



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
METALÚRGICAS

**“PROCESAMIENTO DE ESPUMAS DE VIDRIO 45S5 POR  
METALURGIA DE POLVOS”**

**TESIS:**

PARA OBTENER EL TITULO DE:

**MAESTRO EN METALURGIA Y  
CIENCIAS DE LOS MATERIALES**

PRESENTA:

**ING. BENITO JACINTO DÍAZ**

ASESOR:

**DRA. ENA ATHENEA AGUILAR REYES**

CO-ASESOR:

**M. SC. ENG. LOUIS-PHILIPPE LEFEBVRE**

MORELIA, MICHOACÁN, AGOSTO DE 2011



---

## DEDICATORIAS

A mis padres por todo sus valiosos consejos, regaños y amor que me han brindado por toda mi vida, ya que gracias a ellos ahora soy la persona que siempre quise ser, por todo gracias “Pas”.

A mi esposa, Nadia, por siempre estar ahí cuando la necesito, por todo el apoyo y amor que me ha brindado y por hacerme la persona más feliz del mundo.

A mis hermanos, José Ángel, Orfelina y Wendolin, que de alguna manera contribuyeron para que ahora me encuentre en estas instancias.

Por último quisiera agradecer a todos aquellos que se tomen un tiempo para leer esta investigación, espero la encuentren interesante y de utilidad. Quedo muy satisfecho porque di lo mejor de mí para elaborar cada parte de esta investigación.

Sinceramente,

Benito Jacinto Díaz

---

---

---

## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer antes que nada al Instituto de Investigaciones Metalúrgicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y a todo el personal académico y administrativo por las facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el soporte económico brindado durante el desarrollo de esta investigación.

A mi asesor, la Dra. Ena Athenea Aguilar Reyes por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo, por la confianza que me ha brindado y las críticas hacia mi trabajo que fueron muy valiosos para la realización de este trabajo y de formar un carácter científico en mi persona. Al M. Sc. Eng. Louis-Philippe Lefebvre por todo su apoyo y valiosos consejos para la realización de este trabajo, así como por la oportunidad de la realización de la estancia en el Industrial Materials Institute (IMI) del National Research Council Canada (CNRC).

Un agradecimiento especial a las siguientes personas del IMI: Mario Laplume (producción de las espumas), Eric Baril (difracción de rayos X), Fabrice Bernier (microtomografía  $\mu$ CT), Manon Plourde (pruebas de compresión), Maxime Gauthier (producción de las espumas), Shirley Mercier (análisis químicos) y a Raymond Langlois (pulverización del vidrio) del departamento de Minería de la universidad de McGill.

---

---

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS .....	I
ÍNDICE DE TABLAS .....	III
<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>2</b>
<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>4</b>
<b>CAPITULO I ANTECEDENTES.....</b>	<b>6</b>
1.1 BIOMATERIALES .....	6
1.1.1 <i>Cerámicos, vidrios y vitro-cerámicos</i> .....	8
1.2 TIPOS DE BIOCERÁMICOS – MECANISMOS DE UNIÓN AL TEJIDO .....	8
1.3 CARACTERÍSTICAS Y PROCESAMIENTO DE BIOCERÁMICOS .....	12
1.4 CERÁMICOS POROSOS .....	14
1.5 VITRO-CERÁMICOS BIOACTIVOS .....	15
1.5.1 <i>Vidrio 45S5 o Bioglass®</i> .....	17
1.6 INGENIERÍA DE TEJIDOS.....	18
1.6.1 <i>Requerimiento de los armazones</i> .....	20
1.7 MÉTODOS PARA LA OBTENCIÓN DE MATERIALES POROSOS .....	22
1.7.1 <i>Método de la réplica</i> .....	23
1.7.2 <i>Método del molde de sacrificio</i> .....	27
1.7.3 <i>Método de espumado directo</i> .....	28
1.7.4 <i>Variante de metalurgia de polvos</i> .....	29
1.8 ACTUALIDAD DE LOS MATERIALES CELULARES .....	32
<b>CAPITULO II DESARROLLO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>33</b>
2.1 PREPARACIÓN DEL VIDRIO 45S5 .....	33
2.1.1 <i>Reactivos de partida</i> .....	33
2.1.2 <i>Obtención del vidrio</i> .....	34
2.1.3 <i>Obtención del vidrio en polvo</i> .....	34
2.1.4 <i>Caracterización de los polvos de vidrio 45S5</i> .....	35
2.2 PRODUCCIÓN DE LAS ESPUMAS DE VIDRIO 45S5 .....	37
2.2.1 <i>Caracterización de las espumas de vidrio 45S5</i> .....	38
<b>CAPITULO III ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
3.1 ANÁLISIS DEL VIDRIO 45S5 EN FORMA DE POLVO .....	41
3.1.1 <i>Resultados de distribución de tamaño de partícula</i> .....	41
3.1.2 <i>Resultados del análisis térmico diferencial</i> .....	42
3.1.3 <i>Resultados de DRX del vidrio 45S5</i> .....	43

3.1.4	<i>Resultados de FRX del vidrio 45S5</i> .....	44
3.2	ANÁLISIS DE LAS ESPUMAS DE VIDRIO 45S5 .....	45
3.2.1	<i>Resultados de la prueba de superficie para tratamientos térmicos</i> .....	47
3.2.2	<i>Microscopía electrónica de barrido</i> .....	48
3.2.3	<i>Resultados de microtomografía (<math>\mu</math>CT)</i> .....	52
3.2.4	<i>Evolución de la estructura porosa</i> .....	58
3.2.5	<i>Resultados de DRX</i> .....	59
3.2.6	<i>Análisis de las propiedades mecánicas de las espumas</i> .....	62
	<b>CAPITULO IV CONCLUSIONES</b> .....	<b>67</b>
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>69</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>70</b>

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1.1 Espectro de bioactividad de varios implantes biocerámicos: (a) relación relativa de bioactividad, (b) Dependencia del tiempo de formación de unión ósea en la interfase del implante..... 9

Figura 1.2 Dependencia composicional (% en peso) de la unión ósea de vidrios bioactivos y vitro-cerámicos..... 17

Figura 1.3 *Tissue engineering triad* de células-señales (proporcionadas químicamente por factores de crecimiento o físicamente por un bioreactor) -armazón, el cual actúa como plantilla para la formación de tejido..... 19

Figura 1.4 Esquema de diferentes rutas de procesamiento para la obtención de cerámicos macroporosos. .... 23

Figura 1.5 Porosidad típica y tamaño de poro promedio obtenido a través de los procesos: réplica, molde de sacrificio y espumado directo. .... 25

Figura 1.6 Microestructuras de cerámicos macroporosos producidos mediante la técnica de réplica. a) Alúmina con porosidad abierta obtenida mediante el uso de moldes de esponja de poliuretano (37), b) detalle de un puntal de un cerámico celular producido a partir de esponjas poliméricas, donde se ilustra el hueco típico formado debido a la pirólisis del molde orgánico (39), c) vista transversal de un cerámico con alta porosidad orientada de SiC obtenida por infiltración de un molde de madera con gas de Si (la vista longitudinal se muestra en el recuadro) (40), d) hidroxiapatita obtenida a partir de una estructura de coral (41). .... 26

Figura 1.7 Representación esquemática del proceso de producción de espumas..... 30

Figura 1.8 Micrografía electrónica de barrido de la superficie de una espuma de titanio.... 31

Figura 1.9 Morfología de la espuma obtenida y Micrografía electrónica de barrido de la superficie de la espuma de la aleación Ti-6Al-4V. .... 31

Figura 2.1 Ciclo de calentamiento para la obtención del vidrio bioactivo 45S5..... 34

Figura 2.2 Difractómetro de rayos X Bruker AXS D8 Discover usado para obtener los datos cristalográficos del vidrio..... 35

Figura 2.3 Equipo de análisis térmico simultáneo TGA/DSC..... 36

Figura 2.4 Analizador de tamaño de partícula..... 36

Figura 2.5 Diagrama de la ruta experimental utilizada. .... 37

Figura 2.6 Horno por convección usado para la fabricación de las espumas. .... 38

Figura 2.7 Sistema XTek HMXST 225, equipo para obtener imágenes de microtomografía. .... 39

Figura 3.1 Curva de distribución de tamaño de partícula del polvo del vidrio 45S5 obtenido por fusión..... 41

Figura 3.2 Análisis por calorimetría diferencial de barrido del vidrio 45S5..... 42

Figura 3.3 Difractograma del vidrio 45S5 obtenido mediante fusión. .... 44

Figura 3.4 Espumas de vidrio 45S5 sinterizadas a: a) 975 y b) 1000°C por 1 h..... 45

Figura 3.5 Espumas obtenidas por metalurgia de polvos. .... 46

Figura 3.6 Espumas de vidrio 45S5 obtenidas después del proceso de pirólisis.....	46
Figura 3.7 Espumas de vidrio 45S5 obtenidas después del proceso de sinterizado a 1000°C por 1h.....	47
Figura 3.8 Recubrimientos empleados sobre una superficie de alúmina. ....	48
Figura 3.9 Micrografías por microscopia electrónica de barrido donde se observa la estructura de las espumas de vidrio 45S5 sinterizadas a: a) 950, b) 975, c) 1000 y d) 1025 °C por 1h. ....	49
Figura 3.10 Micrografías tomadas por MEB de la estructura de las espumas de vidrio 45S5 sinterizadas a: a) 950 b) 975 c) 1000 y d) 1025 °C en aire por 1h.....	50
Figura 3.11 Imágenes por MEB correspondientes a la superficie de una espuma sinterizada a 950 °C. La imagen superior muestra el aspecto superficial en la estructura, mientras que las imágenes inferiores (a y b) muestran las zonas en donde se observó la presencia de otra fase. ....	52
Figura 3.12 Imágenes reconstruidas de microtomografía de la espuma sinterizada a 950°C; a) imagen en 3D, b) perpendicular y c) paralela al eje longitudinal. ....	53
Figura 3.13 Distribución de tamaño de poro de la espuma sinterizada a 950 °C obtenido sobre las secciones en 2D de las imágenes reconstruidas de $\mu$ CT (Clemex).....	53
Figura 3.14 Imágenes reconstruidas de microtomografía de la espuma sinterizada a 975°C; a) imagen en 3D, b) perpendicular y c) paralela al eje longitudinal. ....	54
Figura 3.15 Distribución de tamaño de poro de la espuma sinterizada a 975°C obtenido sobre las secciones en 2D de las imágenes reconstruidas de $\mu$ CT (Clemex).....	54
Figura 3.16 Imágenes reconstruidas de microtomografía de la espuma sinterizada a 1000°C; a) imagen en 3D, b) perpendicular y c) paralela al eje longitudinal. ....	55
Figura 3.17 Distribución de tamaño de poro de la espuma sinterizada a 1000°C obtenido sobre las secciones en 2D de las imágenes reconstruidas de $\mu$ CT (Clemex).....	55
Figura 3.18 Imágenes reconstruidas de microtomografía de la espuma sinterizada a 1025°C; a) imagen en 3D, b) perpendicular y c) paralela al eje longitudinal. ....	56
Figura 3.19 Distribución de tamaño de poro de la espuma sinterizada a 1025°C obtenido sobre las secciones en 2D de las imágenes reconstruidas de $\mu$ CT (Clemex).....	56
Figura 3.20 Distribución de tamaño de poro de las espumas sinterizadas a diferentes temperaturas. ....	57
Figura 3.21 Altas magnificaciones de las secciones transversales extraídas de las imágenes reconstruidas de $\mu$ CT de las espumas sinterizadas a: a) 950 y b) 1025°C.....	58
Figura 3.22 Espectro de difracción de rayos X de las espumas sinterizadas a 950, 975, 1000 y 1025°C por 1hr. La fase principal $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$ y secundaria $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$ están marcadas ((■ : JCPDS 77-2189) y (□ : JCPDS 32-1053)), respectivamente.....	60
Figura 3.23 Espaciamiento $d$ para diferentes planos cristalinos del vidrio en polvo 45S5 sinterizado a diferentes temperaturas por un periodo de 1h.....	62
Figura 3.24 Curva esfuerzo-deformación típica de una espuma sinterizada a 1025°C por 1hr.....	63

Figura 3.25 Comportamiento mecánico-poroso de las espumas de vidrio 45S5 sinterizadas a varias temperaturas..... 64

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla I.1 Varias aplicaciones de materiales naturales modificados y sintéticos en Medicina.....7

Tabla I.2 Tipos de respuesta Implante - Tejido.....8

Tabla I.3 Tipos de unión Biocerámico – Tejido y su clasificación.....9

Tabla I.4 Características y propiedades de los materiales biocerámicos.....13

Tabla I.5 Composiciones de vidrios bioactivos y vitro - cerámicos (porcentaje en peso)...16

Tabla I.6 Propiedades mecánicas del Bioglass® en volumen.....18

Tabla II.1 Reactivos necesarios para la obtención de 100 g de vidrio 45S5.....33

Tabla III.1 Resultados de FRX de la composición del vidrio obtenido en esta investigación..... 44

Tabla III.2 Temperatura de sinterizado, porosidad y frecuencia acumuladas de poros obtenidas a partir del analizador de imágenes de las espumas de vidrio 45S5..... 57

Tabla III.3 Temperatura de sinterización, densidad aparente y porosidad de las espumas de vidrio 45S5..... 59

Tabla III.4 Temperatura de sinterización, porosidad y resistencia a la compresión de espumas de vidrio 45S5..... 64

Tabla III.5 Composición y propiedades de algunos cementos macroporosos para la Ingeniería de Tejidos..... 65

## RESUMEN

Los vidrios bioactivos han generado gran interés debido a su excelente bioactividad y biocompatibilidad. El vidrio 45S5 (composición  $45\text{SiO}_2\text{-}24.5\text{Na}_2\text{O}\text{-}24.5\text{CaO}\text{-}6\text{P}_2\text{O}_5$  % en peso) es el material más utilizado dentro del sistema de vidrios bioactivos, ya que es biocompatible y clínicamente usado para prótesis dental y de oído medio. Se ha demostrado que este tipo de vidrio presenta mayor integración con los tejidos óseos cuando su estructura es porosa. Por lo cual se fabricaron espumas (andamios) del vidrio 45S5 o Bioglass<sup>®</sup> mediante un proceso alterno de metalurgia de polvos, desarrollada recientemente por el Industrial Materials Institute - National Research Council Canada.

Dicho proceso puede producir espumas cerámicas o metálicas mediante una mezcla de polvos compuesta por partículas de Bioglass<sup>®</sup>, un ligante y un agente espumante. Las espumas obtenidas fueron caracterizadas desde el punto de vista microestructural y mecánico (resistencia a la compresión).

La estructura y las propiedades de las espumas fueron afectadas por la temperatura de sinterización, cuando se varió la temperatura entre 950 y 1025°C. Las espumas resultantes presentan porosidad abierta (64-79%) y tamaño de poro (175-820µm) óptimo para la regeneración ósea. En todos los casos, el vidrio cristalizó durante el sinterizado y el material resultante estaba compuesto mayormente de  $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$  y  $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$ , mismas fase que han sido observadas en otros estudios. La resistencia mecánica de las estructuras celulares resultantes se incrementó de 1.7 a 5.5 MPa cuando la densidad del material se incrementó de 0.55 a 0.96 g/cm<sup>3</sup>.

## OBJETIVOS

El **objetivo general** de este trabajo se dirige a desarrollar los principios teórico-prácticos de un ruta de procesamiento mediante metalurgia de polvos para la preparación de espumas bioactivas de Bioglass<sup>®</sup> con mejores propiedades estructurales y mecánicas para la aplicación en Ingeniería de Tejidos.

### OBJETIVOS PARTICULARES

- Sintetizar y caracterizar el vidrio bioactivo 45S5 o Bioglass<sup>®</sup>.
- Preparar las espumas del vidrio 45S5 con porosidad interconectada utilizando el proceso por metalurgia de polvos desarrollado en el Industrial Materials Institute, Boucherville, QC.
- Evaluar el efecto de la relación vidrio/ligante/agente espumante en la microestructura de la espumas.
- Evaluar el efecto de la temperatura de sinterización sobre la microestructura/propiedades mecánicas de las espumas.

## JUSTIFICACIÓN

La pérdida de tejido óseo como resultado de una herida o enfermedad, en la población de edad avanzada, proporciona una calidad de vida reducida a un costo socioeconómico importante. Anualmente se producen unas 6.5 millones de fracturas de hueso en los Estados Unidos. La regeneración de hueso mejorada es esencial para sanar grandes defectos de huesos secundarios a algún tumor o trauma y para tratar las fracturas de unión o no-unión retardadas, las cuales constituyen del 10 al 15% de las fracturas. Las propuestas para estos problemas difíciles de reparación de hueso incluye la utilización de autoinjertos, aloinjertos, e injertos sintéticos.

Los vidrios bioactivos fueron introducidos hace más de 30 años como sustitutos de huesos. Este material ha sido considerado bioactivo debido a que forma un enlace con el hueso y mejora la formación del tejido del hueso. La formación de la capa de hidroxiapatita, la cual tiene una estructura a la fase mineral del hueso, ha mostrado que es osteoconductiva, es decir, promueve el crecimiento de las células del hueso y la depositación directa del hueso sobre su superficie.

Su disponibilidad en forma porosa ha alentado a muchos investigadores a evaluar la habilidad de estos biomateriales para utilizarse como armazones en ingeniería de tejidos.

### INTRODUCCIÓN

La ingeniería de tejidos representa un nuevo e interdisciplinario campo que aplica un conjunto de métodos, materiales de ingeniería y ciencias de la vida para crear construcciones para regeneración de nuevo tejido (1). Su objetivo es reparar y regenerar tejidos dañados o enfermos usando andamios porosos que sirven como plantillas o moldes para la colonización y proliferación de células. Se ha reportado que el tamaño óptimo de poro para el crecimiento óseo es de 150-1000  $\mu\text{m}$  (2) ya que proveen de ambientes ideales para la reorganización ósea y la vascularización.

En la actualidad existe un gran interés en el estudio de los vidrios bioactivos ya que presentan grandes ventajas al momento de ser implantados debido a sus propiedades de generación de tejidos y adhesión de las células, el vidrio 45S5 es el material más usado e investigado dentro de los vidrios bioactivos, debido a que presenta con mayor rapidez una unión bioactiva con los tejidos del cuerpo humano. El vidrio es implantado en la actualidad como prótesis dental y de oído medio (3) con resultados satisfactorios para los pacientes. Recientemente se encontró que este vidrio presenta mayor integración con los tejidos óseos cuando se sintetiza de forma celular, debido al incremento en el área superficial expuesta (4). Se han desarrollado una gran cantidad de procesos para la producción de materiales porosos para la reparación en ingeniería de tejidos.

Actualmente, los biomateriales utilizados en la regeneración ósea son polímeros o cerámicos, de fuentes naturales o sintéticos, y la combinación de éstos, con la finalidad de formar materiales compuestos que combinan la capacidad de reabsorción de los polímeros y la bioactividad de los cerámicos. Ejemplos de materiales poliméricos naturales son proteínas como el colágeno y polímeros sintéticos como el ácido poliláctico o poliglicólico. Por otro lado, los cerámicos utilizados son biocerámicos basados en fosfatos de calcio y vidrios bioactivos tradicionalmente sinterizados a altas temperaturas. Para la incorporación de macroporosidad en estos materiales, los cuales promueven la regeneración ósea, se aplican distintos métodos como la lixiviación de partículas, fibras o mezclas; espumado por medio de la generación de gas; separación de fases; liofilización direccional; pirólisis de partículas; métodos de replica negativa o positiva (5,6).

El método utilizado en este trabajo (7) consiste en la mezcla en seco de los polvos cerámicos con un aglutinante polimérico sólido y un agente espumante. La mezcla es entonces moldeada en la forma deseada y tratada térmicamente en un ciclo de tres etapas. Durante la primera etapa (espumado) el aglutinante es fundido para crear una suspensión cargada con partículas metálicas o cerámicas. Durante este periodo, el agente espumante se descompone y libera un gas que expande la estructura, creando así la porosidad interconectada en la estructura. La segunda etapa (pirólisis) consiste en la descomposición del ligante polimérico a una temperatura intermedia. La tercera etapa o sinterizado, es realizado para proveer resistencia mecánica a la espuma. La estructura de las espumas puede ser modificada mediante cambios en la formulación o con la variación de las condiciones de espumado y/o sinterizado. En este trabajo se propone una alternativa en la producción de espumas de Bioglass<sup>®</sup>, ya que en la actualidad las espumas obtenidas por las demás rutas no presentan propiedades mecánicas suficientes para poder ser utilizadas como implantes.

## CAPITULO I ANTECEDENTES

En este capítulo se realiza una revisión de los temas más importantes relacionados con los biomateriales, ingeniería de tejidos, síntesis de materiales porosos cerámicos, Bioglass<sup>®</sup>, andamios, así como la medición de propiedades mecánicas (resistencia a la compresión), temas necesarios para el entendimiento de esta investigación.

### 1.1 Biomateriales

Los biomateriales son aquellos usados en el sector médico, ya que cumplen con características específicas cuando se encuentran en contacto con los sistemas biológicos; aunque también son usados para el crecimiento de células en cultivo, para el análisis de proteínas en la sangre en los laboratorios clínicos, en equipamiento para el procesado de biomoléculas para aplicaciones biotecnológicas, entre otros.

En aplicaciones médicas, los biomateriales raramente son usados como materiales aislados, son comúnmente integrados a dispositivos médicos o como implantes. Principalmente se deben de considerar dos aspectos: el dispositivo biomédico y la respuesta biológica de estos. Además, en un biomaterial siempre se debe de considerar el contexto de su forma final y su aplicación.

Un *biomaterial* es un material no viable usado en un dispositivo medico, destinado a interactuar con sistemas biológicos (8).

Si la palabra “no viable” es removida, la definición se vuelve más general y puede abordar muchas nuevas aplicaciones de ingeniería de tejidos donde las células vivas son usadas.

*Ciencia de Biomateriales* es el estudio físico y biológico de los materiales y su interacción con el medio biológico.

Una definición complementaria esencial para comprender el objetivo de la Ciencia de Biomateriales es *Biocompatibilidad*.

*Biocompatibilidad* es la habilidad que tiene un material para desempeñarse con una respuesta apropiada del huésped en una aplicación específica (8).

Algunos ejemplos de “respuestas apropiadas del huésped” son: resistencia a la coagulación de la sangre, resistencia a la colonización bacteriana y sanación normal.

En la Tabla I.1 se enlistan algunas aplicaciones de materiales sintéticos para el cuerpo humano. Se incluyen varios materiales que comúnmente son clasificados como biomateriales. Nótese que se enlistan metales, cerámicos, polímeros, vidrios, carburos y materiales compuestos. Tales materiales son usados como partes maquinadas o moldeadas, recubrimientos, fibras, películas y espumas.

Tabla I.1 Varias aplicaciones de materiales naturales modificados y sintéticos en Medicina.

<b>Sistema óseo</b>	<b>Material de implante</b>
Prótesis articulares (Cadera, rodilla)	Titanio, Aleación Ti-Al-V, acero inoxidable, polietileno
Placa ósea	Acero inox., aleación cobalto-cromo
Cemento óseo	Poli (metacrilato de metilo)
Reparador de defectos óseos	Hidroxiapatita
Tendón y ligamentos artificiales	Teflón, Dracon
Implantes dentales para fijación dental	Titanio, aleación Ti-Al-V, acero inox., alúmina, fosfato cálcico
<b>Sistema Cardiovascular</b>	
Prótesis de vasos sanguíneos	Dracon, Teflón, poliuretano
Válvulas del corazón	Tejido reprocessado, acero inox., carbono
Catéter	Caucho de silicona, Teflón, poliuretano
<b>Órganos</b>	
Corazón artificial	Poliuretano
Plantilla para reparación de piel	Compuesto de silicona-colágeno
Riñón artificial	Celulosa, poliacrilonitrilo
<b>Sentidos</b>	
Sustitución coclear	Electrodos de platino
Lente intraocular	Poli (metacrilato de metilo), caucho de silicona, hidrogel
Lente de contacto	Silicona-acrilato, hidrogel
Vendaje corneal	Colágeno, hidrogel

### 1.1.1 Cerámicos, vidrios y vitro-cerámicos

Esta clasificación incluye un amplio rango de composiciones inorgánicas/no metálicas. En la industria medica estos materiales han sido esenciales para los anteojos, instrumentos de diagnostico medico, mercancía química, termómetros, frascos de cultivo de tejidos y fibras ópticas para endoscopia. Se han usado vidrios porosos insolubles para transportar enzimas, anticuerpos, y antígenos, que ofrecen las ventajas de resistencia al ataque microbiano, cambios de pH, condiciones del solvente, temperatura, y empaquetamiento bajo altas presiones requeridas para flujo rápido (9).

