

Proyecto Fin de Máster
Ingeniería Industrial

Fabricación y caracterización de cilindros de vidrio
bioactivo para aplicaciones biomédicas

Autor: María José Rodríguez Puro **Tutor:** Dr. Yadir Torres Hernández

Dpto. Ingeniería y Ciencia de los Materiales y del Transporte

Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Universidad de Sevilla

Sevilla, 2018



Proyecto Fin de Máster
Ingeniería Industrial

Fabricación y caracterización de cilindros de vidrio bioactivo para aplicaciones biomédicas

Autor:

María José Rodríguez Puro

Tutor:

Dr. Yadir Torres Hernández

Profesor Titular

Dpto. Ingeniería y Ciencia de los Materiales y del Transporte

Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Universidad de Sevilla

Sevilla, 2018

Proyecto Fin de Máster: Fabricación y caracterización de cilindros de vidrio bioactivo para aplicaciones biomédicas.

Autor: María José Rodríguez Puro

Tutor: Dr. Yadir Torres Hernández

El tribunal nombrado para juzgar el proyecto arriba indicado, compuesto por los siguientes miembros:

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

El Secretario del Tribunal

Sevilla, 2018

*A mi familia y amigos
que tanto me han apoyado.*

Agradecimientos

Ante todo, agradecerle a Yadir Torres, Cristina Domínguez, Sandra Gamero y Jose María Gómez la oportunidad brindada de investigar junto al Departamento de Ciencia de los Materiales y Transportes de la Universidad de Sevilla, así como la labor y el seguimiento mostrado a lo largo del mismo.

También a mi familia por su apoyo incondicional para continuar con la realización del proyecto.

María José Rodríguez Puro

Estudiante del Máster en Ingeniería Industrial

Sevilla, 2018

La degradación de los tejidos blandos (cartílagos) y duros (huesos), puede asociarse al envejecimiento, enfermedades congénitas, degenerativas y traumas. La pérdida de resistencia mecánica de los tejidos óseos es causada por la disminución de la densidad de éstos. Por su parte, un cartílago lesionado, inflamado o dañado (roto o desgastado) puede causar síntomas como dolor y limitación del movimiento, al igual que puede conducir a daños articulares y deformidad.

El tejido óseo presenta la mayor frecuencia de reemplazos, como resultado de patologías asociadas a enfermedades congénitas, al envejecimiento (pérdida de resistencia, asociada a la disminución de la densidad y el espesor) y traumas diversos (generalmente accidentes). Los biomateriales metálicos más usados clínicamente son el acero inoxidable austenítico, las aleaciones de Co-Cr, de tántalo y de titanio. Todos ellos presentan un comportamiento bioinerte (pobre oseointegración). En este contexto, destacan entre los problemas que ocurren en la intercara implante-hueso (fallos biofuncionales), el micro-movimiento relativo entre el biomaterial y el tejido, así como las infecciones ocasionadas por la formación y acumulación de bacterias durante la cirugía-cicatrización (fallos tempranos) o después de un año de implantación (fallo tardío). La osteointegración es la conexión estructural y funcional entre el hueso y la superficie del implante. Cuando ésta es deficiente y/o existe sobre-manipulación durante el acto quirúrgico se inhibe la formación del nuevo hueso; formándose en este caso una capa fina de tejido fibroso, la posterior encapsulación y el aflojamiento del implante (mediano y largo plazo).

El Ti c.p. y sus aleaciones tienen una gran capacidad de osteointegración, si lo comparamos con otros biomateriales metálicos. Sin embargo, todavía presentan limitaciones que hacen necesaria la optimización de la unión íntima metal y hueso. Existen dos grandes caminos para mejorar la oseointegración: 1) manipulando la rugosidad y textura de la superficie del implante y 2) modificando la naturaleza química y estructural de la superficie de contacto entre el implante y el hueso para promover un enlace químico directo. El uso de recubrimientos bioactivos (hidroxiapatita y vidrios bioactivos) han sido ampliamente abordados en la literatura científica. La elección correcta del tipo de vidrio bioactivo (composición química) y del proceso de fabricación depende del objetivo que se persigue y la aplicación concreta de éstos. En este contexto, existe una relación inversa entre los coeficientes de expansión térmica (CTE) de los vidrios bioactivos y su capacidad de favorecer la oseointegración. Por otro lado, también existe una relación controvertida entre el grado de cristalinidad del vidrio, sus propiedades tribo-mecánicas y su bioactividad.

En este proyecto fin de máster, en primer lugar, expondremos lo referente al estado del arte con la información referente al tema que estamos tratando y a los biomateriales que mejor se adaptan a nuestras condiciones.

Por último, tras haber dejado explicado los procedimientos experimentales que se realizaron se exponen los resultados obtenidos. De estos resultados se han podido extraer una serie de conclusiones a partir de las cuales se han propuesto nuevos trabajos para futuras investigaciones.

The degradation of soft tissues (cartilage) and hard (bone) may be associated with aging, congenital, degenerative diseases and traumas. The loss of mechanical strength of the bone tissue is caused by the decreasing density thereof. Meanwhile, an injured, inflamed or damaged (broken or worn) cartilage can cause symptoms such as pain and limitation of movement, as it can lead to joint damage and deformity.

Bone tissue presents the highest frequency of replacements, as a result of pathologies associated with congenital diseases, aging (loss of resistance, associated with a decrease in density and thickness) and various traumas (usually accidents). The most commonly used metal biomaterials are austenitic stainless steel, Co-Cr, tantalum and titanium alloys. All of them present a bioinert behavior (poor osseointegration). In this context, they stand out among the problems that occur in the implant-bone interface (biofunctional failures), the relative micro-movement between the biomaterial and the tissue, as well as the infections caused by the formation and accumulation of bacteria during surgery-healing. (early failures) or after one year of implantation (late failure). Osseointegration is the structural and functional connection between the bone and the surface of the implant. When this is deficient and / or there is over-manipulation during the surgical act, the formation of new bone is inhibited; forming in this case a thin layer of fibrous tissue, the subsequent encapsulation and loosening of the implant (medium and long term).

The Ti c.p. and its alloys have a great osseointegration capacity, if we compare it with other metallic biomaterials. However, they still present limitations that make it necessary to optimize the intimate union of metal and bone. There are two main ways to improve osseointegration: 1) manipulating the roughness and texture of the implant surface and 2) modifying the chemical and structural nature of the contact surface between the implant and the bone to promote a direct chemical bond. The use of bioactive coatings (hydroxyapatite and bioactive glasses) has been widely discussed in the scientific literature. The correct choice of the type of bioactive glass (chemical composition) and the manufacturing process depends on the objective pursued and the concrete application of these. In this context, there is an inverse relationship between the coefficients of thermal expansion (CTE) of bioactive glasses and their capacity to favor osseointegration. On the other hand, there is also a controversial relationship between the degree of crystallinity of the glass, its tribo-mechanical properties and its bioactivity.

In this final degree project, first, we expose relation to state of the art with the information regarding the issue at hand and biomaterials that are best suited to our conditions.

Finally, after leaving explained the experimental procedures were performed the results obtained are set. From these results it was possible to draw a number of conclusions from which new jobs have been proposed for future research.

Contenido

Agradecimientos.....	VI
Resumen.....	VII
Abstract	IX
Índice	X
Índice de Tablas.....	IX
Índice de Figuras.....	X
1. Introducción	1
2. Objetivos.....	4
3. Estado del arte.....	5
3.1 Tejido óseo	5
3.1.1 Generalidades.....	5
3.1.2 Composición ósea.....	6
3.1.3 Arquitectura ósea	6
3.1.4 Propiedades mecánicas del hueso	7
3.1.5 Dinámica del hueso	9
3.1.6 Osteogénesis. Clasificación de los biomateriales	10
3.2 Biomateriales.....	11
3.3. Uso de materiales bioactivos para solución de problemas osteocondrales	13
3.3.1 Hidroxiapatita.	14
3.4. Comportamiento biofuncional	21
3.4.1 Bioactividad	22
3.5.1 Microdureza.....	23
4. Materiales y metodología experimental aplicada.....	28
4.1 Materiales.....	28
4.1.1 Biovidrios	28
4.2 Fabricación de los biovidrios	30
4.2.1 Mezclado de polvos	30
4.2.2 Compactación	30
4.2.3 Sinterización	32

4.3	Caracterización de los biovidrios	34
4.3.1	Caracterización micro-estructural	34
4.3.2	Caracterización Micro-Mecánica	37
5	Resultados	40
5.1	Resultados de los biovidrios	40
5.1.1	Resultados de la compactación	41
5.1.2	Resultados del sinterizado	44
5.1.3	Resultados del método geométrico	47
5.1.4	Resultados DRX	51
5.1.5	Resultados SEM +EDX	52
5.1.6	Resultados de los ensayos Micro-Mecánicos	57
6	Conclusiones y Trabajos Futuros	64
7	Referencias	65

