

Procesamiento de espumas para regeneración ósea formadas a partir de hidroxapatita, titanato de calcio y alúmina, y sus propiedades mecánicas y bioactividad

Por
Rosero Alzate Erika Lorena.

Trabajo de grado
Mayo 2019

Ingeniería Biomédica

Tutor
Ing. Marcela Munera
Ing. Adriana Esguerra



Escuela Colombiana de Ingeniería Julio Garavito – Universidad del Rosario
Bogotá, Colombia
2019

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios.

A mis padres y hermanos que han sido mi constante apoyo y mi mayor inspiración, en especial a mi madre que siempre ha confiado en mí y me ha brindado la mano a lo largo de cada paso para levantarme y llegar a cumplir cada meta que me he propuesto y a mi padre, el hombre que más amo en mi vida.

A mis amigos aquellos que estuvieron en ésta etapa de mi vida, los que desde el comienzo me acompañaron y aquellos que llegaron y vivieron conmigo los más duros momentos, gracias por cada risa, lagrima, cada noche trabajando y por las muchas veces en las que siempre tuvieron las palabras indicadas para impulsarme hacia adelante.

A quien estuvo apoyándome durante la mayor parte de la carrera, quien confió en mi aun cuando ni yo lo hacía, gracias por los buenos momentos, siempre pesaran más.

Quien llevo de la nada y sorprendentemente ha permanecido, has sido apoyo, compañía, libertad y principalmente alegría, gracias infinitas.

Finalmente, a Marcela, por permitirme conocer ésta área, enamorarme y apasionarme por ella, por la paciencia y toda la ayuda brindada.

CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	6
1.1	Planteamiento del problema	6
1.2	Objetivos	9
1.2.1	Objetivo general.....	9
1.2.2	Objetivos específicos	9
1.3	Organización del documento.....	9
2	ESTADO DEL ARTE.....	11
2.1	Enfermedades óseas y factores de riesgo	11
2.2	Rellenos óseos y regeneración	13
2.3	Andamios	15
2.3.1	Tipos de andamios	15
2.3.2	Andamios Cerámicos	18
3	MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1.1	Materiales.....	27
3.1.2	Metodología	27

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de materiales sintéticos empleados en injertos	17
Tabla 2. Resumen de los materiales cerámicos más empleados, usos, ventajas y desventajas	21
Tabla 3 . Concentraciones empleadas para la elaboración de los andamios al 0% de estearato de zinc.....	28
Tabla 4. Concentraciones empleadas para la elaboración de los andamios al 5% de estearato de zinc.....	28
Tabla 5. Concentraciones empleadas para la elaboración de los andamios al 10% de estearato de zinc.....	29
Tabla 6. Concentraciones empleadas para la elaboración de los andamios al 15% de estearato de zinc.....	29
Tabla 8. Numero de probetas empleadas para cada tiempo de incubación y concentración de Estearato de Magnesio.	39

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1.a se aprecia el polvo de zirconia estabilizada con itria TZ-3Y de un tamaño promedio de partículas de polvo de 870mm. 1.b mismo cerámico sinterizado y fracturado[c]. ...	19
Ilustración 2. a se aprecia el polvo de alúmina adicionada con magnesia. 2.b Mismo cerámico sinterizado y fracturado[c].	20
Ilustración 3. imágenes SEM de muestra de HA[d].	20
Ilustración 4. Proceso de pesaje y mezcla de los compuestos. En la ilustración 1 a se aprecian los compuestos empleados y separados, en b se pueden ver la mezcla de los compuestos y los materiales utilizados, finalmente en c la separación en 1,5 g del material compuesto obtenido mediante la imagen b.	30
Ilustración 5. Separación de las cuatro diferentes concentraciones en ocho bolsas con 1,5 g cada una.	31
Ilustración 6 Diagrama de flujo del proceso de preparación de las probetas para realizar la compactación. En la ilustración a se encuentran los materiales empleados para esta sección del procedimiento, en las imágenes b y c se aprecia la matriz y los punzones con las concentraciones de alcohol y del compuesto mezcladas y en la imagen d se aprecia la ubicación de los punzones al interior de la matriz, para continuar con el proceso de compactación.	32
Ilustración 7. Proceso de preparación de las probetas para realizar la compactación.	32
Ilustración 8. Diagrama de flujo del proceso de compactación de las probetas.	33
Ilustración 9. Proceso de compactación de las probetas.	34
Ilustración 10. Probetas obtenidas después del proceso de compactación, ilustración 6 a corresponder al 0% de estearato de zinc, la ilustración 6 b al 5%, la 6 c el 10% y finalmente la ilustración 6 d al 15% de concentración.	35
Ilustración 11. Diagrama de flujo del proceso de sinterización de las probetas.	35
Ilustración 12. Rampa de calentamiento del horno para el proceso de sinterización de los scaffolds.	36
Ilustración 13. Proceso de sinterización de las probetas, en a y b se aprecia el horno empleado, en c se pueden observar los recipientes que se emplearon para colocar las probetas al interior de este, en d la ubicación de los andamios en el horno, en la ilustración e las probetas una vez sinterizadas y finalmente en f todas las probetas obtenidas a partir de este proceso.	37
Ilustración 14. Diagrama de flujo del proceso de la prueba de bioactividad, al sumergir las probetas en la solución de Hank.	38
Ilustración 15. Proceso de pruebas de bioactividad. a materiales utilizados, b distribución de la solución de Hank, de la ilustración c a la f se aprecia la colocación de las probetas al interior de dicho medio, g rotulación de los andamios programación de la incubadora, i momento en que esta llega a las condiciones iniciales.	40
Ilustración 16. Proceso empleado para los ensayos mecánicos de las probetas bajo la prueba de micro dureza Vickers.	41
Ilustración 17. Proceso para los ensayos mecánicos, bajo la prueba de dureza de Vickers, con 15 N.	42

1 INTRODUCCIÓN

Los andamios son dispositivos biomédicos que se caracterizan por brindar soporte y facilitar la reproducción celular de tejidos, que por diferentes circunstancias pierden esta capacidad. Existen diferentes factores que juegan un papel importante en la biocompatibilidad de estos dispositivos y en sus propiedades mecánicas, como la porosidad de los scaffolds, las concentraciones de los diferentes compuestos que se empleen para su elaboración, sus condiciones de procesamiento, su microestructura, entre otros. Por lo anterior, en este documento se presenta el trabajo realizado con el fin de estudiar las propiedades mecánicas y bioactividad de andamios cerámicos para regeneración ósea con diferentes porosidades, y la influencia de las concentraciones de los compuestos y factores como temperatura y presión en el procesamiento de los scaffolds.

1.1 Planteamiento del problema

Alrededor de 1,3 millones de personas son sometidas a intervenciones quirúrgicas de implantes óseos cada año en Estados Unidos [1]. Estos implantes tienen su uso en algunos casos donde el cuerpo pierde la capacidad de regenerar el tejido óseo por sí mismo. Existen diferentes causas por las cuales una persona puede ser sometida a dichas intervenciones entre las cuales se encuentran enfermedades genéticas, traumatismos o factores de riesgo como el sobrepeso. Las enfermedades son condiciones que se presentan en la vida, las cuales alteran alguno o varios sistemas y/o tejidos del cuerpo humano [2], por ejemplo las enfermedades autoinmunes hacen referencia alrededor de unos ochenta tipos de patologías que comparten al menos una patogénesis, estas se pueden presentar en cualquier parte del cuerpo y por lo mismo sus síntomas pueden ser variados, por esto los pacientes que padecen algún tipo de enfermedad autoinmune llevan una calidad de vida que se debilita de manera constante [3].

Así mismo existen los factores de riesgo que favorecen o inciden bien sea de manera directa o indirecta en la capacidad de la regeneración ósea, tales como la edad, el tabaquismo, el sedentarismo y la obesidad. Esta última, se ha convertido en un factor de riesgo que puede verse involucrado no sólo enfermedades óseas, sino también en enfermedades cardiovasculares y está

asociado como el factor de defunción que ocasiona más de tres millones de muertes en adultos por año[4].

Por lo anterior, se han buscado soluciones que permitan mejorar la regeneración ósea o reemplazar completamente el tejido sin necesidad de esperar que el cuerpo realice el proceso de regeneración. Entre estas soluciones se ha encontrado los injertos, los cuales son un soporte y guía para la proliferación de las células óseas y de esta manera favorecer el proceso de reconstrucción ósea. Los injertos óseos se diseñaron con el fin de brindar una mayor estabilidad estructural, reducir los tiempos de curación y mejorar la estabilidad a nivel estructural del nuevo tejido óseo [5]. Los injertos pueden ser de hueso o de un material sintético.

Uno de los injertos de materiales sintéticos más usados, que se caracterizan por brindar gran soporte al proceso de regeneración son los scaffolds o andamios. Un scaffold es un injerto elaborados con diferentes materiales, bien sean polímeros, metálicos, cerámicos o compuestos; que permite funciona como soporte para la regeneración ósea. Los materiales cerámicos, se identifican porque son altamente porosos y biodegradables, los cuales se relacionan con las células o las moléculas biológicas con la finalidad de ayudar en la regeneración de los diferentes tejidos [7]. Los scaffolds deben poseer características de biocompatibilidad, biodegradabilidad, propiedades mecánicas fuertes y manejables. Estas características dependen del tejido que se desee regenerar.

En el caso de tejido óseo, estudios precedentes se han enfocado en materiales cerámicos como la hidroxiapatita, el titanato de calcio y la alúmina, debido a que permiten garantizar una mayor proliferación celular y una aceptable relación entre las propiedades mecánicas y la biocompatibilidad de estos. Debido a la estructura interna de los cerámicos, la cual es similar a la del tejido óseo, se emplean no sólo como andamios, sino también como materiales de recubrimiento en implantes óseos, como prótesis de cadera, específicamente para los vástagos al emplear compuestos como el fosfato y titanato de calcio, los cuales permiten conseguir un comportamiento mecánico mayor, así como una mejor osteoconducción y mayor adhesión [8].

En la actualidad, se encuentran limitantes en el desarrollo de los andamios principalmente por el equilibrio entre la cuantificación de la proliferación celular y las funciones mecánicas de éstos, debido a que es difícil determinar la arquitectura porosa de los scaffolds, factor importante en la determinación de estas dos propiedades mencionadas anteriormente.

Es por esta razón que se emplean diferentes materiales cerámicos, que al mezclarse permiten mezclar estas propiedades y mejorarlas al variar las concentraciones. Entre los cerámicos más empleados está la hidroxiapatita, la alúmina, el titanato de calcio e incluso el titanato de zinc. La hidroxiapatita se emplea debido a que es una molécula inorgánica que se encuentra fácilmente, dado que su composición es en base a tres moléculas de fosfato de calcio y una de hidróxido de calcio, aporta buena fuerza y rigidez [9]. Por otra parte, la alúmina ha resultado ser un biomaterial que presenta excelente resistencia a la fatiga, al impacto y resistencia dinámica [10]. En los últimos años se ha comenzado a despertar un interés especial en el titanato de zinc que, debido a su estructura, se ha encontrado que posee un gran potencial para ser empleado en diferentes aplicaciones. Este material permite ser empleado como cerámico dieléctrico de microondas y permite ser sinterizado a bajas temperaturas. Debido a la introducción de aditivos a los procesos de elaboración o incluso a la calcinación del compuesto, las transiciones de fase son demasiado complejas. Sin embargo, en aplicaciones ópticas se ha empleado con importantes resultados[11]. Finalmente, el titanato de calcio presenta diferentes propiedades que lo caracterizan, con un alto potencial de reducción y un bajo potencial oxidativo. Además este material es un superconductor, lo cual permite que sea un biomaterial que produce hidrogeno, mediante el proceso de disociación foto-catalítica del agua[12].

Además de los limitantes en las relaciones de las concentraciones para manejar la porosidad del material, es necesario tener en cuenta que existen varios factores que influyen tanto en la bioactividad, como en la biocompatibilidad y en las propiedades mecánicas de los andamios. Por ejemplo, los materiales que se emplean, las diferentes concentraciones de los mismo, los procesos de elaboración de los andamios, las presiones de compactación y temperatura durante la elaboración, entre otras, pueden afectar dichas propiedades. Mediante esta investigación, se pretende analizar cómo se relacionan las propiedades mecánicas y la bioactividad de andamios cerámicos al variar su porosidad. Con este fin, se varía las concentraciones de estearato de magnesio del 0%, 5%, 10% y 15% como agente espumante en la fabricación de los scaffolds, manteniendo la relación global del 50% alúmina y 50% el compuesto entre titanato de calcio e hidroxiapatita, en donde esta combinación por su parte maneja una correspondencia del 75% y el 25% respectivamente. Para este estudio, tanto la presión de compactación como la temperatura de sinterizado se mantuvieron estables.