Los cerámicos también son ampliamente usados en Odontología como materiales de restauración tales como coronas de porcelana-oro, dentaduras, etcétera (10).

### 1.2 Tipos de biocerámicos – mecanismos de unión al tejido

Es esencial reconocer que ningún material es apto para todas las aplicaciones biomédicas. Algunos materiales cerámicos, vidrios o vitro-cerámicos son generalmente usados para reparar o remplazar tejidos rígidos tales como cartílagos o huesos. Su éxito depende del logro de una unión estable al tejido.

El mecanismo de unión al tejido está directamente relacionado con el tipo de respuesta del tejido en la interfase implante-tejido. Ningún material implantado en un tejido vivo es inerte, ya que todos los materiales provocan una respuesta del tejido vivo. Existen cuatro tipos de respuesta de los tejidos (Tabla I.2) y cuatros diferentes medios de unión prótesis-sistema óseo (Tabla I.3).

Tabla I.2 Tipos de respuesta Implante - Tejido.

Material	Respuesta
Toxico	El tejido circundante muere
No-tóxico y biológicamente inactivo (cercano a inerte)	Formación de tejido fibroso de espesor variable
No-tóxico y biológicamente activo (bioactivo)	Formación de una unión interfacial
No-tóxico y se disuelve	El tejido circundante lo remplaza

Tabla I.3 Tipos de unión Biocerámico – Tejido y su clasificación.

	<b>Tipo de unión</b>	<b>Ejemplo</b>
Tipo 1	Cerámicos densos, no-porosos, casi inertes se unen mediante el crecimiento óseo en las irregularidades de la superficie por cementación del dispositivo en los tejidos o por <i>unión morfológica</i> .	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (Monocristal y policristalino)
Tipo 2	Para implantes porosos inertes, el crecimiento óseo se produce mecánicamente mediante la unión del hueso con el material ( <i>unión biológica</i> ).	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (Policristalino) Hidroxiapatita recubierto con metales porosos.
Tipo 3	Cerámicos, vidrios y vitro-cerámicos, densos, no porosos y con superficie reactiva se unen químicamente con el hueso ( <i>unión bioactiva</i> ).	Vidrios bioactivos Vidrio cerámico bioactivo Hidroxiapatita
Tipo 4	Cerámicos reabsorbibles densos, o porosos, son diseñados para ser reemplazados lentamente por el hueso.	Fosfato tricálcico Sales de calcio-fosfato

Una comparación de la actividad química relativa de los diferentes tipos de biocerámicos, vidrios y vitro-cerámicos se muestra en la Figura 1.1. La reactividad relativa mostrada en 1 (a) tiene una relación muy cercana con la velocidad de formación de una unión interfacial en los implantes cerámico, vidrio o vitro-cerámico con el hueso (1b).

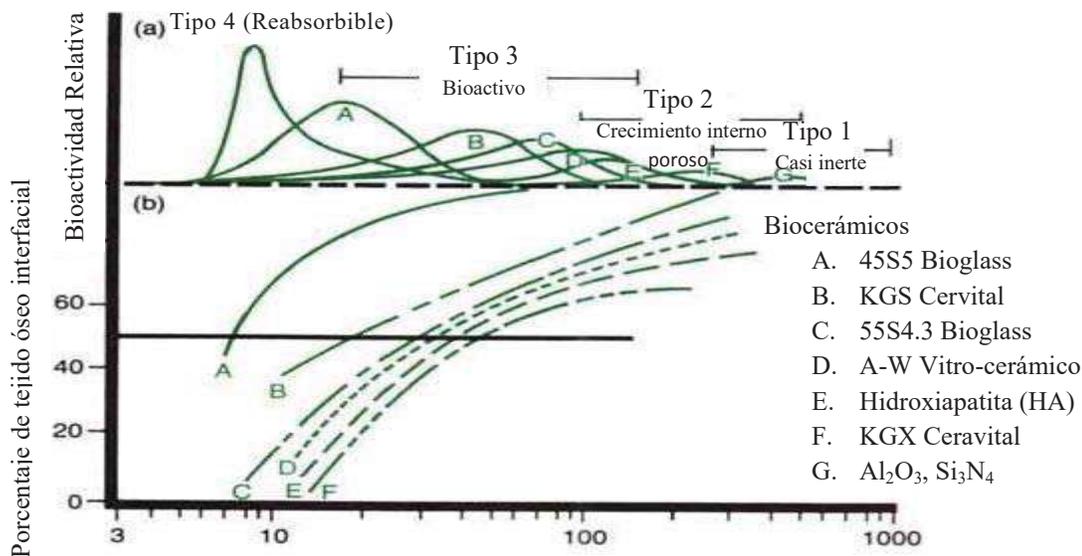


Figura 1.1 Espectro de bioactividad de varios implantes biocerámicos: (a) relación relativa de bioactividad, (b) Dependencia del tiempo de formación de unión ósea en la interfase del implante.

En nivel de reactividad de un implante influye en el espesor de la zona interfacial o la capa que existe entre el material y el tejido. Análisis de fallas a implantes durante los pasados 20 años generalmente muestran que la falla se origina en la interfase biomaterial-tejido.

Cuando un biomaterial es casi inerte (tipo 1 de la Tabla I.3 y Figura 1.1) y la interfase no está química o biológicamente unida, existe un cierto movimiento y un desarrollo progresivo de una cápsula fibrosa en tejidos suaves y rígidos.

La presencia de movimiento en la interfase biomaterial – tejido eventualmente conduce a un deterioro en la función del implante o del tejido en la interfase, o ambos. El espesor de la capsula no adherida puede variar dependiendo de los materiales y la magnitud de movimiento.

El tejido fibroso en la interfase de implantes densos de  $Al_2O_3$  (alúmina) es muy delgado. Consecuentemente si los componentes de alúmina son implantados mecánicamente muy ajustados y son sometidos primariamente a compresión, entonces son muy exitosos. En contraste, si un implante casi inerte del tipo 1 es sometido a una carga de forma que el movimiento de la interfase pueda ocurrir, el espesor de la capsula fibrosa puede ser de varios cientos de micras y el implante se puede desunir muy rápidamente.

El mecanismo detrás del uso de materiales microporosos casi inertes (tipo 2 de la Tabla I.3 y Figura 1.1) es el crecimiento del tejido en los poros de la superficie o a través del implante. El incremento del área interfacial entre el implante y el tejido da como resultado un aumento en la resistencia al movimiento del dispositivo en el tejido. La interfase es estabilizada por el tejido vivo en los poros. Quedando establecido este método de unión con el nombre de unión *biológica*, que es más capaz de resistir estados de esfuerzo complejos en comparación a los implantes de tipo 1 que presentan unión *morfológica*. La limitante que presentan los implantes porosos del tipo 2 es: para que un tejido permanezca viable y saludable es necesario que los poros sean mayores de 50-150  $\mu m$ . El gran valor de área superficial requerida para la porosidad es debido a la necesidad de proveer un suministro de sangre para el crecimiento conectivo del tejido (el tejido vascular no se encuentran en el

rango de tamaño de poros menores a 100  $\mu\text{m}$ ). Además, si ocurre micromovimiento en la interface del implante poroso y el tejido, éste se daña, y el suministro de sangre se puede cortar y el tejido morirá, entonces ocurrirá una inflamación y la estabilidad interfacial se destruirá. Cuando el material es un metal poroso, el gran incremento en el área superficial puede proveer una zona para la corrosión del implante y pérdida de iones metálicos hacia el interior de los tejidos. Esto puede ser controlado mediante el uso de un material cerámico bioactivo, por ejemplo hidroxiapatita (HA), como recubrimiento del metal. El incremento en la porosidad del material también baja la resistencia mecánica del material proporcionalmente con la fracción en volumen de la porosidad. Consecuentemente, este enfoque para resolver la estabilidad interfacial funciona mejor cuando los materiales son usados como recubrimientos o como rellenos para espacios en donde no se aplican cargas en los tejidos.

Los biomateriales reabsorbibles (tipo 4 de la Tabla I.3 y Figura 1.1) están diseñados para degradarse gradualmente durante un periodo de tiempo y ser reemplazados por el tejido natural. Esto lleva a un espesor interfacial muy delgado o inexistente. Esta es la solución óptima del biomaterial, si los requerimientos de resistencia mecánica y rendimiento a corto plazo pueden ser cumplidos, ya que los tejidos naturales pueden reemplazarse y reconstruirse así mismos durante su vida. Así, los materiales reabsorbibles están basados en principios biológicos de reparación que han evolucionado a lo largo de millones de años.

Las complicaciones en el desarrollo de los biomateriales reabsorbibles son (1) mantenimiento de la resistencia y la estabilidad de la interfase durante el periodo de degradación y reemplazo por el tejido natural, (2) coincidencia entre las velocidades de reabsorción y las de reparación del tejido humano (Figura 1.1A) (algunos materiales se disuelven muy rápidamente y otros muy lentamente). Ya que grandes cantidades de material pueden ser reemplazables, también es esencial que un material reabsorbible consista de sustancias metabólicamente aceptables. Este criterio impone limitaciones considerables en el diseño de la composición de materiales reabsorbibles. Ejemplos exitosos de polímeros reabsorbibles son ácido poliláctico (PLA) y ácido poliglicólico (PGA), usados para suturas, que se metabolizan a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  y por tanto son capaces de

funcionar por un lapso apropiado de tiempo y después se disuelven y desaparecen. Materiales porosos o en forma de partículas de fosfato de calcio, tal como el fosfato tricálcico (TCP) ha demostrado ser exitoso como remplazo reabsorbible para tejidos rígidos cuando se aplican bajas cargas mecánicas al material.

Otro enfoque a la solución de problemas de unión es el uso de materiales bioactivos (tipo 3 en la Tabla I.3 y Figura 1.1). Los materiales bioactivos son intermedios entre reabsorbibles y bioinertes. Un material bioactivo es aquel que provoca una respuesta biológica en la interfase del material, resultando en la formación de una unión del tejido con el material. Este concepto ha sido expandido para incluir un gran número de materiales bioactivos con un amplio rango de velocidades de unión y espesores de capas de unión interfaciales. En éstos se incluyen vidrios bioactivos como es el caso del Bioglass, el vitro-cerámico bioactivo Ceravital, el vitro-cerámico A-W, la Hidroxiapatita densa como la Durapatita, y compuestos bioactivos como HA-Polietileno, HA-Bioglass y fibras de acero inoxidable-Bioglass reforzado. Todos estos materiales forman una unión interfacial con el tejido adyacente. Sin embargo, la dependencia del tiempo de unión, la fuerza de unión, el mecanismo de unión y el espesor de la zona de unión difieren para cada material.

Es importante reconocer que un cambio mínimo en la composición del material puede afectar dramáticamente en su clasificación como bioinerte, reabsorbible o bioactivo.

### **1.3 Características y procesamiento de biocerámicos**

Los diferentes tipos de implantes enlistados en la Tabla I.3 son fabricados mediante diferentes métodos de procesamiento. Las características y propiedades de estos materiales se resumen en la Tabla I.4, los cuales difieren en gran medida dependiendo del método de procesamiento utilizado.

Tabla I.4 Características y propiedades de los materiales biocerámicos.

Microestructura	Numero de fases Porcentaje de fases Distribución de fases Tamaño de las fases Conectividad de las fases
Estado de fase	Estructura cristalina Defectos cristalinos Estructura amorfa Estructura porosa
Superficie	Acabado Composición Segunda fase Porosidad
Forma	
Composición	

Los métodos de procesamiento de cerámicos, vidrios y vitro-cerámicos son variados y dependen de las propiedades que se requieran obtener, entre los que destacan son proyección por plasma, fusión y homogeneización, sinterización en fase líquida, sinterización fase sólida, sol-gel, entre otros. Estos métodos nos dan cinco tipos de microestructuras o fases amorfas:

1. Vidrio
2. Cerámico policristalino obtenido por plasma
3. Cerámico sinterizado en fase líquida
4. Cerámico sinterizado en fase sólida
5. Vitro-cerámico policristalino

Las diferencias en la microestructura de las cinco categorías son primordialmente resultado de la diferencia en las etapas de procesamiento térmico requeridos para su obtención. La alúmina y los biocerámicos de fosfato cálcico son fabricados a partir de polvos finos. Por

ejemplo, la forma deseada puede ser obtenida mediante la mezcla de las partículas con agua y un ligante orgánico, entonces son prensados en un molde. A este proceso se le conoce como *formado*. La pieza formada es llamada pieza en verde. Subsecuentemente, la temperatura se incrementa para evaporar el agua (secado) y el ligante es pirolizado. A una temperatura más alta la pieza es densificada debido al calentamiento. Después del enfriamiento hasta temperatura ambiente, uno o más pasos de acabado pueden ser aplicados, tal es el caso del pulido.

Los cerámicos porosos son producidos mediante la adición de una segunda fase que se descompone antes de llevar a cabo la densificación, dejando atrás cavidades o poros (11), o mediante la transformación de organismos naturales porosos, coral a hidroxiapatita por procesado hidrotérmico (12).

#### **1.4 Cerámicos porosos**

Una ventaja potencial que ofrecen los implantes cerámicos porosos (tipo 2, Tabla I.3) es su inercia combinada con su estabilidad mecánica en la compleja interface que se desarrolla cuando el hueso crece a través de los poros del cerámico.

Los requerimientos mecánicos de la prótesis, sin embargo, restringe severamente el uso de cerámicos porosos de baja resistencia a aplicaciones en donde la cargas son ausentes. Estudios llevados a cabo por Hench y Ethridge (9), Hulbert y col. (13), y Schors y Holmes (11) han demostrado que cuando la carga no es un requerimiento, los cerámicos porosos pueden proveer un implante funcional. Cuando los tamaños de poros exceden  $100\mu\text{m}$ , el hueso crecerá a través de los canales porosos interconectados cercanos a la superficie y mantendrán su vascularidad y viabilidad a largo plazo. De esta forma, el implante funciona como un puente estructural o andamio para la formación ósea.

Los productos porosos disponibles en el mercado vienen principalmente de dos fuentes: hidroxiapatita obtenida a partir del coral (ProOsteon) o de hueso animal (Endobon).

El tipo óptimo de porosidad permanece incierto, el grado de interconectividad de los poros puede ser más crítico comparado con el tamaño de poro. Egglil y col. (14) demostraron mejoras en la integración ósea con poros interconectados de 50-100 $\mu\text{m}$  comparados con poros con menor interconectividad de tamaño de 200-400 $\mu\text{m}$ . Similarmente Kuhne y col. (15) compararon dos grados de apatita porosa (25-35%) obtenida del coral con tamaño de poro promedio de 200  $\mu\text{m}$  y 500  $\mu\text{m}$  y reportaron que se debería mejorar el crecimiento óseo para el caso del cerámico con tamaño de poro de 500 $\mu\text{m}$ . Holmes (16) sugiere que cuando se implanta apatita porosa obtenida del coral en hueso cortical, es necesario una interconexión en los poros para el transporte de nutrientes para mantener el crecimiento óseo. Las investigaciones claramente indican la importancia de la caracterización de materiales porosos antes del implante.

Los materiales porosos son más débiles que el equivalente denso o en volumen proporcionalmente al porcentaje de porosidad, entonces a medida que se incrementa la porosidad, la resistencia del material disminuye rápidamente. Una gran cantidad de área superficial es también expuesta, de manera que los defectos del medio ambiente sobre el decremento de la resistencia se vuelven más importantes que los materiales densos, materiales no porosos.

### **1.5 Vitro-cerámicos bioactivos**

Ciertas composiciones de vidrios, cerámicos, vidrios cerámicos y compuestos han demostrado la capacidad de unión con el tejido óseo (9,17-20). Estos materiales se les conocen como cerámicos bioactivos. Algunas composiciones especiales de vidrios bioactivos han demostrado la capacidad de unión con tejidos suaves (21). Una característica común de los vidrios bioactivos y cerámicos bioactivos es la dependencia temporal, modificación cinética de la superficie que ocurre después del implante. La superficie forma una capa biológicamente activa de HA que provee una interfase de unión con los tejidos.

Los materiales que son bioactivos desarrollan una interfase adherente con los tejidos que resisten importantes fuerzas mecánicas. En varios casos, la resistencia de adhesión interfacial es equivalente o mayor que la resistencia cohesiva del material implantado.

La unión hacia el tejido óseo fue primeramente demostrada para un rango composicional de vidrios bioactivos con contenido de  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$  y  $\text{P}_2\text{O}_5$  en proporciones específicas (3) mostradas en la Tabla I.5.

Tabla I.5 Composiciones de vidrios bioactivos y vitro - cerámicos (porcentaje en peso).

	<b>45S5 Bioglass</b>	<b>45S5F Bioglass</b>	<b>45S5.4F Bioglass</b>	<b>40S5B5 Bioglass</b>	<b>52S4.6 Bioglass</b>	<b>55S4.3 Bioglass</b>	<b>KGC Ceravital</b>	<b>KGS Ceravital</b>	<b>A-W GC</b>
$\text{SiO}_2$	45	45	45	40	52	55	46.2	46	34.2
$\text{P}_2\text{O}_5$	6	6	6	6	6	6			16.3
$\text{CaO}$	24.5	12.25	14.7	24.5	21	19.5	20.2	33	44.9
$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$							25.5	16	
$\text{CaF}_2$		12.25	9.8						0.5
$\text{MgO}$							2.9		4.6
$\text{Na}_2\text{O}$	24.5	24.5	24.5	24.5	21	19.5	4.8	5	
$\text{K}_2\text{O}$							0-4		
$\text{B}_2\text{O}_3$				5					
Estructura	Vidrio	Vidrio	Vidrio	Vidrio	Vidrio		Vitro - Cerámico	Vitro - Cerámico	Vitro - Cerámico
Referencia	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(17)	(17)	(22)

Existen tres características claves en la composición de estos vidrios bioactivos que los distinguen de los vidrios tradicionales de cal-sílice: (1) menos de 60% mol  $\text{SiO}_2$ , (2) alto contenido de  $\text{Na}_2\text{O}$  y  $\text{CaO}$ , y (3) alto valor en la relación  $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ . Estas características hacen la superficie altamente reactiva cuando se expone a un medio acuoso.

Una variedad de vidrios bioactivos base sílice están basados en la fórmula llamada 45S5, que significa 45 % peso de  $\text{SiO}_2$  (S=formador de la estructura) y la relación molar de 5:1 de calcio a fósforo (Ca/P). Vidrios con relaciones substancialmente menores de Ca/P no presentan unión ósea. Sin embargo algunas sustituciones en la fórmula 45S5 de 5-15 % peso de  $\text{B}_2\text{O}_3$  por  $\text{SiO}_2$  o 12.5 % peso de  $\text{CaF}_2$  por  $\text{CaO}$ , no tienen efecto sobre la habilidad del material de formación de una unión con el tejido óseo. No obstante, cuando se adiciona

un pequeño contenido (3% peso) de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  a la fórmula, éste previene la capacidad de unión con el tejido óseo del vidrio bioactivo.

La dependencia composicional de la unión ósea de los vidrios de composición  $\text{Na}_2\text{O}$ - $\text{CaO}$ - $\text{P}_2\text{O}_5$ - $\text{SiO}_2$  se ilustra en la Figura 1.2. Todos los vidrios en la Figura 1.2 contienen 6 % peso de  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Las composiciones en el centro del diagrama (región A) forman una unión con el hueso. Consecuentemente, la región A es llamada el límite bioactivo de unión ósea. Los vidrios silicatados dentro de la región B (vidrios de ventanas, botellas, portaobjetos de microscopios) se comportan de una manera casi inerte y provocan un encapsulamiento del tejido fibroso en la interfase implante-tejido. Los vidrios dentro de la región C son reabsorbibles y desaparecen en el rango de 10-30 días después del implante. Los vidrios dentro de la región D no son teóricamente prácticos y por lo tanto no han sido analizados como implantes. El asterisco (\*) señala la zona composicional en donde se encuentra el vidrio tipo 45S5 ó Bioglass<sup>®</sup>.

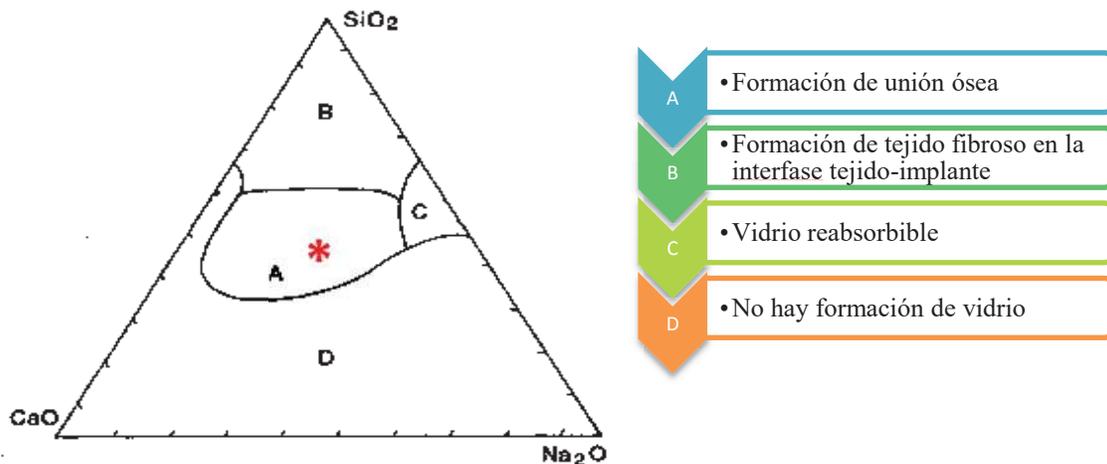


Figura 1.2 Dependencia composicional (% en peso) de la unión ósea de vidrios bioactivos y vitro-cerámicos.

### 1.5.1 Vidrio 45S5 o Bioglass<sup>®</sup>

El vidrio de composición 45%  $\text{SiO}_2$ , 24.5%  $\text{Na}_2\text{O}$ , 24.5  $\text{CaO}$  y 6%  $\text{P}_2\text{O}_5$ , % peso, es el vidrio bioactivo más estudiado ya que es el que presenta mayor bioactividad, es decir forma una capa biológicamente activa de hidroxiapatita en la superficie del material. Un

descubrimiento significativo en el desarrollo en la ingeniería de tejidos es que los productos de la disolución del vidrio regulan la osteogénesis y la producción de los factores de crecimiento (23).

Las ventajas antes mencionadas son las razones del porque el Bioglass<sup>®</sup> ha sido satisfactoriamente utilizado en tratamientos médicos de enfermedad periodontal (Perioglas<sup>TM</sup>) y como material de relleno en huesos (Novebone<sup>TM</sup>) (24). Implantes de Bioglass<sup>®</sup> también se han utilizado en el remplazo de partes del hueso dañado del oído medio, restaurando la audición a los pacientes (25). En la Tabla I.6 se presentan las propiedades mecánicas del Bioglass<sup>®</sup> en volumen.

Tabla I.6 Propiedades mecánicas del Bioglass<sup>®</sup> en volumen.