Índice de Tablas

Tabla 1: Valores de resistencia máxima y módulo de Young del hueso cortical humano para los distintos tipos de ensayo mecánicos [3].	2
Tabla 2: Propiedades mecánicas del hueso cortical [2].	7
Tabla 3: Propiedades mecánicas del hueso trabecular [2].	8
Tabla 4: Patrones de osteogénesis [13].	11
Tabla 5: Propiedades físicas y químicas de los biomateriales [16].	12
Tabla 6: Composición del cartílago articular [22].	13
Tabla 7: Composición en % en peso de algunos vidrios de silicatos [39].	16
Tabla 8: Composición en % en peso de los polvos de vidrio.	28
Tabla 9: Diámetro de partícula para ambos vidrios.	40
Tabla 10: Probetas de diámetro 4 mm realizadas.	42
Tabla 11: Características dimensionales antes y después del sinterizado en 45S5 VITA.	47
Tabla 12: Características dimensionales antes y después del sinterizado en 45S5 Molibdeno.	47
Tabla 13: Densidad final de probetas tras el sinterizado y ganancia de densidades con respecto al proceso anterior, donde “Tras prensado” corresponde a la ganancia de densidad con respecto a la densidad de golpeo y “Tras sinterizado” a la ganancia de densidad con respecto a la de prensado. Nota: valores de densidad teóricos, 2,45 gcm ³ del 45S5 y los 2,71 gcm ³ para el 13-93. Valores de densidad por golpeo, 1,10 gcm ³ del 45S5 y los 1,28 gcm ³ para el 13-93. [20].	47
Tabla 14: Contracción volumétrica sufrida para las probetas 45S5 en %.	48
Tabla 15: Características dimensionales antes y después del sinterizado en 1393 Molibdeno.	50
Tabla 16: Características dimensionales antes y después del sinterizado en 45S5 VITA.	50
Tabla 17: Contracción volumétrica sufrida para las probetas 1393 en %.	51
Tabla 18: Ensayos de dureza realizados a las probetas 45S5 horno VITA.	57
Tabla 19: Ensayos de dureza realizados a las probetas 45S5 horno Molibdeno.	57
Tabla 20: Ensayos de dureza realizados a las probetas 1393.	57
Tabla 21: Ensayos de dureza realizados a las probetas 1393.	58
Tabla 22: Durezas en probetas del 45S5. Influencia del tipo de horno y de la presión de compactación.	58
Tabla 23: Durezas en probetas del 1393. Influencia del tipo de horno y de la presión de compactación.	59
Tabla 24: Resultados de indentación instrumentada para el 45S5.	61
Tabla 25: Resultados de indentación instrumentada para el 1393.	61

Índice de Figuras

Figura 1: Las pruebas de resistencia mecánica a las que se someten los huesos son tracción compresión, torsión. En la cabeza del fémur se forman líneas de tensión y de compresión debido al peso que soporta.	1
Figura 2: Curva de deformación del hueso según una tensión [3].	2
Figura 3: Prótesis de rodilla. Izquierda: antes de la operación. Derecha: después de la operación.	3
Figura 4: Composición ósea base [9].	6
Figura 5: Estructura ósea. Detalle del hueso [3].	7
Figura 6: Ensayo real sobre una prótesis y esquema de la influencia de la dirección de la carga [2].	8
Figura 7: Curva tensión-deformación para distintas densidades óseas [10].	9
Figura 8: Configuración de cargas en el hueso [10].	9
Figura 9: Red cristalina Hexagonal de la HA [36].	15
Figura 10: Diagrama Ternario de $Na_2O - SiO_2 - CaO$ y regiones de bioactividad [24].	16
Figura 11: Formación de los tetraedros de sílice y nanopartículas en el proceso sol-gel.[43]	17
Figura 12: Síntesis de BG por fusión [47].	19
Figura 13: Síntesis de BG por método sol-gel [51].	20
Figura 14: Flujo bidimensional para materiales rígido plásticos.	24
Figura 15: Variación de la dureza al disminuir la carga de indentación en materiales cerámicos [61].	25
Figura 16: -a) Curva característica P-h en un ensayo típico de indentación instrumentada [62], y b) Sección de una indentación en la que se indican las magnitudes empleadas en el análisis de las propiedades mecánicas del material.	26
Figura 17: Ejemplos de curvas de carga-desplazamiento.	26
Figura 18: Polvos de vidrio: 1) 45S4 y 2) 13-93.	28
Figura 19: Curvas de compresibilidad: a) 45S5. b) 13-93.	29
Figura 20: mezcladora WAB Machinery, Túrbulas T2C.	30
Figura 21: Balanza de precisión OHAUS Explorer Pro.	30
Figura 22: Matrices compactación.	31
Figura 23: Máquina de ensayos Instron.	32
Figura 24: 1) Horno Thermolab y equipo de vacío, 2) Horno Vita.	33
Figura 25: Rampa sinterización 45S5.	33
Figura 26: Rampa sinterización 1393.	34
Figura 27: Calibre digital MITUTOYO.	34
Figura 28: Líneas imaginarias ocho sectores.	35
Figura 29: Microscopio electrónico de barrido.	37
Figura 30: Equipo de microindentación Shimadzu Micro-Vickers (modelo HMV-G).	38
Figura 31: Curva PH típica.	39
Figura 32: Distribución de los polvos: a) 45S5 y b) 13-93.	40
Figura 33: Imágenes SEM de los polvos.	41
Figura 34: Patrones de DRX de los polvos de vidrios estudiados: a) 45S5 y b) 13-93.	41
Figura 35: Probetas no aptas de 8 y 12 mm.	42
Figura 36: Probetas de 4 mm.	42
Figura 37: Aspecto Macroscópico de los cilindros.	43
Figura 38: Rampas reales VS teórica 45S5.	44
Figura 39: Sinterización de probetas del 45S5. Muestras a),d) y h) en “verde” a 200,400 y 600MPa respectivamente. Muestras b),f) y i) en el horno de Molibdeno. Muestras c),g) y j) en el horno VITA.	44
Figura 40: Rampa real 1393.	45
Figura 41: Probetas 13-93 prensadas a 400MPa antes y después del sinterizado. Muestra a) en el horno de Molibdeno y muestra d) en el Horno Vita.	45
Figura 42: Rampa real vs teórica 1393.	46
Figura 43: Rampa real Vs teórica para ambos vidrios.	46
Figura 44: Gráfico comparativo variación volumétrica 45S5 VITA.	49

Figura 45: Gráfico comparativo variación volumétrica 45S5 Molibdeno.....	49
Figura 46: Gráfico comparativo variación densidad.	50
Figura 47: Patrones de difracción a)45S5 (semicristalino) y la b) al 13-93 (amorfo).	52
Figura 48: Imágenes SEM a pocos aumentos del vidrio 45S5 para las tres presiones de compactación (200, 400 y 600 MPa, comenzando desde arriba): Horno Termolab (izquierda) y VITA (derecha).	53
Figura 49: SEM 45S5 izquierda MOLIBDENO derecha VITA. Diferentes presiones de compactación.	55
Figura 50: SEM 13-93 izquierda MOLIBDENO derecha VITA. Diferentes presiones de compactación.	56
Figura 51: Huella 1393 Mo 400MPa 2 N.	58
Figura 52: Efecto presión en las curvas P-h. 45S5 sinterizadas con la rampa 1 y 13-93 sinterizadas con la rampa 2.	59
Figura 53: Efecto del tipo de horno en el material en las curvas P-h. 45S5 sinterizadas con la rampa 1 y 13-93 sinterizadas con la rampa 2.....	60
Figura 54:a) Efecto pile-up o “forma de barril” y b) Efecto sink-in o “forma de aguja”.	62

1. Introducción

La degradación de los tejidos musculoesqueléticos, consecuencia del envejecimiento, patologías y traumas, es una de las problemáticas de mayor impacto en la calidad de vida de la población mundial, tal que se puede considerar como un importante problema de salud pública [1].

La necesidad de implantes cada vez se está haciendo mayor, debido a los accidentes que se producen en la población y también a las mejoras de los países desarrollados que hacen cada vez más evidente el uso de prótesis e implantes como sustitución de un hueso, articulación, etc. También debemos tener en cuenta que conforme la sociedad avanza, el deterioro va siendo cada vez mayor y el uso de estas prótesis e implantes se hace más necesario [2].

Por todas las razones explicadas anteriormente hay numerosas líneas para mejorar los materiales con los que se hacen las prótesis, así como mejoras de las propias prótesis e implantes para mejorar temas de biocompatibilidad y biodegradabilidad con el cuerpo humano.

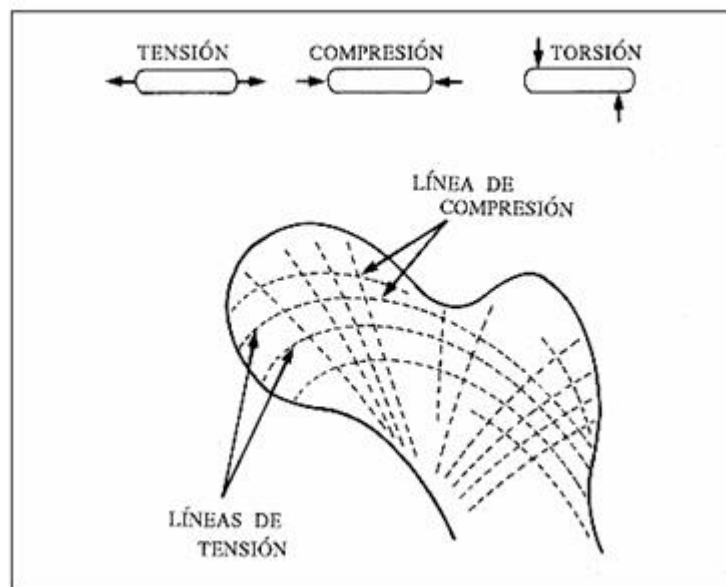


Figura 1: Las pruebas de resistencia mecánica a las que se someten los huesos son tracción compresión, torsión. En la cabeza del fémur se forman líneas de tensión y de compresión debido al peso que soporta.

Tabla 1: Valores de resistencia máxima y módulo de Young del hueso cortical humano para los distintos tipos de ensayo mecánicos [3].