1.2 Objetivos

Por medio de esta investigación, se planteó el siguiente objetivo general, el cual se buscó resolver al establecer los objetivos específicos que se pueden apreciar a continuación:

1.2.1 Objetivo general

Análisis del efecto del porcentaje estearato de magnesio en la morfología superficial, bioactividad y tenacidad de compuestos de hidroxiapatita, titanato de calcio y alúmina para regeneración ósea, con respecto a su composición y características de procesamiento.

1.2.2 Objetivos específicos

1. Desarrollar los scaffolds con los diferentes porcentajes de estearato de magnesio como agente espumante.
2. Analizar la relación existente entre la porosidad y las tenacidades a la fractura de los andamios
3. Estudiar la relación entre la porosidad y la bioactividad de los andamios.
4. Identificar como las condiciones de procesamiento, es decir, la temperatura y la presión influyen en las propiedades mecánicas y la bioactividad de las espumas.

1.3 Organización del documento

El presente documento se dividió en siete principales capítulos, el primero de estos, corresponde a la introducción en donde se encuentra en primera instancia el planteamiento del problema que se buscó resolver mediante la investigación, posteriormente los objetivos que se trazaron para abarcar dicha problemática y la organización del documento. El segundo capítulo corresponde al estado del arte, en donde se establecen todos los conceptos requeridos para comprender el problema y la solución que se planteó para este. En este estado del arte inicialmente se exponen aquellas enfermedades, factores de riesgo o traumatismos que llevan a requerir la utilización de los andamios. Posteriormente, se dan a conocer los tipos de injertos, los materiales que se

emplean para estos y principalmente los scaffolds cerámicos, dado que estos fueron los que se desarrollaron. Para cerrar este capítulo se presentan las pruebas mecánicas que se suelen emplear para la caracterización mecánica de los andamios cerámicos.

En el tercer capítulo se presentan tanto los materiales, como los métodos que se emplearon en el desarrollo de la investigación, presentando inicialmente el proceso que se empleó para la elaboración de los scaffolds, como también la manera en que se ejecutó la caracterización mecánica, el ensayo de bioactividad y la caracterización usando Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, por su nombre en inglés *Scanning Electron Microscope*).

En el capítulo cuatro se aprecian los resultados obtenidos en este estudio y que son discutidos en el capítulo cinco. Seguido a éste, en el capítulo seis se presentan las conclusiones a las cuales se llegó a partir de la sección anterior. En el capítulo siete se plantean los trabajos futuros que se desarrollarán a partir los resultados obtenidos. Finalmente, se presenta la bibliografía que se utilizó a lo largo del documento.

2 ESTADO DEL ARTE

En este capítulo se presentan las diversas causas por las cuales actualmente se pueden requerir scaffolds para la regeneración ósea, así como dar a conocer los tipos de andamios, con una descripción más detallada de los andamios cerámicos. Finalmente se describen los métodos de fabricación de estos andamios, las propiedades mecánicas que se buscan en estos implantes y las técnicas de caracterización usadas para medir estas propiedades.

2.1 Enfermedades óseas y factores de riesgo

En la actualidad se encuentran diversas patologías óseas, las cuales influyen de manera directa en la calidad de vida de la población que las padece. Estas se pueden presentar por diversas causas, entre las cuales se encuentran enfermedades óseas, diferentes factores de riesgo y trauma.

Según la OMS las enfermedades se definen como la alteración o modificación del estado fisiológico bien sea en una parte en específico o en varias partes del cuerpo, que por lo general van ligadas con síntomas o signos que caracterizan y permiten la identificación y determinación de estas, además que poseen una evolución previsible en la mayoría de los casos [13]. Entre las enfermedades que más afectan el sistema óseo, se encuentran las patologías genéticas y los trastornos hormonales.

Con respecto a aquellas patologías relacionadas con alteraciones genéticas, se conoce actualmente que la principal es el cáncer. En el año 2018 la Sociedad Americana Contra el Cáncer determinó que se diagnostican alrededor de 3.450 casos nuevos, y de estos, los casos de cáncer primario representan el 0,2%. En la edad adulta el 40 % de los cánceres de hueso son condrosarcomas, el 28% son osteosarcomas, el 10% cordones, los tumores de Ewing el 8 %, y finalmente, fibrosarcomas con un 4%. El porcentaje restante representa los tumores de huesos poco comunes. Mientras que en niños y en adolescentes se presentan con un 56% osteosarcomas, 34% los tumores de Ewing y el condrosarcomas un 6% [15].

Por otro lado los trastornos hormonales, los cuales pertenecen a la categoría de enfermedades, son alteraciones en la liberación o producción de diferentes hormonas, los traumas o, incluso, como consecuencia de algún factor de riesgo, como el sobre peso [16]. Los trastornos

hormonales pueden intervenir en enfermedades cancerígenas por ejemplo, dado que se presenta una sobre expresión de los oncogenes, mientras que al mismo tiempo los genes supresores de tumores se disminuyen de manera considerable, lo cual favorece a la carcinogénesis[17]. Por ejemplo, los trastornos hormonales son la principal causa de los cánceres bucales, lo cual puede resultar en una intervención quirúrgica con el fin de retirar el tejido óseo afectado e introduciendo algún tipo de injerto óseo que favorezca a la reconstrucción de éste.

Por otro lado, la OMS establece que un factor de riesgo puede bien ser un rasgo, una característica e incluso una exposición que haga o permita que una persona sufra una enfermedad o lesión, entre estos se encuentra el consumo de tabaco, alcohol, la edad e incluso el sobre peso, entre otros [14]. Los factores de riesgo que más se relacionan con enfermedades óseas son la obesidad y la edad.

El sobre peso se caracteriza por afectar directamente de forma negativa a las personas que padecen alguna enfermedad ósea degenerativa que produzca un desgaste prematuro en las articulaciones e incluso en la columna vertebral. El sobrepeso puede incrementar la probabilidad de presentar dicho desgaste. En la actualidad se conoce que alrededor de un 53% de personas con sobrepeso, tienen alguna enfermedad ósea [18]. Para el año 2017 se estimó que un tercio de la población mundial padecía de sobrepeso, cifra que va en aumento. Desde 1980 el número de personas que sufren de este factor de riesgo se ha duplicado a nivel mundial y este aumento ha influido en un sin fin de enfermedades óseas que se presentan a raíz de dicho factor, las cuales muchas veces no sólo afectan la calidad de vida de las personas, sino que incluso puede causar la muerte [19].

La edad por su parte puede aumentar el desarrollo de diferentes enfermedades óseas como lo son la osteomielitis, osteoporosis, la artrosis y la artritis, estas patologías están ligadas bien sea a la inflamación y desgaste de las articulaciones, como a las disminuciones del tejido óseo de los que las padecen. Se estima que una de cada 200 personas padecen de alguna de estas enfermedades óseas y aunque la mayor incidencia se ve en las mujeres desde los 64 años de edad, también se presenta en adultos desde los 25 años [20].

Por último, los traumas representan una causa importante de daño óseo, por la cual cada vez más población mundial requiere de injertos óseos [21]. Entre los defectos que se producen por este motivo se encuentran las fracturas, las luxaciones, los esguinces y aquellos que se generan por

someter al sistema óseo a esfuerzos repetitivos, como lo hacen los deportistas de alto rendimiento.

Las fracturas se definen como la discontinuidad total o parcial del hueso, las luxaciones, son los desplazamientos del hueso fuera de las cavidades articulares; y finalmente, los esguinces, son la separación de las articulaciones. Estos últimos pueden variar en tres grados, los cuales definen la separación y gravedad de la lesión, siendo el grado tres el de mayor peligro [22]. Además de estas, se tienen aquellas lesiones las cuales se presenta con mayor regularidad en deportistas de resistencia que son las fracturas por tensión. Estas fracturas se presentan debido a la presencia de una fisura ósea, a causa de la tensión repetitiva a la cual se somete el hueso. Aunque es necesario tener en cuenta que este tipo de lesiones son diferentes a las que se presentan por traumas de impacto [23]. Se estima que alrededor del 10% de las muestras que se registran anualmente a nivel mundial, son el resultado de algún tipo de traumatismo, lo cual implica que aproximadamente 5,8 millones de personas fallecen por esta causa, sin embargo, no se tienen cifras exactas de cuantas personas presentan un trauma que afecte al sistema óseo.

Estos son sólo algunos de los factores, enfermedades o causas por los cuales el estado y la función ósea se ve afectada. En el instante en que el cuerpo no es capaz de regenerar los defectos óseos que padece, debido a alguna de las causas mencionadas anteriormente, puede resultar de gran ayuda el insertar alguna estructura biocompatible, la cual permita soportar las consecuencias producidas debido a dicho defecto, aportando tanto las propiedades mecánicas, como biológicas necesarias, de manera temporal para favorecer la regeneración del tejido dañado [24].

2.2 Rellenos óseos y regeneración

Los rellenos óseos están diseñados con el fin de cumplir funciones mecánicas y biológicas, además de brindar una guía para la regeneración ósea. En su mayoría los rellenos óseos buscan brindar un soporte bien sea temporal o permanente al sistema donde son implantados [25]. En la interfaz entre el injerto-hueso y el entorno se presenta una relación que involucra varias características como lo son la vascularización, la osteogénesis, la osteoconducción y la

osteoinducción, las cuales influyen bien sea de manera positiva o negativa en la biocompatibilidad del relleno y en las propiedades mecánicas de éste.

Otro tipo de rellenos óseos son los cementos, estos son materiales poliméricos que se emplean con el objetivo de favorecer y mejorar la fijación de prótesis metálicas, este método se caracteriza porque posee altos calores de reacción, así como contenido de monómeros residual elevado, por lo cual se presenta ocasionalmente el aflojamiento de la prótesis[b].

Para garantizar una adecuada regeneración ósea, es necesario tener en cuenta las características mencionadas anteriormente. Por ejemplo la vascularización va ligada con la bioactividad, entre mayor vascularización se presente, se garantiza que existirá una mayor regeneración del tejido óseo [26]. Por otra parte, la osteogénesis se define como la formación del hueso, pero sólo los injertos autólogos se unen e inician el proceso de creación del hueso de manera inmediata, desde su implantación. Mientras que la osteoconducción hace referencia a la capacidad del injerto para permitir que el tejido óseo crezca a partir de los márgenes del defecto óseo presentado. Finalmente, la osteoinducción es la propiedad de un material para provocar que las células indiferenciadas se conviertan en osteoblastos, mediante una transformación fenotípica de estas[27].

Además de esto, hay algunos factores que se involucran con los resultados postoperatorios entre los cuales se encuentran las técnicas de conservación de los implantes, las situaciones del entorno tanto locales, como sistémicas, los procedimientos de inserción de los injertos o rellenos y las propiedades mecánicas de los mismos. Por su parte, las técnicas de conservación se trabajan en dependencia de las necesidades de los pacientes, bien puede necesitarse que el injerto tenga una vida útil prolongada, como también hay casos en donde se busca que exista una desintegración controlada del mismo. Para cada paciente y punto de implantación es un caso específico. Los factores tanto locales como sistémicos se relacionan con la facilidad de desencadenar un rechazo del cuerpo ante el relleno o injerto o, por el contrario, una excelente biocompatibilidad de este, debido a alguna enfermedad o a que el cuerpo reaccione de manera negativa ante la presencia de estos. Finalmente, las propiedades mecánicas, las cuales dependen de la morfología del injerto empleado, como también de los materiales empleados en el andamio, son factores importantes debido a que estas propiedades se relacionan con la porosidad de los

scaffolds, lo cual mantiene una relación directamente proporcional tanto a los compuestos empleados y a sus concentraciones, como a las técnicas de procesamiento [26].