<b>Cerámico</b>	<b>Resistencia a la compresión (MPa)</b>	<b>Resistencia a la tensión (MPa)</b>	<b>Modulo elástico (GPa)</b>	<b>Resistencia a la fractura (MPa)</b>	<b>Referencia</b>
Bioglass <sup>®</sup>	~500	42	35	0.5-1	(20,26,27)

## 1.6 Ingeniería de tejidos

La Ingeniería de Tejidos representa un nuevo e interdisciplinario campo que aplica un conjunto de métodos, materiales de ingeniería y ciencias de la vida para crear construcciones para regeneración de tejido nuevo (1). Las enfermedades, lesiones y traumas pueden conducir al daño y degeneración de los tejidos dentro del cuerpo humano, el cual necesitaría tratamientos que faciliten su reparación, remplazo o regeneración. Los tratamientos típicamente se enfocan en el trasplante de tejidos de un sitio a otro dentro del mismo paciente (auto injerto) o de un individuo a otro (trasplante o aloinjerto). Mientras que estos tratamientos han sido revolucionarios y salvado vidas, ambos conllevan grandes problemas. Colectar auto injertos es costoso, doloroso, está restringido por limitaciones anatómicas asociada con infecciones y hematomas. Similarmente, lo aloinjertos y trasplantes también presentan limitaciones debido a los problemas asociados con el acceso de suficiente tejido para todos los pacientes quienes lo requieren y el hecho de que existen riesgos de rechazo por parte del sistema inmune del paciente, así como la posibilidad de la

introducción de una infección o enfermedad por parte del donador hacia el paciente. Alternativamente, el campo de la ingeniería de tejidos tiene como objetivo la regeneración de tejidos dañados, en lugar de remplazarlos, mediante el desarrollo de sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función del tejido. El campo de Ingeniería de Tejidos es altamente multidisciplinario y recurre a expertos de la medicina clínica, ingeniería mecánica, ciencia de los materiales, genética y disciplinas afines de la ingeniería y ciencias de la vida. El campo se basa extensivamente en el uso de armazones porosos, que proveen el entorno adecuado para la generación de tejidos y órganos. Estos armazones esencialmente actúan como un molde o plantilla para la formación de tejidos y suelen ser combinados con células y en ocasiones con factores de crecimiento, o ser sometidos a estímulos biofísicos en la forma de un bioreactor, dispositivo o sistema en el cual se aplican diferentes tipos de estímulos mecánicos o químicos a las células (28). Estos armazones son también cultivados *in vitro* para sintetizar tejidos, los cuales son entonces implantados en el sitio de la lesión, o pueden ser implantados directamente en la herida, usando el propio sistema humano, en donde la regeneración del tejido o del órgano inducida *in vivo*. Ésta combinación de células-señales-armazón es comúnmente referida como *tissue engineering triad*. (Figura 1.3)

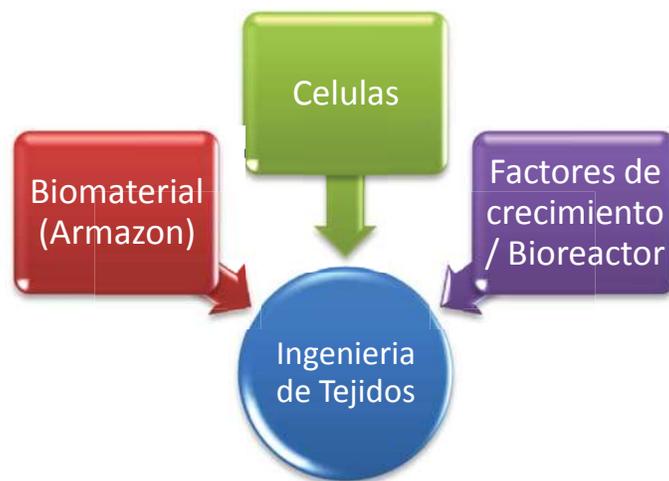


Figura 1.3 *Tissue engineering triad* de células-señales (proporcionadas químicamente por factores de crecimiento o físicamente por un bioreactor) -armazón, el cual actúa como plantilla para la formación de tejido.

### 1.6.1 Requerimiento de los armazones

Numerosos armazones se han producido a partir de una variedad de biomateriales, así como de técnicas de fabricación en un intento de regenerar diferentes tejidos y órganos del cuerpo. Independientemente del tipo de tejido, una serie de consideraciones fundamentales son importantes en el diseño o en la determinación de la idoneidad del armazón para poder ser utilizado en la Ingeniería de tejidos.

#### 1.6.1.1 *Biocompatibilidad*

El primer criterio de cualquier armazón para la Ingeniería de Tejidos es el de ser biocompatible; las células deben de adherirse, funcionar normalmente, migrar por la superficie y eventualmente a través del armazón, y empezar a proliferar antes de la formación de la nueva matriz. Después del implante, el armazón debe de provocar una reacción inmune insignificante con el fin de evitar una respuesta inflamatoria severa que pueda reducir la curación o causar rechazo por parte del cuerpo.

#### 1.6.1.2 *Biodegradabilidad*

El objetivo de la Ingeniería de Tejidos es permitir que las propias células del cuerpo junto con el tejido, con el tiempo, replacen eventualmente el armazón implantado. Los armazones no son fabricados con la intención de ser implantes permanentes. Por lo tanto, el armazón debe ser biodegradable a fin de permitir que las células produzcan su propia matriz extracelular (29). Los productos obtenidos de esta degradación también deben ser no tóxicos y ser capaces de salir del cuerpo sin interferir con ningún órgano. Con el fin de permitir que la degradación se produzca en paralelo con la formación de tejido, se requiere una respuesta inflamatoria combinada con la infusión controlada de células.

#### 1.6.1.3 *Propiedades mecánicas*

Idealmente, el armazón debe tener propiedades mecánicas consistentes con el sitio anatómico en el cual es implantado y, desde una perspectiva práctica, debe ser lo suficientemente resistente para poder manipularlo durante el implante. Producir armazones

con propiedades mecánicas adecuadas para el cartílago y el sistema óseo es uno de los mayores retos. Para este tipo de tejidos, los armazones implantados deben tener la integridad mecánica suficiente para funcionar durante el periodo de tiempo del implante hasta la finalización del proceso de remodelación (30).

Otro desafío es que las tasas de curación varían con la edad; por ejemplo, en individuos jóvenes, las fracturas normalmente sanan a un punto de soporte de peso en alrededor de seis semanas, con integridad mecánica completa, pero en los ancianos la tasa de reparación se ralentiza. Este aspecto también debe tomarse en cuenta cuando se diseñan armazones para aplicaciones ortopédicas. Sin embargo, como el campo ha evolucionado, se puede argumentar que se ha puesto mucho empeño en tratar de desarrollar armazones con propiedades mecánicas similares al hueso y al cartílago. Muchos materiales se han desarrollado con buenas propiedades mecánicas pero en detrimento de mantener una alta porosidad muchos materiales, que han demostrado mucho potencial *in vitro*, han fallado cuando se implantan *in vivo* debido a la insuficiente capacidad de vascularización. Es evidente que se debe cumplir un balance entre las propiedades mecánicas y una arquitectura porosa suficiente para permitir la infiltración celular y la vascularización, esto es clave para el éxito de cualquier armazón.

#### *1.6.1.4 Arquitectura del armazón*

La arquitectura del armazón usado para la ingeniería de tejidos es de crítica importancia. Los armazones deben tener una estructura porosa interconectada y alto grado de porosidad para asegurar la penetración celular y la adecuada difusión de nutrientes a las células dentro de la construcción celular. Por otra parte, una estructura con porosidad interconectada se requiere para permitir la difusión de productos residuales fuera del andamio, y los productos de degradación del armazón deben ser capaces de salir del cuerpo sin interferir con otros órganos y tejidos circundantes.

Otro componente clave es el tamaño de poro promedio del armazón. Las células principalmente interactúan con los armazones a través de grupos químicos (ligandos) en la superficie del material. La densidad del ligando es influenciada por el área superficial

específica, es decir, la superficie disponible dentro de un poro en la cual las células pueden adherirse. Esto depende del tamaño de poro promedio, por lo tanto los poros deben ser lo suficientemente grande para permitir que las células migren dentro de la estructura, donde finalmente quedarán unidos a los ligandos dentro del andamio, pero lo suficientemente pequeños para establecer una superficie específica alta, que lleva a una densidad de ligando mínima que permite la unión eficiente de un número crítico de células con el armazón (31,32).

Por lo tanto, para cualquier armazón, existe un rango crítico de tamaño de poro (33,34), el cual puede variar dependiendo del tipo de células utilizadas y el tipo de tejido que se está diseñando.

#### *1.6.1.5 Tecnología de manufactura*

Con el fin de que un armazón o una estructura de ingeniería de tejidos sea clínica y comercialmente viable, ésta debe ser rentable y debe tener la posibilidad de ser producido en forma comercial. Otro factor clave es determinar cómo será entregado el producto y puesto a disposición del médico. Esto determinará el tipo de almacenaje del armazón, ya que en ciertas ocasiones es necesario ciertos procesos quirúrgicos extras para insertar células en la estructura varias semanas antes del implante.

### **1.7 Métodos para la obtención de materiales porosos**

En esta sección se presentan las rutas de procesamiento utilizadas para la fabricación de materiales porosos y han sido clasificados en: réplica, molde de sacrificio y espumado directo, tal y como se esquematiza en la Figura 1.4.

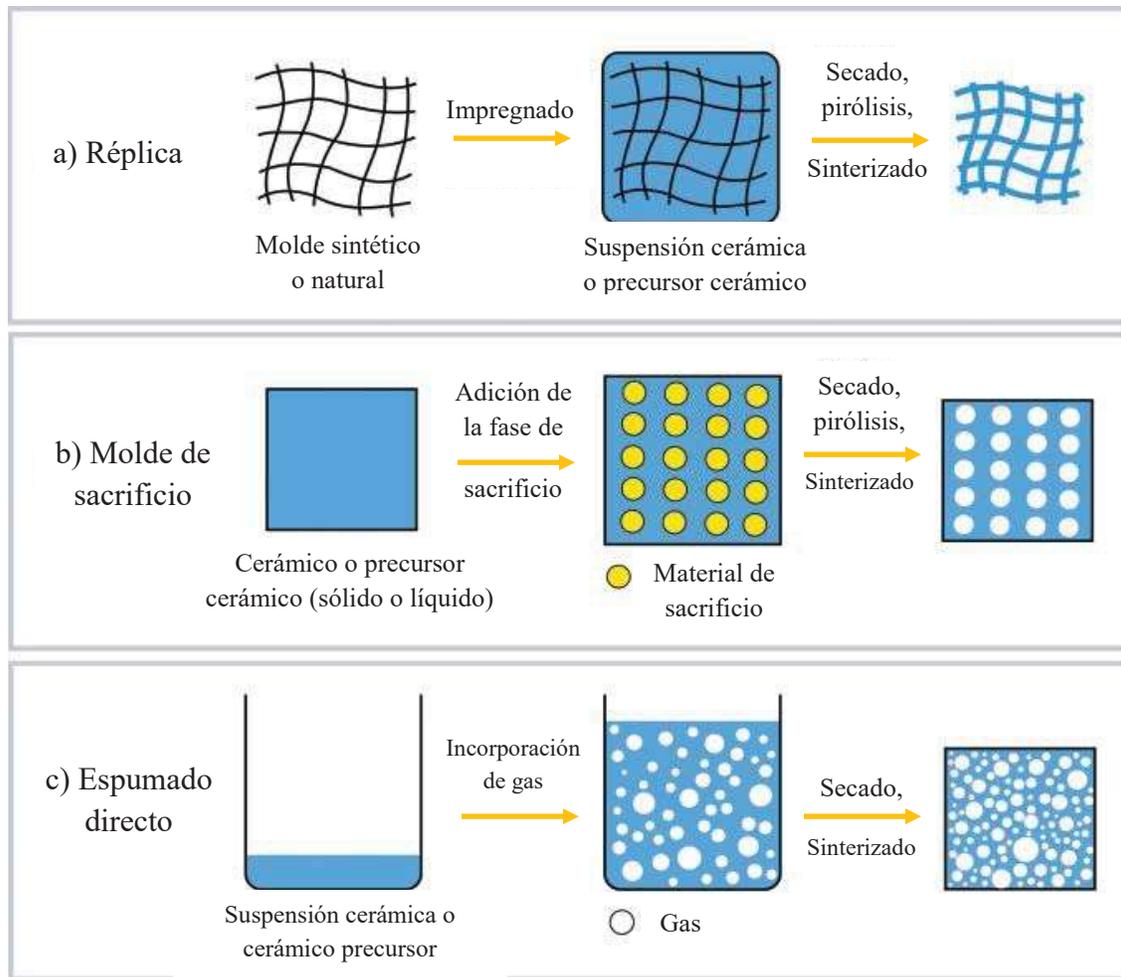


Figura 1.4 Esquema de diferentes rutas de procesamiento para la obtención de cerámicos macroporosos.

### 1.7.1 Método de la réplica

El método de la réplica se basa en la impregnación de una suspensión cerámica o solución precursora sobre una estructura celular con el fin de producir un cerámico macroporoso que exhiba la misma morfología que el material poroso original (Figura 1.4a). Diversas estructuras celulares de materiales sintéticos y naturales pueden ser utilizadas como moldes para la fabricación de cerámicos macroporosos.

### 1.7.1.1 *Moldes sintéticos*

La técnica de la réplica es considerada como el primer método usado para la fabricación de cerámicos macroporosos. La invención original data de los principios de los 1960's, cuando Schwartzwalder y Somers (35) comenzaron a utilizar esponjas poliméricas como moldes para preparar estructuras celulares de diferentes tamaños de poro, tipos de porosidades y composiciones químicas. Desde entonces la técnica de la réplica con esponja se ha convertido en el método más popular para la producción de cerámicos macroporosos y en la actualidad es extensivamente usado en la industria para la fabricación de filtros que son usados para el proceso del filtrado de metal líquido y otras aplicaciones. El éxito de esta técnica radica en su simplicidad y flexibilidad para producir cerámicos celulares. En la técnica de la réplica polimérica, una esponja polimérica altamente porosa (poliuretano típicamente) es inicialmente sumergida en una suspensión cerámica hasta que los poros internos se llenan con el material cerámico. Después, la esponja impregnada se pasa a través de rodillos con la finalidad de remover el exceso de la suspensión y permitir la formación de una capa cerámica fina sobre las paredes de la estructura celular original. En este paso, la mezcla tiene que ser lo suficientemente fluida para poder ser parcialmente removida cuando los rodillos son utilizados, aunque el cerámico remanente que recubre la estructura deberá ser lo suficientemente viscoso para evitar goteo de la suspensión.

El molde polimérico recubierto con el cerámico es subsecuentemente secado y pirolizado con cuidado a temperaturas entre 300 y 800 °C. Velocidades de calentamiento menores a 1 °C/min son usualmente requeridas en este paso para promover la descomposición gradual y la difusión del material polimérico y así evitar la acumulación de presión dentro de las paredes de la estructura (36). Ligantes y plastizantes son usualmente adheridos en la suspensión inicial con la finalidad de proveer al recubrimiento cerámico resistencia suficiente para prevenir fracturas de las paredes durante la pirólisis. Los ligantes típicos que son usados son: ortofosfato de aluminio coloidal, silicato de potasio y sodio, ortoborato de magnesio, alúmina hidratable, sílice coloidal, entre otros. Una vez removido el molde polimérico, la capa cerámica es finalmente densificada por sinterización bajo una atmósfera apropiada en un rango de temperaturas de 1100 a 1700 °C, dependiendo del material.

Cerámicos macroporosos de diferentes composiciones químicas han sido preparadas mediante la técnica de replica con esponja,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , SiC,  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Si}_3\text{N}_4$ , HA.

Los cerámicos porosos obtenidos mediante la técnica de la réplica con esponja pueden llegar a niveles de porosidad abierta en el rango de 40-95% y son caracterizadas por una estructura reticular con porosidad interconectada con tamaños de  $200\mu\text{m}$  a  $3\text{mm}$ , como se indica en las Figuras 1.5 y 1.6 (a). La alta interconectividad de los poros mejora la permeabilidad de los fluidos y gases a través de la estructura porosa (37), haciendo de estos materiales muy apropiados para filtración de alto rendimiento.

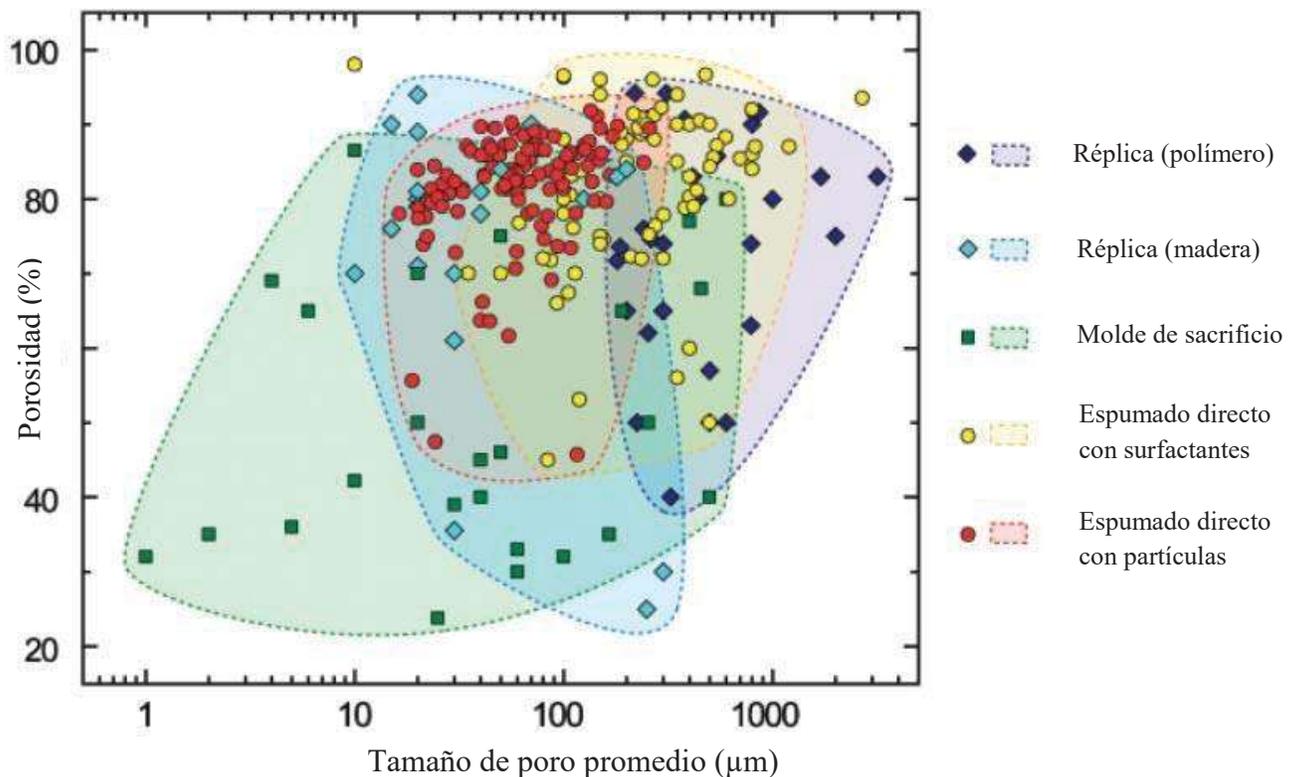


Figura 1.5 Porosidad típica y tamaño de poro promedio obtenido a través de los procesos: réplica, molde de sacrificio y espumado directo.

Una desventaja de la técnica de réplica con esponjas es el hecho de que los puntales de la estructura reticular se fracturan con frecuencia durante la pirólisis del molde polimérico (Figura 1.6 (b)), degradando considerablemente la resistencia mecánica final del cerámico poroso (38).

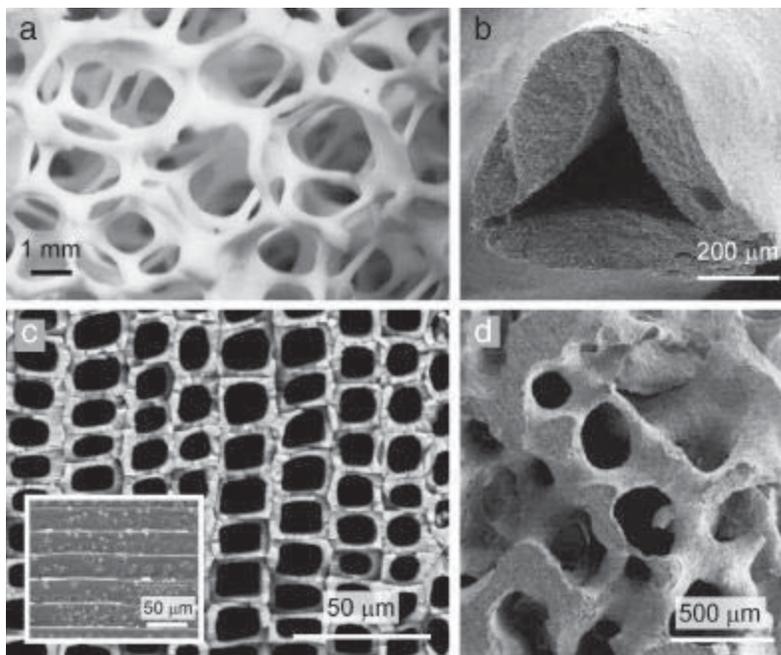


Figura 1.6 Microestructuras de cerámicos macroporosos producidos mediante la técnica de réplica. a) Alúmina con porosidad abierta obtenida mediante el uso de moldes de esponja de poliuretano (37), b) detalle de un puntal de un cerámico celular producido a partir de esponjas poliméricas, donde se ilustra el hueco típico formado debido a la pirólisis del molde orgánico (39), c) vista transversal de un cerámico con alta porosidad orientada de SiC obtenida por infiltración de un molde de madera con gas de Si (la vista longitudinal se muestra en el recuadro) (40), d) hidroxiapatita obtenida a partir de una estructura de coral (41).

### 1.7.1.2 Moldes naturales

Además de las espumas sintéticas poliméricas, otro tipo de estructura celular ha sido utilizada como molde en la fabricación de cerámicos macroporoso a través de la técnica de réplica, tal es el ejemplo de corales naturales.

Estructuras celulares disponibles en la naturaleza son particularmente interesantes como moldes de réplica natural, gracias a su morfología porosa especial y microestructura intrincada, la cual puede ser difícil de reproducir artificialmente.

Los corales se han aplicado como moldes naturales para la preparación de cerámicos macroporosos, en particular para la producción de armazones en la ingeniería de Tejidos y sustitución ósea (12). White y col. (42) emplearon un método de cera perdida llamado “replamineform” para replicar la estructura de los corales y otros esqueletos invertebrados marinos. En esta técnica, el coral es impregnado con cera bajo atmósfera de vacío con la finalidad de obtener una forma negativa de la estructura celular. Una vez endurecida la cera, el carbonato de calcio del esqueleto del coral es lixiviado con una solución fuertemente ácida. El cerámico macroporoso es obtenido mediante la impregnación de la suspensión cerámica sobre el modelo negativo de cera y subsecuentemente removiendo el material orgánico por pirólisis. Este proceso ha sido exitosamente utilizado para la producción de cerámicos con propiedades piezoeléctricas (43). La estructura celular de los corales también se ha convertido directamente en armazones macroporosos de hidroxiapatita mediante el tratamiento hidrotérmico a altas temperaturas y presiones del esqueleto marino (12) (Figura 1.6 (d)). Diferentes investigadores han estudiado la transformación de estructuras celulares de la madera en cerámicos macroporosos (Figura 1.6 (c)), La presencia de canales orientados en la estructura de la madera permiten la preparación de cerámicos macroporosos con alto nivel de poros alineados los cuales no son posible de obtener con otra técnica de réplica (44).

### 1.7.2 Método del molde de sacrificio

La técnica del molde de sacrificio usualmente consiste en la preparación de un compuesto bifásico, que contiene una matriz continua de partículas cerámicas o precursores cerámicos y una fase dispersa de sacrificio, que es distribuida homogéneamente en toda la matriz y es en última instancia, extraída para generar porosidad dentro de la microestructura (Figura 1.4 (b)). Este método conduce a un material poroso que muestra una réplica negativa de la plantilla de sacrificio original, contrario a la morfología positiva obtenida de la técnica de réplica descrita anteriormente.

El composito bifásico es comúnmente preparado por (a) la compresión de una mezcla de polvos de dos componentes (45), (b) la formación de una suspensión bifásica, la cual es

subsecuentemente tratada por rutas húmedas coloidales (46) o (c) por la impregnación previa de preformas consolidadas del material de sacrificio con suspensión cerámica (47).

La manera en la cual el material de sacrificio es removido del compósito depende primordialmente del tipo del formador de poro empleado. Una gran variedad de materiales de sacrificio han sido usados como formadores de poro, incluyendo orgánicos naturales y sintéticos, sales líquidos, metales y compuestos cerámicos.

Orgánicos naturales y sintéticos son usualmente removidos por pirólisis aplicando tratamientos térmicos largos a temperaturas de 200-600 °C (48,49). Los largos periodos requeridos para una pirolisis completa del componente orgánico y la gran cantidad productos gaseosos generados durante este proceso son las principales desventajas del uso de materiales orgánicos como materiales de sacrificio.

Una de las principales ventajas del método del molde de sacrificio en comparación con las otras rutas de fabricación es la posibilidad de adaptar deliberadamente la porosidad, distribución de tamaño de poro y la morfología porosa del componente cerámico final a través de la adecuada elección del material de sacrificio. La Figura 1.5 muestra que el rango de porosidad y tamaño de poro que puede ser obtenido con ésta técnica es muy amplio (20-90% y 1-700 $\mu$ m, respectivamente), ya que solo dependen de la fracción en volumen y el tamaño del material de sacrificio usado.