Ensayo de compresión	Resistencia Módulo de Young	167-213 MPa 14,7-34,3 GPa
Ensayo de tracción	Resistencia Módulo de Young	107-170 MPa 11,4-29,2 GPa
Ensayo de flexión	Resistencia Módulo de Young	103-238 MPa 9,8-15,7 GPa
Ensayo de torsión	Resistencia Módulo de Young	65-71 MPa 3,1-3,7 GPa

El hueso según la deformación a la que se le haya sometido, seguirá una curva de deformación plástica que llegará a un punto a partir del cual empieza a romperse sin dar lugar a una recuperación elástica. La recuperación elástica se producirá en el momento en el que el hueso en cuestión no haya sido sometido a un valor de carga muy elevado. Llegará un punto crítico a partir del cual empieza la deformación plástica del hueso hasta llegar al punto de fractura periodo en el que no tendrá recuperación elástica.

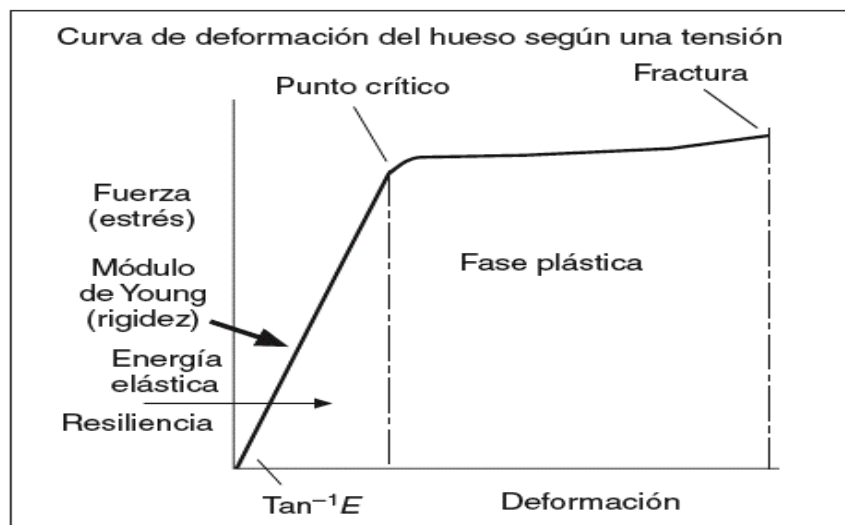


Figura 2: Curva de deformación del hueso según una tensión [3].

En trabajos anteriores se engloba estudios de prótesis de rodilla, en las cuales primero se retira el cartílago y el hueso dañados de la articulación de la rodilla. Posteriormente se colocan las piezas artificiales llamada prótesis en la rodilla. Estas piezas se pueden colocar hasta en tres superficies de la rodilla, que son: el extremo superior lindando con el fémur donde la pieza es generalmente de metal; el extremo superior de la tibia donde la pieza generalmente está hecha de metal y plástico fuerte; y, por último, el lado posterior de la rótula, donde la pieza normalmente está hecha de un plástico fuerte [4].



Figura 3: Prótesis de rodilla. Izquierda: antes de la operación. Derecha: después de la operación.

2. Objetivos

El objetivo central de este proyecto fin de máster es abordar a la vez una solución tanto para el tejido óseo (disminuir la rigidez del implante) como para el cartílago (defectos osteocondrales). Se propone fabricar y caracterizar cilindros de vidrios bioactivos para sustitución parcial de tejido óseo dañado: 45S5 (↑bio-actividad, pero ↓ compatibilidad de CTE con el Ti y sus aleaciones) y el 13-93 (↑compatibilidad de CTE, pero ↓bio-actividad).

- Implementar rutas de tecnología de polvos, evaluándose el efecto del polvo de partida (composición, tamaño y densidad de golpeo), la presión de compactación y las condiciones de sinterización (tipo de rampa, temperatura y tipo de enfriamiento).
- Caracterizar la composición química, las fases (grado de cristalinidad), así como las propiedades físicas (densidad) y micro-mecánicas (microindentación instrumentada, curvas P-h).
- Se evalúa los resultados obtenidos y se efectúa el estudio de las posibles incertidumbres derivadas de la fase experimental.
- Selección el mejor candidato en términos de mejor equilibrio entre sus propiedades estructurales, físicas (densidad y CTE adecuado para el substrato a recubrir), micro-mecánicas (micro-dureza y resistencia a la de laminación), y la potencial respuesta in-vivo (considerando las tasas de degradación en presencia de fluido fisiológico y cinética de formación de tejido óseo).

3.1 Tejido óseo

3.1.1 Generalidades

El hueso es un tejido vivo que cambia con el paso del tiempo. Presenta un proceso de eliminación de tejido viejo y creación de tejido nuevo que recibe el nombre de remodelación ósea. El proceso de destrucción de células viejas es llevado a cabo por los osteoclastos, mientras que los osteoblastos son los encargados de construir el tejido nuevo. La remodelación ósea es muy lenta, de forma que tenemos el equivalente de un esqueleto nuevo cada siete años aproximadamente.

Cuando el cuerpo es joven y está en proceso de crecimiento, los osteoblastos son los que tienen su actividad principal, mientras que tras los cuarenta años los osteoclastos son los más activos. Esto explica el proceso de envejecimiento humano y por qué las personas menguan a medida que van aumentando su edad. Estos procesos son graduales y lentos, excepto en los primeros años de vida en los que el crecimiento es muy rápido y después de los ochenta años en los que las personas decrecen rápidamente. Por ello, la edad del paciente es uno de los factores más importantes a la hora de determinar el tipo de prótesis a utilizar, pues de ella se extrae información de la composición ósea del paciente.

Los huesos del cuerpo humano, tienen seis funciones que cumplir y para las cuales están diseñados óptimamente: [5] [6] [7] [8].

- Soporte: los huesos proveen un cuadro rígido de soporte para los músculos y tejidos blandos.
- Protección de órganos: los huesos forman varias cavidades que protegen los órganos internos de posibles traumatismos.
- Locomoción: gracias a los músculos que se insertan en los huesos a través de los tendones y su contracción sincronizada, se produce el movimiento.
- Homeostasis mineral: el tejido óseo almacena una serie de minerales, especialmente calcio y fósforo, necesarios para la contracción muscular y otras muchas funciones.
- Almacén de grasas de reserva: la médula amarilla consiste principalmente en adipocitos con unos pocos hematíes dispersos. Es una importante reserva de energía química.
- Producción de células sanguíneas: dentro de cavidades situadas en ciertos huesos, un tejido conectivo denominado médula ósea roja produce las células sanguíneas rojas o hematíes.

3.1.2 Composición ósea

La composición del hueso depende de muchos factores ya sea el tipo de hueso, la localización del mismo, la edad, el sexo, así como el tejido óseo del que estamos hablando. No obstante, esta composición ósea base la vemos reflejada a continuación:

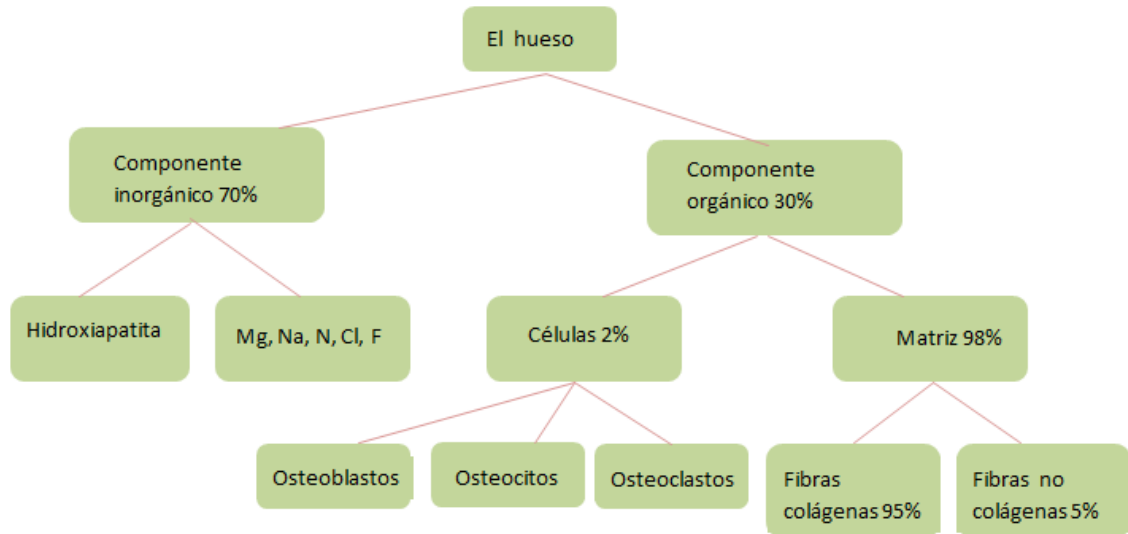


Figura 4: Composición ósea base [9].

Químicamente los huesos se componen de 25% de agua, 45% de minerales como sales de calcio y 30% de materia orgánica (proteína y colágeno). En torno al 95% del componente orgánico es de colágeno tipo I, que es el encargado de la resistencia a la tracción y le proporciona flexibilidad. Sin embargo, el inorgánico está compuesto principalmente por fosfatos de calcio en cristales nanométricos (diámetros de 20 a 70 Å y longitudes de 50 a 100 Å), de hidroxiapatita biológica no estequiométrica, responsable esta última de la resistencia a la compresión.

El agua, es un componente fundamental del hueso ya que tiene una gran influencia en las propiedades mecánicas, permitiendo una mayor ductilidad debido a una mayor facilidad de desplazamiento entre las fibras de colágeno.

