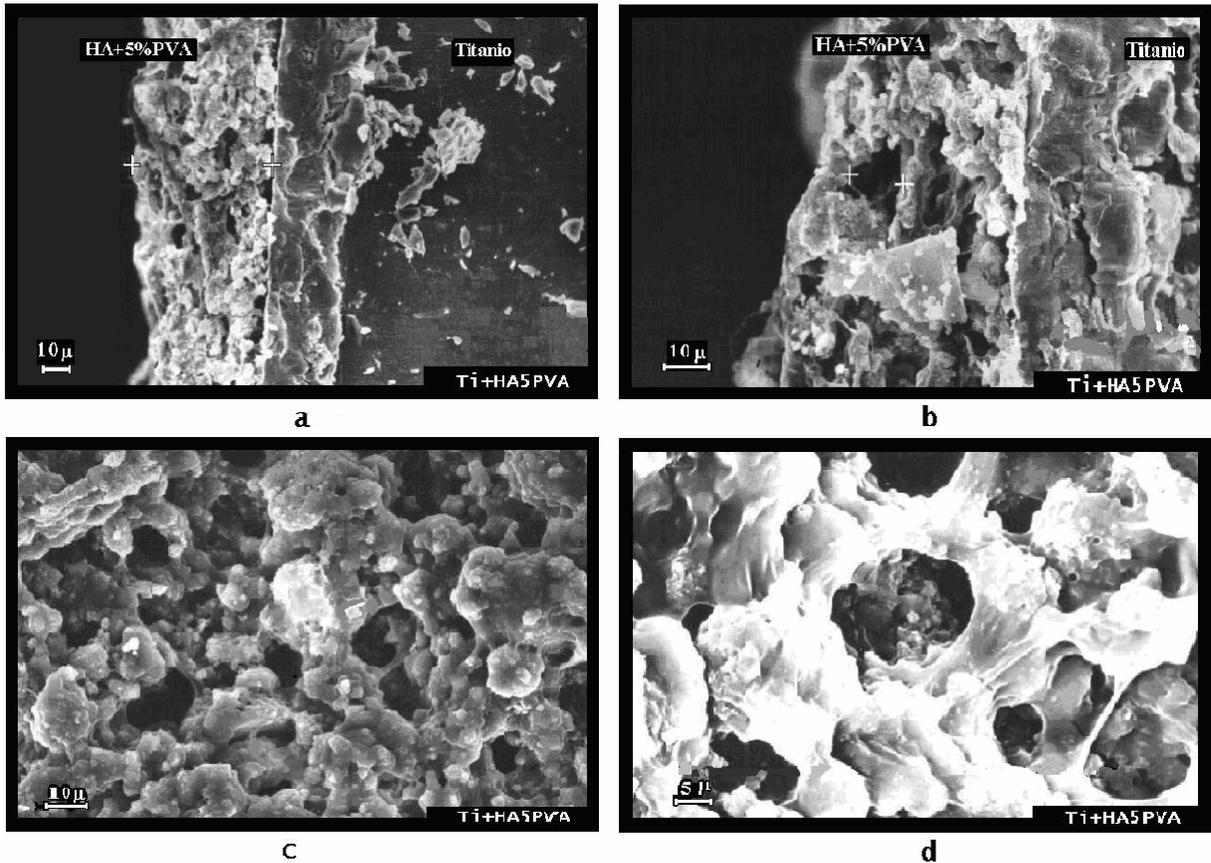
La Fotografía 6, muestra la morfología del recubrimiento de hidroxiapatita con 5% de PVA depositado sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5PVA.

Recubrimientos de hasta 200 μm de espesor fueron obtenidos.

Una vista perpendicular del recubrimiento se muestra en las Fotografías 6a y 6b.

Las Fotografías 6c y 6d, muestran poros interconectados de 10 a 100 μm de diámetro, observados en la dirección normal a la depositación.

La hidroxiapatita se encuentra en forma continua conformando las cavidades producidas por la ausencia del polímero PVA.



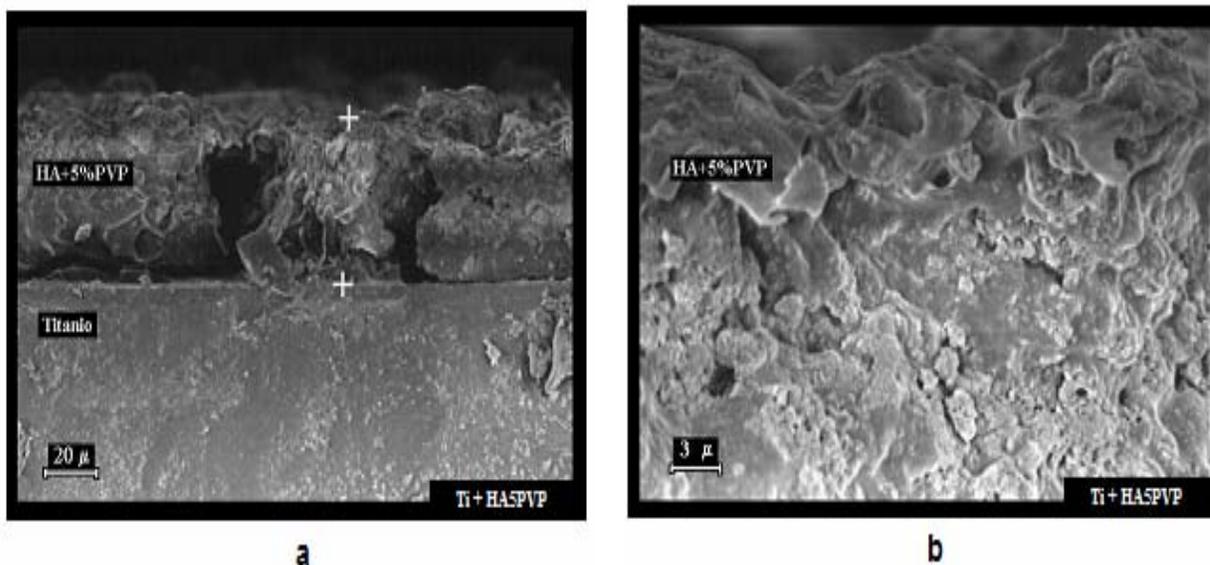
Fotografía 6. Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PVA depositado sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5PVA, a), b) y c) vista perpendicular y d) vista normal.

2. HIDROXIAPATITA CON PVP

La morfología del recubrimiento de hidroxiapatita con 5% de PVP depositado sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5PVP, se muestra en la Fotografía 7.

En la Fotografía 7a, se muestra un recubrimiento uniforme y compacto sin porosidad interconectada de hasta 100 μm de espesor .

La Fotografía 7b, muestra una vista normal del recubrimiento distribuido uniformemente sobre toda la superficie.



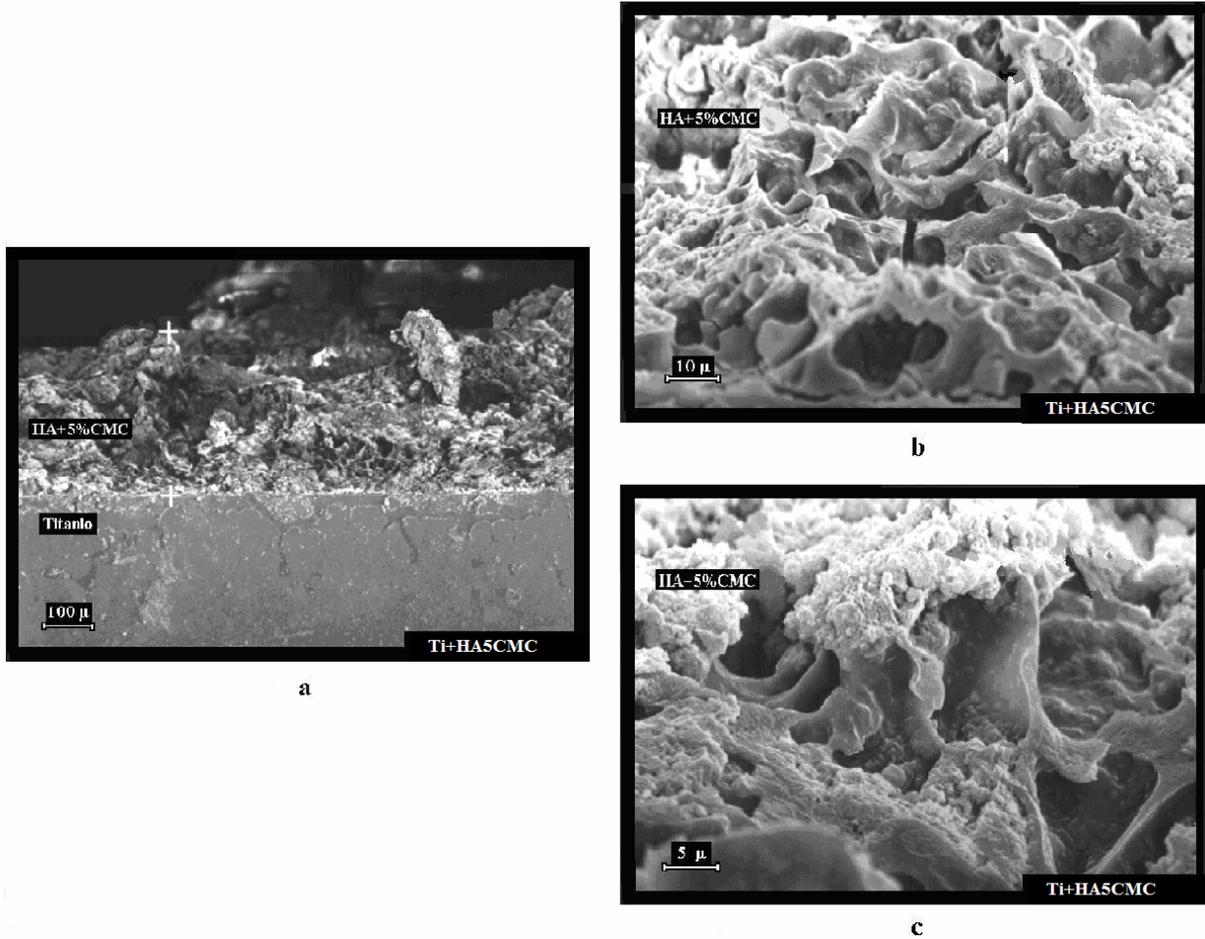
Fotografía 7. Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PVP sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5PVP. a) vista perpendicular y b) vista normal.

3. HIDROXIAPATITA CON CMC

La morfología del recubrimiento de hidroxiapatita con 5% de CMC depositado sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5CMC, se muestra en la Fotografía 8.

En la Fotografía 8a, se observa que el espesor del recubrimiento es de 400 µm aproximadamente.

La Fotografía 8b y 8c, muestran una estructura granular y amorfa de hidroxiapatita con cavidades de 20 µm dejadas por el PVP, en la dirección normal a la depositación.