### **1.7.3 Método de espumado directo**

En el método de espumado directo, los materiales porosos son producidos mediante la incorporación de aire en una suspensión o medio líquido que, posteriormente, es mantenido para mantener la estructura de burbujas de aire creadas (Figura 1.4 (c)). En la mayoría de los casos, las espumas consolidadas son más tarde sinterizadas a altas temperaturas para obtener cerámicos porosos de alta resistencia.

La porosidad total de la espuma cerámica es proporcional a la cantidad de gas incorporado dentro de la suspensión o medio líquido durante el proceso de espumado. Por otro lado, el tamaño de poro, es determinado por la estabilidad de la espuma antes de que esta se realice. Los métodos de espumado directo usualmente son fáciles, baratos y se preparan de una manera rápida los cerámicos macroporosos con porosidades abiertas y cerradas que van de 40 a 97%. La estabilización y formación de las espumas es un paso decisivo en éste método. Las espumas suelen ser estabilizadas con surfactantes para obtener cerámicos porosos que exhiben tamaño de poro que van de 35 $\mu$ m a 1.2mm.

Estructuras celulares preparadas por espumado directo, usualmente exhiben resistencia mecánica considerablemente mayor que las obtenidas por la técnica de replica debido principalmente a la ausencia de defectos en los puntales de la estructura. Resistencia a la compresión de 16 MPa a niveles de porosidad de 87-90% han sido obtenidas de cerámicos porosos producidas por espumado directo.

#### **1.7.4 Variante de metalurgia de polvos**

Este proceso consiste en la mezcla en seco de los polvos cerámicos o metálicos con un aglutinante polimérico sólido y un agente espumante (7). La mezcla es entonces moldeada en la forma deseada y tratada térmicamente en un ciclo de tres periodos. Durante la primera etapa (espumado) el aglutinante es fundido para crear una suspensión cargada con partículas metálicas o cerámicas. Durante este periodo, el agente espumante se descompone y libera un gas que expande la estructura, así creando porosidad interconectada en la estructura. La segunda etapa (pirólisis) consiste en la descomposición del ligante polimérico a una temperatura intermedia. La tercera etapa, sinterizado, es realizada para proveer resistencia mecánica a la espuma. La estructura de las espumas puede ser modificada mediante cambios en la formulación o con la variación de las condiciones de espumado y/o sinterizado.

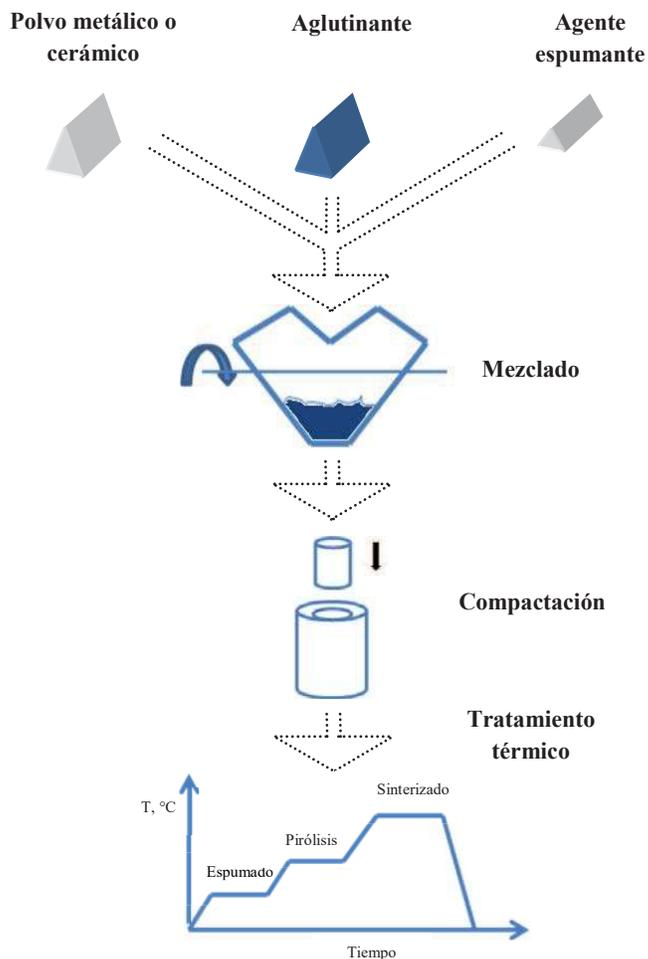


Figura 1.7 Representación esquemática del proceso de producción de espumas.

Este proceso ha sido exitosamente utilizado para la obtención de espumas de diferentes materiales, titanio, níquel, hierro y aleación Ti-6Al-4V.

En la Figura 1.8 se muestra la estructura obtenida mediante el método mencionado con anterioridad (7) se observa que la mayoría de los poros resultantes están en el rango de 50-400 $\mu$ m. Las espumas fueron sinterizadas a una temperatura de 1400 °C en atmósfera de vacío ( $10^{-5} - 10^{-6}$  Torr).

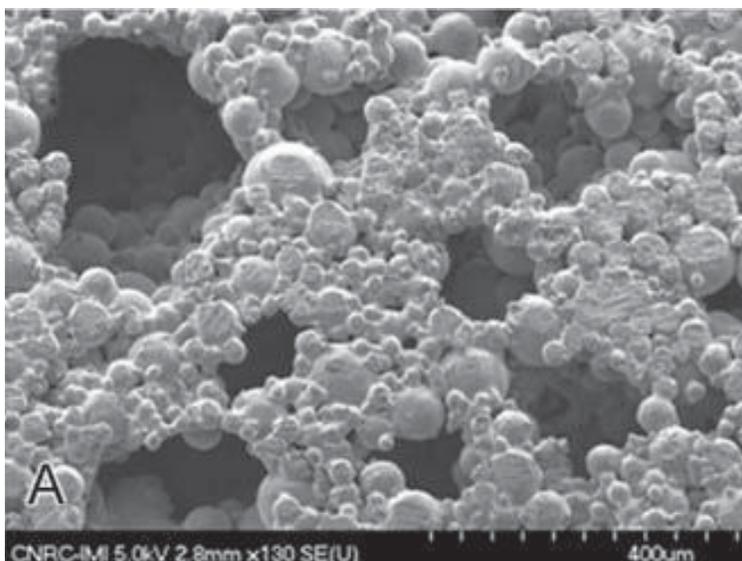


Figura 1.8 Micrografía electrónica de barrido de la superficie de una espuma de titanio.

Materiales que en la actualidad son utilizados para la fabricación de implantes como es el caso la aleación Ti-6Al-4V también es posible obtenerlo en forma porosa por este método (50). En este caso se partió de polvo de la aleación Ti-6Al-4V, la cual se mezcló con un ligante polimérico orgánico y un agente espumante para la obtención de estructuras altamente porosas. Las muestras fueron sinterizadas a una temperatura de 1300 °C por un periodo de 2 horas en atmósfera de argón. La estructura de la espuma obtenida, así como su morfología se presentan en la Figura 1.9.

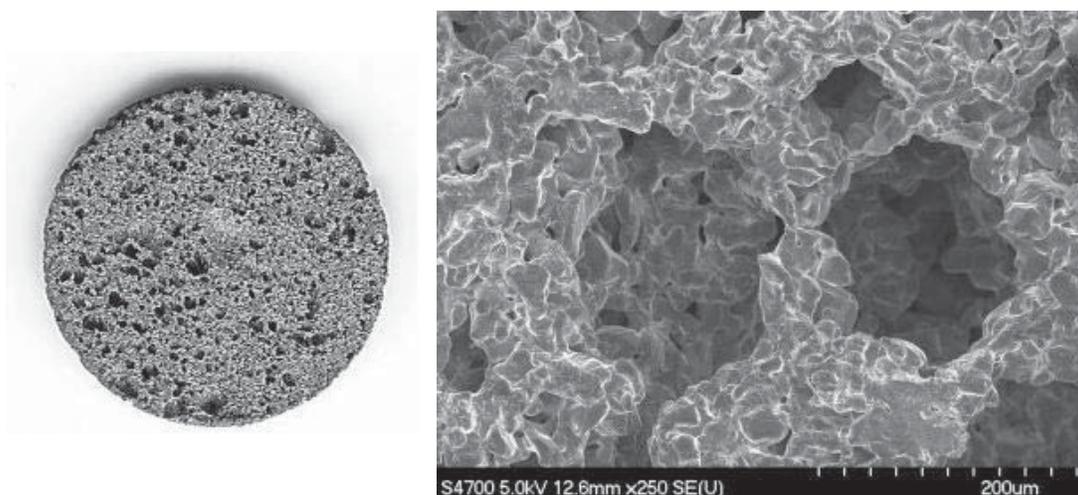


Figura 1.9 Morfología de la espuma obtenida y micrografía electrónica de barrido de la superficie de la espuma de la aleación Ti-6Al-4V.

### **1.8 Actualidad de los materiales celulares**

Hoy en día, los materiales usados para fabricar andamios son polímeros naturales o sintéticos, polisacáridos, poli ( $\alpha$ -hidroesteres xy), hidrogeles o elastómeros termoplásticos (51-54). Otra categoría importante de materiales son los cerámicos bioactivos tal es el caso de fosfatos de calcio y vidrios bioactivos o vitro-cerámicos (24,55,56). Actualmente, materiales compuestos de polímeros y cerámicos se están desarrollando con el objetivo de aumentar la estabilidad mecánica de los andamios y mejorar su interacción con los tejidos (56-61). Adicionalmente, se han invertidos esfuerzos en el desarrollo de estructuras celulares con la capacidad de suministrar fármacos. Este tipo de armazones pueden liberar factores de crecimiento o antibióticos localmente y con esto mejorar el crecimiento óseo para el tratamiento de defectos óseos y hasta apoyar en la cicatrización de heridas (56,62-65). Como se mencionó anteriormente los requerimientos para los armazones son numerosos, para cumplir con la mayor parte de los requerimientos posibles, se han utilizados sistemas compuestos que combinan las ventajas de los polímeros y cerámicos, pareciendo ser una opción muy provechosa, en particular para la ingeniería de tejidos ósea, tal y como se ha demostrado por el incremento en los esfuerzos en la investigación es este campo a nivel mundial (56-64,66-71).

## CAPITULO II DESARROLLO EXPERIMENTAL

En esta sección se describe el procedimiento de preparación del vidrio bioactivo 45S5, así como su obtención en forma de polvo y su caracterización. Así mismo, se describe el proceso de obtención de espumas de vidrio 45S5 y su caracterización estructural y mecánica.

### 2.1 Preparación del vidrio 45S5

#### 2.1.1 Reactivos de partida

Los reactivos utilizados para la fabricación del vidrio 45S5 fueron carbonato de sodio anhídrido, óxido de calcio, dióxido de silicio y pentóxido de fósforo. Estos óxidos se adicionaron en un recipiente de polietileno para homogeneizarlos mediante un molino de bolas convencional durante 15 min. La mezcla se realizó estequiométricamente con la finalidad de obtener 100 g de vidrio por cada lote fabricado.

De acuerdo a los cálculos estequiométricos realizados para la obtención de 100 g de vidrio es necesario mezclar las cantidades mostradas en la Tabla II.1.

Tabla II.1 Reactivos necesarios para la obtención de 100 g de vidrio 45S5.

Reactivo	Cantidad (g)	Presentación y Pureza	Proveedor
SiO <sub>2</sub>	45.18	Polvo blanco y 99.6%	Sigma-Aldrich, USA
CaO	25	Polvo blanco y 98%	Sigma-Aldrich, USA
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	6.12	Polvo blanco y 98%	Sigma-Aldrich, USA
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	41.9	Polvo blanco y 100%	J. T. Baker, México

### 2.1.2 Obtención del vidrio

Una vez obtenida la mezcla, ésta fue vaciada en un crisol de sílice fundida, la cual, fue introducida en un horno vertical Lindberg/BlueM para ser sometida a un ciclo térmico (Figura 2.1) para la obtención de la fundición. La mezcla fundida fue vaciada en una placa de acero de espesor de 3.175cm, la cual estaba en contacto (parte inferior) con un recipiente con agua que hacía el efecto de refrigerar la placa y así obtener mayor cantidad de calor extraído por parte del elemento metálico.

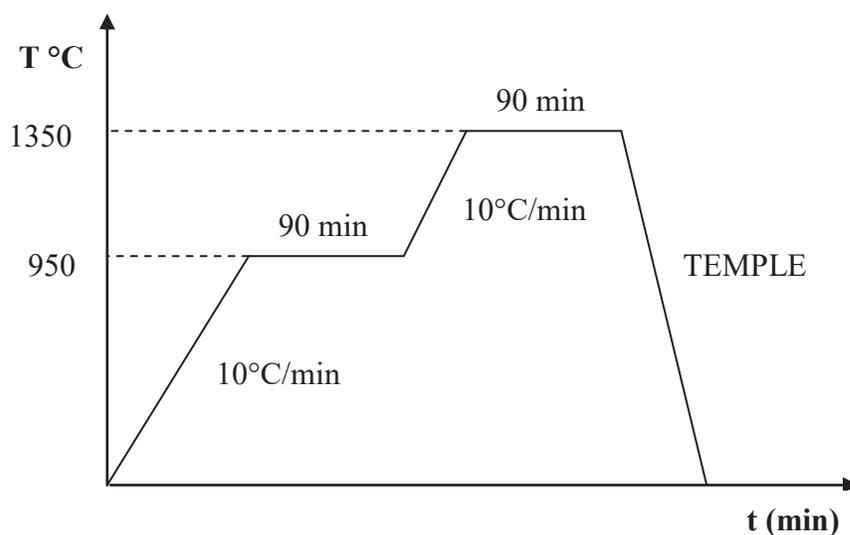


Figura 2.1 Ciclo de calentamiento para la obtención del vidrio bioactivo 45S5.

### 2.1.3 Obtención del vidrio en polvo

Una vez obtenido el vidrio, éste fue pulverizado en un molino de discos vibratorio por un periodo de 60 s en lotes de 50 g; el polvo obtenido se hizo pasar por medio de una malla de #250 para obtener un tamaño de partícula menor a 63 $\mu$ m. El polvo mayor a este tamaño de partícula se volvió a triturar y a separar con la misma malla. Esta operación se repitió hasta que todo el vidrio en polvo pasó a través de esta malla. Finalmente todos los lotes fueron mezclados con la finalidad de homogenizar el polvo.

### 2.1.4 Caracterización de los polvos de vidrio 45S5

Los polvos del vidrio bioactivo fueron caracterizados mediante difracción de rayos X utilizando un difractómetro de rayos X Bruker AXS D8 Discover (Figura 2.2) con radiación Cu K $\alpha$ , la adquisición fue realizada en el rango 2 $\theta$  de 20 a 90° utilizando un paso de 0.01° con un tiempo por paso de 2 s.



Figura 2.2 Difractómetro de rayos X Bruker AXS D8 Discover usado para obtener los datos cristalográficos del vidrio.

Adicionalmente se realizó un análisis por calorimetría diferencial de barrido con un equipo TA Instruments SDT Q600 (Figura 2.3) con la finalidad de determinar las temperaturas de transición vítrea, cristalización y fusión. Las mediciones fueron llevadas a cabo en atmósfera de argón desde temperatura ambiente hasta 1250°C a una velocidad de calentamiento de 20 °C/min.



Figura 2.3 Equipo de análisis térmico simultáneo TGA/DSC.

Con el objetivo de corroborar la composición del vidrio bioactivo para esta investigación, se llevó a cabo un análisis de fluorescencia de rayos X (FRX) al vidrio en polvo obtenido por fusión. La muestra fue inicialmente puesta en base seca, y las perlas para medición se prepararon con 0.5 g de muestras y 9 g de mezcla fundente constituida por TBL:MBL 1:1.

Además, se realizaron pruebas para determinar la distribución de tamaño de partícula sobre el polvo de vidrio mezclado ya separado con la malla 250 utilizando un analizador Beckman Coulter LS 13 320.



Figura 2.4 Analizador de tamaño de partícula.

## 2.2 Producción de las espumas de vidrio 45S5

El procedimiento descrito en la Figura 2.5 muestra la manera en que fueron producidas las espumas de vidrio. Éste es una variante del proceso de metalurgia de polvos, en el cual, los diferentes materiales utilizados en polvo son mezclados para ser tratados térmicamente, éste proceso se describe con mayor detalle a continuación. El vidrio en polvo fue mezclado con resina fenólica y un agente espumante (Tolueno Sulfonyl Hidrazida) dentro de un molde para ser tratado térmicamente en un horno por convección Yamato DKN 600 (Figura 2.6). Durante el espumado el ligante se funde y crea una suspensión cargada con partículas de vidrio 45S5, al mismo tiempo el agente espumante se descompone y forma un gas que es el encargado de expandir la estructura. Después del espumado el material resultante es una espuma de resina fenólica sólida cargada con partículas del vidrio bioactivo. Entonces, las espumas son maquinadas en pequeños cilindros ( $D = 15.2$  mm;  $L = 8$  a  $13$  mm) con la finalidad de crear una estructura más uniforme y evitar problemas de colapso durante los pasos térmicos posteriores. Los cilindros resultantes fueron pirolizados y sinterizados a diferentes temperaturas (950, 975, 1000 y 1025 °C) en atmósfera de aire con la finalidad de consolidar el material.

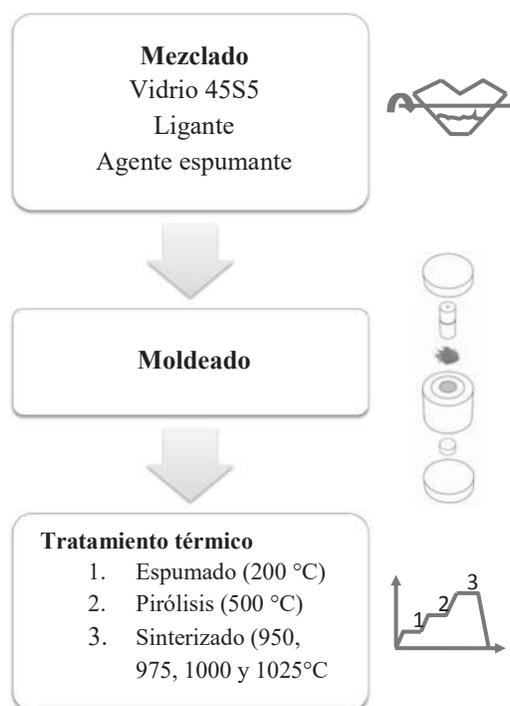


Figura 2.5 Diagrama de la ruta experimental utilizada.



Figura 2.6 Horno por convección usado para la fabricación de las espumas.

### 2.2.1 Caracterización de las espumas de vidrio 45S5

La estructura de las espumas fue observada mediante microscopía electrónica de barrido JEOL JSM-6100 para las distintas temperaturas de sinterización (950, 975, 1000 y 1025°C).

Así mismo se realizó caracterización de la estructura porosa mediante microtomografía por rayos X ( $\mu$ CT) para las espumas sinterizadas a las cuatro temperaturas antes mencionadas, con un equipo XTek HMXST 225 (Figura 2.7). La técnica ha sido últimamente muy utilizada en el ámbito de ingeniería de tejidos, gracias a las ventajas de ser un método no destructivo y la obtención de imágenes en 3D de las muestras.



Figura 2.7 Sistema XTek HMXST 225, equipo para obtener imágenes de microtomografía.

La distribución de tamaño de poro de las espumas resultantes se evaluó a partir de las imágenes en 2-D extraídas de microtomografía por medio de un analizador de imágenes Clemex. Similarmente, al polvo del vidrio 45S5, las espumas fueron caracterizadas por medio de difracción de rayos X con la finalidad de obtener las fases cristalinas presentes después del sinterizado; para llevar a cabo el análisis, las espumas fueron molidas con la finalidad de obtener el polvo necesario para el análisis. El equipo usado fue un difractómetro Bruker AXS D8 Discover y la adquisición de datos se obtuvo en el rango  $2\theta$  de  $20 - 90^\circ$  con un paso de  $0.01^\circ$  y con un tiempo por paso de 2 s.

Para la evaluación mecánica fue necesario maquinar las muestras para obtener cilindros bien definidos ( $D = 9$  a  $12$  mm;  $L = 3$  a  $8$  mm). La resistencia a la compresión fue medida sobre 5 muestras para cada serie (temperatura de sinterización), con una máquina universal MTS, la velocidad aplicada fue de  $2.5$  mm/min, la celda utilizada fue de 5kN.

La densidad de las espumas resultantes se midió a partir de la masa y la dimensión de los cilindros sinterizados, para esta medición se tomaron diez cilindros de espumas sinterizadas de cada temperatura de sinterización. La porosidad  $p$  se calculó con la formula:

$$p = \frac{\rho_{\text{espuma}}}{\rho_{\text{sólido}}} = 1 - \rho_{\text{relativa}} \quad (1)$$

Donde  $\rho_{\text{sólido}} = 2.7 \text{ g/cm}^3$  es la densidad teórica del vidrio 45S5 (72).

Adicionalmente se realizaron estudios de encogimiento conforme se incrementó la temperatura de sinterización, se tomaron las medidas de diez cilindros de espumas sinterizadas a cada temperatura para determinar el cambio dimensional de las estructuras celulares, se utilizó la siguiente ecuación para determinar el encogimiento de las muestras y se tomó el promedio de las mediciones obtenidas.

$$\text{Encogimiento}(\%) = \frac{A_0 - A_T}{A_0} 100 \quad (2)$$

Donde  $A_0$  = El área inicial de la espuma a temperatura ambiente;  $A_T$  = El área de la espuma a temperatura T.

## CAPITULO III ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados de los diferentes análisis realizados sobre el polvo del vidrio 45S5 y las espumas resultantes, así como la caracterización de los materiales celulares.

### 3.1 Análisis del vidrio 45S5 en forma de polvo

#### 3.1.1 Resultados de distribución de tamaño de partícula

En la Figura 3.1 se muestra la distribución de tamaño de partícula (% vol.) obtenido a partir del vidrio 45S5 en forma de polvo, las partículas resultantes presentan tamaño menor a  $63 \mu\text{m}$  (con la siguiente distribución de tamaño de partícula:  $d_{10} = 1.8 \mu\text{m}$ ;  $d_{50} = 19.2 \mu\text{m}$  y  $d_{90} = 57.4 \mu\text{m}$ ) ya que fueron pulverizadas y tamizadas con una malla de número 250.

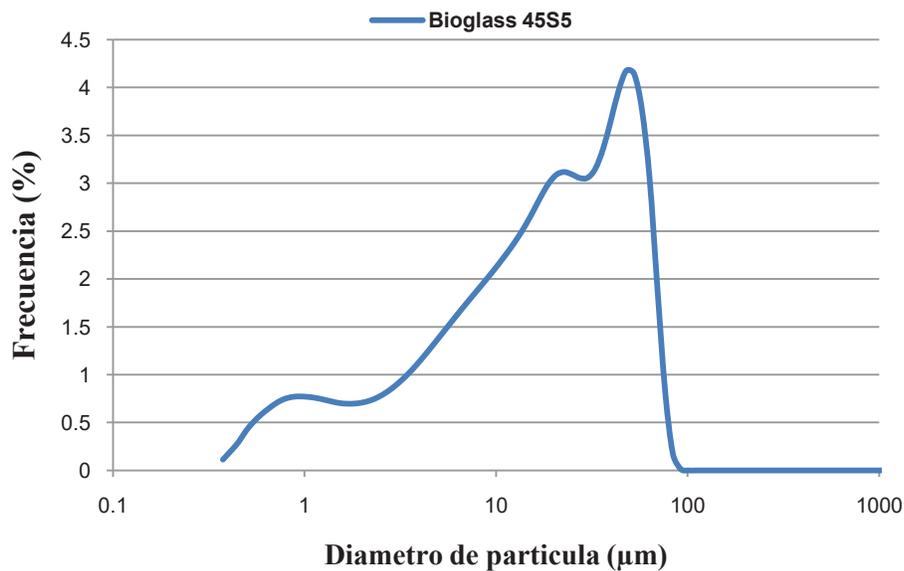


Figura 3.1 Curva de distribución de tamaño de partícula del polvo del vidrio 45S5 obtenido por fusión.