3.1.3 Arquitectura ósea

El sistema esquelético humano está formado por huesos que tienen diferentes formas y tamaños que están relacionados con la función que vayan a desempeñar en el cuerpo humano. Si hablamos de su estructura global podríamos decir que el tejido óseo está constituido por diferentes fases sólidas y líquidas que son las que le otorgan al hueso su característica principal.

Podemos clasificar el tejido óseo desde el punto de vista macroscópico en:

- Cortical o compacto:

Formado por una masa sólida y continua cruzada por una red de finos conductos longitudinales, llamados canales de Havers, y transversales, denominados conductos de Volkman, en los que se encuentran alojados vasos sanguíneos y fibras nerviosas. Es resistente a las fuerzas de flexión, torsión y cizalladura.

- Esponjoso (trabecular):

Conformado por un entramado tridimensional de tabiques o trabéculas óseas ramificadas que se orientan de manera paralela a las líneas de fuerza y limitan un sistema laberíntico de espacios intercomunicantes, ocupados por médula ósea. Esta localizado en el esqueleto axial, en las epífisis y metafisis de los huesos largos y en los huesos planos y tiene la capacidad de resistir fuerzas de compresión y tensión.

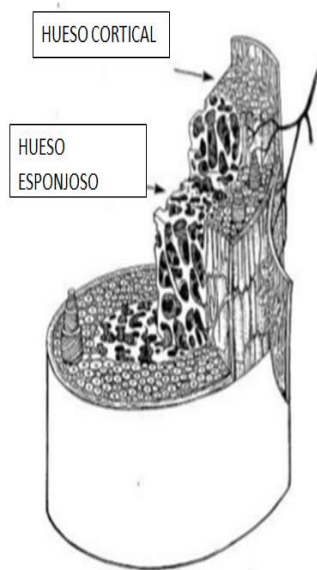


Figura 5: Estructura ósea. Detalle del hueso [3].

3.1.4 Propiedades mecánicas del hueso

Las propiedades mecánicas difieren mucho dependiendo del tipo de tejido óseo del que estemos hablando, ya que presentan una estructura distinta, como vemos reflejado en la Tabla 2 y en la Tabla 3. Por otra parte, también deben considerarse la dirección de aplicación del esfuerzo debido a la marcada anisotropía del tejido óseo.

Tabla 2: Propiedades mecánicas del hueso cortical [2].

HUESO CORTICAL	Tipo de carga		
	Tracción	Compresión	Torsión
Resistencia (longitudinal)	78.8-151 MPa	131-224 MPa	-
Resistencia (transversal)	51-56 MPa	106-133 MPa	-
Resistencia (cizalladura)	-	-	53.1-70 MPa
Módulo de Young(longitudinal)	17-20 GPa	11-20 GPa	-
Módulo de Young(transversal)	6-13 GPa	6-13 GPa	-
Módulo de Cizalladura	-	-	3.3 GPa

Tabla 3: Propiedades mecánicas del hueso trabecular [2].

HUESO TRABECULAR	Tipo de carga		
	Tracción	Compresión	Torsión
Resistencia mecánica	8 MPa	50 MPa	-
Módulo de Young(longitudinal)	0-4 GPa	-	-

Los ensayos mecánicos en huesos, se realizan de igual forma que para el resto de materiales, con la salvedad de la anisotropía en toda su estructura, por tanto, resulta necesario para la obtención de esfuerzos tanto transversales como longitudinales, realizar los ensayos en distintas zonas y direcciones del hueso.

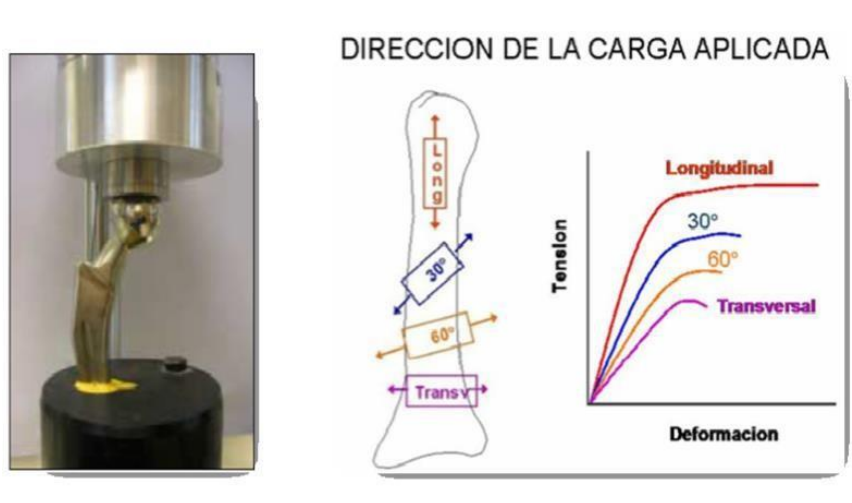


Figura 6: Ensayo real sobre una prótesis y esquema de la influencia de la dirección de la carga [2].

Se puede observar que cuando las tensiones son aplicadas de forma longitudinal, el hueso se comporta mucho mejor frente a esfuerzos de deformación por tracción. Como también era de esperar, la densidad ósea influye en los esfuerzos absorbidos por el hueso, siendo de esta forma el hueso cortical más resistente que el hueso trabecular.

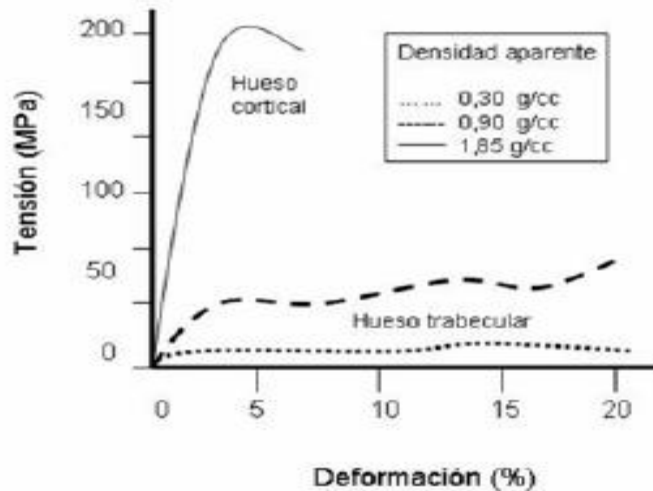


Figura 7: Curva tensión-deformación para distintas densidades óseas [10].

3.1.5 Dinámica del hueso

Según el enunciado de la Ley de Wolff, las estructuras óseas se orientan y adquieren la masa que mejor soporta las tensiones externas según la dirección de la presión funcional.

El modelado óseo es un proceso de reabsorción y formación continua de tejido óseo, que modifica la estructura y morfología de los huesos durante el crecimiento y desarrollo.

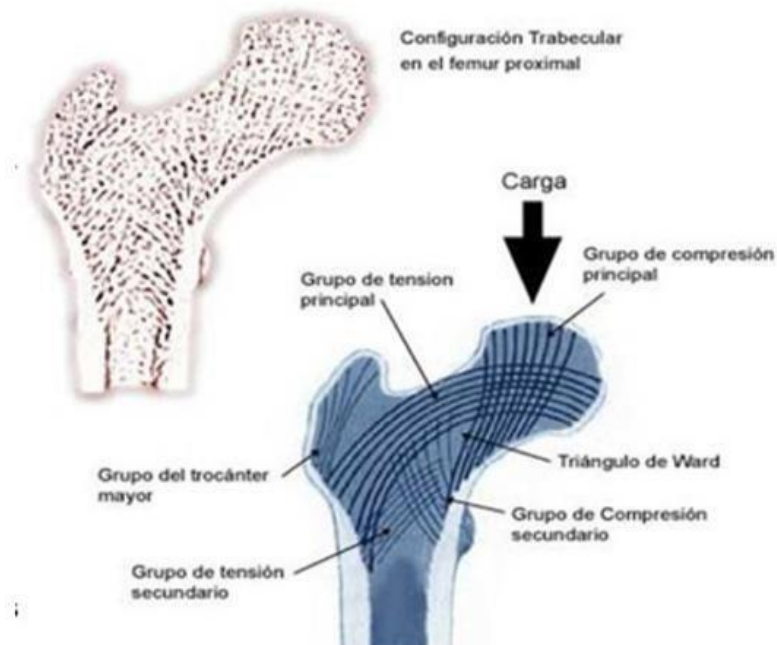
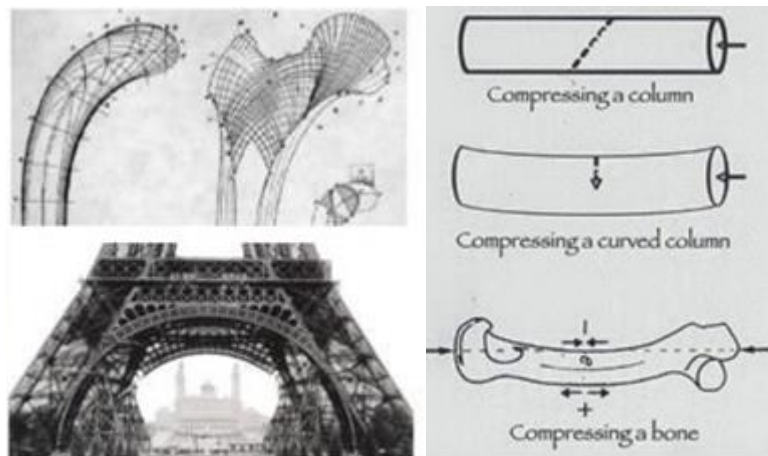


Figura 8: Configuración de cargas en el hueso [10].