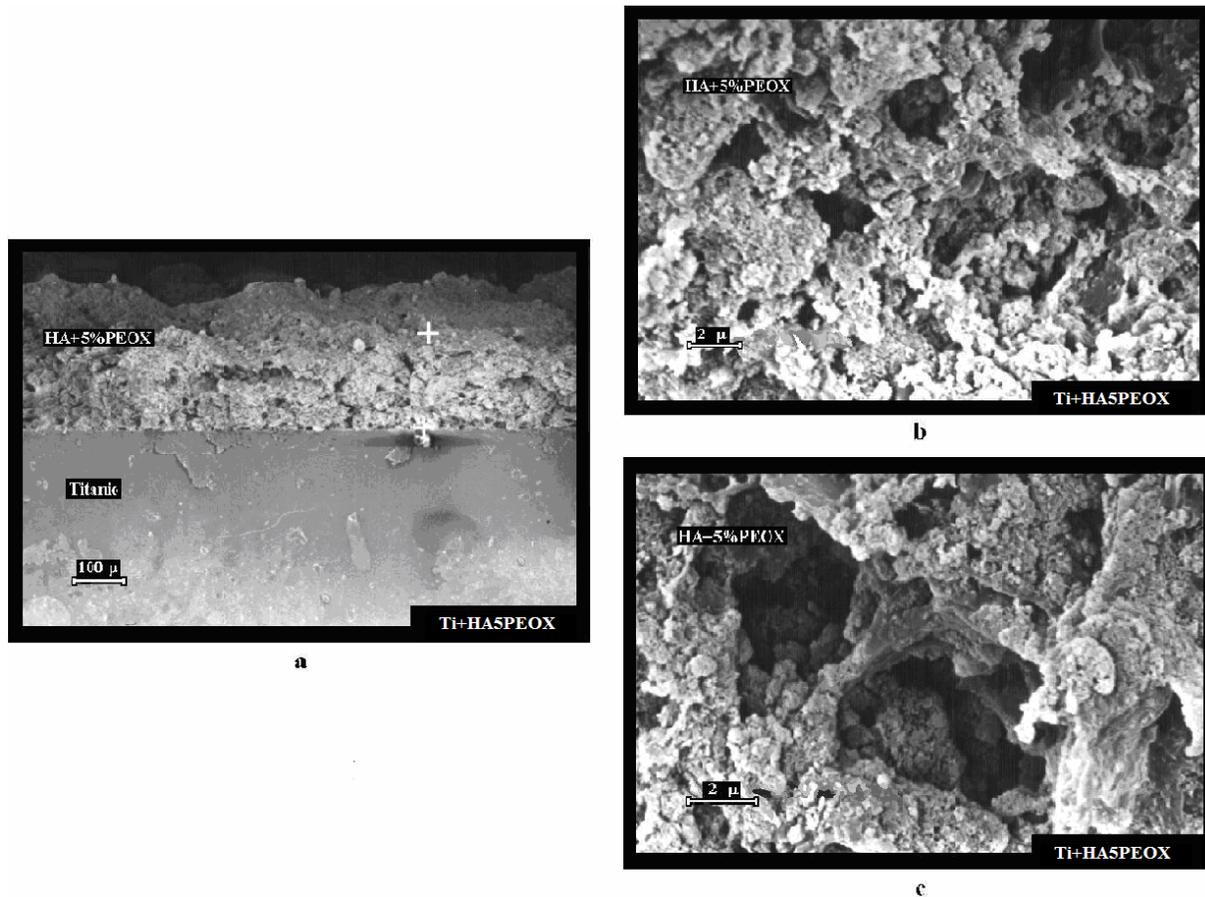
Fotografía 8. Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de CMC sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5CMC. a) y b) vista perpendicular.y c) vista normal.

4. HIDROXIAPATITA CON PEOX

La morfología del recubrimiento de hidroxiapatita con 5% de PEOX depositado sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5PEOX, se muestra en la Fotografía 9.

En las Fotografías 9a y 9b, se observa un recubrimiento de hasta 400 μm de espesor en dirección perpendicular a la dirección de depositación, conformado por hidroxiapatita granular uniformemente distribuida y poros de hasta 5 μm de diámetro.

La Fotografía 9c, muestra una vista normal del recubrimiento conformado por hidroxiapatita y los poros dejados por el PEOX.



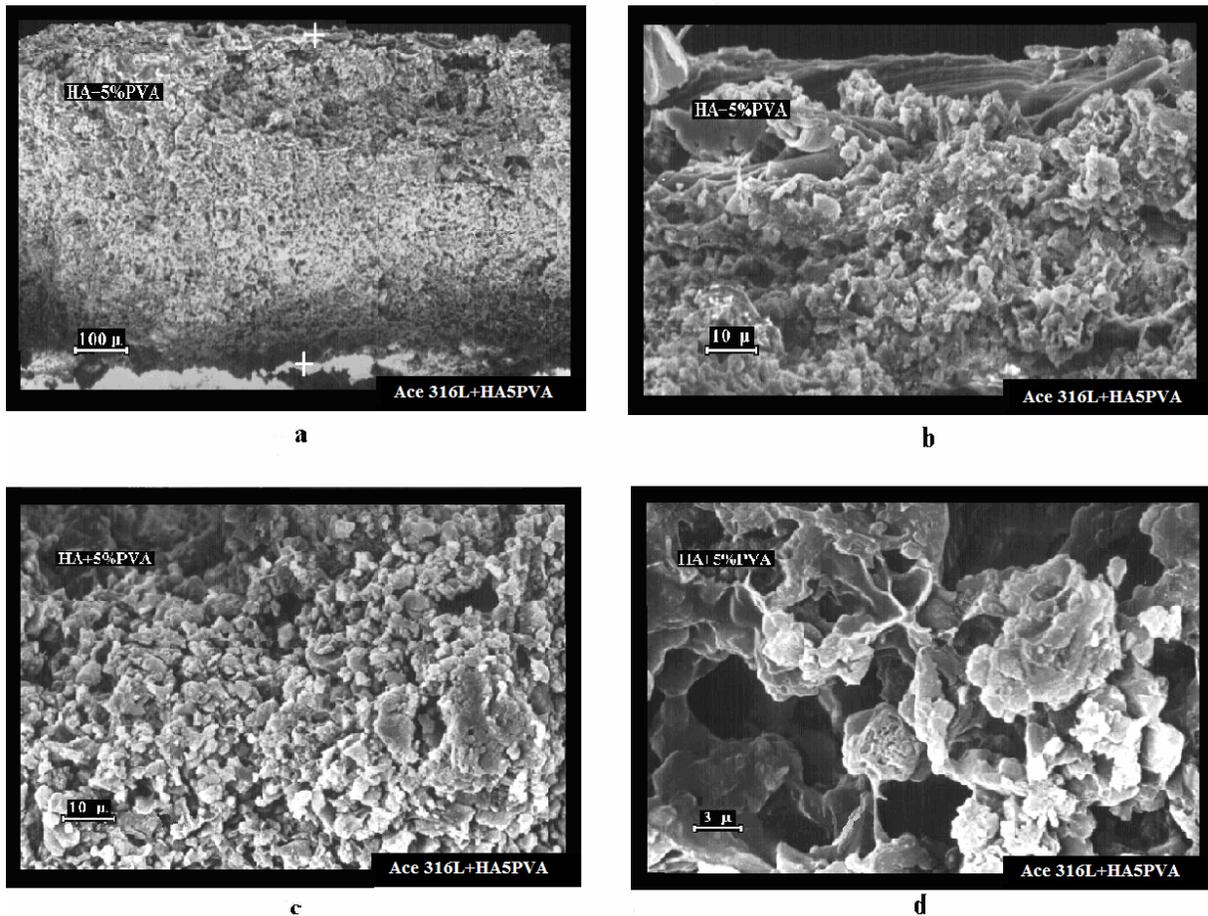
Fotografía 9. Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PEOX sobre Titanio comercialmente puro, Ti+HA5PEOX. a) y b) vista perpendicular y c) vista normal.

B. RECUBRIMIENTOS POR PLASMA TÉRMICO SOBRE ACERO INOXIDABLE 316L

La morfología de los recubrimientos de hidroxiapatita con 5% en peso de PVA, PVP, CMC, y PEOX, depositados sobre Acero Inoxidable 316L, se muestran en las Fotografías 10, 11,12 y 13 respectivamente.

1. HIDROXIAPATITA CON PVA

La Fotografía 10, muestra la morfología del recubrimiento de hidroxiapatita con 5 % de PVA, Ace316L+HA5PVA, depositado sobre Acero Inoxidable 316L.



Fotografía 10. Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PVA sobre acero inoxidable 316L, Ace316L+HA5PVA, a) y b) vista perpendicular, c) y d) vista normal.

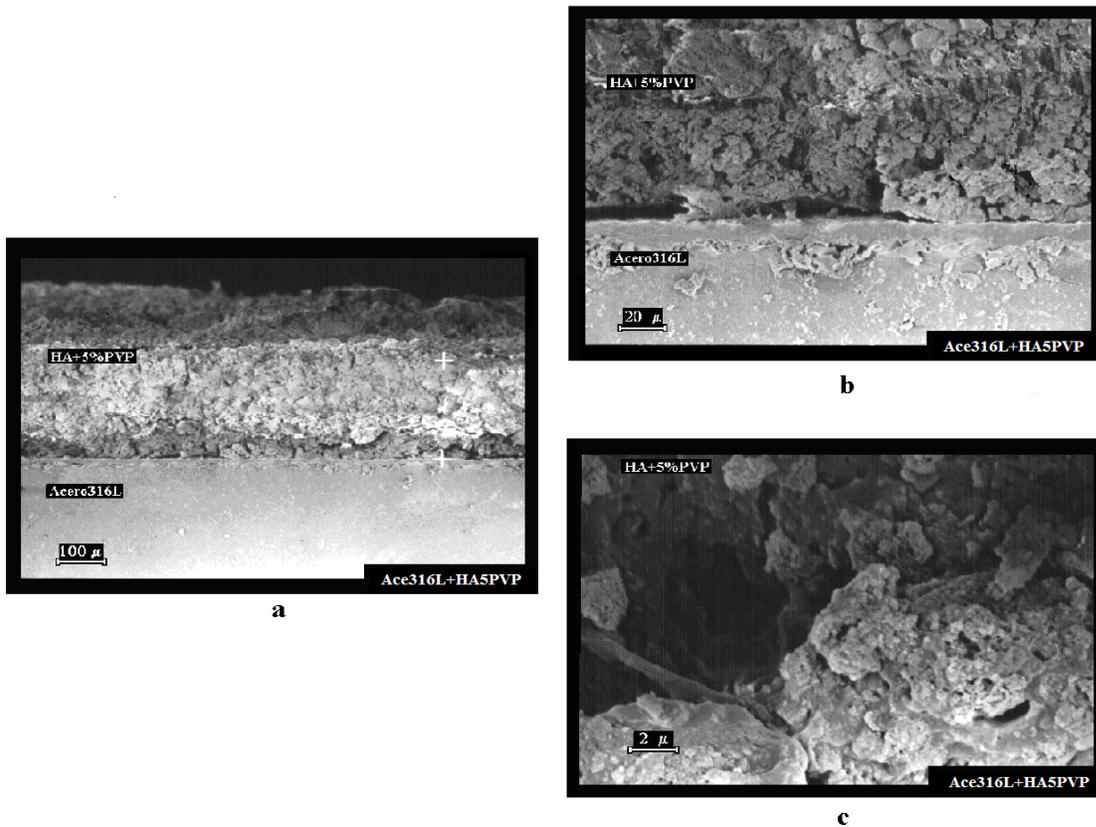
Las Fotografías 10a y 10b, muestran una vista perpendicular del recubrimiento de hasta 600 μm de espesor, conformado por granulos de hidroxiapatita distribuidos uniformemente.