Como se puede observar directamente en la ilustración, la distribución del polvo no es normal debido a que presenta un comportamiento trimodal. Este comportamiento puede estar relacionado con el tipo de procedimiento utilizado para obtener el polvo, ya que el vidrio fue pulverizado en diferentes lotes y tamizado ( $63\ \mu\text{m}$ ) por cada lote de polvo obtenido, el vidrio que no pasaba a través de la malla era introducido en el pulverizador para reducir su tamaño, esta operación se repitió hasta que todo el vidrio pasara a través de la malla. Como las condiciones de pulverizado no eran las mismas para cada lote, cantidad de polvo en la cámara para pulverizar y tamaño de partículas a reducir, esto pudo originar la distribución de partícula multimodal.

### 3.1.2 Resultados del análisis térmico diferencial

Los resultados del análisis por calorimetría diferencial de barrido realizado al vidrio 45S5 en polvo se presentan en la Figura 3.2. Las temperaturas características: temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), temperatura de cristalización ( $T_c$ ) y temperatura de fusión ( $T_m$ ) del vidrio bioactivo se indican directamente sobre la curva de análisis térmico.

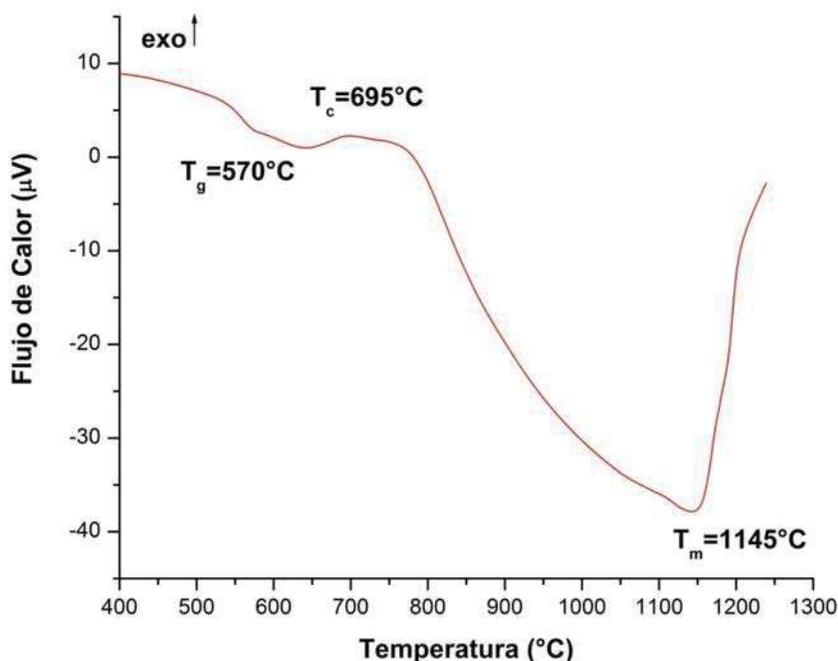


Figura 3.2 Análisis por calorimetría diferencial de barrido del vidrio 45S5.

La curva presenta dos picos endotérmicos (570, 1145 °C) y un pico exotérmico (695 °C). El primer pico endotérmico corresponde a la temperatura de transición vítrea, mientras que el segundo indica la fusión del vidrio. El pico exotérmico representa la temperatura de cristalización del vidrio. Lefebvre y col. (73) obtuvieron las temperaturas características del Bioglass<sup>®</sup> por medio de análisis térmico diferencial, las cuales fueron:  $T_{g1} = 550$ ,  $T_{c1} = 610$ ,  $T_{g2} = 850$ ,  $T_{m1} = 1192$  y  $T_{m2} = 1235$  °C. Comparando los resultados obtenidos en esta investigación, se observa que difieren por pocos grados y esto puede ser debido a las diferencias en los parámetros usados durante los tratamientos térmicos sobre el vidrio 45S5, estas variaciones incluyen la atmósfera (20% N<sub>2</sub>- 80% O<sub>2</sub> contra argón (99.997 % pureza) en esta investigación) y la velocidad de calentamiento (5 °C/min contra 20 °C/min en esta investigación). Éste último es un parámetro muy importante, ya que los picos se tienden a desplazar hacia temperaturas más altas a medida que aumenta la velocidad de calentamiento (74).

### 3.1.3 Resultados de DRX del vidrio 45S5

Con la finalidad de corroborar la formación del vidrio (fase amorfa) durante la síntesis del vidrio 45S5, se aplicó la técnica de difracción de rayos X sobre el vidrio ya pulverizado. De acuerdo al difractograma resultante (Figura 3.3) se puede observar que el vidrio es amorfo ya que presenta una protuberancia en el ángulo  $2\theta$  de 25-35°, para los materiales amorfos este tipo de difractogramas son muy comunes y resultan debido al ordenamiento a corto alcance de los materiales tratados mediante esta técnica. Adicionalmente se puede observar la ausencia de algún pico bien definido lo cual nos da un indicativo de que no hubo la formación de fases ajenas al material debido a un agente externo o de algún contaminante.

El comportamiento observado en el difractograma es muy similar al reportado por diferentes investigadores (75-79), en donde todos concuerdan con la misma protuberancia en un rango  $2\theta$  (25-35°) similar sin la presencia de ninguna fase extra.

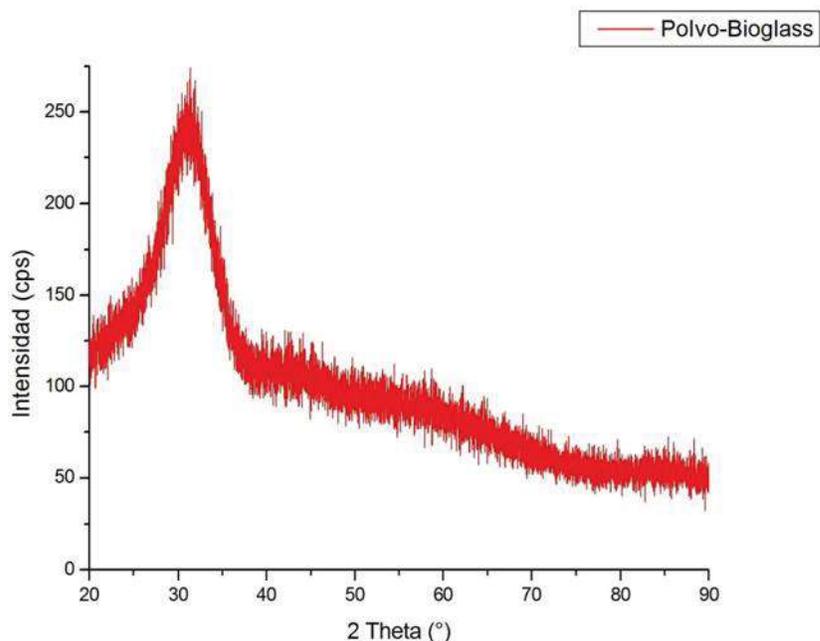


Figura 3.3 Diffractograma del vidrio 45S5 obtenido mediante fusión.

### 3.1.4 Resultados de FRX del vidrio 45S5

En la Tabla III.1 se muestran los resultados obtenidos de FRX realizados sobre el polvo del vidrio 45S5 obtenido por fusión en esta investigación, se puede observar que la composición resultante en cuanto al contenido de  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$  y  $\text{P}_2\text{O}_5$ , es muy similar a la estequiometría del Bioglass<sup>®</sup>, y por lo tanto contamos con la certeza de que en cuanto a composición, el vidrio bioactivo obtenido presentará las propiedades del vidrio bioactivo 45S5. Se puede observar directamente de la tabla que existen algunas impurezas ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ) presentes en el vidrio, aunque se puede deducir que no presentan mayor riesgo ya que son cantidades pequeñas que no suelen inhibir el comportamiento bioactivo del Bioglass<sup>®</sup>.

Tabla III.1 Resultados de FRX de la composición del vidrio obtenido en esta investigación.

	$\text{SiO}_2$ (%)	$\text{TiO}_2$ (%)	$\text{Al}_2\text{O}_3$ (%)	$\text{Fe}_2\text{O}_3$ (%)	$\text{MgO}$ (%)	$\text{CaO}$ (%)	$\text{Na}_2\text{O}$ (%)	$\text{K}_2\text{O}$ (%)	$\text{P}_2\text{O}_5$ (%)	PXC (%)	SUMA (%)
BG-01	46.349	0.041	1.736	0.132	0.187	21.899	22.252	0.145	5.551	1.59	99.88

### 3.2 Análisis de las espumas de vidrio 45S5

El método de obtención de las espumas en este trabajo de investigación, fue propuesto porque se obtienen espumas con las propiedades requeridas para la regeneración ósea (tipo de porosidad, tamaño de poro, distribución de tamaño de poro, propiedades mecánicas, etc.). Este proceso ha sido utilizado con anterioridad para la producción de espumas metálicas (80-82) pero nunca utilizado para producir espumas de vidrio 45S5. En esta sección se muestran los resultados obtenidos a partir de los experimentos realizados.

En la Figura 3.4 se muestra dos ejemplos de las espumas obtenidas en esta investigación. Las espumas resultantes presentan una red de poros interconectados en 3D, los cuales están diseñados para que los fluidos del cuerpo humano circulen y se pueda llevar a cabo la regeneración ósea.

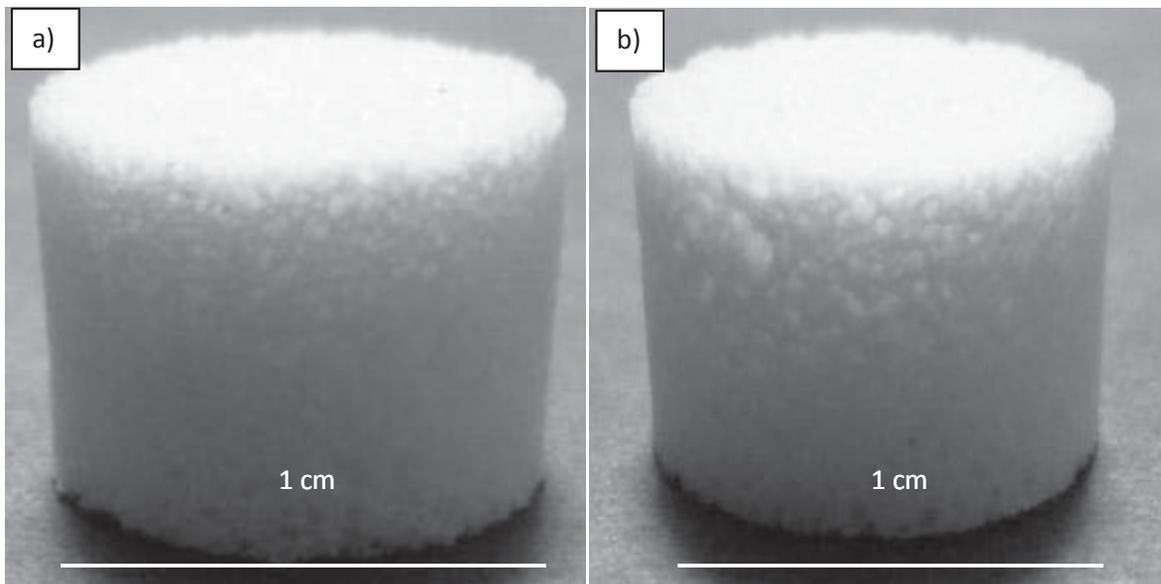


Figura 3.4 Espumas de vidrio 45S5 sinterizadas a: a) 975 y b) 1000°C por 1 h.

En la Figura 3.5 se observan las espumas obtenidas por metalurgia de polvos, las cuales fueron maquinadas con el objetivo de obtener muestras cilíndricas y evitar un incremento en los esfuerzos debido a la irregularidad de las muestras obtenidas después del proceso de espumado.



Figura 3.5 Espumas obtenidas por metalurgia de polvos.

En la Figura 3.6 se muestra un lote de espumas de vidrio 45S5 obtenido después de ser tratado térmicamente. Durante esta etapa, el ligante fue removido de las estructuras celulares mediante pirólisis, por lo que las espumas se encontraban muy frágiles para su manejo.



Figura 3.6 Espumas de vidrio 45S5 obtenidas después del proceso de pirólisis.

En la Figura 3.7 se muestran las espumas sinterizadas a 1000°C por un periodo de 1h. en atmósfera de aire; las muestras después de ser sinterizadas presentan la resistencia

mecánica suficiente para poder ser manipuladas para la caracterización estructural y mecánica.



Figura 3.7 Espumas de vidrio 45S5 obtenidas después del proceso de sinterizado a 1000°C por 1h.

### 3.2.1 Resultados de la prueba de superficie para tratamientos térmicos

En la Figura 3.8 se muestran los diferentes recubrimientos superficiales utilizados para esta prueba, las cuales son nitruro de boro, base de alúmina sin recubrir, óxido de itrio, tela de circonio y lamina de cobre. La que presentó mejores resultados fue la parte que estaba recubierta con  $Y_2O_3$ , ya que la espuma que se encontraba sobre esta área, no se adhirió a ella y fue muy fácil de remover una vez que fue tratada térmicamente.

Los resultados obtenidos de esta prueba son de gran utilidad ya que en todos los tratamientos térmicos posteriores no se presentó adhesión de la muestra con la base, evitando así la modificación de las estructuras celulares al remover las piezas de la superficie.

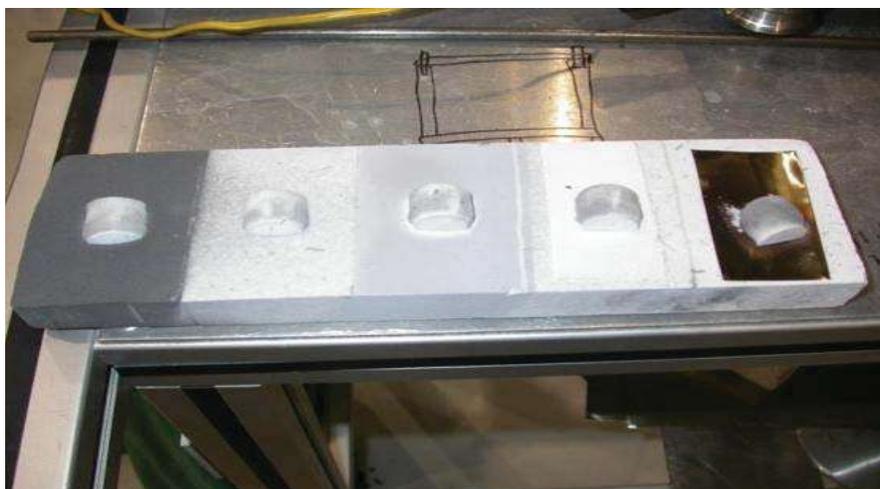
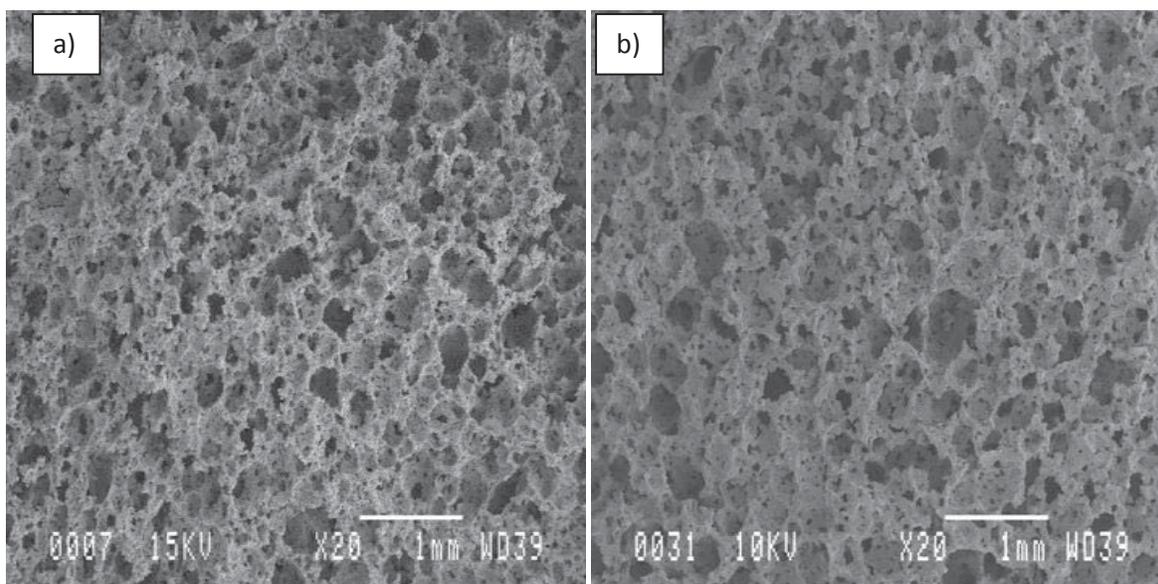


Figura 3.8 Recubrimientos empleados sobre una superficie de alúmina.

### 3.2.2 Microscopía electrónica de barrido

En la Figura 3.9 se muestran las imágenes por microscopía electrónica de barrido de las espumas obtenidas después de ser sinterizadas a diferentes temperaturas (950, 975, 1000 y 1025°C), donde se puede observar una estructura celular uniforme con pequeñas variaciones estructurales dependiendo de la temperatura de sinterización empleada.



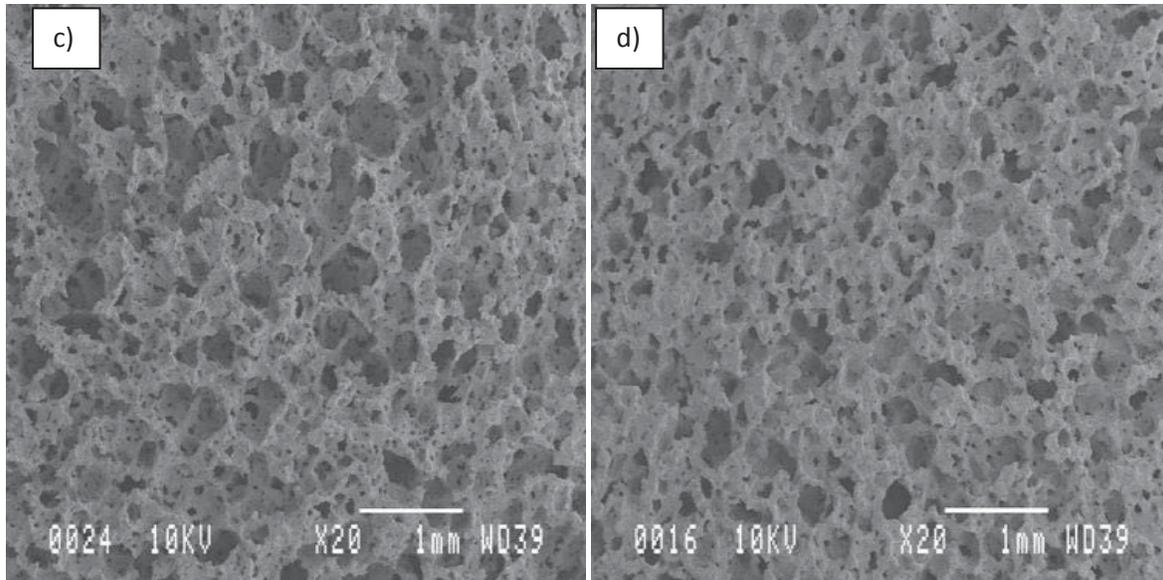


Figura 3.9 Micrografías por microscopia electrónica de barrido donde se observa la estructura de las espumas de vidrio 45S5 sinterizadas a: a) 950, b) 975, c) 1000 y d) 1025 °C por 1h.

Se tomaron imágenes a mayores magnificaciones (Figura 3.10), con la finalidad de observar detalladamente el cambio estructural de las espumas a medida que variaba la temperatura de sinterización.

Como se puede observar en la Figura 3.10, la estructura de las espumas cambia conforme la temperatura se incrementa, haciendo las paredes de los poros marcadamente más densas cuando la temperatura se incrementa. De hecho, el incremento en la temperatura de sinterización afecta de manera significativa la difusión en estado sólido e influencia la unión entre partículas. A baja temperatura de sinterización (950 °C), la forma de las partículas todavía se puede observar en las paredes de la espuma, mientras que a una temperatura mayor de sinterizado (1025 °C) no son visibles.

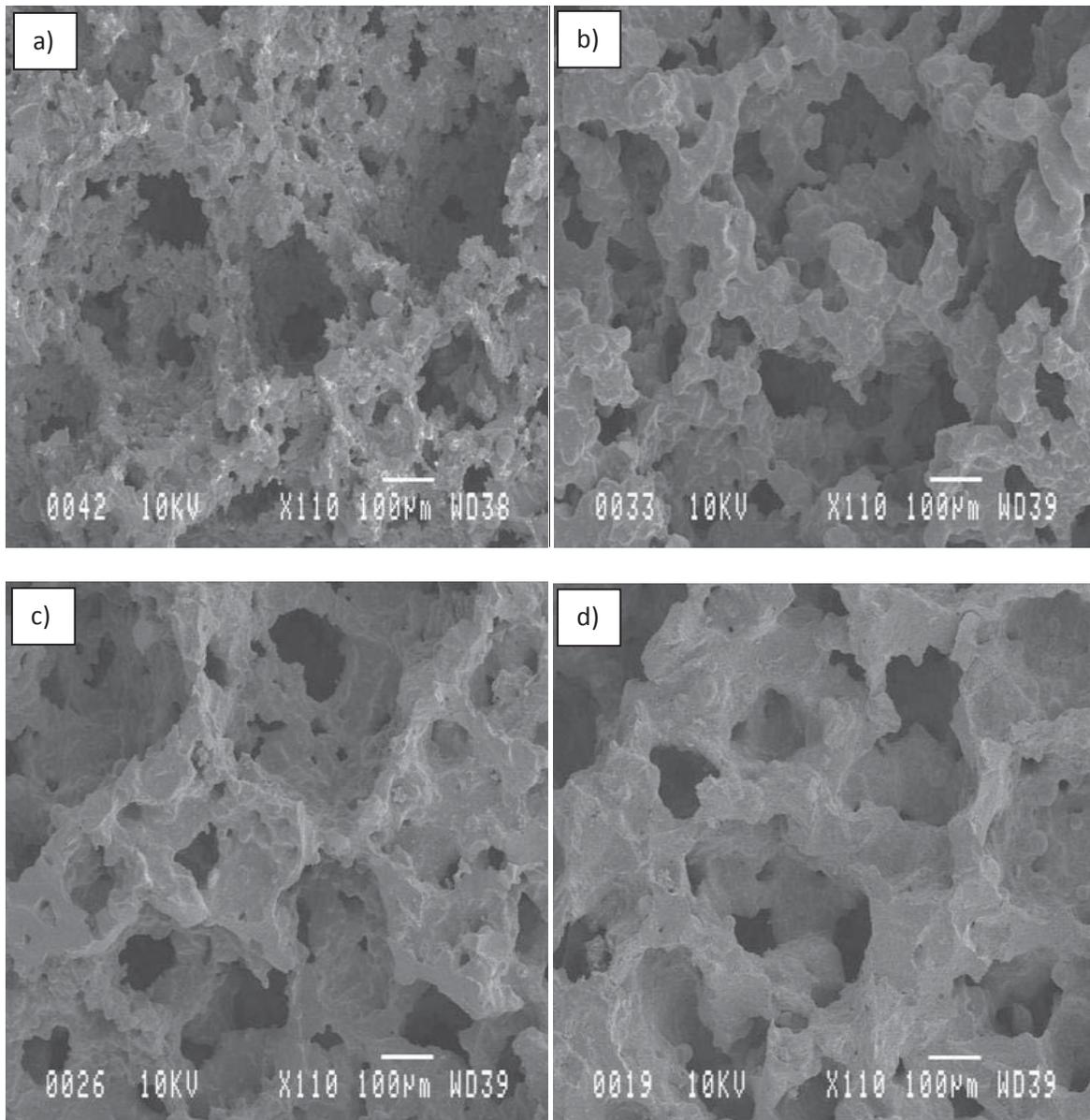
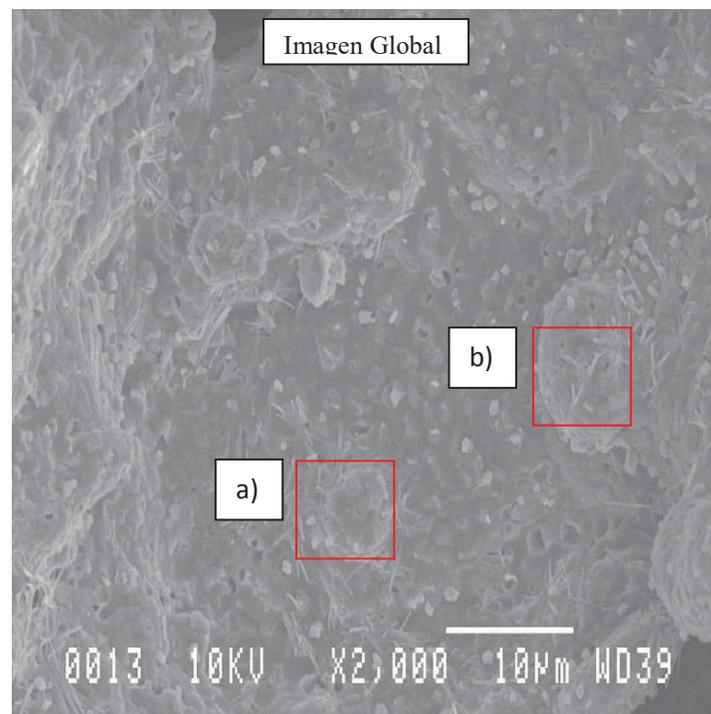


Figura 3.10 Micrografías tomadas por MEB de la estructura de las espumas de vidrio 45S5 sinterizadas a: a) 950 b) 975 c) 1000 y d) 1025 °C en aire por 1h.