Se puede apreciar cierta similitud entre las estructuras ingenieriles y las estructuras óseas. El caso de diseño de estructuras huecas en ingeniería se realiza a partir de las líneas de presión estática, en el que la mínima cantidad de material y mínimo peso, mantiene la máxima resistencia,

mientras que los huesos se orientan siguiendo el mismo principio, con trabéculas que siguen la misma dirección de las líneas de presión.



3.1.6 Osteogénesis. Clasificación de los biomateriales

El concepto de osteogénesis, o la formación de hueso por crecimiento o por reparación debido a la actividad de los osteoblastos, ha sido propuesto como el método más conveniente para evaluar la respuesta del hueso a los biomateriales utilizados para su reemplazo, ya que ningún material probado hasta ahora en un tejido vivo puede considerarse totalmente inerte [11] [12].

A partir del análisis de los patrones de osteogénesis los biomateriales se dividen en tres clases:

- Osteogénesis intervenida:

Es la asociada a los materiales no cerámicos **biotolerantes** (Acero inoxidable, Vitallium, PMMA). Su composición química y propiedades superficiales pueden dar lugar a reacciones adversas del tejido circundante, debido a la liberación de iones al medio o residuos en forma de partículas.

- Osteogénesis por contacto:

Es propia de los materiales **bioinertes** (Titanio y sus aleaciones, carbono, alúmina, circona, óxido de titanio, nitrato de titanio y de silicio). La adhesión del implante es exclusivamente mecánica produciéndose la denominada “fijación biológica”. El hueso crece de manera ordenada en contacto directo con el implante generalmente con un espesor mínimo de capa de tejido fibroso [12] [13], y puede variar dependiendo del material y de la extensión del movimiento relativo. Esto es equivalente al concepto de osteointegración.

- Osteogénesis por enlace:

Es la relacionada con los materiales cerámicos **bioactivos** (vidrios y vitrocerámicos bioactivos, hidroxiapatita).

Los materiales no-tóxicos y biodegradables no están incluidos en la clasificación según la osteogénesis. Estos están diseñados para degradarse gradualmente con el tiempo y, por tanto, para ser reemplazados por el tejido receptor.

Tabla 4: Patrones de osteogénesis [13].

Patrón de osteogénesis	Biomateriales	
Osteogénesis invertida	Acero inoxidable Vitallium, PMMA	Materiales biotolerantes
Osteogénesis por contacto	Titanio y sus aleaciones Carbono, Alúmina Circona, nitruro de Ti y de Si	Materiales bioinertes
Osteogénesis por enlace	Vidrios y vitrocerámicos Bioactivos, Hidroxiapatita	Materiales bioactivos

3.2 Biomateriales

En el apartado anterior hemos podido ver una primera clasificación de los biomateriales según el análisis del proceso de osteogénesis, pero, ahora bien, dar respuesta a lo que es un “biomaterial” no es tarea fácil puesto que podemos encontrar muchas definiciones, dependiendo del ámbito en el que se aplique. Un biomaterial es un material sintético utilizado para reemplazar parte de un sistema vivo o para funcionar en contacto cercano con tejido vivo [14]. En cirugía, un biomaterial es el material que puede ser utilizado en algún implante o prótesis. En términos médicos un biomaterial se implanta con el objeto de sustituir o regenerar tejidos vivientes y sus funciones [15].

La definición de biomaterial más ampliamente aceptada es la que actualmente utiliza el Instituto Nacional Americano de Salud. Ésta describe a los biomateriales como cualquier sustancia o combinación de sustancias, aparte de medicamentos, de origen natural o sintético, que puede ser usada durante cualquier periodo de tiempo, y que aumenta o reemplaza parcial o totalmente cualquier tejido, órgano o función del cuerpo, con el fin de mantener o mejorar la calidad de vida del individuo [16].

Tabla 5: Propiedades físicas y químicas de los biomateriales [16].

Propiedades químicas del biomaterial	Propiedades físicas del biomaterial
Ser inerte	Resistencia mecánica adecuada
No ser tóxico	Resistencia a la fatiga adecuada
No ser carcinógeno	Densidad y pesos adecuados
Ser químicamente estable	Tamaño y forma igual al material a sustituir

A continuación, explicaremos los materiales con los que se han realizado estudios avanzados para encontrar un tipo de biomaterial con un módulo de Young cercano al del tejido óseo que nosotros pretendemos sustituir. Ésto es lo más importante a la hora de realizar un implante debido a que el material es lo que primero consulta el cirujano para saber si es o no biocompatible y si es posible su implantación. Entre esos materiales podríamos citar los siguientes:

- **Los materiales porosos y espumas**

También se denominan sólidos celulares [17] y se crean controlando el tipo de porosidad (cerrada o interconectada), el tamaño de poro, la morfología del mismo (contornos irregulares o suaves), la distribución de porosidad (homogénea, variable o gradiente) y la proporción de esta (alrededor de un 40% para hueso cortical y de un 70% para el trabecular).

- **Las aleaciones de titanio- β metaestable**

Presentan unas propiedades atractivas que están condicionadas a la introducción de Ti comercialmente puro y aleaciones de, por ejemplo, Ti-6Al-4V, así como la introducción más reciente de nuevas composiciones de aleaciones de Ti y titanio metaestable β [18]. Ésta última se caracteriza por tener aún mejor biocompatibilidad, módulo elástico más reducido y superior resistencia a fatiga. Sin embargo, su aplicación biomédica ha estado condicionada por su baja resistencia al desgaste y al cortante.

- **El magnesio y sus aleaciones**

Aun presentando módulos de Young bastante bajos y cercanos a los valores del hueso, estos materiales tienen una resistencia a la compresión insuficiente (65-100 MPa) para su uso en implantes [19].

- **Los materiales compuestos de matriz polimérica**

Un ejemplo pionero de este tipo de materiales fue el desarrollado por W. Bonfield en 1981: HAPEX®, compuesto por un 40% de hidroxiapatita y un 60% de HPDE (polietileno de alta densidad). El inconveniente que presentan todos ellos es que, tanto su resistencia a fatiga como su tenacidad de fractura son menores que los valores que presenta el hueso [20].

3.3. Uso de materiales bioactivos para solución de problemas osteocondrales

Dentro de la ingeniería de cartílagos, surge la necesidad de mejorar los defectos osteocondrales o lesiones en las articulaciones. Actualmente la estrategia empleada para solventar estos problemas consiste en el trasplante osteocondral, microfractura del hueso subcondral e implantación de condrocito autólogo. Las células madre mesenquimales podrían ser una opción ideal para mejorar la reparación del cartílago ya que tienen la capacidad de expansión y diferenciación condrogénica y un mínimo riesgo tumoral. También tienen propiedades antiinflamatorias e inmunosupresoras [21].

El cartílago articular es un tejido complejo formado por condrocitos, sometido a diversos cambios metabólicos productos de la edad, enfermedades o lesiones. Los condrocitos procedentes del cartílago hialino son los que se consideran en un primer plano en el ámbito de la ingeniería de tejidos, aunque tienen dos problemas fundamentales que son su inestabilidad fenotípica cuando se presentan cultivados en monocapa y la rareza del tejido donador [22].

Tabla 6: Composición del cartílago articular [22].

La composición del cartílago es:	
Célula cartilaginosa	Condrocitos (2-10%)
Matriz extracelular	(60% colágeno y 40% proteoglicanos, glucoproteínas, elastina y sales de calcio)
Agua	

En los procesos degenerativos y después de una lesión articular, proliferan algunos condrocitos, pero, sin embargo, esta respuesta es muy limitada y no hay evidencia de que emigren a través de la matriz hasta la zona lesionada. Por ello se han investigado diferentes materiales naturales y sintéticos, biodegradables y permanentes que faciliten el transporte celular [22].

En este contexto se encuentra el material bioactivo, ya presentado en el apartado anterior. Un material bioactivo permite una respuesta biológica específica en la interfase con el tejido vivo, posibilitando la formación de una unión entre el tejido y el propio material. El tejido es capaz de interactuar íntimamente con el material depositándose directamente sobre la superficie del mismo y sin la intervención de la capa de tejido fibroso. Los materiales bioactivos mejor conocidos son, los biovidrios, las vitrocerámicas bioactivas y las cerámicas basadas en fosfato de calcio como la hidroxiapatita. [23].

Un injerto o sustitutivo óseo ideal debe favorecer la osteogénesis, la creación de hueso nuevo. Para ello son fundamentales sus propiedades de osteoinducción y osteoconducción, además de favorecerse la buena osteointegración. Estos procesos se relacionan con la respuesta celular ante propiedades de superficie y microarquitectura. [24]

La osteoconductividad no es otra cosa que la adhesión en términos de proliferación. Es un proceso por el cual el biomaterial se comporta como una estructura, sobre la cual se da el crecimiento óseo. Es la capacidad para proveer soporte a la formación de hueso nuevo por unión, proliferación y diferenciación de las células óseas. En resumen, significa que el hueso nuevo crece en una superficie. Este fenómeno se ve regularmente en el caso de los implantes óseos [24].

La osteoinducción es el proceso mediante el cual se induce la osteogénesis en zonas alejadas de la interfase hueso/implante. Es un fenómeno que se ve regularmente en cualquier tipo de proceso de curación ósea. La osteoinducción implica el reclutamiento de células inmaduras y la estimulación de estas células para convertirse en preosteoblastos. En una situación de

curación ósea, como una fractura, la mayoría de la curación ósea depende de la osteoinducción [24].