En la Fotografía 10c y 10d, se observan los gránulos de hidroxiapatita distribuidos uniformemente en el recubrimiento y los poros interconectados de 10 a 20 μm de diámetro, producidos por la ausencia del PVA.

2. HIDROXIAPATITA CON PVP

La morfología del recubrimiento de hidroxiapatita con 5% en peso de PVP depositado sobre Acero Inoxidable 316L, Ace316L+HA5PVP, se muestra en la Fotografía 11.

La Fotografías 11a y 11b, muestra un recubrimiento de 300 μm de espesor conformado de hidroxiapatita uniformemente distribuida. En la Fotografía 11c se muestran los poros de 10 μm de diámetro.



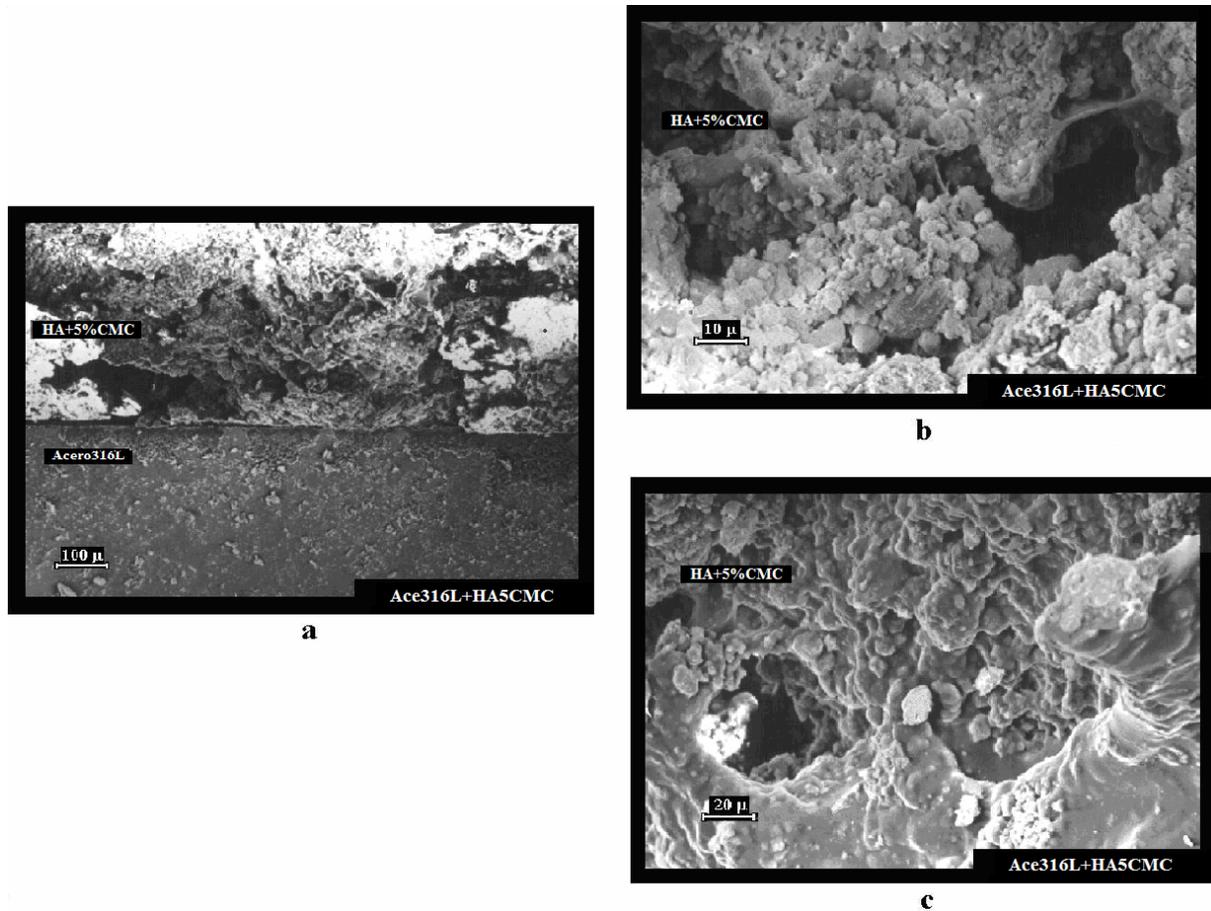
Fotografía 11. Recubrimiento de Hidroxiapatita con 5% de PVP sobre acero inoxidable 316L, Ace316L+HA5PVP. a) y b) vista perpendicular, c) vista normal.

3. HIDROXIAPATITA CON CMC

La Fotografía 12, muestra la morfología del recubrimiento de hidroxiapatita con 5% en peso de CMC sobre Acero Inoxidable 316L, Ace316L+HA5CMC.

En las Fotografía 12a y 12b, se observa una vista perpendicular del recubrimiento de 600 μm de espesor aproximadamente conformado por hidroxapatita de estructura granular.

La Fotografía 12c, se muestra los poros interconectados de 50 μm de diámetro, debidos a la ausencia del polímero y conformados por hidroxapatita granular.



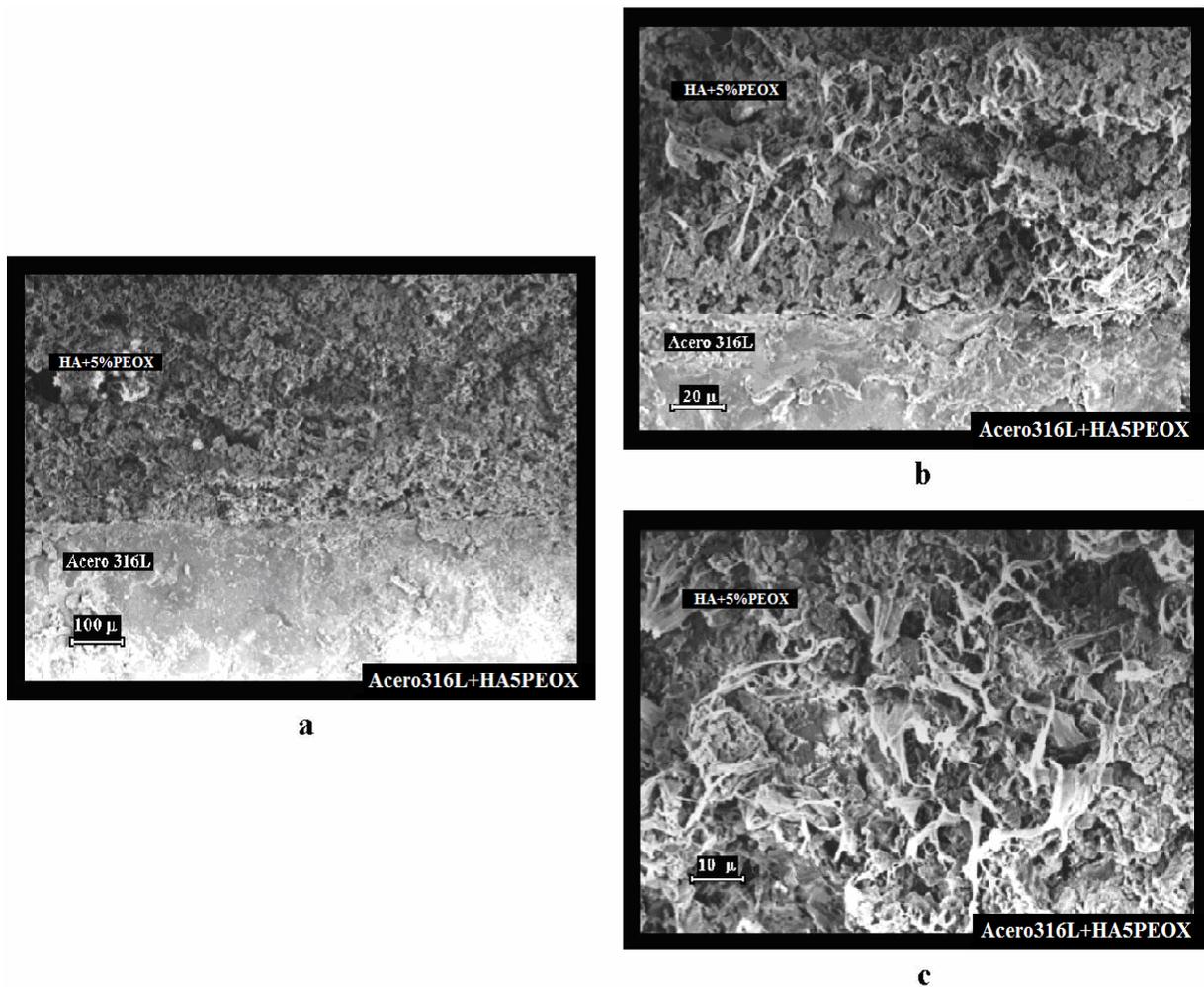
Fotografía 12. Recubrimiento de de Hidroxapatita con 5% de CMC sobre acero inoxidable 316L, Ace316L+HA5CMC. a) y b) vista perpendicular y c) vista normal.

4. HIDROXIAPATITA CON PEOX

La Fotografía 13, muestra la morfología del recubrimientos de hidroxapatita con 5% en peso de PEOX sobre Acero Inoxidable 316L, Ace316L+HA5PEOX.

En la Fotografía 13a y 13b, se observa una vista perpendicular del recubrimiento conformado por hidroxapatita amorfa, distribuida uniformemente.

En la vista normal que se presenta en la Fotografía 13c, el recubrimiento presenta la estructura laminar de la hidroxapatita.

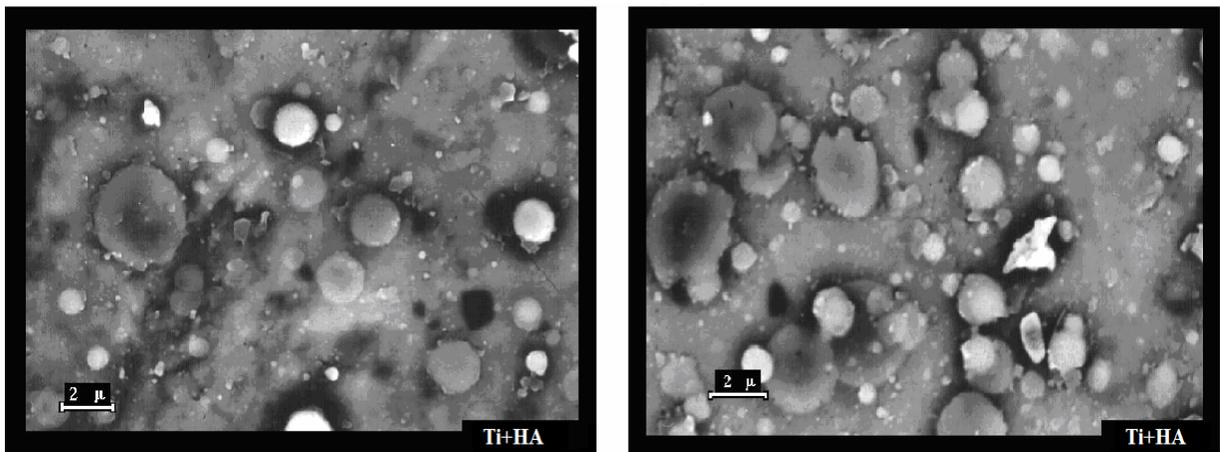


Fotografía 13. Recubrimiento de Hidroxapatita con 5% de PEOX sobre acero inoxidable 316L, Ace316L+HA5PEOX. a) y b) vista perpendicular . c) vista normal.