La estructura mostrada en las Figuras 3.9 y 3.10 difieren un poco con las obtenidas por otros investigadores, por ejemplo Chen y *col.* (79) obtuvieron estructuras macroporosas de Bioglass<sup>®</sup> con porosidades de aproximadamente 90%. Una característica especial es la presencia de una cavidad dentro de los puntales de la estructura debido al tipo de síntesis de la estructura, el método de réplica.

Similarmente, Shih-Ching *y col.* (83) obtuvieron materiales celulares de Bioglass® mediante la mezcla del vidrio bioactivo con cáscaras de arroz y alcohol polivinílico como ligante, sus estructuras resultantes muestran porosidades alargadas (>420  $\mu\text{m}$  de longitud y >100  $\mu\text{m}$  de ancho). Para el caso de esta investigación la estructura presenta porosidad homogénea e interconectada.

Adicionalmente se llevó a cabo un estudio a mayores magnificaciones mediante MEB para analizar la superficie de las espumas resultantes y se encontraron algunas diferencias a medida que la temperatura de sinterización incrementó. A una temperatura de sinterización de 950 °C se encontró la presencia de una fase dispersa en forma de hojuelas (whiskers). Xin *y col.* (77) encontraron una fase muy similar después de tratar al vidrio 45S5 térmicamente a 1000°C por un periodo de 2 h, los cristales obtenidos los identificó como wollastonita ( $\text{Ca}_3(\text{Si}_3\text{O}_9)$ ) mediante un análisis detallado de rayos X y microscopía electrónica de transmisión (Figura 3.11).



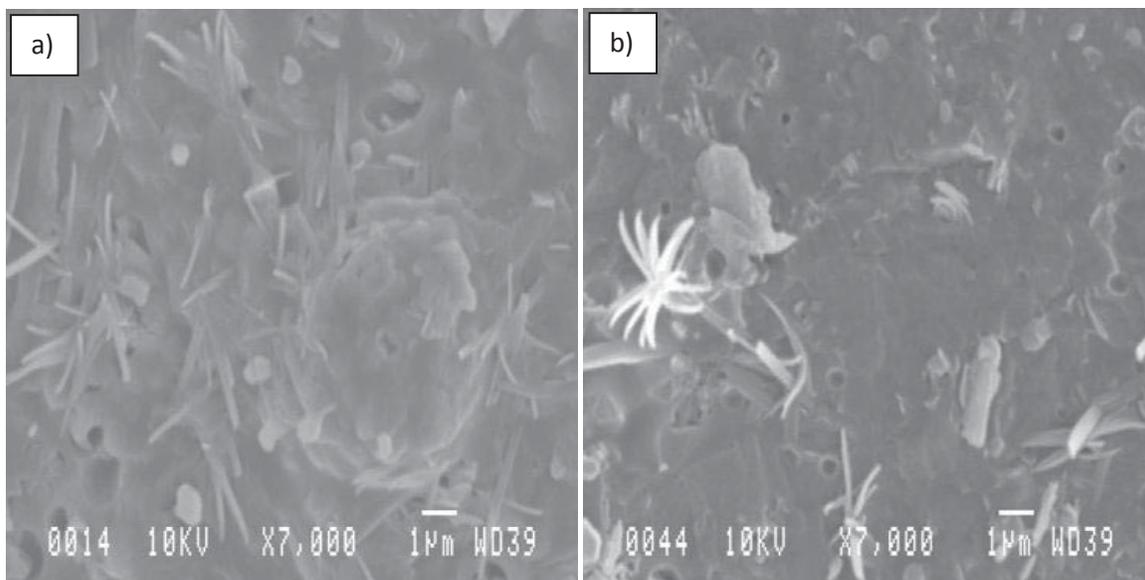


Figura 3.11 Imágenes por MEB correspondientes a la superficie de una espuma sinterizada a 950 °C. La imagen superior muestra el aspecto superficial en la estructura, mientras que las imágenes inferiores (a y b) muestran las zonas en donde se observó la presencia de otra fase.

### 3.2.3 Resultados de microtomografía ( $\mu$ CT)

A partir de los análisis realizados sobre las espumas sinterizadas a las diferentes temperaturas se obtuvieron distintas macroestructuras en 3D. Conforme la temperatura de sinterización se incrementó no se logro observar un cambio significativo directamente sobre las imágenes, por lo que se realizó un análisis de imágenes (Clemex) a partir de las secciones en dos dimensiones de los materiales celulares obtenidos para determinar los cambios en la macroestructuras.

En la siguiente sección se muestran los resultados obtenidos de  $\mu$ CT de las espumas sinterizadas a 950, 975, 1000 y 1025 °C, se muestran las secciones en 2D obtenidas a partir de la imagen en 3D, además se anexan las gráficas obtenidas de distribución de tamaño de poro de la estructuras celulares (Figuras 3.12 a 3.19). Conforme la temperatura de sinterización se incrementa, se puede observar en las imágenes en 2D el cambio en el grosor de las líneas que representan las paredes de las espumas, a mayor temperatura las líneas se observan de mayor espesor.

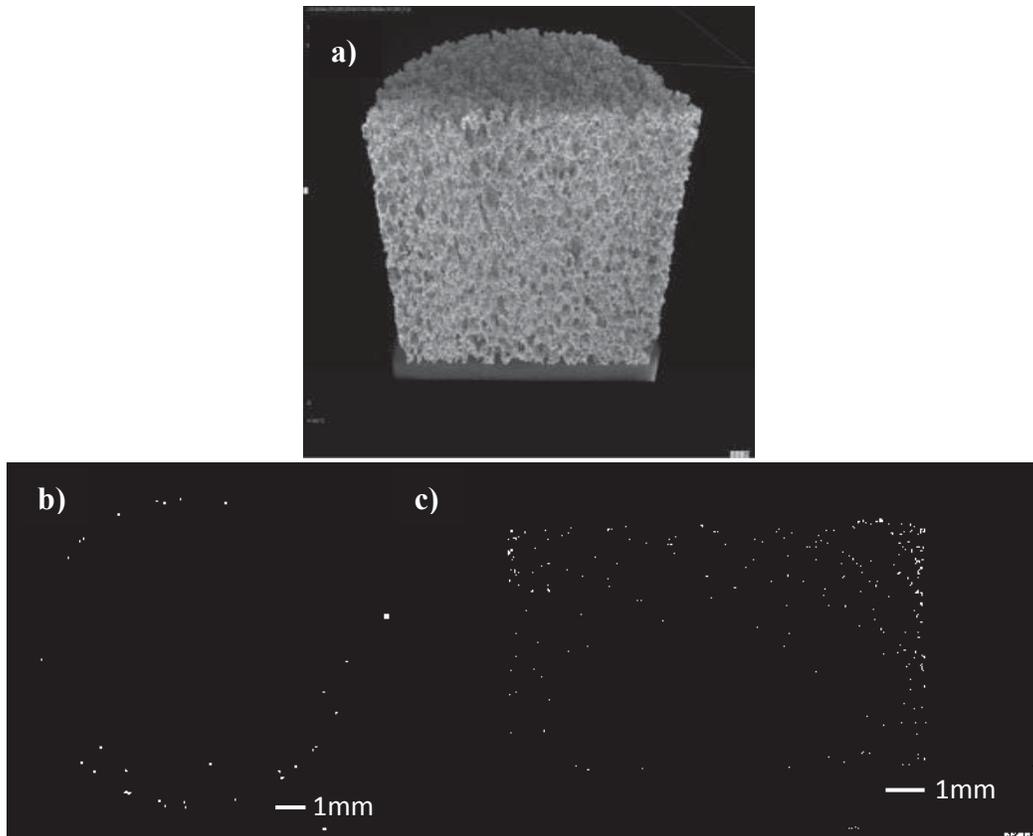


Figura 3.12 Imágenes reconstruidas de microtomografía de la espuma sinterizada a 950°C; a) imagen en 3D, b) perpendicular y c) paralela al eje longitudinal.

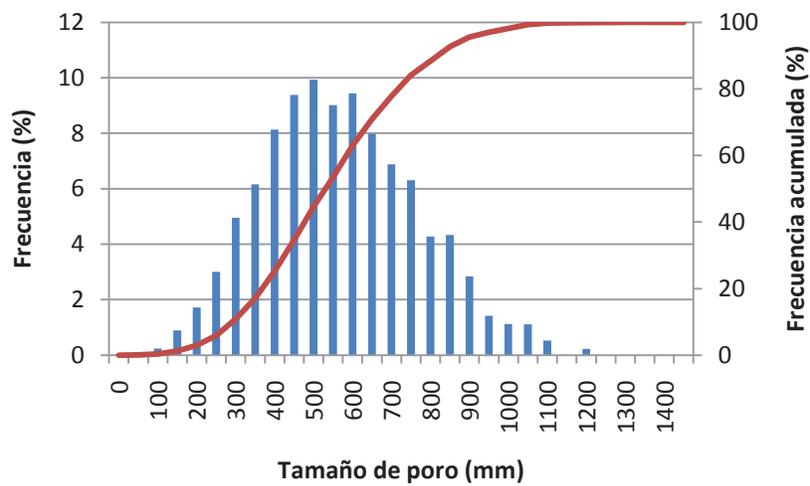


Figura 3.13 Distribución de tamaño de poro de la espuma sinterizada a 950 °C obtenido sobre las secciones en 2D de las imágenes reconstruidas de  $\mu$ CT (Clemex).

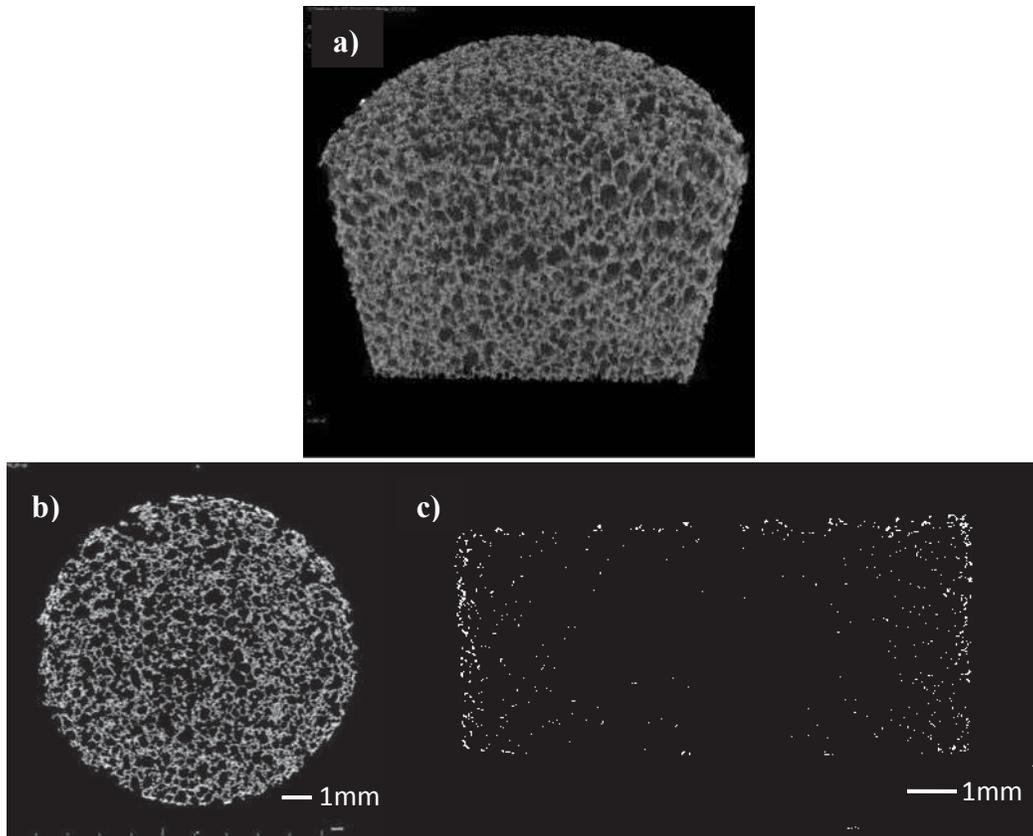


Figura 3.14 Imágenes reconstruidas de microtomografía de la espuma sinterizada a 975°C; a) imagen en 3D, b) perpendicular y c) paralela al eje longitudinal.

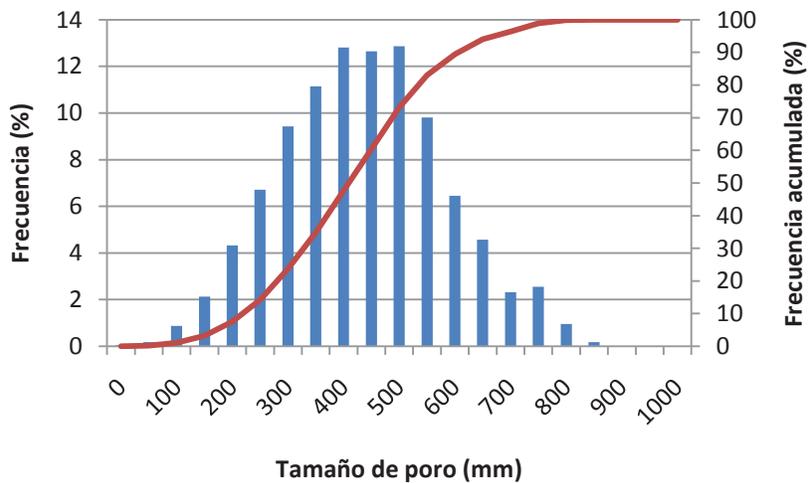


Figura 3.15 Distribución de tamaño de poro de la espuma sinterizada a 975°C obtenido sobre las secciones en 2D de las imágenes reconstruidas de  $\mu$ CT (Clemex).

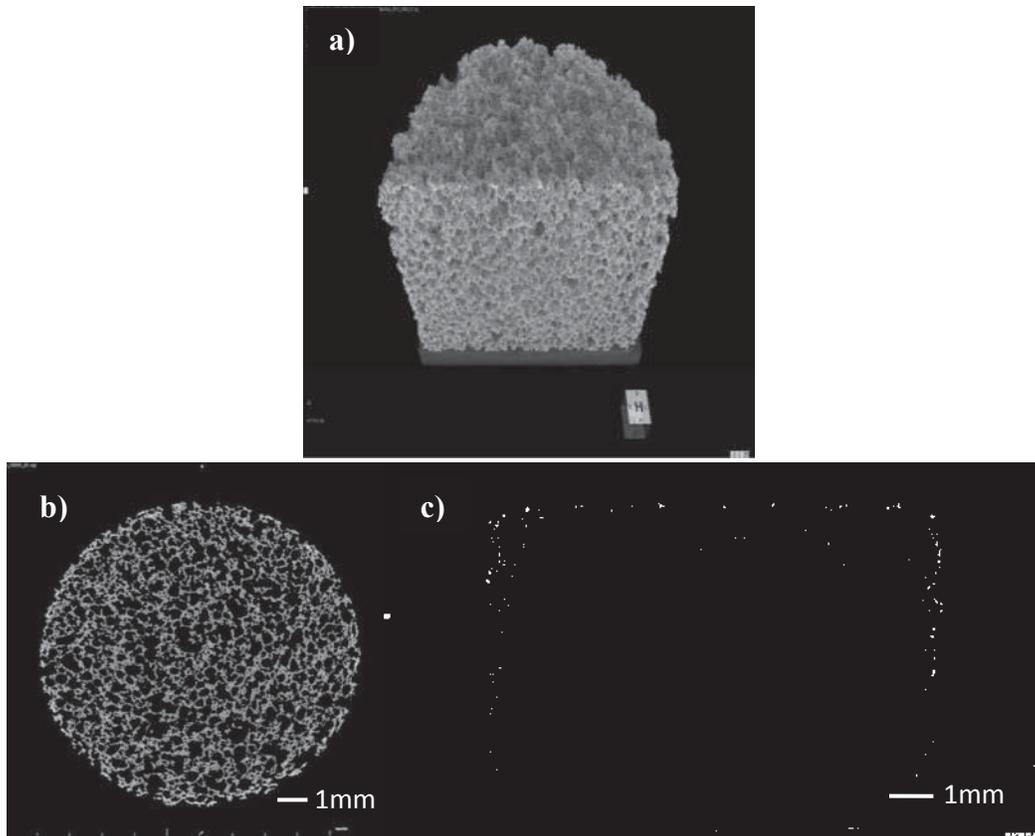


Figura 3.16 Imágenes reconstruidas de microtomografía de la espuma sinterizada a 1000°C; a) imagen en 3D, b) perpendicular y c) paralela al eje longitudinal.

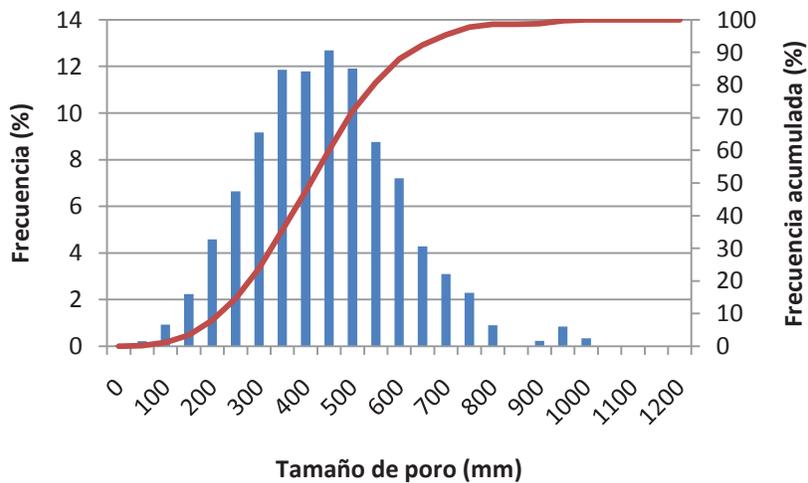


Figura 3.17 Distribución de tamaño de poro de la espuma sinterizada a 1000°C obtenido sobre las secciones en 2D de las imágenes reconstruidas de  $\mu$ CT (Clemex).

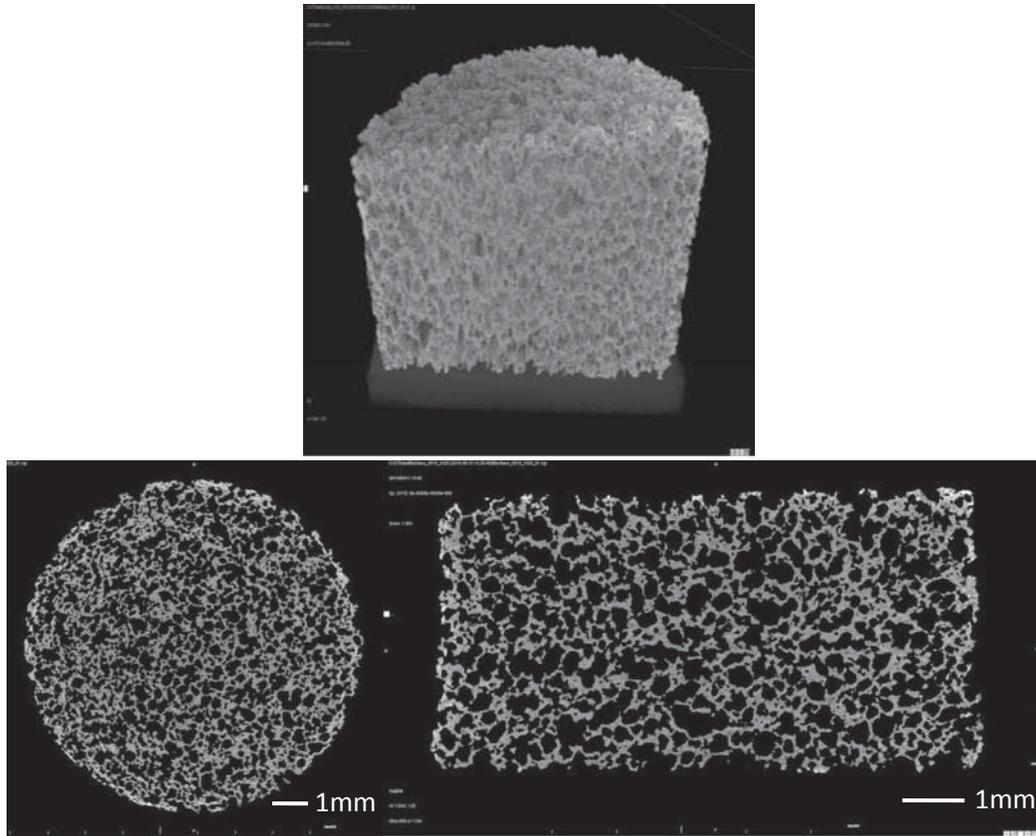


Figura 3.18 Imágenes reconstruidas de microtomografía de la espuma sinterizada a 1025°C; a) imagen en 3D, b) perpendicular y c) paralela al eje longitudinal.

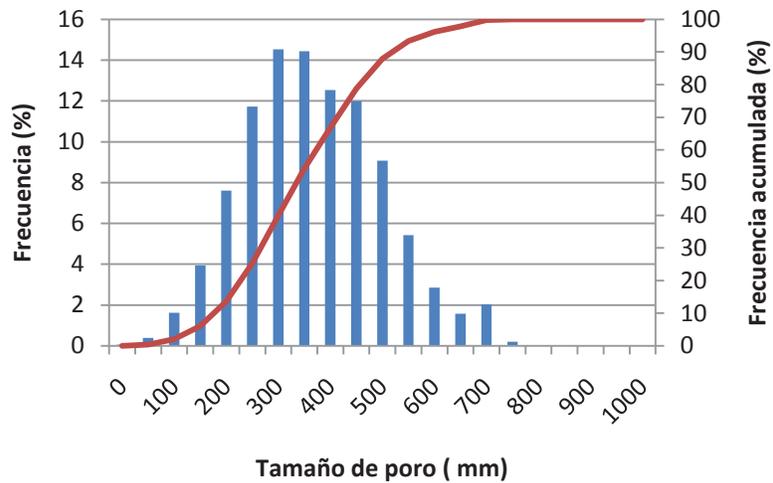


Figura 3.19 Distribución de tamaño de poro de la espuma sinterizada a 1025°C obtenido sobre las secciones en 2D de las imágenes reconstruidas de  $\mu$ CT (Clemex).

En la Tabla III.2 y en la Figura 3.20 se presenta un resumen de los resultados obtenidos del analizador de imágenes de las espumas sinterizadas a diferentes temperaturas. Se puede observar que conforme la temperatura de sinterizado se incrementa, la porosidad total de las espumas disminuye, esto debido a la densificación que ocurre en las paredes de la espuma por efecto de la sinterización entre partículas.

Tabla III.2 Temperatura de sinterizado, porosidad y frecuencia acumuladas de poros obtenidas a partir del analizador de imágenes de las espumas de vidrio 45S5.