2.3 Andamios

Aquellas estructuras que se colocan al presentar alguna alteración ósea para favorecer la regeneración del tejido afectado se conocen como andamios o scaffolds. El objetivo de estos es brindar un soporte y dar una guía para que las células puedan proliferar, diferenciarse y crear matriz extracelular en su interfaz. La estructura de los scaffolds se diseña basado en las necesidades del lugar del implante, teniendo en cuenta el sistema con el que este interactúa y las propiedades individuales del tejido residente, así como el material con el cual se desarrollará [28]. Con los andamios se busca garantizar un óptimo funcionamiento, biocompatibilidad, bioactividad, características mecánicas necesarias, con el fin de evitar desgastes en el implante o que se presente incluso osteopenia en el tejido óseo circundante. Estas características deben mejorarse sin disminuir la capacidad de obtener propiedades mecánicas adecuadas en la interfaz hueso-injerto, pero asegurándose de que se presente la proliferación ósea, la cual es el objetivo fundamental de la utilización de estos [26].

2.3.1 Tipos de andamios

Entre los injertos, se encuentran principalmente dos clases, los injertos de hueso y los sintéticos, entre esta última, se encuentran los polímeros, metales, cerámicos y compuestos. Entre los tipos de injertos de hueso están los autólogos, aloinjertos, isoinjertos y heterólogos.

Los autoinjertos son aquellos se realizan mediante tejido que se extrae directamente del paciente y que funciona al igual que un andamio de otro material brindando soporte y mejorando la proliferación de las células [29]. Entre las principales ventajas de este tipo de injertos, está la alta biocompatibilidad, debido a la manera de adquisición, además de esto reduce a casi nula la posibilidad de transmisión de alguna enfermedad, así como la generación de estas[30]. Mientras que entre sus principales desventajas esta la gran pérdida que puede exponerse a los pacientes durante los procedimientos, además de esto es necesario analizar detalladamente las propiedades

mecánicas del autoinjerto y la función que se espera este cumpla, dado que si no se tienen en cuenta estas características es posible que se presenten problemas de adaptación de este al sistema, aun cuando el injerto sea tomado del mismo sujeto[31].

Los aloinjertos, son tejidos que se adquieren de otra persona que no tiene una relación genética con el paciente a quien se le implanta; los isoinjertos, son aquellos en los cuales si debe existir una relación genética entre el individuo receptor y emisor; y finalmente, los injertos heterólogos, los cuales toman tejido de otra especie, sin embargo, en la actualidad no son permitidos debido a que presentan gran antigenicidad [6].

Entre los materiales que se emplean para scaffolds se encuentran los polímeros, metálicos, compuestos y cerámicos. Se han realizado varias investigaciones acerca de andamios poliméricos, por ejemplo, aplicados para casos en los que se presenten defectos óseos críticos, con el objetivo de sustituir temporalmente la matriz del hueso y así ayudar a la regeneración ósea del tejido. Sin embargo, además de brindar un soporte físico, estos se caracterizaron porque permiten la liberación de factores de crecimiento [15].

Los materiales poliméricos se emplean debido a que poseen dos características importantes sobre otros biomateriales, la primera es la alta versatilidad que tienen y la segunda es la facilidad de procesamiento. Esto se debe a que permiten manejar y modificar la estructura interna resultante [32]. Por ejemplo, en los últimos años se han estudiado materiales compuestos a partir de poliácido L-láctico (PLLA) biodegradable, poliglicólico ácido (PGA) y poliácido DL-láctico-co-glicólico (PLGA), con células sembradas en estos para realizar andamios que permita regenerar y al mismo tiempo brinde el soporte mecánico necesario [28]. Sin embargo, la gran desventaja que presenta este biomaterial es la biocompatibilidad y respuesta inmune que el cuerpo pueda generar [33]. Esto se debe a que la biocompatibilidad de los polímeros, así como su capacidad de biodegradación está directamente ligada a la química propia de cada material, su peso molecular, a la solubilidad que pueda tener o no tener, a su estructura y morfología, si es un material hidrofóbico o hidrofílico, la absorción del agua y sus mecanismos de erosión. Propiedades individuales de cada polímero y que hacen que sean. o no. más favorables en el área de la medicina, como material de implantes o injertos [34].

Otro material que se emplea para el diseño de andamios, son los metales. Anteriormente se consideraba que los biomateriales debían caracterizarse por su alta resistencia a la corrosión, pero en la actualidad se han desarrollado implantes que permiten modificar su biodegradabilidad

en función a la necesidad de los pacientes, con el fin de proporcionar el soporte mecánico temporal que pueda requerir y biodegradarse en partículas que el cuerpo pueda metabolizar [35]. Por esto mismo se han empleado aleaciones entre hierro y magnesio, las cuales permiten esta importante característica de biodegradación y al mismo tiempo poseen una vida útil amplia entre los 12 y los 24 meses [36]. Sin embargo, entre las desventajas se encuentra la biocompatibilidad a largo plazo, sobre todo con las aleaciones de magnesio, además de los productos generados por la corrosión y sus efectos sistémicos [37].

Los materiales compuestos surgen debido a la necesidad de reproducir las funciones biológicas de los tejidos y dado a que con materiales específicos no se consigue la aproximación deseada. Se han realizado diferentes uniones las cuales permiten mimetizar los tejidos biológicos de mejor manera al mezclar diferentes materiales, dado que mientras que un material permite obtener las propiedades mecánicas, otro favorece la biocompatibilidad, bioactividad y osteoconducción, como también permite manejar tanto la porosidad, como la tenacidad y la biodegradabilidad de los mismos [38].

En la Tabla 1, se pueden apreciar los materiales empleados para los andamios en la actualidad, así como los compuestos más usados de estos, sus aplicaciones, principales ventajas y desventajas. Se debe tener en cuenta que no se agregan en esta tabla los cerámicos, dado que, al ser el material empleado en el desarrollo de estos andamios, más adelante se dará una explicación más detallada de este.

Tabla 1. Resumen de materiales sintéticos empleados en injertos

<i>Materiales de andamios</i>	<i>Compuestos más usados</i>	<i>Aplicaciones</i>	<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
<i>Polímeros</i>	PLLA PGA PLGA [28]	Liberación controlada de fármacos[39].	de versátiles, buenas propiedades mecánicas[40].	No es empleable como material de relleno, debido a que presenta citotoxicidad[41].
<i>Metálicos</i>	Aluminio Hierro Zinc Titanio	Prótesis de cadera, injertos óseos, stent[43].	Alta resistencia, buena capacidad de conducción. El titanio buena	Biocompatibilidad, respuesta del huésped. No se presenta unión

Compuestos	Cobre[42]		resistencia a la corrosión[44].	entre el hueso y el injerto[42].
	Polímeros- Metales Polímero- Polímero Cerámicos- Metales Cerámicos - Polímeros[45]	Recubrimiento de prótesis, interfaz entre tejido-injerto. Andamios[46].	Buenas propiedades mecánicas, disminuye fricción en la interfaz tejido-implante, baja corrosión. Mayor biocompatibilidad[47],[48].	Es necesario trabajar con cada uno de los compuestos de manera individual, para determinar de manera exacta que propiedades resaltar de cada material[49].

Finalmente, los andamios cerámicos se caracterizan principalmente porque poseen buenas propiedades mecánicas y una composición similar al tejido óseo, tanto químicamente como estructuralmente. Se conoce en la actualidad que los materiales cerámicos favorecen y potencializan la diferenciación y proliferación de los osteoblastos, favoreciendo la biocompatibilidad y osteoconducción. Por esta razón, se decidió emplear los materiales cerámicos en la elaboración de los andamios de esta investigación. A continuación, se presenta con mayor detalle la información de estos materiales.

2.3.2 Andamios Cerámicos

Los materiales cerámicos presentan una rigidez alta y muy baja elasticidad, pueden poseer una superficie dura, pero tienen tendencia a ser frágiles. Estos materiales poseen una alta biocompatibilidad con los tejidos óseos, debido a que es el material que posee mayor similitud con dicho tejido, además de esto se conoce en la actualidad que los materiales cerámicos favorecen y potencializan la diferenciación y proliferación de los osteoblastos.

Estos materiales se emplean ampliamente en cirugías dentales y en ortopedia no sólo como scaffolds, sino también como rellenos óseos y recubrimientos para prótesis de cadera, entre otras aplicaciones [50],[51].

Las aplicaciones más comunes de los biocerámicos se encuentran en la odontología, al ser empleados en cirugías dentales, como implantes, pero también se utilizan ampliamente como scaffolds en procedimientos de cirugía maxilofacial. También se emplean con regularidad como material para recubrir prótesis, como por ejemplo en los implantes de cadera, debido a que permite una mejor interfaz injerto-hueso y de esta manera evitar situaciones como la osteopenia[8], en donde se produce una degeneración del hueso debido a que la prótesis tiene una mayor rigidez que el tejido óseo, lo que se logra evitar al emplear los materiales cerámicos.

Entre los cerámicos más empleados en el área de la salud oral, se encuentra la zirconia y la alúmina, los cuales se describen con más detalle en Tabla 2, sin embargo a continuación se presentan cada una de estas mediante SEM.

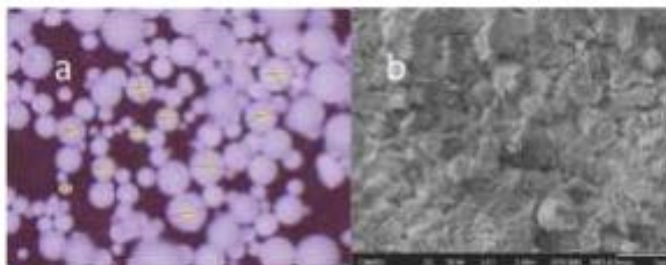


Ilustración 1.a se aprecia el polvo de zirconia estabilizada con itria TZ-3Y de un tamaño promedio de partículas de polvo de 870nm. 1.b mismo cerámico sinterizado y fracturado[c].

En la actualidad se emplea la zirconia como remplazo de materiales metálicos, como recubrimientos de incluso otros cerámicos [c]. A partir de la Ilustración 1 se aprecia como los granos presentan una morfología esférica, notablemente definida, así como, organización en la distribución de estos.

Otro cerámico utilizado ampliamente es la alúmina, en la Ilustración 2 se puede apreciar su estructura, aunque es necesario tener en cuenta, que como se describe en el rotulo de la ilustración, aquí no se encuentra únicamente este compuesto.

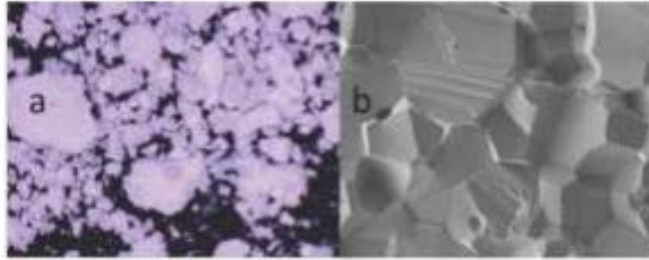


Ilustración 2. a se aprecia el polvo de alúmina adicionada con magnesio. 2.b Mismo cerámico sinterizado y fracturado[c].

Por su parte la alúmina se emplea como prótesis fija, por ejemplo, como coronas dentales, mediante la Ilustración 2, es posible apreciar que presenta una distribución aleatoria de los granos, así como algo de rugosidad superficial de estos [c].

Además de estos, la hidroxiapatita es empleada en odontología, ortopedia y cirugía maxilofacial, se caracteriza por la alta dureza y excelente biocompatibilidad, dado que es el principal compuesto de los huesos. En la Ilustración 3 se puede apreciar esta mediante SEM, para ser empleada como sustituto óseo[d].

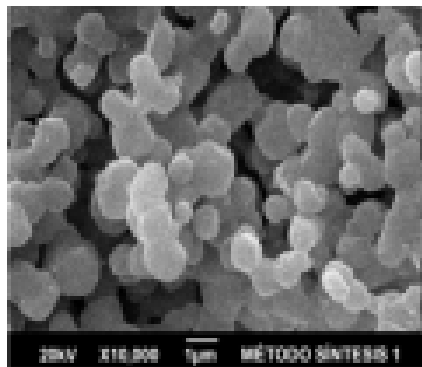


Ilustración 3. imágenes SEM de muestra de HA[d].