C. RECUBRIMIENTOS POR ABLACIÓN LÁSER SOBRE TITANIO COMERCIALMENTE PURO

La morfología de los recubrimientos de hidroxiapatita sintética, depositados sobre titanio comercialmente puro, se muestra en la Fotografías 14.

Las Fotografía 14a y 14b, muestran una vista normal del recubrimiento formado por hidroxiapatita con estructura amorfa distribuida uniformemente en todo el recubrimiento y partículas de hidroxiapatita completamente esféricas de $5\mu\text{m}$ de diámetro.



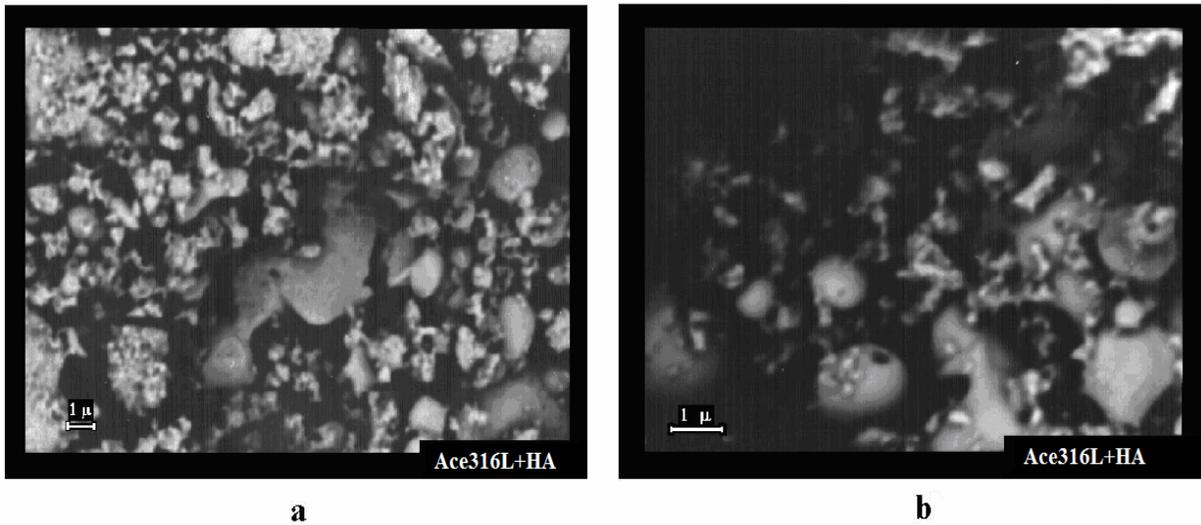
a

b

Fotografía 14. Recubrimiento de Hidroxiapatita sobre titanio comercialmente puro.
a) y b) vista normal a la dirección de depositación.

D. RECUBRIMIENTOS POR ABLACIÓN LÁSER SOBRE ACERO INOXIDABLE 316L

Las Fotografías 15a y 15b muestran la morfología del recubrimiento de hidroxiapatita depositado sobre Acero Inoxidable 316L.



Fotografía 15. Recubrimiento de Hidroxiapatita sobre acero inoxidable 316L.

§ 4.6 MICROSOPIA DE HUESO

La Figura 19, muestra la estructura del hueso, formada por una pared rígida de hueso duro ó cortical y una intrincada red ósea de hueso trabecular ó esponjoso.

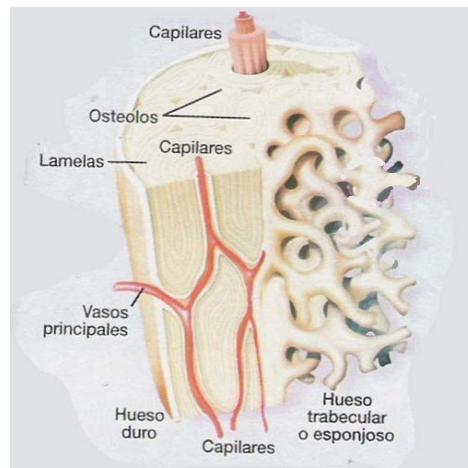


Figura 19. Estructura del hueso

Las muestras de hueso utilizadas en el presente trabajo, fueron obtenidas del hueso largo superior de una extremidad trasera, de un macho de res de 18 a 20 meses de edad.

En la Figura 20, se muestra la dirección de los cortes longitudinal y transversal en relación a la dirección de la porosidad, realizados para observar su morfología.

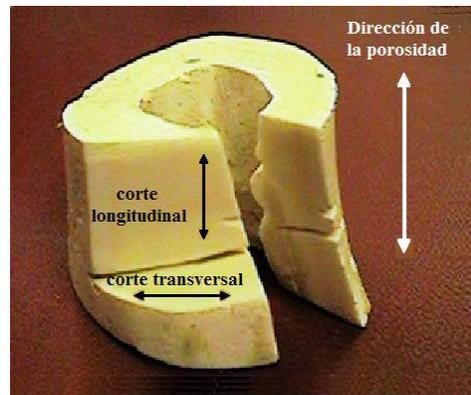


Figura 20. Hueso de animal vertebrado

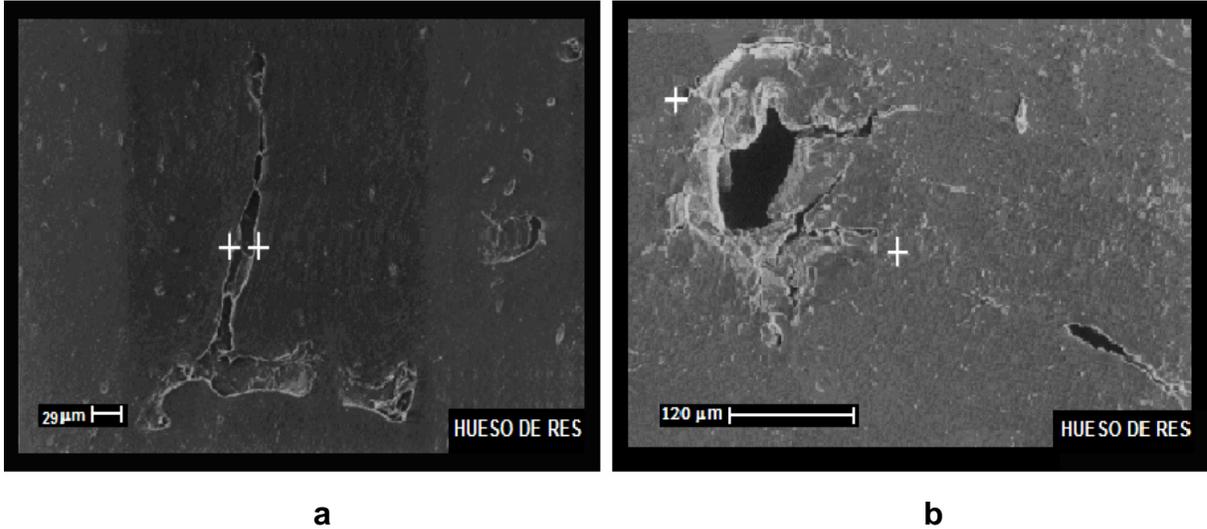
A. HUESO DURO Ó CORTICAL DE ANIMAL VERTEBRADO

La morfología del hueso fue observada por las técnicas de microscopia óptica y microscopia electrónica de barrido.

1. MICROSCOPIA ÓPTICA EN LA DIRECCION LONGITUDINAL Y TRANSVERSAL DE LA POROSIDAD

En la Fotografía 16, se muestra la morfología de los poros del hueso duro en dirección longitudinal y transversal a la dirección de la porosidad.

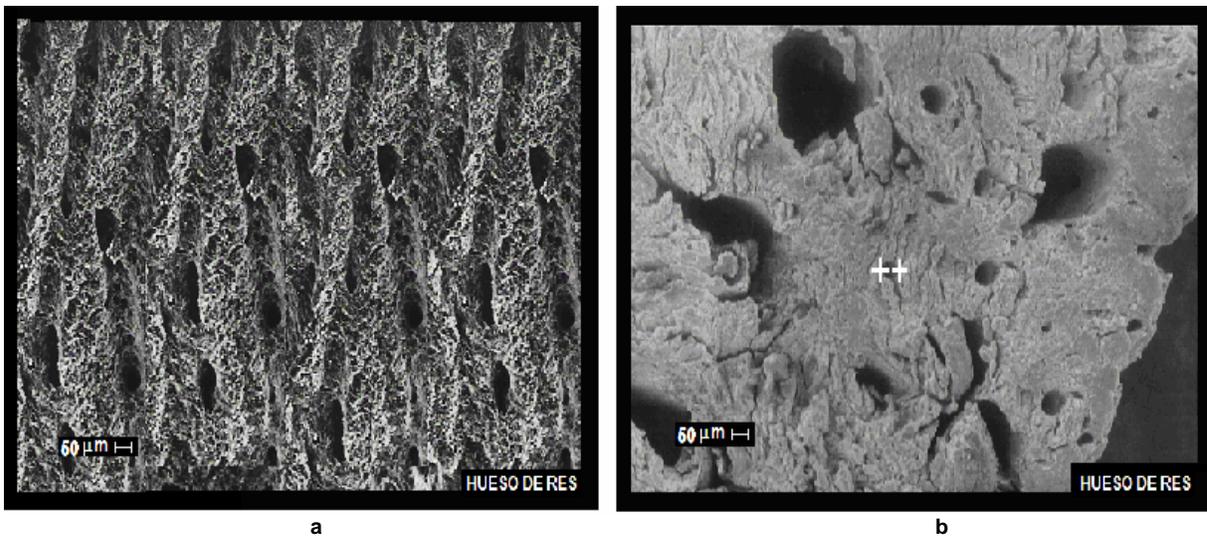
El diámetro promedio de los poros observados en dirección longitudinal fue de 29 μm y el diámetro promedio de los poros en dirección transversal fue 50 μm .



Fotografía 16. Morfología de los poros del hueso duro.
a) longitudinal y b) transversal.

2. MICROCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO EN LA DIRECCION LONGITUDINAL Y TRANSVERSAL DE LA POROSIDAD

En la Fotografía 17, se muestra la morfología de los poros del hueso duro en dirección longitudinal y transversal a la dirección de la porosidad por microscopía electrónica de barrido.