Temperatura (°C)	Porosidad (%)	D10 (μm)	D50 (μm)	D90 (μm)
950	77.1	290	530	820
975	74.0	220	410	610
1000	71.5	215	410	625
1025	61.6	175	335	520

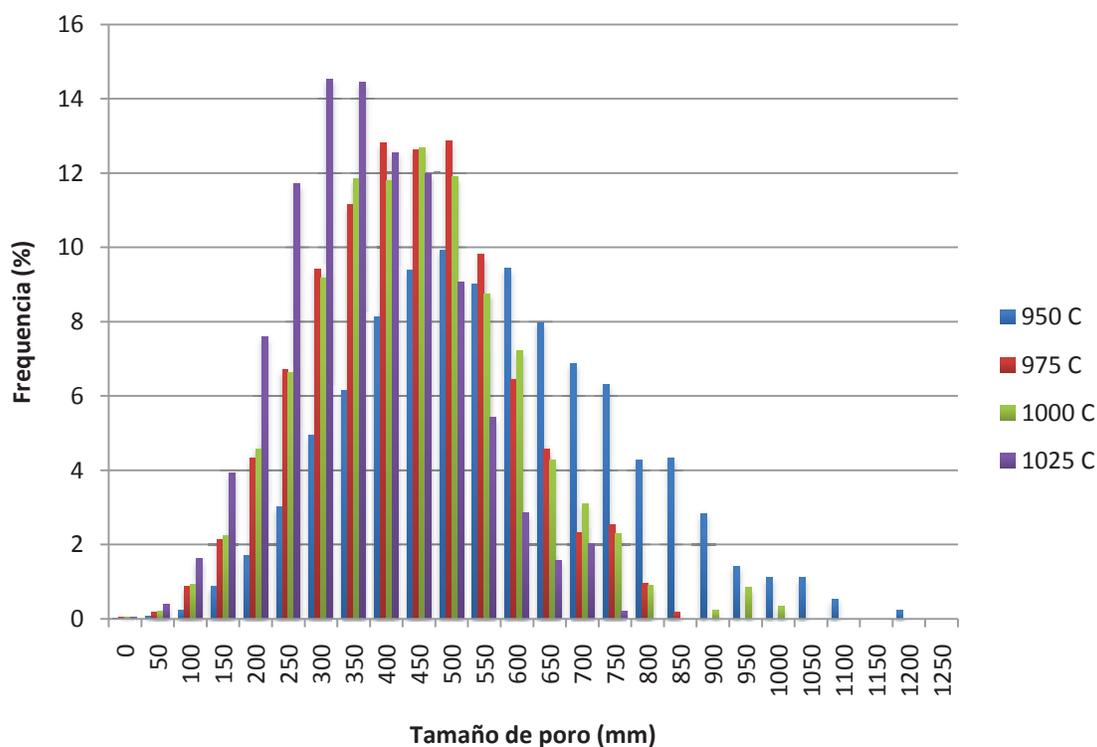


Figura 3.20 Distribución de tamaño de poro de las espumas sinterizadas a diferentes temperaturas.

De acuerdo con los resultados obtenidos de distribución de tamaño de poro, todas las espumas sinterizadas a las diferentes temperaturas cumplen con el requerimiento de tamaño de poro mínimo para que se lleve a cabo la regeneración ósea, es decir,  $>100\ \mu\text{m}$  (2), ya que presentan tamaños de poro que varían en el rango de 100 a 1000  $\mu\text{m}$ .

Para poder comparar con mayor precisión el efecto de la temperatura de sinterización sobre la estructura, se tomaron imágenes a mayor resolución de las espumas sinterizadas a 950 y 1025°C (Figura 3.21), donde se puede observar cualitativamente el cambio en la macroestructura, es decir, la densificación de las paredes de la espuma y la reducción de tamaño y cantidad de poros.

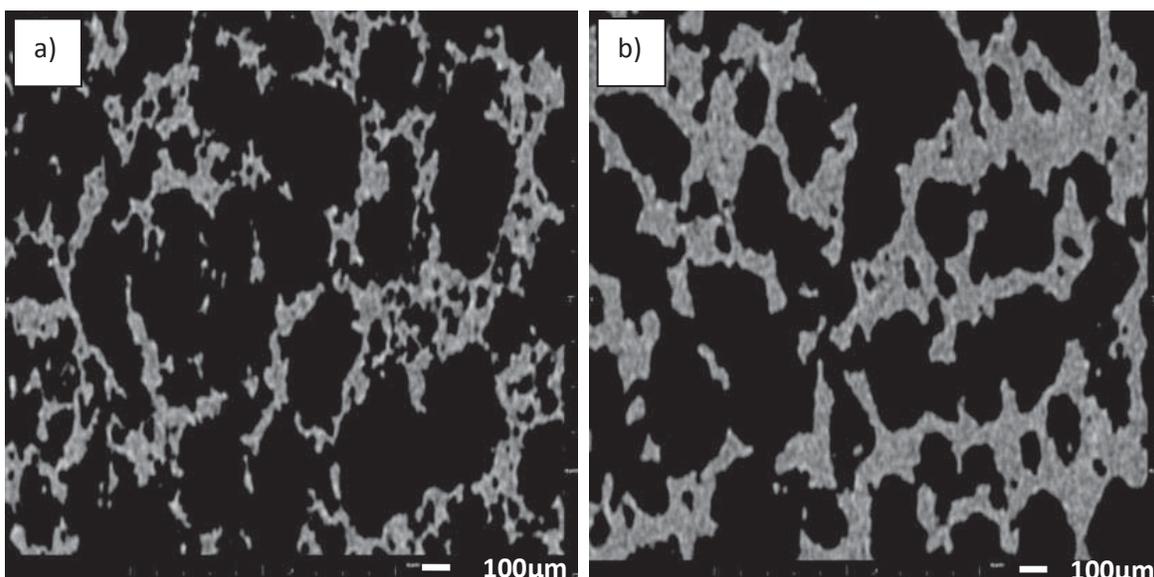


Figura 3.21 Altas magnificaciones de las secciones transversales extraídas de las imágenes reconstruidas de  $\mu\text{CT}$  de las espumas sinterizadas a: a) 950 y b) 1025°C.

### 3.2.4 Evolución de la estructura porosa

De acuerdo al análisis realizado a las espumas sinterizadas, todas presentan porosidades mayores al 64%. La Tabla III.3 reporta la densidad aparente, porosidad total calculada a partir de la ecuación (1) y el encogimiento calculado con la ecuación (2), mostradas en el capítulo de Desarrollo Experimental; como se puede observar la densidad disminuye a medida que la temperatura se incrementa.

Tabla III.3 Temperatura de sinterización, densidad aparente y porosidad de las espumas de vidrio 45S5.

Temperatura (°C)	Densidad aparente (g/cm <sup>3</sup> )	Porosidad (%)	Encogimiento (%)
950	0.558 ± 0.07	79.3 ± 2.44	44.94 ± 4.02
975	0.638 ± 0.07	76.3 ± 2.56	50.08 ± 2.93
1000	0.778 ± 0.02	71.2 ± 0.91	57.01 ± 0.93
1025	0.969 ± 0.07	64.1 ± 2.59	62.80 ± 2.01

No se tiene ningún reporte previo de como varía la porosidad durante la etapa de sinterización de espumas de Bioglass®, únicamente existen en la literatura datos disponibles sobre materiales compactos. Bretcanu y *col.* (76) estudiaron el encogimiento que tienen las muestras sólidas de Bioglass®, describen que existe una variación en el encogimiento de dos etapas. La primera etapa de densificación comienza a 500°C y termina a 600°C, el encogimiento asociado a este primer paso corresponde a aprox. 12%. La segunda densificación comienza a 950°C, con un encogimiento aproximado de 36%. Estos resultados varían significativamente con los resultados de vidrio 45S5 celular obtenidos en esta investigación, esto puede deberse a que para materiales porosos no solamente el material que está en contacto se densifica, sino también hay una reducción en la porosidad y esto lleva a un valor más elevado de encogimiento.

### 3.2.5 Resultados de DRX

Los resultados obtenidos por medio de difracción de rayos X indican la transformación de la fase amorfa en dos fases cristalinas en las espumas obtenidas después de tratarlas térmicamente como se indican en la Figura 3.22. Los picos resultantes corresponden a la fase principal Na<sub>2</sub>CaSi<sub>2</sub>O<sub>6</sub> y a una fase secundaria Na<sub>2</sub>Ca<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub>.

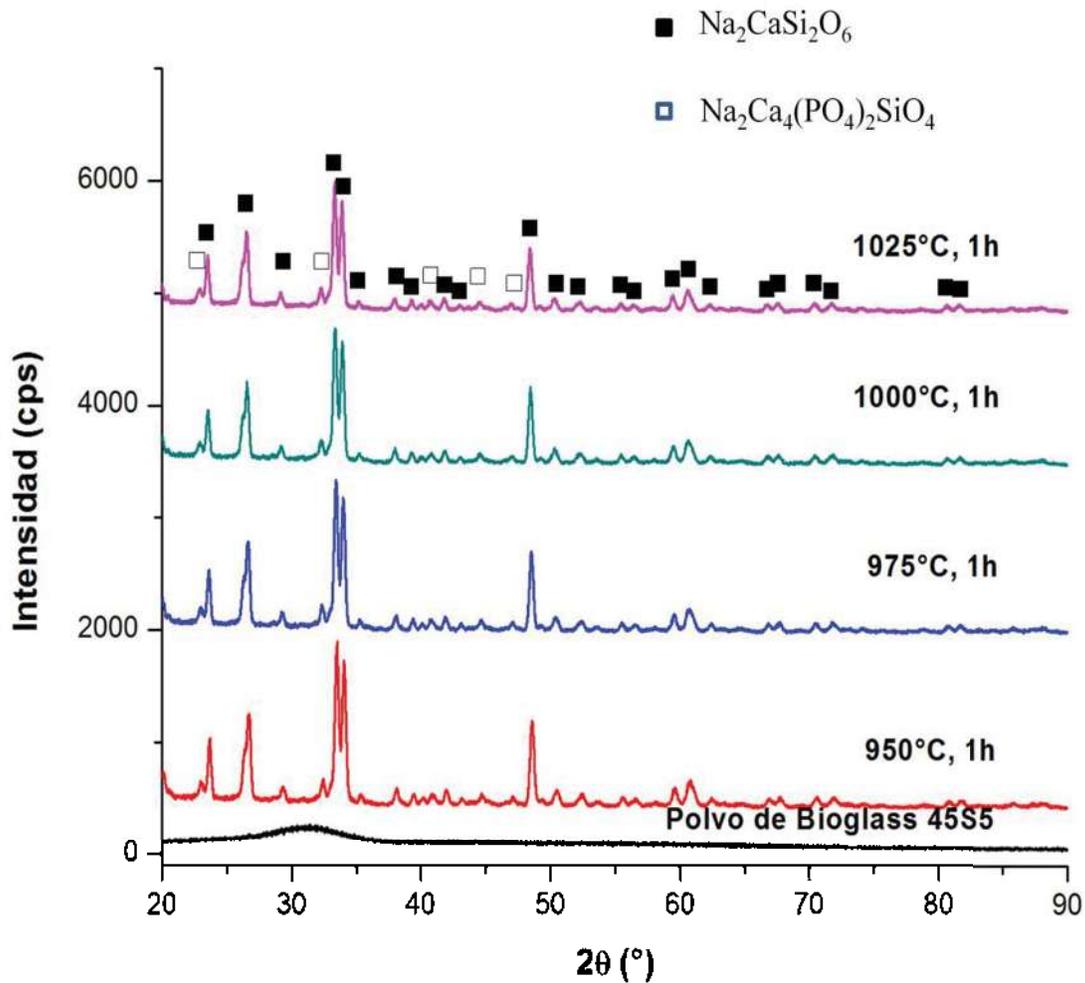


Figura 3.22 Espectro de difracción de rayos X de las espumas sinterizadas a 950, 975, 1000 y 1025°C por 1hr. La fase principal  $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$  y secundaria  $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$  están marcadas ((■ : JCPDS 77-2189) y (□ : JCPDS 32-1053)), respectivamente.

Se puede observar que no existe variación en las fases presentes, ya que las muestras sinterizadas a las cuatro temperaturas se transformaron de la fase amorfa a las mismas dos fases. Además, a partir de estos resultados se puede afirmar que no existe formación de otra fase cristalina ajena al vidrio 45S5, por ejemplo, algún producto de reacción proveniente de la síntesis del material, ligante, agente espumante o de la base recubierta de itrio utilizada.

Las fases obtenidas anteriormente ya habían sido reportadas por diferentes investigadores que trabajaron en la cristalización del Bioglass®, Lefebvre y col. (73) han reportado la

transformación del Bioglass® después de tratarlo térmicamente dentro del rango de 550-950°C, mencionando la obtención de  $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$  como fase primaria, adicionalmente también encontró la presencia de una segunda fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$ , las fases anteriores corresponden a las mismas obtenidas en esta investigación. Lin y col. (84) también identificaron la fase primaria  $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$  después de tratar térmicamente al Bioglass® a 715°C a diferentes tiempos de permanencia (0-60min). Al igual que en ésta investigación, Boccaccini y col. (85) obtuvieron  $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$  como fase primaria y  $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$  como secundaria después de tratar térmicamente al Bioglass® de 750 a 950°C.

Existen diversas investigaciones sobre cristalización de Bioglass® en donde se reporta como fase principal el  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  (76,77,79,83) y  $\text{Ca}_3(\text{Si}_3\text{O}_9)$  (77) como fase secundaria, sin embargo, se cuenta con argumentos válidos para afirmar que la fase primaria identificada por DRX como  $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$  es la que cristaliza después de someter a las espumas de Bioglass® a tratamientos térmicos, y no la fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ , tal y como Lin y col. (84) demostraron previamente. Primeramente, la composición del Bioglass® está más cercana a la composición de la fase  $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$ , y en segundo, el análisis Rietveld realizado por Lefebvre y col. (73), muestra una mejor correspondencia del patrón de difracción experimental con el calculado para la fase  $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$ . La fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  mencionada en otros estudios, no fue observada en el presente.

Adicionalmente se realizó el cálculo de las distancias interplanares de las principales reflexiones del patrón de difracción de rayos X. En la Figura 3.23 se presentan los resultados de espaciamento planar calculados sobre las reflexiones que presentaban mayor cambio, se puede observar que para todos los casos el valor de espaciamento calculado es menor al reportado en la tarjeta (JCPDS No. 77-2189), lo cual nos indica que para el plano en específico hubo un cambio en la posición del pico, un desplazamiento hacia la izquierda. Existen varios factores que provocan que la posición del pico de difracción se mueva (solubilidad, macroesfuerzos), para el caso de este estudio se observó que no hubo formación de fases adicionales a las normales por lo que la opción de la solubilidad se descartó, entonces se propone que el corrimiento de los picos se debió al esfuerzo

ocasionado por el incremento de la temperatura, mismo que promovió una expansión en la celda unitaria lo cual se ve reflejado en los valores de espaciamento.

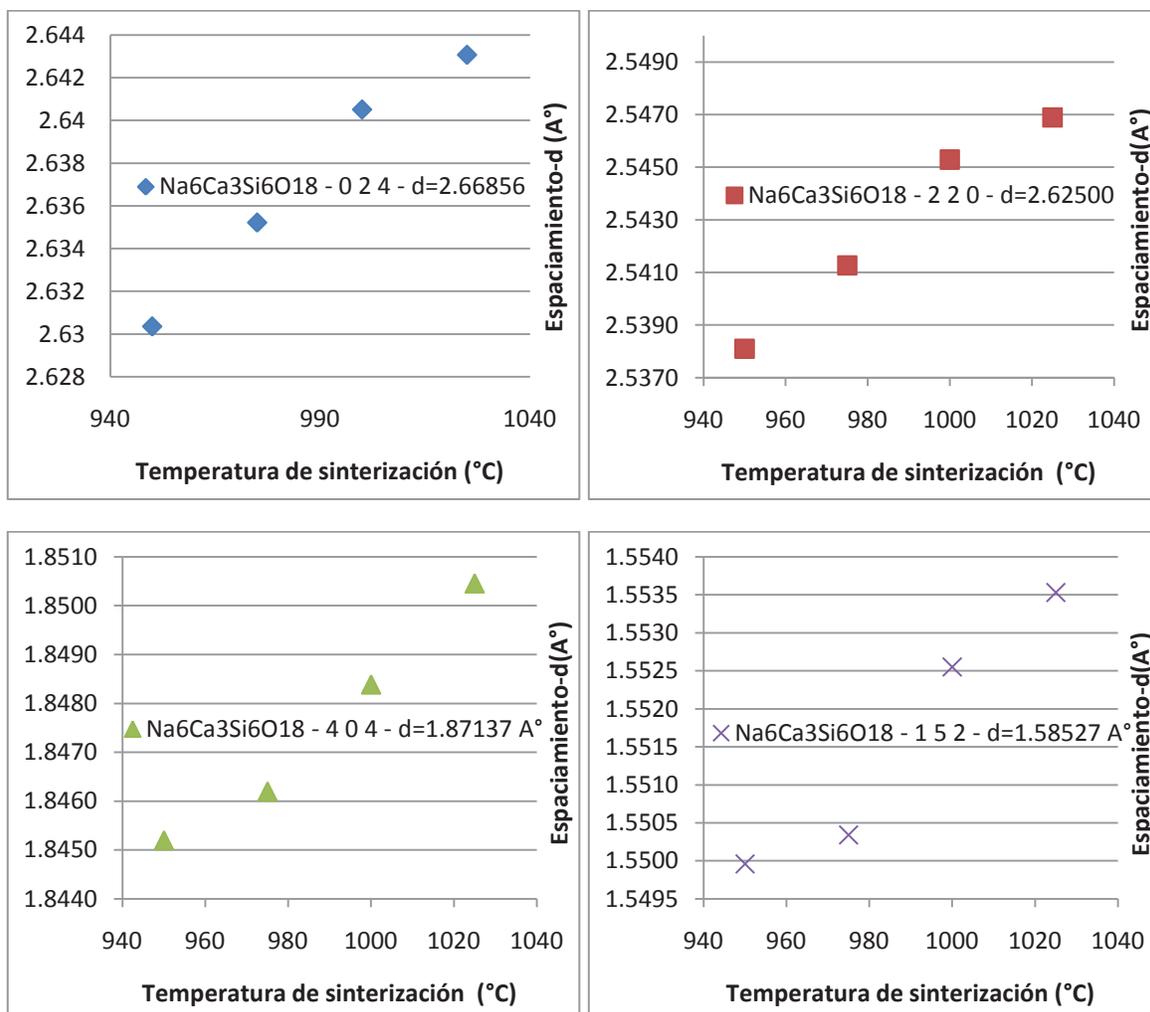


Figura 3.23 Espaciamento  $d$  para diferentes planos cristalinos del vidrio en polvo 45S5 sinterizado a diferentes temperaturas por un periodo de 1h.

### 3.2.6 Análisis de las propiedades mecánicas de las espumas

Como resultado de las pruebas de compresión realizadas sobre las espumas sinterizadas a las diferentes temperaturas de sinterización, en la Figura 3.24 se muestra un ejemplo de una curva de esfuerzo-deformación obtenida a partir del análisis. La curva obtenida es

representativa a la que generalmente se obtiene de las espumas cerámicas o de vidrio, éstas presentan un comportamiento muy corrugado debido a su naturaleza frágil.

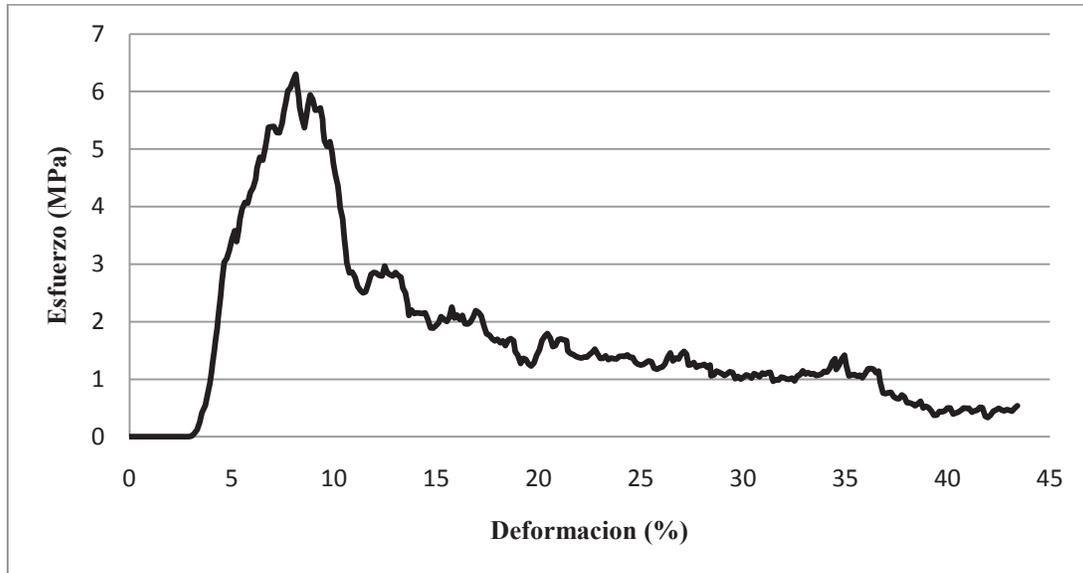


Figura 3.24 Curva esfuerzo-deformación típica de una espuma sinterizada a 1025°C por 1hr.

La resistencia a la compresión, definida como el máximo valor en la curva de compresión, es afectada por la temperatura de sinterización y se incrementa de 1.7 a 5.5 MPa cuando la temperatura se eleva de 950 a 1025°C (Figura 3.25). El incremento de las propiedades mecánicas por efecto de la temperatura de sinterización puede estar asociado con la densificación del material celular. Este incremento también puede estar asociado con la consolidación de los puntales dentro de la estructura de las espumas, tal y como se mostró en las Figuras 3.10 y 3.21, la partículas están mejor sinterizadas a medida que la temperatura de sinterización se incrementa, esto conduce a una disminución de la porosidad entre puntales y entre partículas, lo cual lleva a un aumento en la resistencia mecánica de la estructura. En la Tabla III.4 se muestran los resultados obtenidos sobre la resistencia a la compresión de las espumas sinterizadas a 950, 975, 1000 y 1025°C, así mismo se muestra la porosidad total obtenida como se mencionó en las secciones anteriores.

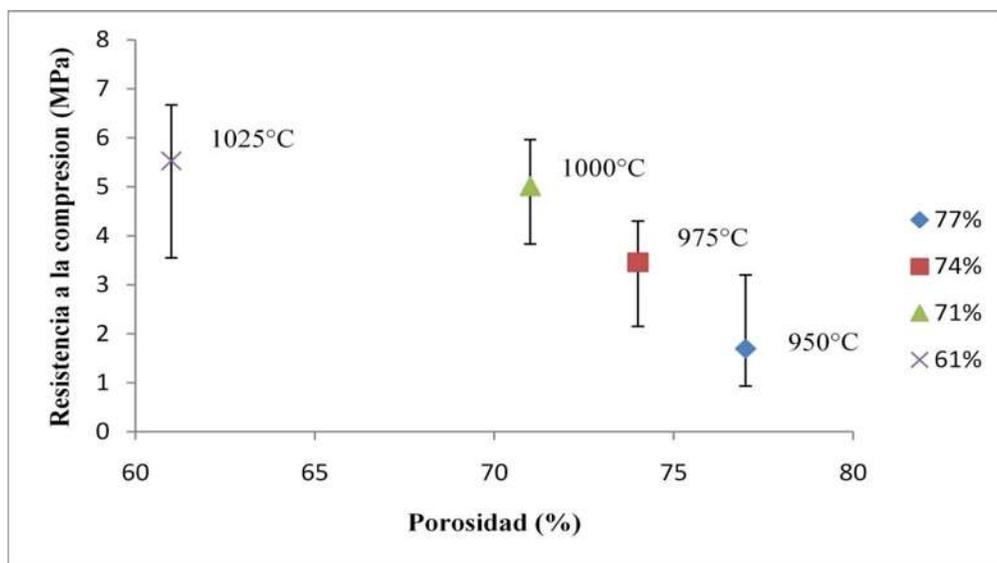


Figura 3.25 Comportamiento mecánico-poroso de las espumas de vidrio 45S5 sinterizadas a varias temperaturas.

Tabla III.4 Temperatura de sinterización, porosidad y resistencia a la compresión de espumas de vidrio 45S5.