Un material osteoinductivo tiene la habilidad de formar o inducir la formación de apatita en su superficie después de entrar en contacto con el hueso, es decir, presenta la capacidad para estimular la formación de hueso nuevo. La osteoinducción proporciona unas condiciones favorables para la regeneración ósea. Durante este proceso ocurre el cambio de linaje de una célula progenitora o no diferenciada a osteoblasto. Aunque la inducción ósea por biomateriales ha sido descrita por muchos grupos, su mecanismo permanece siendo objeto de controversia y no se sabe aún si es el biomaterial o la interacción del biomaterial con las proteínas corpóreas, el responsable por la inducción ósea [24].

El componente más importante de la familia de cerámicas bioactivas es la hidroxiapatita (HA), cuya fórmula química es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Es el principal componente de los huesos vivos. El hueso natural es un material compuesto de un 80% de hidroxiapatita, responsable de la dureza, y un 20% de fibras de colágeno, responsables de la flexibilidad.

La hidroxiapatita natural, obtenida a partir de corales, es similar a la del hueso esponjoso y sus propiedades mecánicas iniciales se asemejan a las del hueso. Es un compuesto biocompatible, osteoconductor y biodegradable a tasas variables dependiendo de la porosidad, el sitio de implantación y la especie. Aunque no son osteoinductivos y por lo tanto no osteogénicos. Pero por otra parte los injertos de coral actúan como soporte adecuado para determinados factores de crecimiento, permitiendo la unión, el crecimiento, la diseminación y la diferenciación de las células [25].

Otro grupo de materiales bioactivos son los denominados vidrios bioactivos. Se ha demostrado que ciertas composiciones de vidrios se enlazan químicamente con los tejidos formando hidroxiapatita. Una característica común de estos materiales es la modificación de su superficie, dependiente del tiempo transcurrido tras su implantación [24,25].

3.3.1 Hidroxiapatita.

Los fosfatos de calcio constituyen la fase mineral más importante de los tejidos duros de los vertebrados, y desde principios del siglo XX, diferentes estudios han demostrado la similitud entre el mineral óseo y los minerales de fosfatos de calcio con una estructura apatítica. Esto hace que hoy día, los fosfatos de calcio de origen natural o sintético sean una de las vías más utilizadas en cirugía ósea [26].

Según su fisicoquímica, existen tres familias de fosfatos de calcio: metafosfatos, pirofosfatos y ortofosfatos. Dentro de esta última, a su vez, se clasifican diferentes subfamilias según su relación de Ca y P (fosfato tetracálcico, hidroxiapatita, fosfatos tricálcicos, fosfato octacálcico...). De todas ellas, el material utilizado en recubrimientos de prótesis, por excelencia, es la hidroxiapatita (HA) [27].

Entre las biocerámicas, la HA es el material más similar al componente mineral de los huesos; debido a su biocompatibilidad y comportamiento bioactivo, siendo capaz de unirse al hueso directamente. Por estas razones, la HA ha sido empleada en forma de polvo o gránulos en muchos sistemas orales, maxilofaciales, aplicaciones ortopédicas [28], y para realizar recubrimientos bioactivos en implantes metálicos, proporcionando una superficie osteofílica que promueve una unión más fuerte entre hueso e implante [29]. La HA pura se empezó a utilizar clínicamente en los años ochenta para mejorar la osteointegración de los implantes. La

capacidad osteoconductor de la HA se debe a que el material puede proporcionar el entramado que facilite la penetración del nuevo hueso en el implante. Un material osteoconductor, puede llegar a ser osteointegrado si se llega a formar una unión físico-química entre el implante y el hueso vivo a partir del crecimiento óseo. Para ello se requieren áreas de íntimo contacto, obtenidas normalmente con elevadas porosidades [30]. Aunque la HA es bioactiva, su reactividad con el tejido óseo es baja [31,32]. De hecho, los implantes de HA sufren una degradabilidad mínima en ambientes fisiológicos y no son reabsorbidos o reemplazados por un hueso nuevo, si no que este crece sobre ellos [33]. Por estos motivos, el fallo de los implantes basados en HA puede ocurrir a través de la fractura de la interfaz HA-hueso o del implante en sí mismo. Una manera prometedora de lidiar con estos problemas es reforzar HA añadiendo una fase de vidrio bioactivo para obtener un compuesto. El vidrio bioactivo se caracterizan por tener un mayor índice de bioactividad en comparación a HA, y composiciones específicas, como el ampliamente utilizado 45S5 Bioglass®, son capaces de unirse a los tejidos blandos, así como a los duros [34]. Goller et.al consiguieron una mejora de las propiedades mecánicas en HA reforzada con un 5% y 10% de porcentaje en peso de 45S5 Bioglass para diferentes temperaturas de sinterizado [35]. Otros estudios muestran también estas mejoras en las propiedades mecánicas de estos compuestos con la adición de vidrio bioactivo. Greish et.al consiguieron los valores más altos de resistencia a la tracción y módulo elástico con la adición de 10% de vidrio bioactivo, observando también una notable mejora en las propiedades tras la inmersión en SBF (fluido biológico simulado) [36].

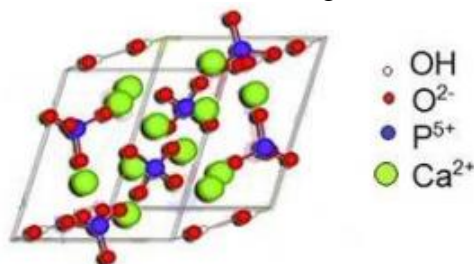


Figura 9: Red cristalina Hexagonal de la HA [36].

La estructura contiene túneles donde los iones hidroxilo (OH) están localizados. La preparación de HA pura a partir de soluciones acuosas es difícil debido a las numerosas sustituciones iónicas y la posible existencia de huecos en la red cristalina. En algunos estudios se ha observado la precipitación de HA por adición lenta de una solución de fosfato a una solución de calcio a 100°C durante una hora. Después de la filtración, el precipitado es lavado, secado y sinterizado a temperaturas entre 800-1000°C [37].

3.3.2 Vidrio Bioactivo. Bioglass.

El desarrollo de los vidrios bioactivos o biovidrios, se inició a finales de la década de los sesenta iniciándose la búsqueda de materiales que no fuesen rechazados por el cuerpo a partir de siguiente hipótesis:

“El cuerpo humano rechaza los metales y polímeros sintéticos formando tejido cicatricial porque los tejidos vivos no están compuestos de tales materiales. El hueso está compuesto por fosfato cálcico hidratado, hidroxiapatita (HA) y por lo tanto si un material puede formar una capa de HA in vivo, puede no ser rechazado por el cuerpo”.

Así, usando el diagrama de $\text{Na}_2\text{O} - \text{SiO}_2 - \text{CaO}$ (figura 10) el profesor Larry L-Hench diseñó las tres primeras composiciones de BG de las cuales una composición cercana al eutéctico del diagrama ternario, 24,5% de Na_2O 45% de SiO_2 24,5% de CaO y 6% P_2O_5 , fue seleccionada por proporcionar la mayor cantidad de CaO y P_2O_5 en una matriz de $\text{Na}_2\text{O} - \text{SiO}_2$. Esta composición conocida desde entonces como 45S5 Bioglass® demostró crear una rápida formación de HCA (Hidroxicarbonato de apatita) al sumergirla en muestras de fluidos biológicos simulados y crea una unión tan fuerte con el hueso que no se puede deshacer sin partir el hueso. [24].

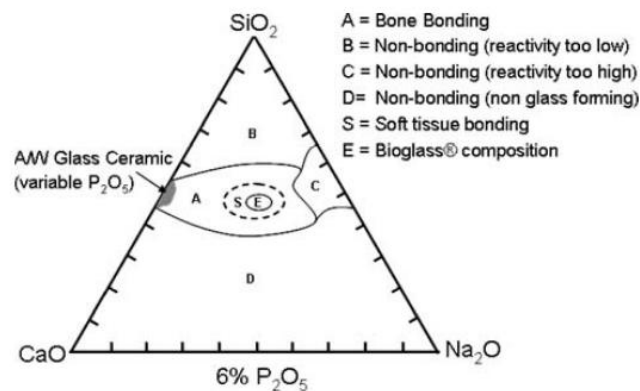


Figura 10: Diagrama Ternario de $\text{Na}_2\text{O} - \text{SiO}_2 - \text{CaO}$ y regiones de bioactividad [24].

Ese descubrimiento impulsó la actividad investigadora de numerosos grupos, la cual ha permitido la presencia en el mercado de biomateriales de otras composiciones de vidrios bioactivos y vitrocerámicas bioactivas diseñadas para aplicaciones clínicas tan específicas como implantes dentales, sustitución ósea, reparación de defectos periodontales, reconstrucción maxilofacial, aumento del reborde alveolar, cirugía espinal, tratamientos terapéuticos de tumores, recubrimientos bioactivos sobre sustratos metálicos, reparación craneal, dispositivos de acceso percutáneo, reparación de la cresta ilíaca, relleno de espacios óseos, ortopedia y otorrinolaringología [26].

En función de su composición podemos clasificar los vidrios bioactivos en vidrios de silicatos, de boratos y de fosfatos. Con composiciones basadas en la formación de vidrios en los sistemas ternarios de SiO_2 , B_2O_3 y P_2O_5 respectivamente.

a) Vidrios de Silicatos

A este grupo pertenecen las composiciones 45S5 Bioglass® (BG) que es considerada la composición más importante.