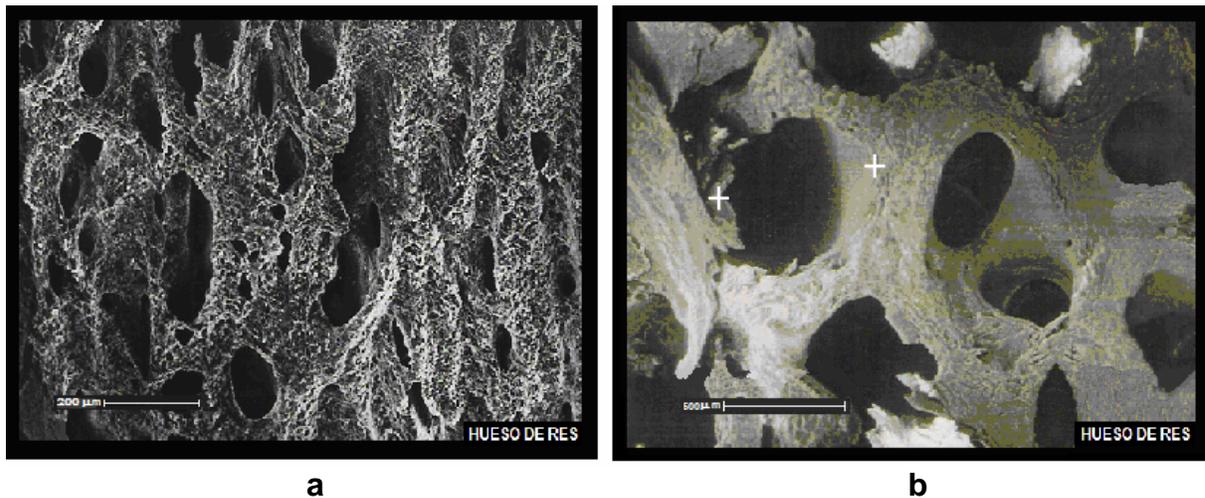


Fotografía 17. Microestructura de los poros del hueso duro. a) longitudinal y b) transversal.

B. HUESO TRABECULAR O ESPONJOSO DE ANIMAL VERTEBRADO

3. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO EN LA DIRECCION LONGITUDINAL Y TRANSVERSAL DE LA POROSIDAD

En la Fotografía 18, se muestra la morfología de los poros del hueso trabecular o esponjoso en dirección longitudinal y transversal a la dirección de la porosidad.



Fotografía 18. Microestructura de los poros del hueso trabecular. a) longitudinal y b) transversal

§ 4.7 MICROSCOPIA DE SUBSTRATOS METÁLICOS

El acero inoxidable 316L (16 al 18% Cr, 10 al 14% Ni y del 2 al 3% Mo) es el resultado de reducir el contenido de carbono del acero inoxidable 316 de 0.08 % a 0.03% para obtener mejor resistencia a la corrosión.

El Cromo forma el óxido de cromo Cr_2O_3 que es el que brinda la pasividad del metal. El Níquel es el elemento que le da la tenacidad.

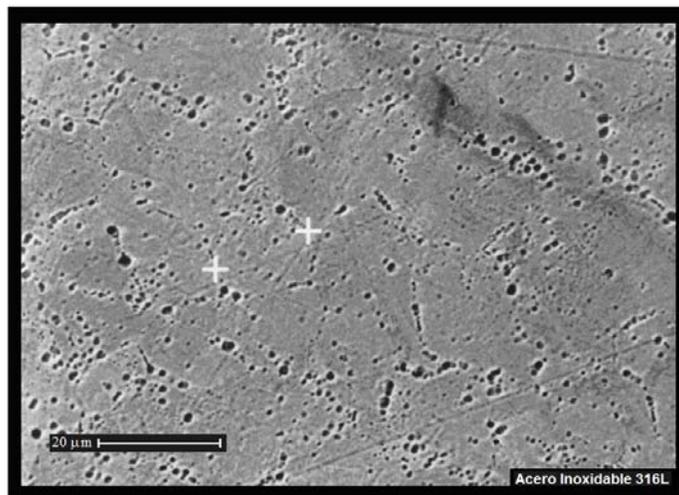
Su aplicación esta muy extendida, además de prótesis de cadera a aplicaciones de uso temporal tales como placas de fractura, tornillos, clavos y fijadores entre los mas importantes.

El titanio comercialmente puro se presenta en 4 tipos o grados normalizados para implantes quirúrgicos dependiendo del contenido de elementos intersticiales que presentan.

A mayor cantidad de intersticiales el grado aumenta (grado 1 es el mas puro y el grado 4 contiene mayor cantidad de impurezas).

A. SUBSTRATOS DE ACERO INOXIDABLE 316L

En la Fotografía 20, se observa la microestructura del acero 316L. El tamaño de grano promedio es de $14.4 \mu\text{m}$ y se observan, poros en las fronteras de grano .



Fotografía 19. Microestructura del acero inoxidable 316L

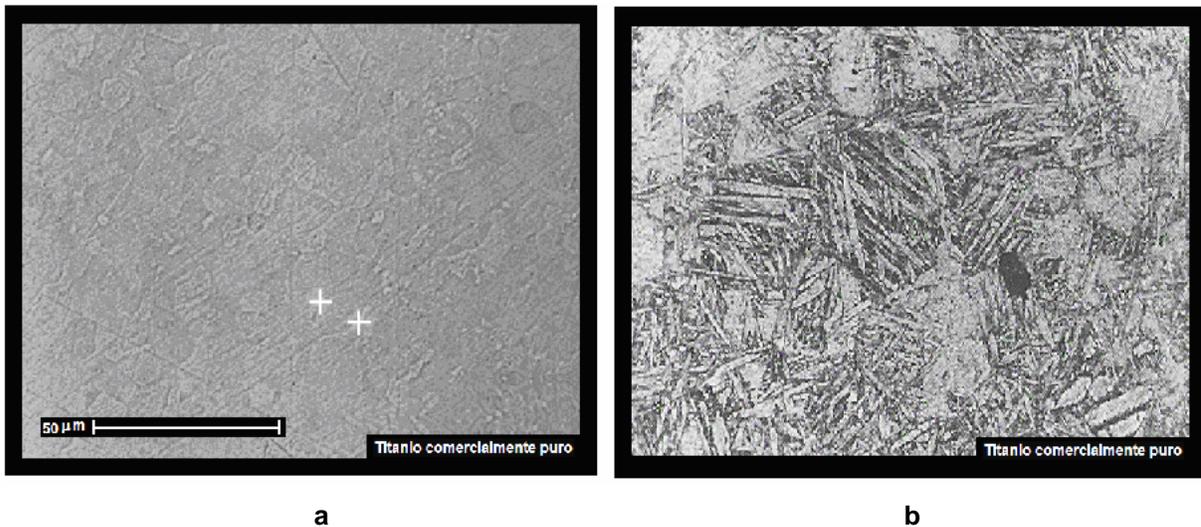
B. SUBSTRATOS DE TITANIO COMERCIALMENTE PURO

El titanio comercialmente puro presenta transformación alotrópica a 882°C , presentando la fase α con estructura hexagonal compacta a temperatura ambiente y tamaño de grano promedio de $18 \mu\text{m}$.

Cuando el titanio se calienta por encima de la transformación, aparece la fase β con estructura cúbica centrada en el cuerpo que al enfriarla rápidamente a temperatura ambiente se transforma en fase α con estructura cristalina y morfología de placas de martensita.

En la Fotografía 21a, se observa la estructura de fase α .

La Fotografía 21b, muestra la morfología de placas de martensita.



Fotografía 20. Microestructura del titanio comercialmente puro.
a) estructura de fase α , b) estructura martensítica

§ 4.8 PROPIEDADES MECÁNICAS DE HIDROXIAPATITA Y SUBSTRATOS METÁLICOS

Las propiedades mecánicas de la hidroxiapatita son similares a las de los componentes más resistentes del hueso. La dureza de la hidroxiapatita es de 5 mohs y su densidad de 3.156g/ml.

La Tabla 11, muestra los valores de la resistencia a la compresión, resistencia a la tracción, resistencia a la tensión y modulo elástico de la hidroxiapatita, del acero inoxidable 316L y del titanio comercialmente puro.

Tabla 11. Propiedades mecánicas de diferentes materiales

MATERIAL	RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN (MPa)	RESISTENCIA A LA CEDENCIA (MPa)	RESISTENCIA A LA TENSION (MPa)	MODULO DE ELASTICIDAD (GPa)
HUESO		----	----	----
Vertebral	4	----	----	----
Fémur	4.5	----	----	----
Tibia	5	----	----	1.4
Cortical	72-105	300	68.9	12 - 18
Esponjoso	41.4	50-150	3.5	0.1 -1.0
ESMALTE DENTAL	130	----	----	74
Dentina	----	----	----	21
HIDROXIAPATITA				
Compactos densos	21.8	100	----	40 – 100
Compactos porosos	5.23	----	----	----
FOSFATO DE CALCIO				
Denso	208.7 – 895.7	----	68.9 – 192.9	34.5 – 103.4
Poroso	6.9 – 68.9	----	2.48	-----
ACERO INOXIDABLE 316L				
Forjado	----	690	860	200 – 210
Forjado + recocido	----	195	505	----
Ti-6Al-4V	----	900	1050	120

La resistencia a la cedencia, de compactos densos de hidroxiapatita, es del orden de los 100MPa comparado con la resistencia a la cadencia del hueso cortical humano es de 300MPa y disminuyendo drásticamente dicha resistencia en el caso de los compactos porosos.

A. PRUEBAS DE COMPRESION EN HIDROXIAPATITA

Cilindros de hidroxiapatita porosa de 15 mm de espesor y 16 mm de altura fueron obtenidos con la finalidad de realizar pruebas de compresión.

Los ensayos se realizaron en una maquina Instron Corporation Serie 4500, con una velocidad de cabezal de 0.100 mm/min.

Los resultados obtenidos en las pruebas de compresión en hidroxiapatita sintetica y en hidroxiapatita modificada con polimeros solubles en agua (PSA), se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Comportamiento a la compresión de hidroxiapatita compacta y porosa

Material	Esfuerzo Máximo en compresión (MPa)	Deformación Máxima en compresión (mm/mm)	modulo de Elasticidad (GPa)
HA sin TT	0.766	0.035	21.8
HA con TT a 800°C	0.570	0.109	5.2
HA+25PVA ₈	1.439	0.044	32.7
HA+25PVP ₈	9.933	0.063	157.6
HA+25CMC ₈	3.279	0.064	51.2

HA+25PEOX8	4.485	0.063	71.2
HA+25PVA8L	0.698	0.084	8.3
HA+25PVP8L	6.852	0.093	73.6
HA+25CMC8L	0.452	0.172	2.6
HA+25PEOX8L	0.321	0.036	8.9

La hidroxiapatita sintética presenta una disminución del 25% en el esfuerzo de compresión, después del haber sido sometida al tratamiento térmico.

El esfuerzo máximo para la hidroxiapatita con PVA, después del tratamiento térmico a 800°C y del proceso de liofilizado disminuye 51%.

Para la hidroxiapatita con PVP, la disminución del esfuerzo máximo después del tratamiento térmico es de 31%.

En la hidroxiapatita con CMC, el esfuerzo máximo disminuye 85% y para la hidroxiapatita con PEOX se observa que el esfuerzo máximo disminuye 92%.