En la Ilustración 3, se aprecia mediante SEM los granos de hidroxiapatita, los cuales presentan una morfología definida, así como gran rugosidad superficial, lo cual favorece el proceso de osteointegración.

Es bien sabido, que la relación entre la porosidad, el tamaño de los poros y los materiales empleados en la elaboración de los andamios influyen en la osteogénesis y en las propiedades mecánicas de los mismos, sin embargo, mediante estudios se ha encontrado que no se obtienen por lo general los mismos resultados invitro, que invivo. Mientras que por medio de las pruebas invitro se ha observado que ha mayor porosidad se obtiene una mayor osteogénesis, invitro es a menor número de poros se produce una agregación celular mayor, en ambos casos las

propiedades mecánicas están ligadas tanto al tamaño del poro, como a la porosidad misma de los andamios, es por esto por lo que se ha buscado trabajar con estas características con el fin de encontrar un equilibrio entre la bioactividad y las propiedades mecánicas de estos [52].

Pero los andamios cerámicos, actualmente brindan más allá de un soporte para la regeneración ósea, si bien este es el principal uso que se les dé, también se han venido desarrollando y elaborando con la finalidad de almacenar desde factores de crecimiento, medicamentos e incluso células madres, lo que abre el campo de utilización de los scaffolds cerámicos, para ser empleados incluso como liberadores controlados de fármacos[53].

En la actualidad se han desarrollado varios estudios de andamios cerámicos, empleados no sólo para recubrimiento o para favorecer la regeneración ósea, sino incluso empleados como liberadores de fármacos, debido a su excelente biocompatibilidad, así como también se ha estudiado los procesos de elaboración con el fin de mejorar las propiedades mencionadas previamente en este documento[54].

2.3.2.1. Materiales cerámicos usados en scaffolds

Entre los materiales cerámicos, los que se emplean con mayor regularidad se encuentran en la Tabla 2, en donde se pueden apreciar que la hidroxiapatita y la alúmina son los compuestos que se utilizan, además los vitrocerámicos y el zirconio, debido a sus ventajas y propiedades. Por ejemplo, el fosfato de calcio se caracteriza por ser un excelente sustituto óseo, debido a que posee una similitud con la fase mineral del hueso. Sin embargo, las características actuales de los fosfatos de calcio no tienen aún un comportamiento igualable al de los autoinjertos[67] .

Tabla 2. Resumen de los materiales cerámicos más empleados, usos, ventajas y desventajas

<i>Materiales cerámicos más usados</i>	<i>Aplicaciones</i>	<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
<i>Alúmina</i>	Prótesis articulares[55]	Excelente porosidad[56], dureza y	Frágil[55]

<i>Zirconio</i>	Implantes dentales[58]	baja fricción[57] Alta estabilidad química, su gran resistencia mecánica a la flexión[59]. Excelente tenacidad[60]. Buena biocompatibilidad[61].	Costos de procesamiento, difícil producción[62].
<i>Vitrocerámicos</i>	Prótesis óseas, implantes quirúrgicos[63]	Alta reactividad ósea, buena bioactividad y biocompatibilidad[64].	Bajas propiedades mecánicas[65]
<i>Hidroxiapatita</i>	Recubrimiento de prótesis. sustitutos óseos, cirugías reconstructivas[66].	Estabilidad y biocompatibilidad[67], su elasticidad y su resistencia y dureza[68].	Posible rechazo por el receptor[44].

Entre los más utilizados, el más conocido y utilizado es la hidroxiapatita. La hidroxiapatita es un fosfato de calcio y es el principal mineral de los huesos de los mamíferos. Dependiendo de la obtención de la hidroxiapatita se pueden obtener diferentes estructuras. En la actualidad es posible encontrarla con una estructura lo suficientemente similar a la del tejido óseo, por lo cual se caracteriza por tener una buena osteoconductividad, lo que implica que el tejido circundante pueda pasar a través del andamio y así conseguir el proceso de osificación del material[44]. Además, la hidroxiapatita se relaciona con la osteogénesis dado que permite que los osteoblastos y osteocitos produzcan resistencia, gracias a la acumulación del cristal formado que por lo general está alrededor del 70% de biomasa en el hueso [10]

La alúmina por su parte, también se utiliza mucho en la ingeniería de tejidos, debido a que se caracteriza por su alta resistencia al crecimiento de la fractura subcrítica, es decir, que es un

material que permite mejorar las propiedades mecánicas de los implantes, en este caso para los scaffolds [11].

Así mismo se han trabajado en los últimos años con los materiales compuestos por biovidrios y cerámicos, que, si bien se emplean como rellenos óseos y soportes para mejorar y favorecer la regeneración debido a defectos óseos, también se han comenzado a utilizar como liberadores de iones, buscando mejorar las respuestas angiogénicas y osteogénicas del tejido [69]. Por ejemplo, una técnica novedosa de elaboración de andamios 3D, es mediante la replicación utilizando el polvo 45S5 Bioglass, con la cual se consiguió que los scaffolds presentaran un aumento en la resistencia tanto en flexión, como en compresión, sin embargo los principales hallazgos que se encontraron bajo esta técnica fueron el buen soporte mecánico que proporciona al sistema, aunque es necesario tener en cuenta que dicho soporte es temporal, únicamente se produce mientras exista bioactividad, una vez esta termine, inicia un proceso de biodegradación después de haberse adaptado. Se debe aclarar que estos resultados se obtuvieron invitro, posteriormente a haber sumergido a los andamios durante 28 días, en una solución que simula el cuerpo [54],[63].

Finalmente se ha conseguido mediante un material compuesto por polímeros y cerámicos, unos andamios que al contener este primer material permite una biodegradación controlada, empleando al cerámico como la matriz de los scaffolds y así obtener una liberación de fármacos la cual se adapta al material de la matriz[70].

2.3.2.2. Técnicas de procesamiento de andamios cerámicos

Existen diferentes métodos de procesamiento de polvos cerámicos, en cuyos procesos de obtención se pueden presentar fenómenos como la formación de poros debido a diferentes mecanismos difusivos y de cambio de fase que se generan en el transcurso de la operación. Dentro de el procedimiento que se llevó a cabo para la obtención de los scaffolds se identifican dos causantes principales de la presencia de poros, el estearato de magnesio y el escape brusco de agua en forma de vapor. Mediante el primer método mencionado anteriormente, debido a la reacción química que se presenta en el proceso de sinterización, mientras que en el segundo por el brusco cambio de temperatura, el sustrato en estado líquido al interior de la estructura cambia

rápidamente a fase gaseosa y en su trayecto hacia la zona superficial forma cavidades en forma de poros.

Por otra parte, hay métodos de fabricación de forma libre sólida (SFF) por los cuales se pueden diseñar andamios no sólo con materiales cerámicos, también con polímeros y materiales biológicos tanto reabsorbibles, como bioabsorbibles, mediante esta técnica se pueden fabricar andamios con porosidad interna y global controlada y diseñada, lo cual resulta en arquitecturas que imitan de manera óptima la estructura de los tejidos y así mejorar la interfaz entre el andamio y los tejidos, en el caso de los materiales cerámicos mejorando la reproducción celular y con esto, la regeneración ósea [71].

Otra técnica para el desarrollo de andamiajes de porosidad controlada es mediante modelado por deposición fundida, un estudio reciente con materiales compuestos de polímero y cerámicos, busco analizar cómo mejorar el suministro de sangre, oxígeno y nutrientes, con el objetivo de favorecer el crecimiento de células ósea más saludables, obteniendo bajo pruebas invitro una buena reproducción celular en las dos primeras semanas y una excelente resistencia a la compactación cuando los andamios tienen una porosidad del 36 % [72]. Comprobando así, como se mencionó anteriormente que no la mayor porosidad presenta los mejores resultados debido a que debe buscarse siempre un equilibrio entre las propiedades.

Sin embargo, la técnica de fabricación de andamios 3D bajo prototipado rápido no es de las más favorables en la vida real, debido a que mediante este proceso de elaboración los scaffolds pierden resistencia mecánica, además de esto los canales interconectados disminuyen, así como la porosidad controlada e incluso la distribución de los mismos y aunque no es necesario tener gran número de poros en los andamios, para garantizar que los andamios permitan la regeneración ósea, si es necesaria, para garantizar la vascularización, necesaria para una buena bioactividad y biocompatibilidad [73].

Como también se han desarrollado técnicas de impresión tridimensional que han resultado brindar una buena alternativa para los procesos de elaboración de andamios cerámicos, unos de estos procesos permite realizar scaffolds a medida, para la reparación de defectos óseos, bien sean causados por enfermedades o por algún tipo de traumatismo, este estudio revelo que es

posible obtener dichos soportes con cadenas de poros en tres canales, los cuales poseen una interconexión total y de esta manera brindar una mayor bioactividad de las células ósea [74].

2.3.2.3. Caracterización mecánica

Los andamios cerámicos son materiales con mayor fragilidad, lo que dificulta el uso de pruebas convencionales ya que estas pueden hacer uso de mordazas o puntos de apoyo que pueden generar un agrietamiento del material debido a una carga local y no al ensayo en sí mismo. Este es el caso, por ejemplo de la indentación, donde para los andamios metálicos, es más fácil debido a que a diferencia de los cerámicos, los metales no son frágiles y soportan mayores indentaciones, con cargas más elevadas, que permiten tener un mayor conocimiento de las características del material [76].

En los materiales cerámicos, se pueden aplicar diferentes pruebas con el objetivo de medir las propiedades mecánicas de los andamios, desde pruebas para medir la resistencia a la comprensión y flexión, así como la dureza, la absorción de energía ante la falla e incluso la tenacidad [75].

Para calcular cada una de éstas propiedades se tiene un proceso diferente, en el cual es necesario tener en cuenta todos los procesos de elaboración de los andamios, así como los materiales empleados, debido a que cada una de éstas características mecánicas van a variar en base a esto. Es decir, aunque los andamios se elaboren con los mismos materiales cerámicos, si se modifican las concentraciones, la porosidad cambiara o si se cambia la temperatura de sinterización o la presión de compactación, lo que implica una modificación en la estructura interna de los scaffolds.

Para el análisis de los andamios elaborados se emplea un ensayo de dureza, el cual permite evaluar y determinar la resistencia de los scaffolds ante la deformación permanente, dado que se realiza una penetración de otro material más duro. Algunas de las características que se deben tener en cuenta es la carga del penetrador, el tiempo de carga y la geometría del penetrador. La dureza se cuantifica al medir la profundidad de la penetración o al medir la impresión que queda

posterior a la penetración. Este es uno de los ensayos más empleados debido a que permite abarcar grandes rangos de carga, además permite realizar ensayos tanto de micro dureza, como de macro dureza[77].

Específicamente se empleó el ensayo de dureza por Vickers, debido a que se puede emplear tanto en macro durezas, como en micro durezas, que en este caso era lo que se quería determinar. Por medio de este ensayo se determina la dureza al medir las longitudes diagonales que se causan por el nanoindentador, que en este caso es piramidal de diamante, mediante el tamaño de las diagonales de penetración se lee de manera óptica, estableciendo el valor bien sea en tablas o mediante ecuaciones [78].

3 MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se describen los materiales empleados en la elaboración de los andamios, así como el proceso de manufactura de las espumas cerámicas. Además, se realiza una descripción del proceso de determinación de las propiedades mecánicas y de bioactividad que se emplearon para analizar los scaffolds cerámicos, con el fin de determinar la relación entre las propiedades mencionadas anteriormente en este documento.

3.1.1 Materiales

Los materiales que se emplearon para la manufactura de los andamios fueron la hidroxiapatita, titanato de calcio y alúmina. La hidroxiapatita ($\text{HCa}_{10}(\text{PO}_3)_6(\text{OH})_2$), el estearato de magnesio $\text{Mg}(\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O}_2)_2$ y finalmente la alúmina α (Al_2O_3), todos en estado pulverizado.

3.1.2 Metodología

En esta sección se describen los procesos que se emplearon desde la determinación de los compuestos a emplear, sus concentraciones, la elaboración de los andamios y los ensayos empleados para determinar las propiedades que obtuvieron los scaffolds cerámicos después de las pruebas de dureza y el análisis de la bioactividad de estos.