Tabla 7: Composición en % en peso de algunos vidrios de silicatos [39].

Composición	45S5	13-93	58S	70S30C	S53P4
Na₂O	24,5	6,0	0	0	23,0
K₂O	0	12,0	0	0	0
MgO	0	5,0	0	0	0
CaO	24,5	20,0	36,0	30,0	20,0
SiO₂	45	53	60,0	70,0	53,0
P₂O₅	6,0	4,0	4,0	0	4,0

--	--	--	--	--	--

b) Vidrios de fosfatos

Los vidrios cuya base es el fosfato también se han desarrollado para uso médico. Debido a que sus constituyentes están presentes en la fase orgánica mineral del hueso, poseen una afinidad química con el mismo. La solubilidad, al igual que los vidrios de silicio, puede ser controlada modificando su composición, y por lo tanto tienen una potencial aplicación como materiales reabsorbibles [40].

c) Vidrios de boratos

Este tipo de vidrios se degrada más rápidamente debido a su baja durabilidad química y, por lo tanto, son capaces de convertirse completamente en un material de tipo HA, lo que no logran los vidrios bioactivos de silicatos en la misma medida. Además, se ha demostrado que son también capaces de soportar la proliferación celular, así como procesos de diferenciación in vitro. La preocupación con el uso de este tipo de material radicaba en la posible toxicidad que pudieran presentar los iones de borato que se liberan al medio [40].

Un ejemplo destacable es la composición BRT3, con 15% de Ti_2O , que exhibe propiedades superiores al 45S5 como recubrimiento de sustratos de Ti6Al4V debido a que los valores de su CTE son más próximos a los de esta aleación [41].

Estructura y propiedades del 45S5 BG

Las propiedades físicas y mecánicas típicas del 45S5 según la literatura presentan una resistencia mecánica de 100-200 MPa, una tenacidad a la fractura comprendida entre 1.2-2.6 $MPa \cdot m^{1/2}$, dureza de 458 HV, y densidad aproximada de $2.45 \frac{g}{cm^3}$ [42].

Otras propiedades, como por ejemplo la velocidad de disolución y por lo tanto el velocidad de formación de la capa de HCA, son un resultado directo de la estructura atómica. Comprender la estructura del vidrio es importante pero no trivial. Se requieren técnicas avanzadas de caracterización para determinar su compleja estructura amorfa. [43].

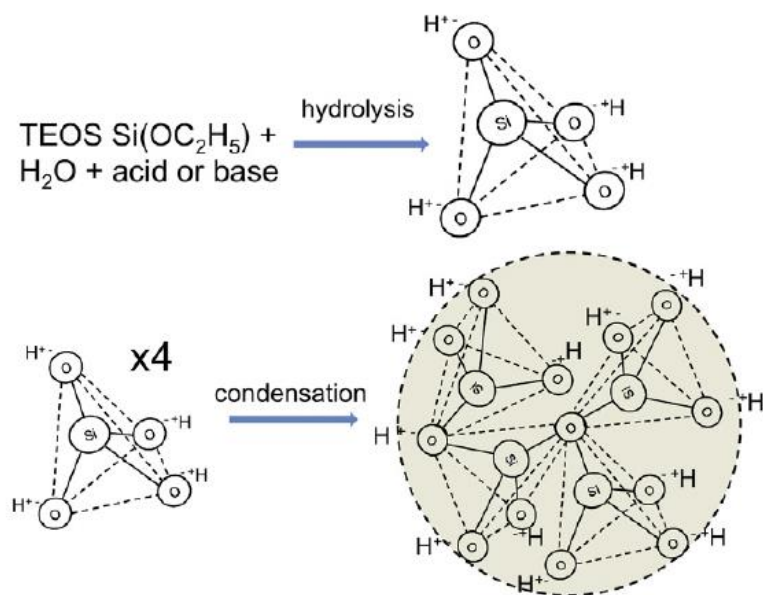


Figura 11: Formación de los tetraedros de sílice y nanopartículas en el proceso sol-gel.[43]

Como se observa en la figura 11, los vidrios de silicato son una colección de tetraedros de silicio unidos por enlaces de oxígeno. El silicio es por lo tanto el átomo formador de redes de

vidrio. Sodio y calcio son modificadores de red que interrumpen la red silicio al formar enlaces con el oxígeno [44]. Los tetraedros están unidos entre sí por los 4 vértices con un átomo de Si en la posición central, dando lugar a una red tridimensional abierta y sin orden a largo alcance. En ella, cada átomo de silicio con una configuración electrónica externa $3s^2 3p^2$, pasa a un estado híbrido tetraédrico sp^3 con un electrón en cada híbrido. En esa situación se pueden presentar dos casos [45]:

1.- Cada átomo de oxígeno con una configuración electrónica $1s^2 2s^2 2p_x^2 2p_y^1 2p_z^1$ utiliza sus dos electrones desapareados en un enlace covalente s con dos átomos de silicio vecinos, constituyendo así los llamados oxígenos enlazantes o BO (bridging oxygen).

2.- Cada átomo de oxígeno utiliza uno de los electrones desapareados en un enlace covalente con un átomo de silicio vecino y el otro electrón permanece disponible para emparejarse con un ión alcalino o alcalino térreo. Este ión, conocido como modificador de red (Na^+ , K^+ , Ca^+ , Mg^{2+} , etc) y el átomo de oxígeno en cuestión constituyen el llamado oxígeno no enlazante o NBO (non-bridging oxygen).

La comprensión de la estructura atómica es importante cuando se quieren diseñar composiciones de vidrio alternativas. La conectividad de la red de sílice está definida por la composición y el método de la síntesis de vidrio. Un alto contenido de sílice da como resultado una red altamente conectada que contiene una gran proporción de enlaces de oxígeno, un bajo grado de disolución y por lo tanto baja bioactividad. La conectividad se puede reducir agregando cationes modificadores de red [46].

Métodos de obtención de vidrios bioactivos

El vidrio se puede obtener principalmente por dos métodos de procesamiento: la fusión y la ruta sol-gel.

Fusión y procesado de polvos

Es método más antiguo de síntesis de vidrios consiste en la fusión de una mezcla de reactivos, a una temperatura superior a $1300\text{ }^\circ\text{C}$ en un crisol de platino, en las concentraciones molares adecuadas, seguida de un rápido enfriamiento, en un molde de grafito o en agua, el cual produce un aumento de la viscosidad del fluido con su consecuente solidificación sin que se produzca la cristalización. Conservando la estructura desordenada del fluido [47].

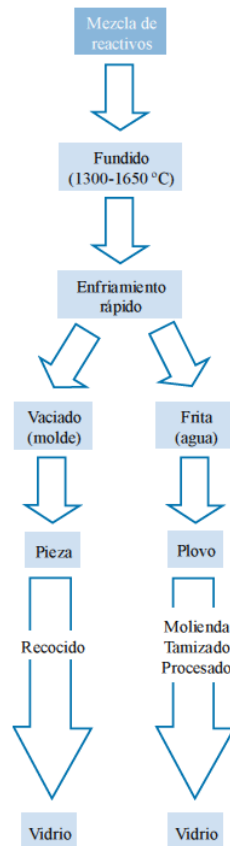


Figura 12: Síntesis de BG por fusión [47]

Método Sol-Gel

Consiste en la formación y ensamblado de nanopartículas de sílice a temperatura ambiente (Figura 11). La solución que contiene los precursores composicionales se somete a reacciones de polimerización a temperatura ambiente para formar un gel [48]. El gel consiste en una red inorgánica húmeda de sílice, que se seca y se calienta para convertirse en un vidrio. Las diferencias físicas entre los vidrios fundidos y los obtenidos mediante sol-gel son que los vidrios sol-gel tienden a tener una nanoporosidad inherente mientras que los vidrios enfriados en fusión son más densos [49]. La nanoporosidad puede dar como resultado una respuesta celular mejorada debido a la nanotopografía [50] y una superficie específica dos órdenes de magnitud mayor que las obtenidas para composiciones similares de vidrio fundido [48]. Las composiciones sol-gel generalmente tienen menos modificadores que los vidrios bioactivos fundidos. Debido a que la función principal del Na_2O en el vidrio bioactivo templado en fusión es que baje el punto de fusión, se favorece la procesabilidad. Esto también aumenta la solubilidad del vidrio, que es importante para la bioactividad. El gran área de superficie de los vidrios de sol-gel da como resultado altas tasas de disolución sin la necesidad de añadir sodio a su composición.

Se producen micropartículas, monolitos o espumas usando catálisis ácida. En este procedimiento las nanopartículas primarias que se forman en el sol se funden y se condensan (polimerizan) formando enlaces Si-O-Si. Las nanopartículas crecen, se fusionan y se unen, formando una red de gel de nanopartículas ensambladas (Figura 14) [51].