§ 4.9 DIFUSIVIDAD TERMICAS DE HUESO, HIDROXIAPATITA Y SUBSTRATO METÁLICOS

La difusividad térmica, es la propiedad física que mide la razón de flujo de calor a través de un medio, y la importancia de esta cantidad física se debe a que, al igual que el coeficiente de absorción óptico, es única para cada material⁷³.

La difusividad térmica es una cantidad extremadamente sensible a la composición y estructura de los materiales⁷⁴.

Este es particularmente el caso de las propiedades termofísicas en los materiales porosos, las cuales dependen fuertemente, además de la clase de componentes constituyentes, del tipo de estructura que presentan y de su grado de porosidad⁷⁵.

En este trabajo, se determinó la difusividad térmica mediante la técnica fotoacústica en la configuración de transmisión de calor, de la hidroxiapatita compacta, del hueso duro de animal vertebrado, del acero inoxidable 316L y del titanio comercialmente puro.

A. TÉCNICA FOTOACÚSTICA

En la Figura 21a, se muestra el montaje experimental de la técnica fotoacústica resuelta en frecuencia utilizada para la determinación de propiedades térmicas en los materiales.

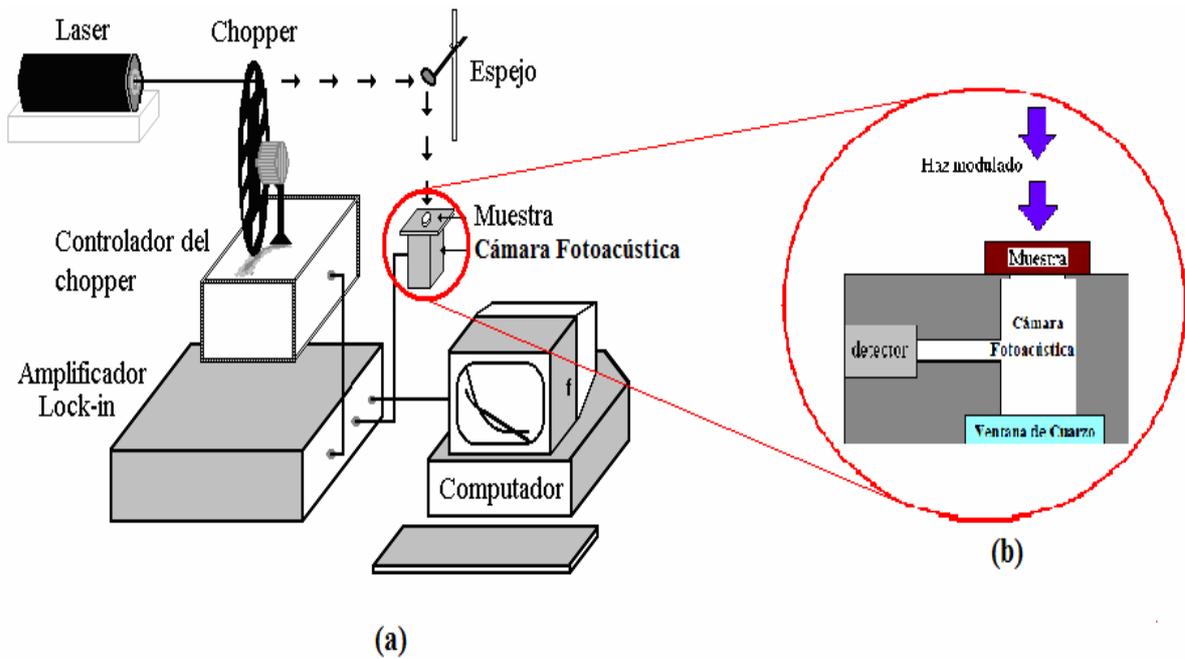


Figura 21. a) Montaje Experimental de la técnica fotoacústica y b) Configuración de transmisión de calor con incidencia trasera

La Figura 21b, muestra un esquema de la celda fotoacústica en una configuración de transmisión de calor, empleada para la determinación de la difusividad térmica en materiales.

Las muestras utilizadas fueron obtenidas en forma de disco de 1 cm de diámetro, con espesores entre 200 y 240 μ m.

La radiación modulada a la frecuencia f , incide sobre la superficie exterior de la muestra y es absorbida y transformada en calor modulado (ondas térmicas) con la misma frecuencia f mediante procesos de desexcitación no radiativos.

Este calor generado se transmite a través de la muestra y se difunde hacia el interior de la cámara generando variaciones de presión (señal acústica) con la misma frecuencia f en el aire contenido en dicha cámara.

Mediante un detector acústico muy sensible se transforma la señal acústica en una señal eléctrica alterna a la frecuencia f , la cual es preamplificada y enviada al amplificador lock-in.

El haz de luz continuo emitido por un láser de Argón de 100 mW se interrumpe periódicamente mediante un modulador mecánico (chopper), después, este haz modulado se desvía con un espejo y se hace incidir en dirección normal sobre la superficie de la muestra, la cual previamente se ha colocado sobre la entrada de la cámara fotoacústica, adherida con grasa de vacío.

Luego, la señal fotoacústica es capturada y filtrada, con la frecuencia de referencia del chopper, mediante un amplificador lock-in.

Finalmente, la señal filtrada es registrada y almacenada por un computador, obteniendo un archivo de datos de la amplitud y la fase de la señal fotoacústica en función de la frecuencia de modulación.

B. DIFUSIVIDAD TÉRMICA

En la Figura 22, se muestra el comportamiento de la difusividad térmica en función de la presión de compactación de los polvos de hidroxiapatita y de hueso.

Las curvas a y b, corresponden al mejor ajuste de los datos experimentales utilizando la expresión siguiente:

$$A = C \frac{1}{f \sqrt{\left(\cosh\left(2\sqrt{f/f_c}\right) - \cos\left(2\sqrt{f/f_c}\right) \right)}}$$

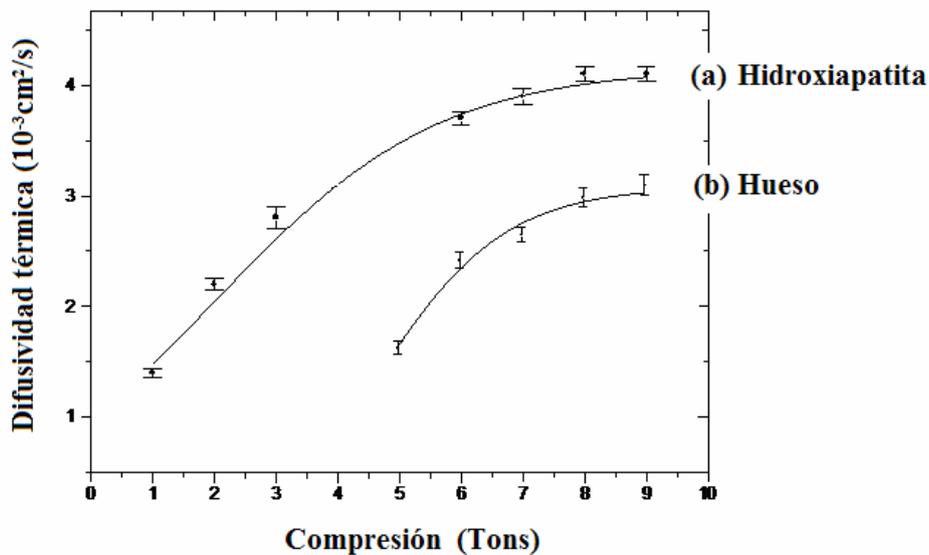


Figura 22. Difusividad térmica vs presión de compactación. a) Hidroxiapatita y b) hueso.

En la Tabla 13, se muestran los resultados de la difusividad térmica del hueso de animal vertebrado, de la hidroxiapatita compacta y de los substratos metálicos.

La difusividad térmica de hueso compactado es similar a la del acero inoxidable 316L y la difusividad térmica del titanio comercialmente puro es 3 veces mayor que la del acero inoxidable 316L.

Tabla 13. Difusividad térmica de hueso, hidroxiapatita y substratos metálicos

MATERIAL	Difusividad Térmica (α) $10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$
Acero Inoxidable 316L.	39 ± 2
Titanio comercialmente puro.	96 ± 4
Hueso duro (Corte Longitudinal)	4.4 ± 0.1
Hueso duro (Corte Transversal)	5.4 ± 0.1
Hueso en polvo compactado	3.1 ± 0.1
Hidroxiapatita compacta	4.2 ± 0.06

La difusividad térmica del hueso duro en el corte transversal es mayor que la difusividad térmica del hueso duro en el corte longitudinal debido a la orientación de la porosidad del hueso.

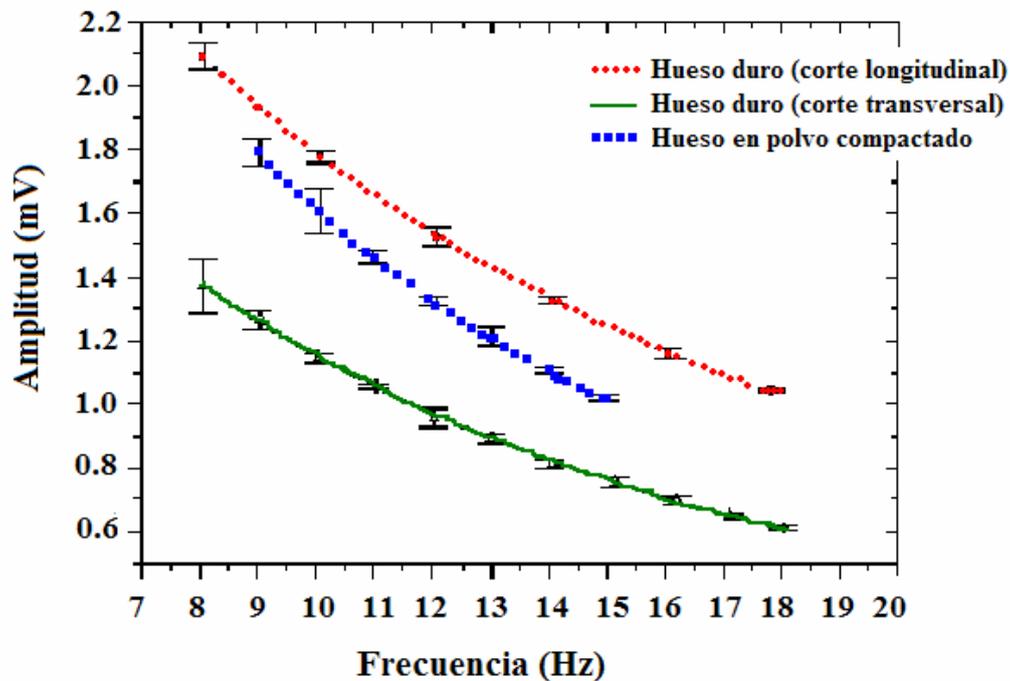


Figura 23. Comportamiento de la Amplitud vs Frecuencia

El valor de la difusividad térmica (α) del hueso duro fue de entre 42% y 74% mayor que el valor de la difusividad térmica del hueso en polvo compactado.

La difusividad térmica del hueso duro cortado transversalmente fue 23% mayor que la difusividad térmica del hueso duro cortado longitudinalmente a la porosidad.