5.1.2.1. Composición de los scaffolds

Como se mencionó en el primer capítulo, el objetivo de este estudio busca analizar las propiedades de andamios cerámicos a diferentes niveles de porosidad. Esta variación en la porosidad se buscó obtener con la variación de la concentración de un agente de porosidad en la fabricación de los scaffolds.

En las tablas 3-6 se pueden apreciar las diferentes masas empleadas de cada uno de los materiales utilizados, de acuerdo a la variación del estearato de magnesio. En éste estudio se utilizaron cuatro porcentajes de volumen de éste agente espumante: 0, 5, 10 y 15 %. Las masas de los otros materiales se modificaron con la finalidad de mantener un 50% de volumen alúmina y un 50% de volumen restante, repartido entre 25% alúmina y 75% de titanato de calcio.

Las masas de cada elemento se modificaron, con la finalidad de obtener probetas con un peso de 1,5g.

Porcentaje de Estearato de Zinc - 0%				
Componente	Porcentaje	volumen (mm³)	masa (g)	masa (g) x 8 probetas
Alúmina	50%	209,017	0,827	6,620
Hidroxiapatita	12,5%	52,254	0,165	1,321
Titanato de Calcio	37,5%	156,762	0,624	4,991
Estearato de Magnesio	0%	0	0	0
Masa total de la probeta (g)			1,616	12,932
Densidad de la probeta (g/mm³)			0,004	

Tabla 3 . Concentraciones empleadas para la elaboración de los andamios al 0% de estearato de zinc.

Porcentaje de Estearato de Zinc - 5%				
Componente	Porcentaje	volumen (mm³)	masa (g)	masa (g) x 8 probetas
Alúmina	48%	198,565	0,786	6,289
Hidroxiapatita	11,88%	49,641	0,156	1,255
Titanato de Calcio	35,63%	148,924	0,592	4,742
Estearato de Magnesio	5%	20,902	0,023	0,183
Masa total de la probeta (g)			1,558	12,469
Densidad de la probeta (g/mm³)			0,004	

Tabla 4. Concentraciones empleadas para la elaboración de los andamios al 5% de estearato de zinc.

Porcentaje de Estearato de Zinc - 10%				
Componente	Porcentaje	volumen (mm³)	masa (g)	masa (g) x 8 probetas
Alúmina	45%	188,637	0,747	5,974
Hidroxiapatita	11,28%	47,159	0,149	1,192
Titanato de Calcio	33,84%	141,478	0,563	4,505
Estearato de Magnesio	10%	41,803	0,045	0,368
Masa total de la probeta (g)			1,504	12,039
Densidad de la probeta (g/mm³)			0,004	

Tabla 5. Concentraciones empleadas para la elaboración de los andamios al 10% de estearato de zinc.

Porcentaje de Estearato de Zinc - 15%				
Componente	Porcentaje	volumen (mm³)	masa (g)	masa (g) x 8 probetas
Alúmina	43%	179,205	0,709	5,676
Hidroxiapatita	10,72%	44,801	0,142	1,132
Titanato de Calcio	32,15%	134,404	0,534	4,279
Estearato de Magnesio	15%	62,705	0,069	0,551
Masa total de la probeta (g)			1,454	11,640
Densidad de la probeta (g/mm³)			0,004	

Tabla 6. Concentraciones empleadas para la elaboración de los andamios al 15% de estearato de zinc.

5.1.2.2. Elaboración de los andamios

El proceso de elaboración de los andamios se dividió en tres partes principales, la primera fue el pesaje y mezcla de los diferentes compuestos basados en las concentraciones deseadas; seguido por el proceso de compactación de los andamios y finalmente la sinterización de los scaffolds.

3.1.2.1.1 Pesaje y mezcla de los compuestos

En la Ilustración 1 se puede apreciar el proceso de pesaje y mezcla de los compuestos para los diferentes porcentajes de espumante, usando siempre el mismo proceso y modificando la masa utilizada.

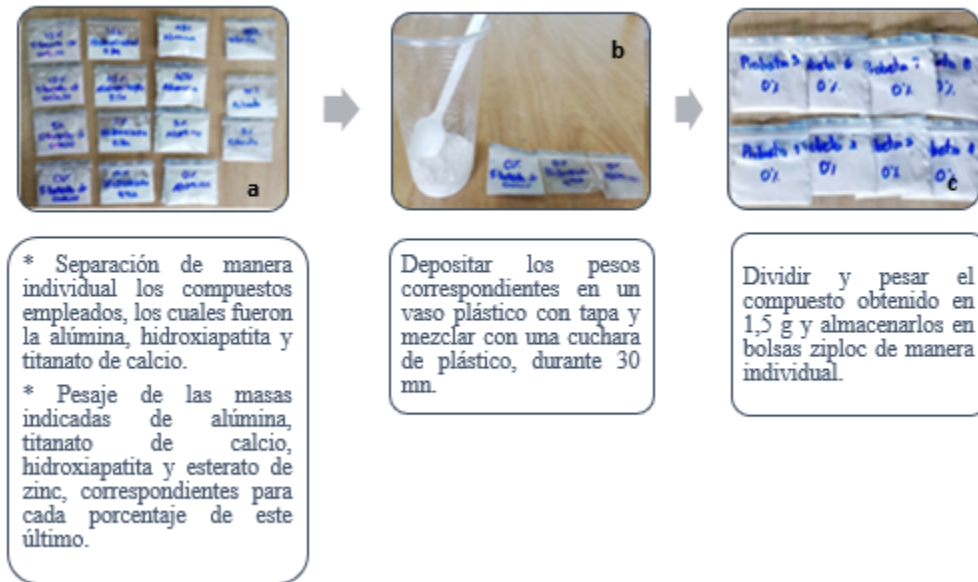


Ilustración 4. Proceso de pesaje y mezcla de los compuestos. En la ilustración 1 a se aprecian los compuestos empleados y separados, en b se pueden ver la mezcla de los compuestos y los materiales utilizados, finalmente en c la separación en 1,5 g del material compuesto obtenido mediante la imagen b.

En esta imagen se puede apreciar el proceso empleado para la segmentación de las probetas, con el fin de que cada una sea de 1,5 g. Este proceso se repitió para los cuatro porcentajes de volumen de estearato de magnesio. En la Ilustración 1 a es posible apreciar cada uno de los materiales empleados y como fueron separados en bolsas de ziploc con los pesos correspondientes, basados en las Tablas 3-6. En la Ilustración 1b, se encuentra el vaso plástico, la cuchara y las bolsas que se utilizaron para realizar la mezcla de los compuestos, el cual se realizó durante 30 mn hasta conseguir homogeneidad en los polvos. Finalmente, el resultado obtenido mediante la mezcla fue dividido y pesado en bolsas con 1,5 g, de donde se obtuvieron ocho probetas. Esto se repitió en varios ciclos con el fin de obtener 22 probetas en total para cada una de las cuatro concentraciones, este paso del proceso se puede apreciar en la Ilustración 1 c.

En la Ilustración 2, se pueden apreciar los compuestos una vez mezclados y separados en bolsas con 1,5 g de cada porcentaje de estearato de Magnesio, para poder continuar con el proceso de compactación.



Ilustración 5. Separación de las cuatro diferentes concentraciones en ocho bolsas con 1,5 g cada una.

3.1.2.1.2 Compactación de las probetas

El proceso de compactación de las probetas está dividido en dos partes: la preparación del material para compactación y la compactación mecánica. Las ilustraciones 3 y 4 se muestran una descripción detallada de cómo se preparó el compuesto y como se trabajó con la compactadora, para obtener las probetas compactadas.

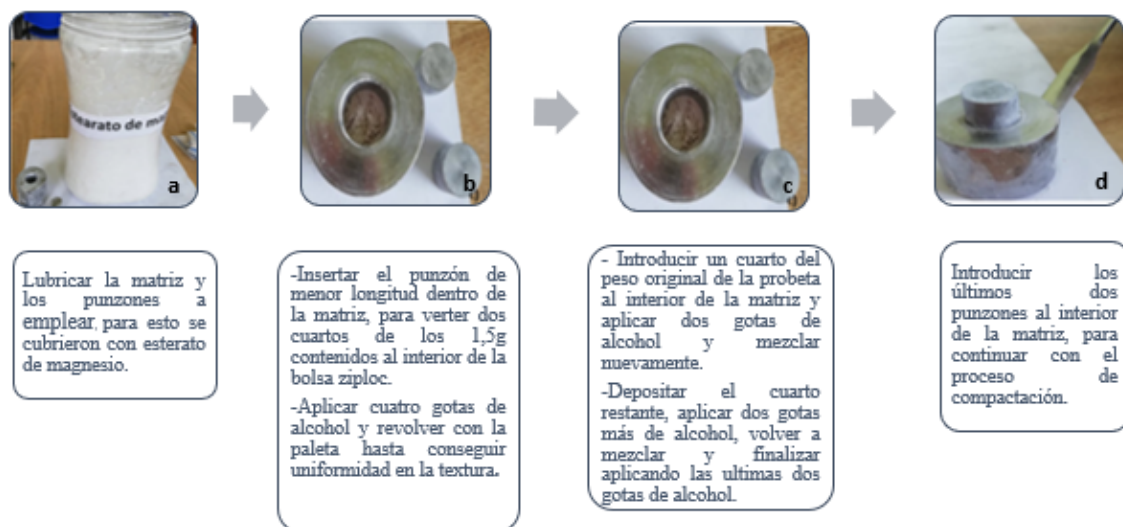


Ilustración 6 Diagrama de flujo del proceso de preparación de las probetas para realizar la compactación. En la ilustración a se encuentran los materiales empleados para esta sección del procedimiento, en las imágenes b y c se aprecia la matriz y los punzones con las concentraciones de alcohol y del compuesto mezcladas y en la imagen d se aprecia la ubicación de los punzones al interior de la matriz, para continuar con el proceso de compactación.

En la ilustración 3 a, se encuentra la lubricación tanto de la matriz, como de los punzones, al aplicarles el estearato de magnesio. Por otra parte, en la ilustración 3 b y 3 c, se encuentra el resultado de la mezcla hasta conseguir la textura y homogeneidad de la muestra deseadas. Finalmente, en las ilustraciones 3 d, se aprecia cómo se termina el proceso de mezcla de los 1,5 g con alcohol y como se introducen los últimos dos punzones, para proceder a colocar la matriz en la compactadora y así iniciar con este proceso de compactación, el cual se describirá a continuación. En la Ilustración 4 se puede apreciar los materiales que se emplearon para realizar este procedimiento.



Ilustración 7. Proceso de preparación de las probetas para realizar la compactación.

Para la compactación de las probetas se empleó el procedimiento que se describe en la Ilustración 5, en el diagrama de flujo.

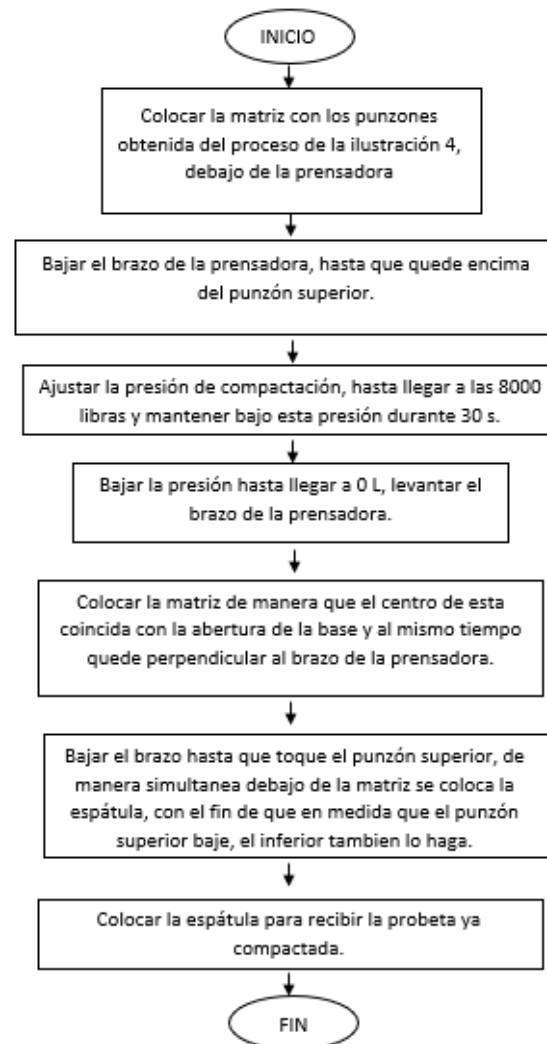


Ilustración 8. Diagrama de flujo del proceso de compactación de las probetas.