Temperatura (°C)	Porosidad (%)	Resistencia a la compresión (MPa)
950	79.3 ± 2.44	1.69 ± 0.96
975	76.3 ± 2.56	3.46 ± 0.86
1000	71.2 ± 0.91	5.01 ± 0.82
1025	64.1 ± 2.59	5.53 ± 1.21

Los valores obtenidos de resistencia a la compresión en este estudio son significativamente altos comparados a los reportados por Chen *y col.* (79), sobre materiales altamente porosos de Bioglass® (~90%) de 0.3 – 0.4 MPa. Lo anterior podría ser debido a la gran diferencia entre la estructura y porosidad obtenida por éste grupo de investigación y por el proceso de síntesis utilizado (Método de réplica). Por otro lado, los valores son comparables con los obtenidos por Shinh-Ching *y col.* (83) de 7.2 – 5.4 MPa sobre espumas de menor porosidad (43-47%). Debido a que no existe demasiada bibliografía sobre las propiedades mecánicas de espumas de Bioglass®, los resultados también fueron comparados con los obtenidos por otros grupos de investigación sobre otros materiales enfocados para la ingeniería de tejidos

(hidroxiapatita, fosfato tricálcico, fosfato tetracálcico) los cuales son presentados en la Tabla III.5.

Tabla III.5 Composición y propiedades de algunos cementos macroporosos para la Ingeniería de Tejidos.

Método	Componentes de la fase sólida	Agente porógeno/método	Porosidad Total (%)	Diámetro de poro ( $\mu\text{m}$ )	Resistencia a la compresión (MPa)	Ref.
Partículas solubles	TTCP + DCP	Partículas de manitol, sacarosa, carbonato de sodio o fosfato de sodio	50 - 69	125-250	0.4 - 10	(86)
Partículas solubles	TTCP + DCP	Disoluciones congeladas de fosfato de sodio	53 - 62	1000	0.6 - 37	(87)
Partículas solubles	$\beta$ -TCP + MCPM	Partículas de manitol	5 - 15	250-500	17 - 32	(88)
Partículas solubles	$\alpha$ -TCP + DCP + $\text{CaCO}_3$ + HA	Microesferas de poli (DL-ácido láctico-co-glicólico) (PLGA)	30 - 69	17 - 66	4 - 12	(89)
Espumado mediante generación de gases	$\alpha$ -TCP + HA	Descomposición térmica de $\text{H}_2\text{O}_2$	52 - 60	200	1.4 – 8.8	(90)
Réplica indirecta	TTCP + DCP	Negativo de resina epóxica	55	300 - 500	5.8	(91)
Réplica y espumado mediante generación de gases	TTCP + DCP	Plantilla de poliuretano y descomposición térmica de $\text{H}_2\text{O}_2$	59 - 63	200 - 600	1.5 – 5.8	(92), (93)
Réplica	HA + PVB + TEP	Plantilla de poliuretano	82 - 86	420 - 700	0.21 – 0.41	(94)
Réplica + gelación	HA + TEMED	Plantilla de poliuretano	70 - 77	200 - 400	0.55 – 5.0	(95)

---

De acuerdo con las conclusiones presentadas por otros investigadores, los resultados de resistencia mecánica obtenidos en esta investigación son satisfactorios ya que presentan valores similares al hueso trabecular (2-12MPa) (96) y una muy buena combinación de propiedades, tanto estructurales como mecánicas para ser utilizados como materiales para implante.

## CAPITULO IV CONCLUSIONES

Los resultados presentados en el capítulo anterior permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- Se lograron obtener espumas altamente porosas (64-79%) con porosidad interconectada a partir de mezclas de polvo del vidrio 45S5, un agente espumante y un ligante, mediante el proceso desarrollado en el Industrial Materials Institute.
- La porosidad de las espumas resultantes es abierta e interconectada, con un tamaño de poro apropiado para el crecimiento óseo (100-1000  $\mu\text{m}$ ).
- Después de la sinterización, las partículas presentan buena unión entre ellas debido a la difusión que existe entre las mismas y promovida por el incremento en la temperatura, dando como resultado una microestructura más densa en las paredes de las espumas, es decir libre de microporosidad, lo que hace que incremente su resistencia mecánica.
- Durante la sinterización, se lleva a cabo la cristalización de las estructuras celulares, corroborando por difracción de rayos X la presencia de la fase primaria  $\text{Na}_6\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{18}$  y la fase secundaria  $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$ , las cuales han sido reportadas por otros investigadores.
- Las espumas producidas presentan buena resistencia mecánica que varía en el rango de 1.7 a 5.5 Mpa, dichos valores son comparables con la resistencia del hueso trabecular, reportada en el rango de 2-12 MPa.

- De acuerdo a la combinación de los resultados obtenidos de porosidad, tamaño de poro y propiedades mecánicas de las espumas resultantes, se puede concluir que las estructuras obtenidas en esta investigación presentan la mejor combinación en cuanto a la obtención de espumas porosas de vidrio 45S5 reportadas hasta la actualidad y presentando una ruta de síntesis muy competitiva para la producción de estructuras celulares enfocadas para la aplicación en ingeniería de tejidos.

## RECOMENDACIONES

1. En trabajos posteriores se recomienda realizar pruebas *in vitro* de inmersión de las espumas en fluidos corporales simulados (*SBF-Simulated Body Fluid*) con la finalidad de estudiar la bioactividad de las mismas, mediante el monitoreo de la formación de una capa de hidroxiapatita sobre la superficie.
2. Evaluar la microestructura de las espumas por medio de difracción de rayos X después de la pruebas *in vitro* para observar si existe reamorfización como se ha reportado por otros grupos de investigación.
3. Evaluar la resistencia a la compresión de las espumas después de las pruebas bioactivas para observar el comportamiento mecánico de las estructuras celulares a medida que va transcurriendo el tiempo en las pruebas *in vitro*.
4. Analizar si existe reabsorción de la espumas a medida que va transcurriendo la exposición con los fluidos de cuerpo simulado en las pruebas *in vitro* y así conocer la velocidad de reabsorción de las estructuras celulares.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Williams, D. Benefit and risk in tissue engineering. *Mater Today*, 2004, pp. 24-29.
2. Hulbert, S. F., Young, F. A., Mathews, R. S., Klawitter, J. J., Talbert, C. D. and Stelling, F. H. Potential of ceramics materials as permanently implantable skeletal prostheses. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1970, Vol. 4, pp. 433-56.
3. Hench, L. L., Splinter, R. J., Allen, W. C. y Greenlec, T. K., Jr. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. New York : Interscience, 1972, p. 117.
4. Balas, F., Acros, D., Peres-Pariente, J., Vallet-Regi, M. Textural properties of SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> glasses. *J. Mater. Res.*, 2001, Vol. 16, pp. 1345-1348.
5. Karageorgiou, V., Kaplan, D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*, 2005, pp. 5474-5491.
6. Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J., Boccaccini, A. R. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2006, pp. 3413-3431.
7. Lefebvre L. P., Thomas Y. Method of making open cell material. 6660224 [ed.] Elsevier. US, 2003.
8. Williams, D. F. Definitions in Biomaterials. Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials. Chester, England : Elsevier, 1987. Vol. 4.
9. Hench, L. L. y Ethridge, E. C. An interfacial Approach. [ed.] Academic Press. New York : 1982.
10. Phillips, R. W. Skinners Science of Dental Materials. Philadelphia : Saunders, 1991.
11. Schors, E. C. y Holmes, R. E. Porous hydroxyapatite. [book auth.] L. L. Hench y J. Wilson. An introduction to Bioceramics. Singapore : World Scientific, 1993, pp. 181-198.
12. Roy, D. M. y Linnehan, S. K. Hydroxyapatite formed from coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange. *Nature* 247, 1974, pp. 220-222.
13. Hulbert, S. F., Bokros, J. C., Hench, L. L., Wilson, J., y Heimke, G. Ceramics in clinical applications: past, present and future. [book auth.] P. Vincenzini. High Tech Ceramics. Amsterdam : Elsevier, 1987, pp. 189-213.
14. Eggli, P. S., Muller, W. y Schenk, R.K. Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different pore size ranges implanted in the cancellous bone of rabbits. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 1988, pp. 127-138.

15. Kuhne, J. H., Bartl, R., Frish, B., Hanmer, C., Jansson, V., Zimmer, M. Bone formation in coralline hydroxyapatite: Effects of pore size studied in rabbits. *Acta Orthop. Scand*, 1994, Vol. 3, pp. 246-252.
16. Holmes, R. E. Bone regeneration within a coralline hydroxyapatite implant. *Plast. Reconstr. Surg.*, 1979, pp. 626-633.
17. Gross, V., Kinne, R., Schmitz, H. J. y Strunz, V. The response of bone to surface active glass/glass-ceramics. *CRC Crit. Rev. Biocompatibility*, 1988, p. 2.
18. Yamamuro, T., Hench, L. L., Wilson, J. *Handbook on Bioactive Ceramics*, Vol. I: Bioactive glasses and Glass-Ceramics, Vol. II: Calcium-Phosphate Ceramics. Boca Raton, FL : CRC Press, 1990.
19. Hench, L. L. Bioceramics: From concept to clinic. *J. Am. Ceram. Soc.*, 1991, pp. 1487-1510.
20. Hench, L. L. y Wilson, J. W. *An introduction to Bioceramics*. Singapore : World Scientific, 1993.
21. Wilson, J., Pigott, G. H., Schoen, F. J. y Hench, L. L. Toxicology and biocompatibility of bioglass. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1981, p. 805.
22. Nakamura, T., Yamumuro, T., Higashi, S., Kokubo, T. y Itoo, S. A new glass-ceramic for bone replacement: Evaluation of its bonding to bone tissue. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1985, p. 685.
23. Xynos, I.D., Edgar, A.J., Buttery, L.D.K., Hench, L.L., Polak, J.M. Ionic products of bioactive glass dissolution increase proliferation of human osteoblasts and induce insulin-like growth factor II mRNA expression and protein synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000, pp. 461-5.
24. Hench, L. L. Bioceramics. *J. Am. Ceram. Soc.*, 1998, Vol. 7, pp. 1705-28.
25. Hench, L. L. Sol-gel materials for bioceramic applications. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, 1997, pp. 604-10.
26. Hench, L. L. Bioactive glasses and glasses-ceramics. *Bioceramics-applications of ceramic and glass materials in medicine*, 1999, pp. 37-64.
27. Hench, L.L., Kokubo, T. Properties of bioactive glasses and glassceramics. *Hanbook of biomaterial properties*. London: Chapman and Hall, 1998. pp. 355-63.
28. Martin, I., Wendt, D. and Heberer, M. The role of bioreactors in tissue engineering. *Trends in Biotechnol*, 2004, Vol. 22, pp. 80-86.

29. Babensee, J. E., Anderson, J. M., McIntire, L. V. and Mikos, A. G. Host response to tissue engineered devices. *Adv. Drug Del. Rev.*, 1998, Vol. 33, pp. 111–139.
30. Hutmacher, D. W. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 2000, Vol. 21, pp. 2529-2543.
31. Yannas, I. V., Lee, E., Orgill, D. P., Skrabut, E. M. and Murphy, G. F. Synthesis and characterization of a model extracellular matrix that induces partial regeneration of adult mammalian skin. *PNAS*, 1989, Vol. 86, pp. 933-937.
32. O'Brien, F. J., Harley, B. A., Yannas, I. V. and Gibson, L. J. The effect of pore size on cell adhesion in collagen-GAG scaffolds. *Biomaterials*, 2005, Vol. 26, pp. 433-441.
33. Murphy, C.M., Haugh, M. G. and O'Brien, F. J. Investigating the effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen glycosaminoglycan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*, 2010, Vol. 31, pp. 461-6.
34. Murphy, C. M. and O'Brien, F. J. Understanding the effect of mean pore size on cell activity in collagen-glycosaminoglycan scaffolds. *Cell Adh. Migr.*, 2010, Vol. 4, pp. 377-81.
35. Schwartwalder, K. and Somers, A. V. Method of making porous ceramic articles. 3090094 US, May 21, 1963.
36. Saggio-Woyansky, J., Scott, C. E. and Minnear, W. P. Processing of Porous Ceramics. *Am. Ceram. Soc.*, 1992, Vol. 71, pp. 1674-82.
37. Innocentini, M. D. M, Sepulveda, P., Salvini, V. R., Pandolfelli, V. C. and Coury, J. R. Permeability and Structure of cellular ceramics: a comparison between two preparation techniques. *J. Am. Ceram. Soc.*, 1998, Vol. 81, pp. 3349-52.
38. Sepulveda, P. Gelcasting foams for porous ceramics. *Am. Ceram. Soc. Bull.*, 1997, Vol. 76, pp. 61-5.
39. Colombo, P. and Hellmann, J. R. Ceramic foams from preceramic polymers. *Mater. Res. Innovations*, 2002, Vol. 6, pp. 260-72.
40. Vogli, E., Sieber, H. and Greil, P. Biomorphic SiC-ceramic prepared by Si-vapor phase infiltration of wood. *J. Eur. Ceram. Soc.*, 2002, Vol. 22, pp. 2663-8.
41. Ben-Nissan, B. Natural Bioceramics: from coral to bone and beyond. *Curr. Opinion Solid State Mater. Sci.*, 2003, Vol. 7, pp. 283-8.
42. White, R. A., White, E. W. and Weber, J. N. Replamineform-new process for preparing porous ceramic metal and polymer prosthetic materials. *Science*, 1972, Vol. 176, p. 922.

43. Newnham, R. E. and Ruschau, G. R. Smart electroceramics. *J. Am. Ceram. Soc.*, 1991, Vol. 74, pp. 463-80.
44. Ota, T., Takahashi, M., Hibi, T., Ozawa, M., Suzuki, S., Hikichi, Y. and Suzuki, H. Biomimetic process for producing SiC "wood". *J. Am. Ceram. Soc.*, 1995, Vol. 78, pp. 3409-11.
45. Colombo, P., Bernardo, E. and Biasetto, L. Novel microcellular ceramics from a silicone resin. *J. Am. Ceram. Soc.*, 2004, Vol. 87, pp. 152-4.
46. Lyckfeldt, O. and Ferreira, J. M. F. Processing of porous ceramics by starch consolidation. *J. Eur. Ceram. Soc.*, 1998, Vol. 18, pp. 131-40.
47. Fitzgerald, T. J., Michaud, V. J. and Mortensen, A. Processing of microcellular SiC foams. 2. Ceramic foam production. *J. Mater. Sci.*, 1995, Vol. 30, pp. 1037-45.
48. Hotta, Y., Alberius, P. C. A. and Bergstrom, L. Coated polystyrene particles as templates for ordered macroporous silica structures with controlled wall thickness. *J. Mater. Chem.*, 2003, Vol. 13, pp. 496-501.
49. Bouler, J. M., Trecant, M., Delecrin, M., Royer, J., Passuti, N. and Daculsi, G. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: Influence of five synthesis parameters on compressive strength. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1996, Vol. 32, pp. 603-9.
50. Cheung S., Gauthier M., Lefebvre L-P., Dunbar M., Filiaggi M., Fibroblastic interactions with high-porosity Ti-6Al-4V metal foam. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2007, Vol. 82, pp. 440-449.
51. Mano J. F., Sousa R. A., Boesel L. F., Neves N. M. y Reis R. L. Bioinert, biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art and recent developments. *Compos Sci Technol*, 2004, pp. 789-817.
52. Drotleff, S., Lungwitz, U., Breunig, M., Dennis, A., Blunk, T., Tessmar, J. Biomimetic polymers in pharmaceutical and biomedical sciences. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2004, pp. 385-407.
53. Tirelli, N., Lutolf, M. P., Napoli, A., Hubbell, J. A. Poly(ethylene glycol) block copolymers. *Rev. Mol. Biotechnol*, 2002, pp. 3-15.
54. Berger, J., Reist, M., Mayer, J.M., Felt, O., Peppas, N.A., Gurny, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 2004, Vol. 1, pp. 19-34.
55. Levenberg, S., Langer, R. Advances in tissue engineering current topics in developmental biology. New York: Academic Press, 2004, Vol. 61, pp. 113-134.

56. Kim, H.W., Knowles, J.C., Kim, H.E. Hydroxyapatite/poly([epsilon]-caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone scaffold for drug delivery. *Biomaterials*, 2004, pp. 1279-87.
57. Boccaccini, A. R., Blaker, J. J., Maquet, V., Day, R. M., Jerome, R. Preparation and characterisation of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and PLGA/Bioglass(R) composite tubular foam scaffolds for tissue engineering applications. *Mater. Sci. Eng. C.*, 2005, pp. 23-31.
58. Hedberg, E.L., Shih, C.K., Lemoine, J.J., Timmer, M.D., Liebschner, M.A.K., Jansen, J.A. In vitro degradation of porous poly(propylene fumarate)/ poly(DL-lactic-co-glycolic acid) composite scaffolds. *Biomaterials*, 2005, pp. 3215-25.
59. Zhang, K., Wang, Y., Hillmayer, M.A., Francis, L.F. Processing and properties of porous poly(L-lactide)/bioactive glass composites. *Biomaterials*, 2004, pp. 2489-500.
60. Niiranen, H., Pyhalto, T., Rokkanen, P., Kellomaki, M., Tormala, P. In vitro and in vivo behavior of self-reinforced bioabsorbable polymer and self-reinforced bioabsorbable polymer/bioactive glass composites. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2004, pp. 699-708.
61. Yao, J., Radin, S., Leboy, P.S., Ducheyne, P. The effect of bioactive glass content on synthesis and bioactivity of composite poly (lactic-coglycolic acid)/bioactive glass substrate for tissue engineering. *Biomaterials*, 2005, pp. 1935-43.
62. Gittens, S.A., Uludag, H. Growth factor delivery for bone tissue engineering. *J. Drug Target*, 2001, pp. 407-29.
63. Luginbuehl, V., Meinel, L., Merkle, H.P., Gander, B. Localized delivery of growth factors for bone repair. *Eur. J. Pharm Biopharm*, 2004, pp. 197-208.
64. Di Silvio, L., Bonfield, W. Biodegradable drug delivery system for the treatment of bone infection and repair. *J. Mater. Sci-Mater. Med.*, 1999, pp. 653-8.
65. Hench, L.L., Polak, J.M. Third-generation biomedical materials. *Science*, 2002, pp. 1014-7.
66. Maquet, V., Boccaccini, A.R., Pravata, L., Notingher, I., Jerome, R. Porous poly([alpha]-hydroxyacid)/Bioglass(R) composite scaffolds for bone tissue engineering. I: Preparation and in vitro characterisation. *Biomaterials*, 2004, pp. 4185-94.
67. Li, H., Chang, J. Preparation and characterisation of bioactive and biodegradable wollastonite/poly(D,L-lactic acid) composite scaffolds. *J. Mater. Sci.-Mater. Med.*, 2004, pp. 1089-95.

68. Lu, H.H., Tang, A., Oh, S.C., Spalazzi, J.P., Dionisio, K. Compositional effects on the formation of a calcium phosphate layer and the response of osteoblast-like cells on polymer-bioactive glass composites. *Biomaterials*, 2005, pp. 6323-34.
69. Jiang, G., Evans, M.E., Jones, I., Rudd, C.D., Scotchford, C.A., Walker, G.S. Preparation of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/continuous bioglass fibre composite using monomer transfer moulding for bone implant. *Biomaterials*, 2005, pp. 2281-8.
70. Khan, Y.M., Dhirendra, D.S., Katti, S., Laurencin, C.T. Novel polymersynthesized ceramic composite-based system for bone repair: an in vitro evaluation. *J Biomed Mater Res A*. 2004, pp. 728-37.
71. Xu, H.H.K., Quinn, J.B., Takagi, S., Chow, L.C. Synergistic reinforcement of in situ hardening calcium phosphate composite scaffold for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2004, pp. 1029-37.
72. Hench L. L., and Wilson J. Surface-active biomaterials. *Science*, 1984, Vol. 226, pp. 630-6.
73. Lefebvre, L., Chevalier, J., Gremillard, L., Zenati, R. and Thollet, G. Structural transformations of bioactive glass 45S5 with thermal treatments. *Acta Materialia*, 2007, Vol. 55, pp. 3305-3313.
74. Wesley, W., M., Wendlandt. *Thermal Analysis*. Thrid Edition. John Wiley and Sons, 1986. pp. 228-241.
75. Lefebvre, L., Gremillard, L., Chevalier, J., Zenati, R. and Bernache-Assolant, D. Sintering behaviour of 45S5 bioactive glass. *Acta Biomaterialia*, 2008, pp. 1894-1903.
76. Bretcanu, O., Chatzistavrou, X., Paraskevopoulos, K., Conradt, R., Thompson, I. and Boccaccini, A.R. Sintering and crystallisation of 45S5 Bioglass powder. *Journal of the European Ceramic Society*, 2009, pp. 3299-3306.
77. Xin, R., Zhang, Q. and Gao, J. Identification of the wollastonite phase in sintered 45S5 bioglass and its effect on in vitro bioactivity. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2010, pp. 1180-1184.
78. Cannillo, V., Chiellini, F., Fabbri, P. and Sola, A. Production of Bioglass 45S5 - Polycaprolactone composite scaffolds via salt-leaching. *Composite Structures*, 2010, pp. 1823-1832.
79. Chen, Q. Z., Thompson, I. D. and Boccaccini, A. R. 45S5 Bioglass - derived glass - ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2006, pp. 2414-2425.

80. Gauthier, M., Lefebvre, L.-P., Thomas, Y. and Bureau, M. N. Production of metallic foams having open porosity using a powder metallurgy approach. *Materials and Manufacturing processes*, 2004, Vol. 19, pp. 793-811.
81. St-Pierre, J.-P., Gauthier, M., Lefebvre, L.-P., Tabrizian, M. Three-dimensional growth of differentiating MC3T3-E1 pre-osteoblasts on porous titanium scaffolds. *Biomaterials*, 2005, pp. 7319-7328.
82. Wazen M. R., Lefebvre L.-P., Baril E., Nanci A. Initial evaluation of bone ingrowth into a novel porous titanium coating. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010, pp. 64-71.
83. Shih-Ching, W., Hsueh-Chuan, H., Sheng-Hung, H., Wen-Fu, H. Preparation of porous 45S5 Bioglass -derived glass- ceramic scaffolds by using rice husk as a porogen additive. *J. Mater. Sci: Mater. Med.*, 2009, pp. 1229-1236.
84. Chung-Cherng, L., Li-Chen, H. and Pouyan, S. Na<sub>2</sub>CaSi<sub>2</sub>O<sub>6</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> based bioactive glasses. Part 1: Elasticity and structure. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2005, pp. 3195-3203.
85. Boccaccini, A. R., Chen, Q., Lefebvre, L., Gremillard, L. and Chevalier, J. Sintering, crystallisation and biodegradation behaviour of Bioglass -derived glass- ceramics. *Faraday Discuss*, 2007, pp. 27-44.
86. Markovic, M., Takagi, S. and Chow, L. C. Formation of macropores in calcium phosphate cement through the use of manitol crystals. *Key Eng. Mater.*, 2000, pp. 192-195.
87. Barralet, J. E., Grover, L., Gaunt, T., Wright, A. J. and Gibson, I. R. Preparation of macroporous calcium phosphate cement tissue engineering scaffold. *Biomaterials*, 2002, pp. 3063-3072.
88. Cama, G., Barberis, F., Botter, R. Preparation and properties of macroporous brushite bone cements. *Acta Biomaterialia*, 2009, pp. 2161-2168.
89. Habraken, W. J. E. M., Wolke, J. G. C., Mikos, A. G., Jansen J. A. Injectable PLGA microsphere/calcium phosphate cements: physical properties and degradation characteristics. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2006, pp. 1057-1074.
90. Almirall, A., Larrecq, G., Delgado, J. A., Martinez, S., Planell, J. A., Ginebra, M. P. Fabrication of low temperature macroporous hydroxyapatite scaffolds by foaming and hydrolysis of an  $\alpha$ -TCP paste. *Biomaterials*, 2004, pp. 3671-3680.
91. Li, X., Li, D., Lu, B., Tang, Y., Wang, L. Design and fabrication of CAP scaffolds by indirect solid free form fabrication. *Rapid Prototyping Journal*, 2005, pp. 312-318.

92. Miao, X., Tan, L. P., Tan, L. S., Huang, X. Porous calcium phosphate ceramics modified with LGA-bioactive glass. *Materials Science and Engineering*, 2007, pp. 274-279.
93. Huang, X., Miao, X. Novel porous hydroxyapatite prepared by combining H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foaming with PU sponge and modified with PLGA and bioactive glass. *Journal of Biomaterial Applications*, 2007, pp. 351-374.
94. Kim, H. W., Knowles, J. C., Kim, H. E. Hydroxyapatite porous scaffold engineered with biological polymer hybrid coating for antibiotic vancomycin release. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2005, pp. 189-195.
95. Ramay, H. R., Zhang, M. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods. *Biomaterials*, 2003, pp. 3293-3302.
96. Gibson, L. J. The mechanical behaviour of cancellous bone. *J. Biomech.*, 1985, pp. 317-28.