Capítulo 5

ANÁLISIS DE RESULTADOS

§ 5.1 COMPORTAMIENTO DEL pH DURANTE LA SÍNTESIS DE LA HIDROXIAPATITA

Experimentalmente se observó que la reacción de síntesis únicamente fue llevada a cabo si la solución alcanzaba un valor del $\text{pH} = 7 \pm 0.5$.

Valores superiores del pH produjeron una solución sobresaturada que no permitió la formación del precipitado.

Valores inferiores de pH en la solución tampoco permitieron la formación del precipitado deseado.

§ 5.2 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

A. HIDROXIAPATITA EN POLVO

Pequeñas reflexiones en el patrón de difractograma de la hidroxiapatita en polvo antes del tratamiento térmico, fueron observadas debido a que la hidroxiapatita aún no llegaba a su estado de cristalinidad completa.

Reflexiones bien definidas fueron observadas en el difractograma correspondiente a la hidroxiapatita después del tratamiento térmico.

B. PASTILLAS DE HIDROXIAPATITA

No fueron observadas alteraciones significativas en los patrones de difracción de pastillas de hidroxiapatita con 12.5, 25 y 50% en peso de polímero, después de ser sometidas a tratamientos térmicos de 200, 400 y 800°C, durante dos horas.

C. PASTILLAS DE HIDROXIAPATITA POROSA

No fueron detectadas alteraciones significativas en los patrones de difracción de las pastillas de hidroxiapatita porosa.

§ 5.3 MICROESTRUCTURA DE HUESO Y RECUBRIMIENTOS POROSOS

A. RECUBRIMIENTOS POR PLASMA TERMICO SOBRE TITANIO

En los recubrimientos de hidroxiapatita con poli(alcohol) vinílico depositados sobre titanio por la técnica de plasma térmico, se obtuvieron poros interconectados de diámetro mayor a 100µm, con porosidad similar a la del hueso trabecular o esponjoso y el espesor del recubrimiento fue mayor a 200 µm.

Mientras que en los recubrimientos de hidroxiapatita con poli(vinil) pirrolidona, carboximetil celulosa y polioxido de etileno depositados sobre titanio mediante la técnica de plasma térmico, se observaron en general estructuras uniformes y compactas con pequeños poros en algunos casos, pero sin llegar a tener diámetros mayores a 100 µm, ni presentar la porosidad interconectada esperada.

C. RECUBRIMIENTOS POR PLASMA TÉRMICO SOBRE ACERO 316L

En los recubrimientos de hidroxiapatita con poli (alcohol) vinílico y carboximetil celulosa depositados sobre acero 316L por la técnica de plasma térmico, se observaron poros interconectados de diámetros de 10, 20 y 50 µm respectivamente.

Los recubrimientos de hidroxiapatita con polivinil pirrolidona y polioxido de etileno estaban formados por estructura laminar de hidroxiapatita y poros de 10 µm de diámetro distribuidos uniformemente.

C. RECUBRIMIENTOS POR ABLACIÓN LÁSER SOBRE TITANIO Y ACERO 316L

Los recubrimientos de hidroxiapatita sobre titanio y acero inoxidable 316L, obtenidos mediante la técnica de ablación láser, estaban conformados por partículas de hidroxiapatita completamente esféricas de $5\mu\text{m}$ y colonias de hidroxiapatita con estructura amorfa distribuidas uniformemente en todo el recubrimiento.

§ 5.4 MICROESTRUCTURA DE SUBSTRATOS METÁLICOS

Los substratos de acero inoxidable 316L, presentaron pequeños poros distribuidos en los límites de grano y muy buena resistencia a la corrosión por picadura inducida en presencia de cloro.

Los substratos de titanio presentaron una estructura granular libre de picaduras.

§ 5.5 PROPIEDADES MECANICAS DE LAS PASTILLAS DE HIDROXIAPATITA

Se observó que los esfuerzos máximos en las pastillas de hidroxiapatita con carboximetil celulosa, poli(alcohol)vinílico y polivinil pirrolidona disminuyeron en 85, 51, 31% respectivamente y las deformaciones presentaron incrementos de 168, 90, y 47% en las pastillas de carboximetil celulosa, poli (alcohol) vinílico y polivinil pirrolidona respectivamente.

En la pastilla de hidroxiapatita con poli (óxido) de etileno, fue observada una disminución del esfuerzo máximo y de la deformación correspondiente.

§ 5.6 DIFUSIVIDAD TÉRMICA

La porosidad y su orientación en el hueso son factores que influye en el flujo de calor a través del hueso. Ya que el valor de la difusividad térmica (α) del hueso duro cortado transversalmente fue de entre 42% y 74% mayor que el valor de la difusividad térmica del hueso en polvo compactado.

Mientras que la difusividad térmica del hueso en polvo compactado fue 23% mayor que la difusividad térmica del hueso duro cortado longitudinalmente a la porosidad.

Las pastillas obtenidas con poli(alcohol vinílico) y carboximetil celulosa y sometidas a un tratamiento térmico de 400°C presentaron poros interconectados de aproximadamente $40\mu\text{m}$.

De igual forma, las pastillas que contenían poli(pirrolidona vinílica) y tratadas térmicamente a 200°C presentaron poros interconectados de 50 μm . En ambos casos, la cristalinidad no fue alterada durante el tratamiento térmico.

Los recubrimientos obtenidos por plasma térmico también presentan porosidad interconectada con poros de hasta 100 μm de diámetro. Sin embargo los recubrimientos obtenidos por la técnica de Ablación Láser no presentaron porosidad, presentando partículas completamente esféricas de 5 μm de diámetro, distribuidas uniformemente sobre toda la superficie.

Los resultados estructurales obtenidos por difracción de rayos x para los diferentes recubrimientos corresponden al patrón de difracción de la hidroxiapatita estequiométrica, lo que muestra que durante el proceso de depositación, la hidroxiapatita no se descompuso en otras fases.

Por lo que se concluye que ambos métodos de depositación utilizados permiten la obtención de recubrimientos de hidroxiapatita que no se descompone durante la proyección sobre el sustrato.

Las mediciones de difusividad térmica en hidroxiapatita comercial y hueso de res, mostraron una buena compatibilidad térmica (74%) entre la hidroxiapatita (HA) y el hueso.

Capítulo 6

CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

§ 6.1 CONCLUSIONES

1. Un valor del pH = 7 ± 0.5 fué el requerido, para que se produjera la reacción de síntesis.
2. Un tratamiento térmico de 800°C durante dos horas, fue requerido para permitir la cristalinidad completa de la hidroxiapatita.
3. El tratamiento térmico de 200, 400 y 800°C, durante dos horas, no alteró los patrones de difracción de las pastillas de hidroxiapatita con 12.5, 25 y 50% en peso de polímero.
4. El proceso de liofilización no altera la cristalinidad de las pastillas de hidroxiapatita.
5. El método de depositación de los recubrimientos por plasma térmico, propicia recubrimientos de hidroxiapatita que no se descomponen en otras fases.
6. Los recubrimientos con porosidad interconectada similar a la del hueso, fueron los obtenidos mediante la técnica de plasma térmico.
7. El comportamiento del esfuerzo máximo y de la deformación dependen de la distribución de los poros producidos por la ausencia de las partículas del polímero y del proceso de compactación.
8. La disminución de la sección transversal sobre la que se aplica el esfuerzo, disminuye debido a la presencia de poros.

9. Debido a que los poros actúan como concentradores de esfuerzos, el esfuerzo aplicado se incrementa en la región que los circunda.

§ 6.2 RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar la deposición de los recubrimientos porosos de hidroxiapatita, sobre superficies pulidas con lija grado 100 y calentar a 600°C la superficie a recubrir.
2. Para obtener un recubrimiento uniforme, se recomienda colocar la superficie a recubrir sobre una platina que tenga al menos dos grados de movimiento.
3. Es conveniente realizar recubrimientos mediante la técnica de ablación laser, sobre superficies planas y de dimensiones menores a 2cm².
4. Si se requiere recubrir superficies mayores a 2cm², se recomienda utilizar la técnica de plasma térmico.
5. Es recomendable utilizar la hidroxiapatita porosa en forma de pastilla, para relleno óseo en cavidades menores a 1 cm².
6. Para cavidades óseas mayores a 1 cm², se recomienda utilizar pastillas de hidroxiapatita en combinación con tejido blando.

§ 6.3 PERSPECTIVAS

1. Efectuar recubrimientos de hidroxiapatita porosa mediante otras técnicas como Spray Pirolisis y Sol-Gel.
2. Complementar los estudios de porosidad y rugosidad de las superficies metálicas, mediante técnicas ópticas y técnicas de líquidos penetrantes.
3. Realizar estudios electroquímicos en suero fisiológico para los recubrimientos y para las pastillas porosas.
4. Estudiar la propiedades térmicas de los recubrimientos y de las pastillas porosas.
5. Realizar estudios de citotoxicidad y genotoxicidad de los recubrimientos y de las pastillas porosas.
6. Implementar el desarrollo tecnológico para la producción de los recubrimientos y pastillas porosas.

BIBLIOGRAFIA

1. Hench L.; "*Bioceramics from Concept to Clinic*", Feature (Technology) **72**, 4 (1993)
2. Borretos J and Eden M.; "*Contemporary Biomaterials*". Material And Response Clinical Applications New Technology and Legal Aspects Noyes Press. Park Ridge, N. Y., 134, (1984).
3. Jarcho M., Belen C., Thomas M. and Bobik J.; "*Hydroxyapatite Synthesis And Characterization in Dense Polycrystalline Form*", Journal of Materials Science **11**, 2027, (1976).
4. De Groot K.; "*Ceramics of Calcium Phosphates*", Preparation and Properties in Bioceramics, **5**, 99, (1983).
5. Touloukian Y. S., Powell R. W., and Nicolau M. C.; "*Thermophysical properties of matter*". Plenum, New York, **10**, 95, (1970).
6. Ziegler G. and Hasselman D.; "*Journal of Materials Science*". **16**, 495-503, (1981).
7. Nery E. B.; "*Bioceramic Implants in Surgically Produced Infrabony Defects*", J. Period., **46**, 328, (1975).
8. Alberktsoon T., Branemark P. I. , Hannsson H. A., Kasemo B., Larsson K., Lundstrom I., McQueen D. H. and Salak R.; "*Ann Biomed Eng*". **11**, 1 (1983).
9. Urist M.; "*Bone: formation by autoinduction*", Science **150**, 893-899, (1965).
10. Planell J., Driessens F., Ginebra M., Fernández E., Boltong M. G. and Gil F. G.; "*II Congreso Internacional de Biomateriales*", 48, (1999).
11. "*Instituto Nacional de Ortopedia*", **10**, 1079, (1996).
12. Hench L.; "*Bioceramics from concept to Clinic*", Feature (technology) **72**, 93, (1993).
13. Shors E. C., White E. W. and Kopchok G.; "*Biocompatibility Osteoconduction and Biodegradation of Porous Hydroxyapatite, Tricalcium Phosphate, Sintered Hydroxyapatite and Calcium Carbonate in Rabbit Bone Defects*", Materials Research Society Symposium Proceeding, **110**, 211, (1989).
14. Heimke G.; "*Biomaterials Highlights*": Chem. Inter. ED. Engl. **28**, 518, (1989).
15. Szycher M.; "*Biocompatible Polymers, Metals and Composites*" Technomic, Lancaster (Pensylvania), 201, (1983).
16. Park J. B.; "*Biomaterials an Introduction*", Plenum Press, New York, 187, (1979).
17. Yannas V, Burke J. F., Gordon P. L., Huanh C. and Rubenstein R. G.; "*Journal of Biomedical Materials Research*", **14**, 107, (1980).
18. Dagalaskis N., Flimk J., Steisikelis P., Burke J. F. and Yannas I. V.; "*Journal of Biomedical Materials Research*", **14**, 511, (1980).
19. Lyman D. J. and Rowland S. M.; "*Biomaterials Medical Applications*", Wiley New York, **52**, 203-204, (1989).
20. Morales J.; "*Aplicaciones Clínicas de los Biomateriales*", CYTED, 7-8, (1997).
21. Osborn F. and Weiss T.; "*Hydroxylapatit-Keramik-ein knochenähnlicher Biewerstoff*", Schweiz Monatsscr. Zahnheilkd, **88**, 118, (1978).
22. Heimke G.; "*Biomaterials Highlights*": Chem. Inter. ED. Engl. **28**, 518, (1989).
23. Levitt S., Crayton P., Monroe E. and Condrate R.; "*Forming method for apatite prosthesis*", J. Biomed. Mater. Res. **3**, 683, (1969).
24. Heide, H., Koster, K., and Lukas, H.; "*Neuere Werkstoffe in der Medizinischen Technik*", Chem. Ing. Tech., **47**, 327, (1975).
25. Ducheyne G., Van Raemdonck J. and Heughebaer M.; "*Structural Analysis of Hydroxyapatite on*