En la Ilustración 6 se observa de manera gráfica el proceso que se realizó para la compactación de las probetas.



Ilustración 9. Proceso de compactación de las probetas.

Estos procesos se realizaron para cada una de los cuatro porcentajes de estearato de magnesio que se emplearon. Al finalizar este paso se obtuvieron inicialmente 14 probetas para cada una de las cuatro concentraciones trabajadas (Ilustración 7.) Sin embargo, al momento de realizar los ensayos mecánicos, se fracturaron varias de estas probetas, por lo cual se elaboraron ocho probetas más, es decir que se elaboraron un total de 22 probetas, bajo este mismo procedimiento.

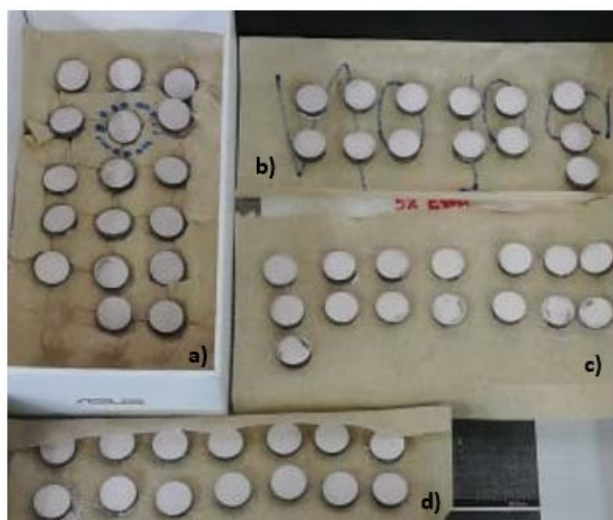


Ilustración 10. Probetas obtenidas después del proceso de compactación, ilustración 6 a corresponder al 0% de estearato de zinc, la ilustración 6 b al 5%, la 6 c el 10% y finalmente la ilustración 6 d al 15% de concentración.

En la Ilustración 7 a se pueden apreciar las probetas correspondientes al 0% de estearato de zinc, la Ilustración 7.b al 5%, la 7 c el 10% y finalmente la Ilustración 7.d el 15% de concentración. Es necesario tener en cuenta que algunas probetas se fracturaron durante el proceso de compactación, es decir al retirarlas de la compactadora o incluso al colocarlas en las cajas para almacenarlas, por lo cual fue necesario repetir el proceso descrito en la Ilustración 3.

3.1.2.1.3 Sinterización de las probetas

Para la sinterización de las probetas se ejecutó el procedimiento descrito en la Ilustración 8. Es necesario tener en cuenta que, así como para los anteriores pasos, aquí se realizó de manera análoga para cada una de las 22 probetas correspondientes a las cuatro diferentes composiciones que se han mencionado a lo largo del documento.

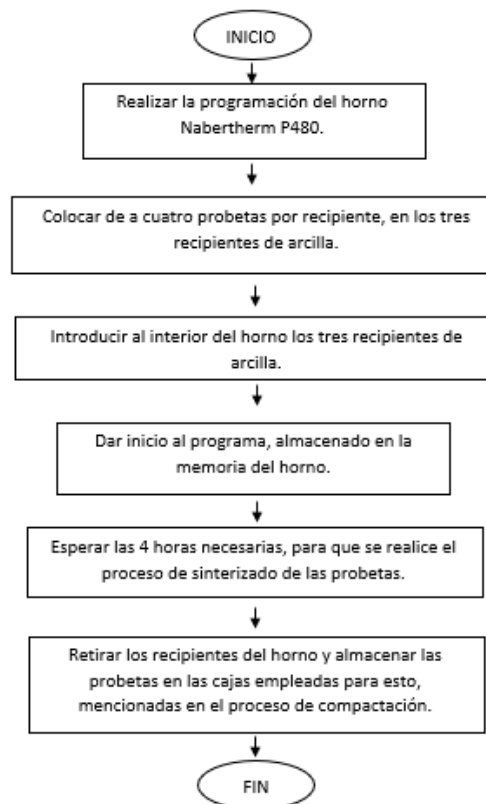


Ilustración 11. Diagrama de flujo del proceso de sinterización de las probetas.

Mediante la *Ilustración 9* se puede apreciar la rampa de calentamiento del horno, durante el proceso de sinterizado de las probetas.

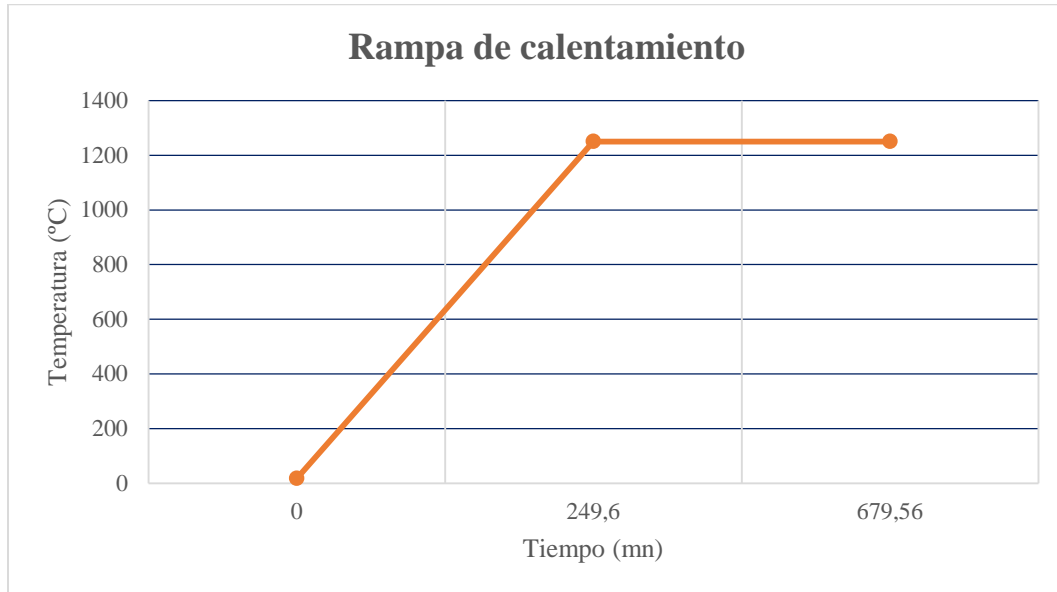


Ilustración 12. Rampa de calentamiento del horno para el proceso de sinterización de los scaffolds.

En la *Ilustración 10* es posible apreciar los pasos descritos mediante el anterior diagrama de flujo de la *Ilustración 8* , así como los recipientes en arcilla, el horno y el resultado de las probetas después del proceso de sinterizado.

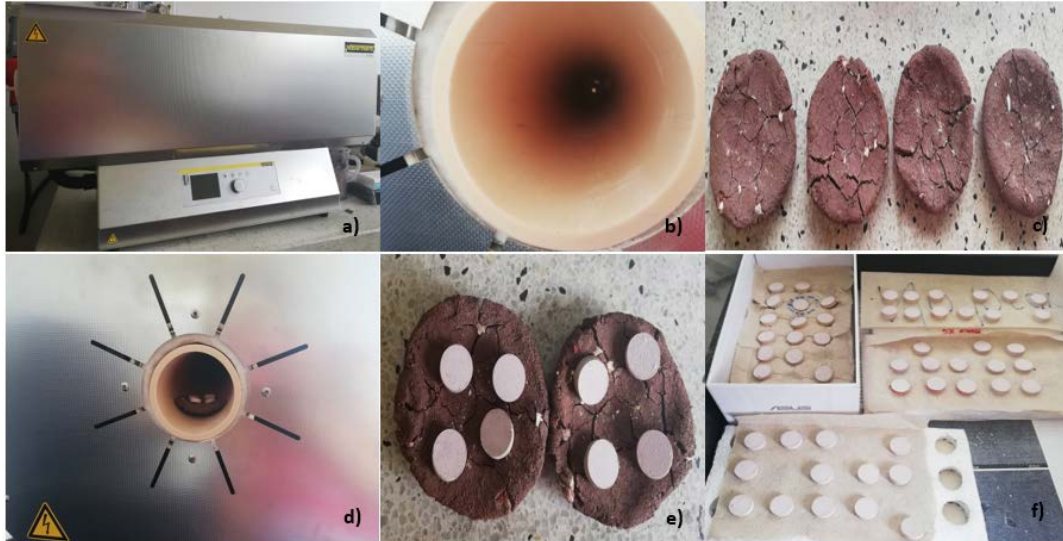


Ilustración 13. Proceso de sinterización de las probetas, en a y b se aprecia el horno empleado, en c se pueden observar los recipientes que se emplearon para colocar las probetas al interior de este, en d la ubicación de los andamios en el horno, en la ilustración e las probetas una vez sinterizadas y finalmente en f todas las probetas obtenidas a partir de este proceso.

Mediante la Ilustración 10; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.**; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.** a y b, es posible apreciar el horno que se empleó el cual se nombra en el diagrama de flujo de la Ilustración 8, en la ilustración c, se encuentran los recipientes de arcilla que se emplearon para la sinterización, mientras que en la Ilustración 10; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.** d, se aprecia la ubicación de los recipientes, con las probetas en el interior del horno. Finalmente, en las Ilustración 10 e y f se encuentran las probetas una vez ha culminado este proceso.

El horno empleado es de la marca Nabertherm de procedencia alemana, específicamente del municipio de Lilienthal [79], se empleó el modelo P480, el cual corresponde a un controlador sencillo de temperatura regulable, cuanta hasta con 17 idiomas, lo cual facilita su uso, así mismo permite almacenar programas y regularlos mediante microprocesadores PID, lo cual permite que el sistema se realice un autodiagnóstico [80].

3.1.2.1.4 Pruebas de bioactividad

Mediante el proceso descrito en la ilustración 12 se puede apreciar el proceso que se empleó para ejecutar las pruebas de bioactividad de las probetas, es necesario aclarar que este proceso se realizó de la manera en la que se explica en la tabla 5.

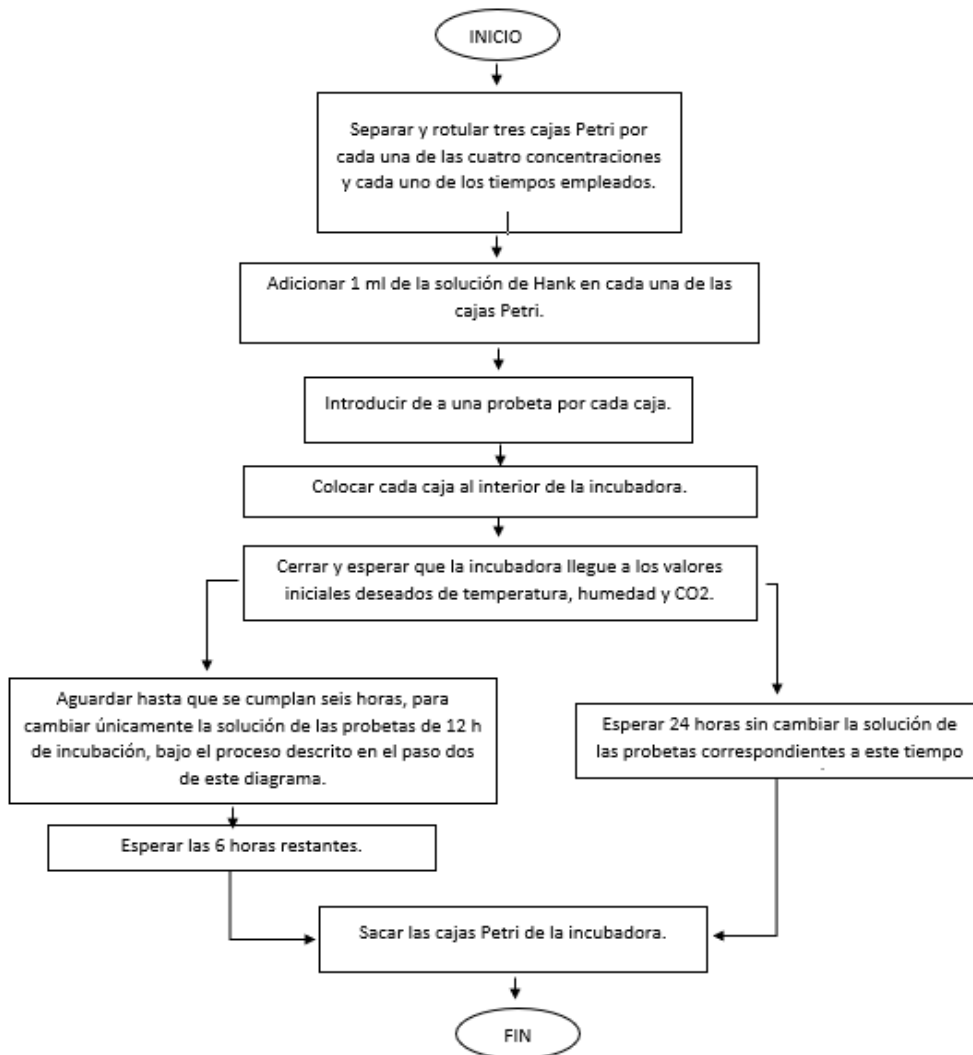


Ilustración 14. Diagrama de flujo del proceso de la prueba de bioactividad, al sumergir las probetas en la solución de Hank.

Como se puede apreciar en la Ilustración 11, el proceso de sumergir las probetas en la solución de Hank e introducirlas a la incubadora que simula las condiciones deseadas, las cuales correspondieron a 37° C, humedad alta y 5% de CO2, se realizó para dos tiempos inicialmente, el primer de 12 horas al cual se le cambio el medio a las 6 horas y el segundo tiempo de 24 horas, al cual no se le realizo cambio del medio, con el fin de analizar la precipitación de fosfatos de calcio de los scaffolds.

En la Tabla 7. Numero de probetas empleadas para cada tiempo de incubación y concentración de Estearato de Magnesio. Tabla 7 se aprecian el número de probetas que se emplearon para el desarrollo de las pruebas de bioactividad, así como los tiempos que se emplearon para las mismas.

Concentraciones de Estearato de Magnesio	Numero de probetas por tiempo de incubación	
	12 horas	24 horas
0%	3	3
5%	3	3
10%	3	3
15%	3	3

Tabla 7. Numero de probetas empleadas para cada tiempo de incubación y concentración de Estearato de Magnesio.

Es necesario tener en cuenta que, aunque se sometieron tres probetas por composición y por tiempo de incubación, la caracterización por imágenes se ejecutó únicamente para una probeta de cada una de las concentraciones y de los tiempos. Por lo cual se seleccionó el mejor andamio para someterlo a SEM.



Ilustración 15. Proceso de pruebas de bioactividad. a materiales utilizados, b distribución de la solución de Hank, de la ilustración c a la f se aprecia la colocación de las probetas al interior de dicho medio, g rotulación de los andamios programación de la incubadora, i momento en que esta llega a las condiciones iniciales.

En la Ilustración 12a se pueden apreciar los elementos empleados para colocar tanto la solución, como las probetas en el interior de cada caja Petri, así como la solución de Hank y los mismos andamios que se sometieron a estas pruebas. En la Ilustración 12b se aprecia cómo se añadió 1ml de la solución de Hank a cada una de las cajas, se empleó este volumen, debido a que se buscaba cubrir por completo el andamio y mediante pruebas realizadas previamente, se determinó que con 1 ml del medio se cumplía con este requerimiento. De la Ilustración 12c a la 12 f se aprecia el protocolo que se empleó para colocar cada una de las probetas al interior de la caja Petri, para lo cual era necesario ser muy cuidadosos para evitar que los andamios se fracturaran. En la Ilustración 12g se encuentran todas las probetas empleadas para una de las cuatro concentraciones. Finalmente, en las Ilustración 12 13 h y 13 i se aprecia la incubadora, sus condiciones iniciales y el momento al que esta llega a dichas condiciones.

El proceso que se describe mediante la Ilustración 12 fue repetido de manera análoga para cada una de las cuatro concentraciones y para los tiempos establecidos en la Tabla 7.

La incubadora que se empleó para las pruebas de bioactividad, tanto para los tiempos de 12 horas, como de 24 horas, fue de la marca Binder, el modelo correspondió a BD 115, el país de origen o de fabricación es Alemania, sin embargo, ya cuenta con sedes en Nueva York, Moscú, Hong Kong y Shanghái.

3.1.2.1.5 Ensayos mecánicos

Para las pruebas mecánicas de los andamios se empleó el ensayo Vickers, mediante el cual bajo indentación se penetraron las probetas con una punta de diamante con forma de pirámide, es necesario tener en cuenta que aunque en un principio mediante las pruebas para determinar el número de penetraciones que los scaffolds cerámicos soportaban se estableció que no debían ser más de cuatro indentaciones, sin embargo, durante el desarrollo de las penetraciones no todas aguantaban este número, muchas incluso se fracturaron con la primera indentación.

El proceso que se empleó para el ensayo de Vickers se puede apreciar en el diagrama de flujo de la Ilustración 13y así como se mencionó anteriormente en las pruebas de bioactividad, aquí el proceso se repitió de manera análoga para las cuatro diferentes concentraciones de Estearato de Magnesio.

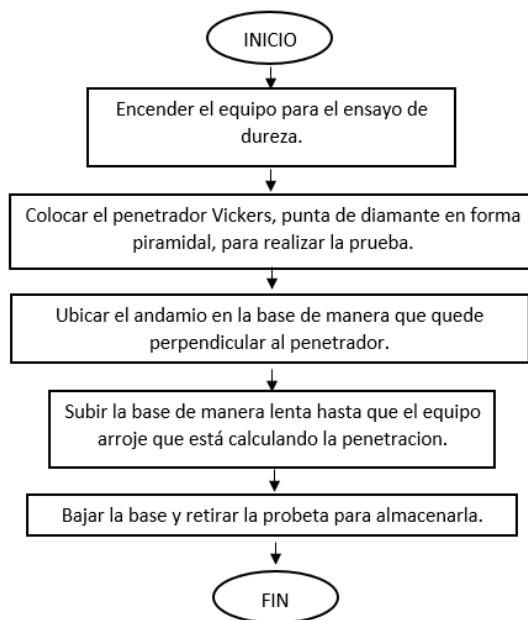


Ilustración 16. Proceso empleado para los ensayos mecánicos de las probetas bajo la prueba de micro dureza Vickers.

Para estas pruebas se emplearon tres andamios por concentración, es decir que se realizaron 12 pruebas de dureza para los andamios con una dureza de Rodwell superficial de 15 N.



Ilustración 17. Proceso para los ensayos mecánicos, bajo la prueba de dureza de Vickers, con 15 N.

En la Ilustración 14 se puede apreciar desde la figura a, hasta la figura d, el proceso de ubicación de los andamios sobre la base y bajo el penetrador mencionado anteriormente, mientras que en las Ilustración 14 e y f se aprecia la indentación efectuada sobre el andamio.

El equipo para el ensayo de micro dureza fue el durómetro de marca GNEHM, el modelo que se empleó fue el SwissRock 190, de fabricación sueca.

3.1.2.1.6 Caracterización por imágenes

Para la caracterización por imágenes de los andamios se empleó una técnica SEM, este método de caracterización avanzada de materiales se aplicó una vez se habían sumergido las probetas en 1 ml de la solución de Hank, bajo los diferentes tiempos que se mencionaron en la sección pruebas de bioactividad. Así como también se analizaron los andamios que fueron sometidos al ensayo de dureza bajo la prueba de micro dureza de Vickers, para esta caracterización es necesario aclarar que no todos los scaffolds soportaron el mismo número de penetraciones, pero en promedio se aplicaron dos indentaciones por probeta, aunque algunas alcanzaron a soportar hasta cuatro penetraciones.

Mediante la difracción de rayos x se buscó realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de las fases cristalinas de las probetas una vez ya sintetizadas, pero también se analizaron los materiales empleados de manera individual sin mezclarlos, compactar, ni sinterizar.

Mientras que la microscopia electrónica de barrido se empleó dado que permite apreciar y caracterizar los materiales en escalas nanométricas y micrométricas; por esta última escala, la cual fue la que empleamos para los ensayos mecánicos, se escogió SEM para el análisis de los resultados. Además de esto permite conseguir imágenes en tres dimensiones, lo cual para materiales cerámicos específicamente se emplea para evaluar la temperatura de cocción, las fases cristalinas, determinar las impurezas, entre otras características que permiten analizar la estructura interna obtenida de las probetas. Es necesario aclarar que los materiales empleados también se sometieron a esta caracterización para poder comparar los resultados obtenidos una vez se habían mezclado, compactado y sinterizado los andamios, contra los elementos en estado natural, sin haber realizado ninguno de los procesos mencionados anteriormente.

4 BIBLIOGRAFIA

- [1] “Desarrollan andamios de seda de alta resistencia para la reparación ósea - Medular Digital.” [Online]. Available: <http://www.medulardigital.com/?act=dnews&s=10&n=3372>. [Accessed: 30-Apr-2019].
- [2] A. Kerckhoff, “La enfermedad y la cura,” *La Enferm. y la cura. Conceptos una Med. Difer.*, vol. 4, no. 7, p. 298, 2009.
- [3] A. Davidson and B. Diamond, “Autoimmune diseases,” *N Engl J Med*, vol. 345, no. 5, pp. 340–350, 2001.
- [4] C. N. Fernando and G. F. José, “Etiopatogenia de la obesidad,” *Rev. Médica Clínica Las Condes*, vol. 23, no. 2, pp. 129–135, 2015.
- [5] S. J. Seme, “60) Provisional application No. 60/269,777, filed on Feb,” 2000.
- [6] S. Soto Góngora and M. G. Taxis González, *Revista cubana de estomatología.*, vol. 42, no. 1. Editorial Ciencias Médicas, 2005.
- [7] S. J. Hollister, “Nmat1421-Print.Indd,” vol. 4, no. July, pp. 1–8, 2005.
- [8] J. E. A. Yesid Aguilar Castro, Óscar Gutiérrez , Jaime Muñoz , Adriana Esguerra Arce, “FORMATO PARA LA ELABORACIÓN DE INFORMES FINALES-PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN Datos generales del Proyecto,” 2016.
- [9] G. D. C. VILLAMIZAR, “USOS Y BENEFICIOS DE LA HIDROXIAPATITA COMO BIOMATERIAL EN LESIONES OSEAS DE PEQUEÑAS ESPECIES,” 2017.
- [10] J. De, D. Preparado Por, J. Manuel Vélez, and P. Asociado, “DOCTORADO EN INGENIERÍA ÁREA CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES (PROPUESTA DE APERTURA) FACULTAD DE MINAS-Medellín UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA.”
- [11] C. Donaldo and M. Julio, “Caracterización estructural y óptica de Zn₂TiO₄ dopado con Mg,” pp. 165–172.
- [12] L. M. Lozano Sánchez, “Síntesis rápida y aplicación fotocatalítica de prismas rectangulares de perovskita CaTiO₃,” 2013.
- [13] OMS, “OMS | Factores de riesgo,” *WHO*, 2011.
- [14] N.n, “OMS | La carga de enfermedad y los estimados de costo-eficacia,” *WHO*, 2013.
- [15] N.n, “Estadísticas importantes sobre el cáncer de huesos.” [Online]. Available:

- <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-hueso/acerca/estadisticas-clave.html>.
[Accessed: 02-May-2019].
- [16] E. de Expertos and U. I. de Valencia, “Las 10 enfermedades de los huesos más comunes | VIU.” [Online]. Available: <https://www.universidadviu.com/enfermedades-los-huesos/>.
[Accessed: 02-May-2019].
- [17] P. A. Miguel Cruz, A. Niño Peña, K. Batista Marrero, and P. E. Miguel-Soca, *Revista cubana de estomatología.*, vol. 53, no. 3. Editorial Ciencias Médicas, 2016.
- [18] J. Weineck, *Salud, Ejercicio y Deporte.* 2001.
- [19] N.n, “Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 377, no. 1, pp. 13–27, Jul. 2017.
- [20] H. DE Artritis Reumatoide CON, “Información y consejos prácticos para las personas que han de convivir con Artritis Reumatoide.”
- [21] A. Garrote and R. Bonet, *Offarm*, vol. 22, no. 7. Doyma, 2003.
- [22] N.n, “Fracturas por tensión - HealthyChildren.org.” [Online]. Available: <https://www.healthychildren.org/Spanish/health-issues/injuries-emergencies/sports-injuries/Paginas/Stress-Fractures.aspx>. [Accessed: 02-May-2019].
- [23] N.n, “Traumatismos Óseos (Esguinces, Luxaciones y Fracturas) - Primeros Auxilios.” [Online]. Available: <https://www.aulafacil.com/cursos/educacion/primeros-auxilios/traumatismos-oseos-esguinces-luxaciones-y-fracturas-132566>. [Accessed: 02-May-2019].
- [24] P. Sánchez, J. L. Pedraz, and G. Orive, “Biologically active and biomimetic dual gelatin scaffolds for tissue engineering,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 98, pp. 486–494, May 2017.
- [25] M. A. Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas. and D. A. Garzón Alvarado, *Revista cubana de investigaciones biomédicas.*, vol. 29, no. 1. Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas, Ministerio de Salud Pública, 1982.
- [26] P. * Tortolini and S. Rubio, “Diferentes alternativas de rellenos óseos,” 2012.
- [27] F. Forriol, “Los sustitutos óseos y sus posibilidades actuales.”
- [28] G. Hannink and J. J. C. Arts, “Bioresorbability, porosity and mechanical strength of bone substitutes: What is optimal for bone regeneration?,” *Injury*, vol. 42, no. SUPPL. 2, pp. S22–S25, 2011.
- [29] R. Crockett, “Biochemical composition of the superficial layer of articular cartilage,” vol.