- Titanium*", *Biomaterials* **7**, 97, (1986).
26. Williams, D. F.; "The biocompatibility and clinical uses of calcium phosphate ceramics in biocompatibility of tissue analogs", **2**, 112, (1990).
 27. Van Raemdonk W., et al; "Calcium Phosphate Ceramics", *Metal and Ceramic Biomaterials*, **2**, 143, (1984),
 28. Akao M., et al; "Mechanical Properties of sintered hydroxyapatite for prosthetic applications", *J. Mater. Sci.* **16**, 809, (1981).
 29. Young R.; "Some aspect of crystal structure medeling of biological apatites in colloques internationaux du CNRS", *Physico-chimie et cristallographie des Apatites d' intérêt Biologique*, CNRS, **21**,115, (1975).
 30. Elliot J. and Mackie P.; "Monoclinic hydroxiapatite, in colloques internationaux du CNRS", *Physico-chimie et cristallographie des Apatites d' intérêt Biologique*, CNRS, **35**, 312, (1969).
 31. Brés E. F., Chems D., Vincent R. and Morniroli J. P.; "Space group of human tooth-enamel crystals", *Acta Cryst.*, **B49**, 56, (1993).
 32. Van Wazer J. R.; "Technology, biological functions and applications in phorphorus and its compounds", **2**, 235, (1991).
 33. "The Merch index, 11th ", Ed., Merck & Co. Inc., 1989.
 34. Ricci J., Alexander H., Parsons J., Salsburry R. and Bajpai P.; "Partially Resorbable Hydroxyapatite-Based Cement for Repair of Bone Defects", Ed. *Biomedical Engineering: Recent Developments*, New York: Pergamon Press; **2**, 469-474, (1986).
 35. Kitsugi T., Yamamuro T., Nakamura T., Kokubo T., Takagi M., Shibuya T., Takeuchi H. and Ono M.; "Bonding Behavior Between Two Bioactive Ceramics in vivo", *Journal of Biomedical Materials Research* **21**, 1109-1123, (1987).
 36. Jarcho M., Jasty V., Gumaer K., Kay J. and Doremus R.; "Electron Microscopy Study of a Bone-hydroxyapatite Implant Interface", *Transactions Society for Biomaterials*, 112-113, (1978).
 37. LeGeros R., Parsons J., Daculsi G. and Walker M.; "Significance of the Porosity and Physical Chemistry of Calcium Phosphate Ceramic: Biodegrataion-Bioabsortion", *Annual New York Academy Science* **523**, 268-271, (1988).
 38. Bucholz R., Carlton A. and Holmes R.; "Interporous Hydroxyapatite as a Bone Graft Substitutte in Tibial Plateau Fractures", *Clin. Orthop.*, **240**, 53-62, (1989).
 39. Drobeck H., Rothstein S., Gumaer K., Sherer A. and Slighter R.; "Hystologyc Observation of Soft Tissue Responses to Implanted Maultifaced Particles and Discs of Hydroxyapatite", *J. Oral Maxi. Surg.* **42**, 143-149, (1984).
 40. Sella C., Martin J., Lecoeur J., Le Chanu A., Hamand M., Naji A. and Davidas J.; "Biocompatibility and Corrosion Resistance in Biological Media of Hard Ceramic Coatings Sputter Deposited on Metal Implants", *Materials Science and Engineering*, **39**, 49-57, (1991).
 41. Méndez-González M. and Cauich J. V.; "Preparation of porous hydroxyapatite tablets and porous hydroxyapatite coatings for orthopaedic use", *Bioceramics*, **13**,192-195 (2001).
 42. Kamimkua K., Yoko T., Tanaka K. and Fujiyama J.; "Growth of fibrous hydroxyapatite in the gel system", *J. Mater. Sci.: Mater. In Medicine*, **24**, 827, (1989).
 43. Alberktsoon T., Branemark P. I., Hannsson H. A., Kasemo B., Larsson K., Lundstrom I., McQueen D. H. and Salak R.; "Ann Biomed", *Eng.* **11**, 1, (1983)
 44. Van Wazer J. R.; "Technology, biological functions and applications in phosphorous and its compounds", **2**, 328, (1991).
 45. Monroe E. A.; "New Calcium Phosphates Ceramic for Bone and Tooth Implants", *J. Dent. Res.*, **50**, 860, (1971).
 46. Socarras E.; "Evaluacion Clínica de Hidroxiapatita Porosa Obtenida a Partir de Corales Marinos", *Tesis de Dr. en Ciencias Medicas, Cuba*, 56, (1991).

47. Uchida E. and Kurisaki K.; *"The Use of Bioactive Ceramics for Bone Tumor Surgery"*, Ed. CRC Handbook Of Bioactive Ceramics; Calcium Phosphate and Hydroxyapatite Ceramics, **2**, 341-344, (1990).
48. Cordbrige D. E.C.; *"Phosphorous: an outline of its chemistry, biochemistry and technology in Studies in Inorganic Chemistry"*, **10**, 215, (1990).
49. Williams D. F.; *"Biocompatibility of Orthopedic implants"*. **1**, 56, (1986).
50. Williams, D. F.; *"Challenges in materials for health care applications"*, Chem. Adv. Mater. **5**, 678. (1989).
51. Rey C.; *"Calcium phosphate biomaterials and bone mineral. Differences in composition, structures and properties"*, Biomaterials, **11**, 13, (1990).
52. Holmes R. E., Buchoz R., and Money, V.; *"Porous Hydroxyapatite as a bone-graft substitute in metaphyseal defects"*. J. Bone, Jt. Surg. **68**, 904-911, (1986).
53. Williams, D. F.; *"The biocompatibility and clinical uses of calcium phosphate ceramics in biocompatibility of tissue analogs"*, **2**, 102, (1990).
54. Lane, J. M., and Sandhu H. S.; *"Current approaches to experiments to experimental bone grafting"*. Orthop. Clin. N. Amer. **18**, 213-225, (1987).
55. Bohr, H., Ravn H. O. and Werner H.; *"The osteogenic effect of bone transplants in rabbits"*, J. Bone Jt. Surg. **50B**, 866-873, (1968).
56. Heiple K. G., Kendrick R. E., Herdon C. H. and Chase S. W.; *"A cortical evaluation of calf bone"*. J. Bone Jt. Surg. **49**, 1119-1127, (1967).
57. LeGeros R., LeGeros J., Daculsi G. and Kjjkowska R.; *"Calcium Phosphate Biomaterials: Preparation, Properties, and biodegradation"*, Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering, **2**, 1430-1440, (1995).
58. Holmes R. E., Buchoz R. W. and Money V.; *"Porous Hydroxyapatite as a bone-graft substitute in metaphyseal defects"*, J. Bone, Jt. Surg. **68**, 904-911, (1986).
59. Holmes R. E., Shors E. C. and Kopchok G.; *"Effect of implant biodegradation rate on bone repair"*, Trans. Soc. Biomat. 16th Ann. Mtg. **13**, 290, (1990).
60. González R., Handal E., Fernández J.; *"Cinetica de transformación del coral a hidroxiapatita"*, (1992), p.127-128.
61. Ricci J., Alexander H., Parsons J., Salsburry R., and Bajpai P.; *"Partially Resorbable Hydroxyapatite-Based Cement for Repair of Bone Defects"*, Ed. Biomedical Engineering: Recent Developments, New York: Pergamon Press; 469-474, (1986).
62. Tanahashi M., Kamiya K., Suzuki T. and Nasu H.; *"Journal of Mater. Science"*, Mater. Med. **3**, **1**, 48-53, (1992).
63. Holmes R. E.; *"Bone regenerations within a coralline hydroxyapatite implant"*, Plast. Reconst. Surg. **63**, 626-633, (1979).
64. Royer A. et al.; *"Stoichiometry of hydroxyapatite: influence on the flexural strength"*, J. Mater. Sci. Materials in Medicine, **4**, 76, (1993).
65. Nery E. B.; *"Bioceramic Implants in Surgically Produced Infrabony Defects"*, J. Period., **46**, 328, (1975).
66. LeGeros R., Parsons J., Daculsi G. and M. Walker M.; *"Significance of the Porosity and Physical Chemistry of Calcium Phosphate Ceramic: Biodegradation-Bioabsorption"*, **523**, 1449, (1988).
67. Royer A. et al *"Stoichiometry of hydroxyapatite: influence on the flexural strength"*, J. Mater. Sci. Materials in Medicine, **4**, 95, (1993).
68. Peelen J. G., Rejda B. V. and De Groot K.; *"Preparation and properties of sintered hydroxiapatite"*, Ceram. Int., **4**, 71, (1978).
69. De Groot K., Klein C. P., Walke J. G. and De Bleick-Hogervorst, J. M.; *"Handbook of bioactive ceramics"*, **2**, 324-325, (1990).
70. Ji H. and Marquis P. M.; *"Biomaterials"*, **14**, 64, (1993).

71. Van Blitterswijk C. A. et al, "*Biomaterials*", **6**, 243, (1985).
72. Williams D. F.; "*Journal of Materials science*". **22**, 3421-3445, (1987).
73. Touloukian Y. S., Powell R. W. and Nicolau M. C.; "*Thermophysical properties of matter*". **10**, 354, (1970).
74. Calderón J. A. et al.; "*Physical Review Letters*". **79**, 5022-5025, (1997).
75. Ziegler G. And Hasselman D. P.; "*Journal of Materials Science*". **16**, 495-503, (1981).