- 67, no. 8, pp. 1180–1185, 2017.
- [30] N.n, “Ventajas y Desventajas del Autoinjerto | Banco de Hueso y Tejido. Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio Gonzalez" UANL.” [Online]. Available: http://www.medicina.uanl.mx/bancodehueso/?page_id=57. [Accessed: 08-May-2019].
- [31] R. R. Pelker and G. E. Friedlaender, “Biomechanical aspects of bone autografts and allografts.,” *Orthop. Clin. North Am.*, vol. 18, no. 2, pp. 235–9, Apr. 1987.
- [32] S. Ali Akbari Ghavimi, M. H. Ebrahimzadeh, M. A. Shokrgozar, M. Solati-Hashjin, and N. A. Abu Osman, “Effect of starch content on the biodegradation of polycaprolactone/starch composite for fabricating in situ pore-forming scaffolds,” *Polym. Test.*, vol. 43, pp. 94–102, 2015.
- [33] S. Yang, K.-F. Leong, Z. Du, and C.-K. Chua, “The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part II. Rapid Prototyping Techniques,” *Tissue Eng.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–11, 2002.
- [34] L. S. Nair and C. T. Laurencin, “Biodegradable polymers as biomaterials,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 32, no. 8–9, pp. 762–798, 2007.
- [35] H. Li, Y. Zheng, and L. Qin, “Progress of biodegradable metals,” *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.*, vol. 24, no. 5, pp. 414–422, 2014.
- [36] S. K. Jaganathan, E. Supriyanto, S. Murugesan, A. Balaji, and M. K. Asokan, “Biomaterials in cardiovascular research: applications and clinical implications.,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2014, p. 459465, May 2014.
- [37] G. Eddy Jai Poinern, S. Brundavanam, and D. Fawcett, “Biomedical Magnesium Alloys: A Review of Material Properties, Surface Modifications and Potential as a Biodegradable Orthopaedic Implant,” *Am. J. Biomed. Eng.*, vol. 2, no. 6, pp. 218–240, Jan. 2013.
- [38] J. Bejarano Narváez, “Desarrollo de materiales compuestos de polimero biodegradable/vidrio bioactivo dopado con Cu y/o Zn para su uso potencial como biomaterial óseo,” 2015.
- [39] M. G. V. D. B. M. P. J. E. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería., *Ingeniería e investigación.*, vol. 28, no. 1. [Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería], 2008.
- [40] M. Valero, Y. Ortegón, and Y. Uscategui, “Avances biopolímeros,” pp. 171–180, 2013.
- [41] M. Allais, A. Abreu, and P. E. Maurette, “Reacción a un cuerpo extraño por un

- biopolímero inyectado: Presentación de un caso clínico,” *Rev. Esp. Cir. Oral y Maxilofac.*, vol. 37, no. 1, pp. 23–26, 2015.
- [42] C. P. García García, “Bioactivación de metales de uso ortopédico mediante recubrimientos producidos por sol-gel,” 2004.
- [43] F. Gil, M. Ginebra, and J. Planell, “Metales y aleaciones para la sustitución de tejidos duros.”
- [44] MARIÑO CABALLERO DIEGO ANDRES, “Análisis Del Comportamiento De La Permeabilidad Bajo Condiciones De Cargas En Un Andamio Óseo Tridimensional Regular Fabricado En Ácido Polilactico,” no. 313, p. 145, 2018.
- [45] J. Zárate, M. E. Contreras, and H. Juárez, “Relación microestructura-propiedades mecánicas y térmicas de composites de circonia-óxido de aluminio,” 2004.
- [46] G. Gonzalez, F. Sanchez, and K. Noris-Suarez, “CARACTERIZACIÓN POR MEB DE LA I DE CÉLULAS OSTEOBLÁSTICAS CON MATERIALES COMPUESTOS POLÍMERO/HIDROXIAPATITA Y POLÍMERO/CALCITA,” 2009.
- [47] C. Peniche, Y. Solís, N. Davidenko, and R. García, *Biotecnología aplicada*, vol. 27, no. 3. Bioline Internat, 2010.
- [48] C. Edil da Costa, F. Velasco López, and J. M. Torralba Castelló, “Materiales compuestos de matriz metálica. I parte. Tipos, propiedades, aplicaciones,” *Rev. Metal.*, vol. 36, no. 3, pp. 179–192, 2010.
- [49] A. Besednjak Dietrich, *Materiales compuestos : procesos de fabricación de embarcaciones.* .
- [50] C. Guoping, U. Takashi, and T. Tetsuya, “Scaffold Design for Tissue Engineering,” *Macromol. Biosci.*, vol. 2, no. 2, pp. 67–77, 2002.
- [51] F. J. O’Brien, “Biomaterials & scaffolds for tissue engineering,” *Mater. Today*, vol. 14, no. 3, pp. 88–95, 2011.
- [52] V. Karageorgiou and D. Kaplan, “Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 27, pp. 5474–5491, 2005.
- [53] S. Bose, M. Roy, and A. Bandyopadhyay, “Recent advances in bone tissue engineering scaffolds,” *Trends Biotechnol.*, vol. 30, no. 10, pp. 546–554, 2012.
- [54] Q. Z. Chen, I. D. Thompson, and A. R. Boccaccini, “45S5 Bioglass®-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 11, pp. 2414–

- 2425, 2006.
- [55] T. G.E, “Porous anodic alumina: fabrication, characterization and applications,” *Thin Solid Films*, vol. 297, no. 1&2, pp. 192–201, 1997.
- [56] I. Sintering, “COBLE-1958-Journal_of_the_American_Ceramic_Society.pdf,” vol. 84, no. 1952, 1954.
- [57] K. Nielsch, J. Choi, K. Schwirn, and R. B. Wehrspohn, “<NanoLett_2002_v2_n7_p677-680_Nielsch.pdf>,” pp. 1–4, 2002.
- [58] I. Denry and J. R. Kelly, “State of the art of zirconia for dental applications,” *Dent. Mater.*, vol. 24, no. 3, pp. 299–307, 2008.
- [59] M. UO, G. SJÖGREN, A. SUNDH, M. GOTO, F. WATARI, and M. BERGMAN, “Effect of Surface Condition of Dental Zirconia Ceramic (Denzir) on Bonding,” *Dent. Mater. J.*, vol. 25, no. 3, pp. 626–631, 2009.
- [60] J. Chevalier, “What future for zirconia as a biomaterial?,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 4, pp. 535–543, 2006.
- [61] R. C. Garvie, “Stabilization of the tetragonal structure in zirconia microcrystals,” *J. Phys. Chem.*, vol. 82, no. 2, pp. 218–224, 1978.
- [62] S. Lawson, “Environmental degradation of zirconia ceramics,” *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 15, no. 6, pp. 485–502, 1995.
- [63] F. M. R. J.M Rincon Lopez, “Los vidrios y materiales vitroceramicos como implantes quirurgicos.”
- [64] P. N. De Aza and Z. B. Luklinska, “Cerámica y Vidrio Efecto de la microestructura sobre la bioactividad de dos materiales vitrocerámicos del sistema $\text{CaSiO}_3\text{-ZrO}_2$.”
- [65] J. M. Rincón, “Article in Materiali in Tehnologije,” 2015.
- [66] A. C. R. R. Gonzalez, M.C Melo, A. Perez Reyes, “Hidroxiapatita porosa HAP-200. Principales características fisico-químicas.”
- [67] Universidad CES. Escuela de Ingeniería de Antioquia., *Revista EIA*. .
- [68] M. V. Facultad de Estudios Superiores “Zaragoza.” División de Estudios de Posgrado e Investigación., J. Reyes-Gasga, M. V. García-Garduño, and J. Reyes-Gasga, *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicos.*, vol. 9, no. 2. División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, 2006.
- [69] X. Chatzistavrou, P. Newby, and A. R. Boccaccini, “Bioactive glass and glass-ceramic

- scaffolds for bone tissue engineering,” *Bioact. Glas. Mater. Prop. Appl.*, pp. 107–128, 2011.
- [70] W. J. E. M. Habraken, J. G. C. Wolke, and J. A. Jansen, “Ceramic composites as matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 59, no. 4–5, pp. 234–248, 2007.
- [71] J. M. Taboas, R. D. Maddox, P. H. Krebsbach, and S. J. Hollister, “Indirect solid free form fabrication of local and global porous, biomimetic and composite 3D polymer-ceramic scaffolds,” *Biomaterials*, vol. 24, no. 1, pp. 181–194, 2003.
- [72] S. J. Kalita, S. Bose, H. L. Hosick, and A. Bandyopadhyay, “Development of controlled porosity polymer-ceramic composite scaffolds via fused deposition modeling,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 23, no. 5, pp. 611–620, 2003.
- [73] S. Yang, K. F. Leong, Z. Du, and C. K. Chua, “The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques,” *Tissue Eng.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–11, 2002.
- [74] H. Seitz, W. Rieder, S. Irsen, B. Leukers, and C. Tille, “Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering,” *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, vol. 74, no. 2, pp. 782–788, 2005.
- [75] Y. Kang *et al.*, “Enhanced mechanical performance and biological evaluation of a PLGA coated β -TCP composite scaffold for load-bearing applications,” *Eur. Polym. J.*, vol. 47, no. 8, pp. 1569–1577, 2011.
- [76] M. Mata, M. Anglada, and J. Alcalá, “ECUACIONES DE DUREZA PARA LA CARACTERIZACIÓN DE METALES MEDIANTE INDENTACIÓN PUNTIAGUDA.”
- [77] A. G. González, H. Ageorges, O. Rojas, E. López, F. M. Hurtado, and F. Vargas, “Efecto De La Microestructura Y De La Microdureza Sobre La Resistencia Al Desgaste De Recubrimientos Elaborados Por Proyección Térmica Por Plasma Atmosférico A Partir De Circona-Alumina, Circona-Itria Y Circona-Ceria,” *Bol. la Soc. Esp. Ceram. y Vidr.*, vol. 54, no. 3, pp. 124–132, 2015.
- [78] “Ensayos de dureza - Conocimientos. Struers.com.” [Online]. Available: <https://www.struers.com/es-ES/Knowledge/Hardness-testing#hardness-testing-how-to>. [Accessed: 02-May-2019].
- [79] Nabertherm, “Empresa | Home - Nabertherm – construcción de hornos industriales.”

[Online]. Available: <https://www.nabertherm.es/unternehmen/index/es>. [Accessed: 02-May-2019].

[80] N.n, “Control de proceso y documentación.”

[81] A. R. Guzmán B, Luna R, Morales N, “Anàlisis granulomètrico,” *Univ. Nac. Autònoma Mèxico*, 2012.