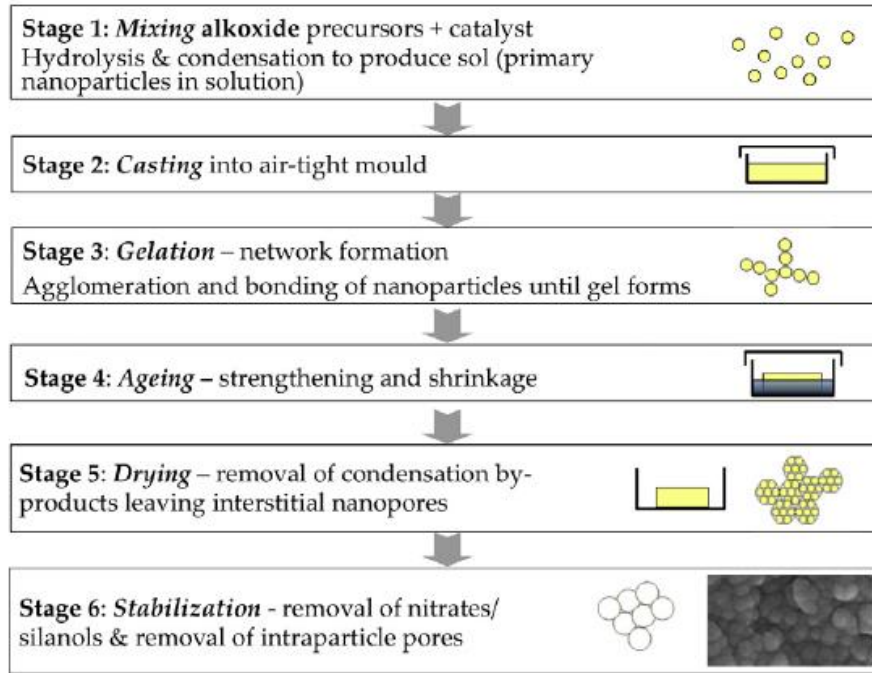


Figura 13: Síntesis de BG por método sol-gel [51].

El gel está húmedo debido al exceso de agua en los reactivos y el agua y etanol producido durante las reacciones de condensación. El proceso térmico se usa para envejecer (condensación continuada en condiciones selladas), secar y estabilizar el gel produciendo un vidrio nanoporoso. Como el agua y el alcohol se evaporan durante el secado, dejan atrás una red de poros interconectados. Los poros son los intersticios entre las nanopartículas fusionadas y su tamaño depende de los precursores utilizados, la composición del vidrio y el pH de la reacción [52].

Las desventajas de la síntesis sol-gel con respecto de la fusión es que es difícil obtener monolitos de vidrio bioactivo sin grietas con diámetros superiores a 1 cm, porque los monolitos más grandes se agrietan durante el secado. El agrietamiento se debe principalmente a dos razones: la contracción que ocurre durante el secado y la evaporación de los subproductos líquidos de la reacción de condensación. Cuando se elimina el etanol de los poros de los geles, el vapor debe viajar desde el gel hasta la superficie a través de la red de poros interconectados. Esto causa tensiones dentro de la red de poros que pueden desembocar en la formación de grietas. Por secciones transversales pequeñas, las tensiones de secado son pequeñas, ya que el camino de evaporación es corto y el material puede acomodar las tensiones. Para objetos monolíticos, el camino desde el centro del monolito a la superficie es largo e irregular por lo que las tensiones de secado pueden introducir una fractura catastrófica. Aumentar el tamaño de poro y obtener poros con una sección estrecha disminuye el riesgo de agrietamiento [52].

Aplicaciones del BG

La utilización del método de sol-gel ha permitido ampliar el rango de bioactividad incluyendo vidrios con un muy elevado contenido en SiO₂ incluso por encima del 90%. Este hecho ha promovido en los últimos años el uso de los procesos de sol-gel para obtener materiales híbridos, nano estructurados y mesoporosos, con aplicaciones en la producción de sensores, membranas, catalizadores, cápsulas portadoras de enzimas, antibióticos y antígenos, ofreciendo ventajas de alta resistencia al ataque microbiano, a los cambios de pH, a las condiciones del solvente, a la temperatura y el empaquetado bajo altas presiones. En la

actualidad, numerosos grupos de investigación vienen desarrollando su actividad ligada a la ruta de procesamiento sol-gel en busca de biomateriales innovadores para las más variadas aplicaciones clínicas. Como se vio al principio del apartado 3.2, además de los vidrios bioactivos basados en una matriz de sílice, también se estudian otros vidrios bioactivos que usan fósforo como formador de red. Estos vidrios poseen una alta capacidad de disolución continua cuando son sumergidos en fluidos biológicos o biológicos simulados. Por ese motivo, sus aplicaciones en el campo biomédico se orientan hacia la ingeniería de tejidos como materiales de relleno reabsorbible (andamios), como recubrimientos o como aditivo en materiales poliméricos para la liberación de medicamentos y regeneración de tejidos [53].

a) Fabricación de andamios

Este tipo de estructuras busca proporcionar un Soporte Estructural temporal en el área afectada y a su vez permitir la formación de nuevo tejido. Por el tipo de estructura y función que tienen los andamios el material utilizado debe tener una buena resistencia mecánica. En los últimos años, los esfuerzos se han centrado en materiales con compromiso entre su Bioactividad y Propiedades Mecánicas, para su aplicación en diferentes áreas del cuerpo [53].

b) Compuestos de vidrio bioactivo

Algunos compuestos para aplicaciones biomédicas pueden producirse usando una matriz de polímero biodegradable con partículas de vidrio bioactivo como fase de relleno. Los polímeros más utilizados son polilactida (PLA) y poliglicolida (PGA) y sus copolímeros (PLGA), que han sido probados clínicamente durante muchos años, principalmente en suturas biodegradables [53].

c) Nanopartículas y nanofibras

Las nanopartículas de sílice tienen un gran potencial para diversas aplicaciones como el seguimiento celular y la administración intracelular de moléculas [54]. Se pueden producir nanopartículas de Bioglass 45S5 de 20-80 nm por síntesis de llama, donde los polvos de sílice, carbonato de sodio, carbonato de calcio y fosfato, alimentan en un reactor de llama [55].

Las fibras de vidrio finas pueden ser muy flexibles. Sin embargo, la estrecha ventana de sinterización de Bioglass 45S5 hace que sea muy difícil producir fibras por métodos convencionales de hilado en fusión sin que el vidrio cristalice. Uno de los beneficios de la composición 13-93 es que las fibras se pueden extraer de una masa fundida, pero este método produce fibras demasiado gruesas, del orden de micras [56].

d) Recubrimientos

Los recubrimientos de vidrio bioactivo permiten la aplicación en condiciones de soporte de cargas por su alta dureza. También existen otros factores importantes como son: 1) la protección del metal contra la corrosión por el medio fisiológico, 2) la protección del tejido en contacto de los productos de corrosión y 3) la fijación de los implantes mediante una mejor distribución de tensiones en la interface implante-hueso.

3.4. Comportamiento biofuncional

Se puede entender como comportamiento biofuncional aquel en el cual un material presenta un comportamiento bioactivo, es decir, que el material inmerso en un organismo biológico

adquiere la estructura y comportamiento de un tejido propio de este organismo. Sufrir una “transformación” de material inerte a tejido.

3.4.1 Bioactividad

Los vidrios son un materiales bioactivos clase A, es decir, exhiben bioactividad superior cuando se compara con otras biocerámicas como la HA, que es un material bioactivo de clase B. Los materiales bioactivos de Clase B son aquellos que solo permiten el crecimiento óseo en la interfaz hueso-implante usando células óseas ya diferenciadas; este fenómeno es conocido como osteoconducción [17]. Los materiales clase A no solo permiten la osteoconducción, sino que también favorecen osteoinducción, que se logra estimulando a células primitivas indiferenciadas a desarrollar células formadoras de hueso. La acción combinada de osteoconducción y osteoinducción en los materiales bioactivos de la clase A resulta en una mayor proliferación ósea debido a reacciones rápidas en la superficie del implante. La fuerte respuesta bioactiva de BG es una consecuencia de dos mecanismos:

El primer mecanismo consiste en conseguir unión ósea mediante la formación de una capa de HA sobre el vidrio, motivo por el cual se ha hecho una introducción general de la HA, sus mecanismos y propiedades (apartado 2.3.1). Esta capa interactúa con fibrillas de colágeno del hueso dañado para formar un enlace. La formación de la capa HA es bien conocida, pero no lo son tanto las interacciones biológicas en la interfaz HA-hueso. Aunque hay pocas evidencias se cree que la unión de los huesos a la capa de HA implica adsorción de proteínas, incorporación de fibrillas de colágeno, la fijación de las células progenitoras, la diferenciación celular y la excreción de matriz extracelular ósea, seguida de su mineralización [57].

El segundo mecanismo está relacionado con la acción de los productos de disolución del vidrio en las células osteoprogenitoras, estimulando la osteogénesis, el crecimiento de hueso nuevo [58].

Por ello, son necesarias investigaciones y estudios en más profundidad para obtener conocimiento, confirmar las condiciones y los mecanismos que conducen a la degradación del vidrio y a los productos de disolución de iones que afectan la expresión génica en las células óseas.

En resumen, la bioactividad y la capacidad de un vidrio bioactivo para estimular la regeneración ósea a nivel celular depende de la velocidad de disolución y de formación de la capa de HA, que puede controlarse por la composición y estructura atómica del vidrio.

Existen principalmente dos vías para estudiar la bioactividad de los materiales.

La más antigua consiste en realizar ensayos con animales, implantando los materiales en zonas del cuerpo donde puedan desarrollar uniones con el hueso. Esta práctica, moralmente controvertida, tiene en la actualidad muchos detractores, entre los que se encuentra el alumno que realiza este trabajo. Sin profundizar demasiado solo diré que me parece una práctica inmoral, ejemplo de cómo nosotros, los humanos, nos aprovechamos de nuestra superioridad tecnológica para estar por encima de otras especies animales y usarlas según nuestros propios intereses, olvidando que también son seres sintientes. Aun así hay estudios que ya están hechos y sería absurdo no aprovecharse del conocimiento adquirido, aunque provenga de fuentes cuya filosofía no comparto ello no me impide hacer al menos una pequeña recopilación de algunos datos.

La otra vía son los ensayos in vitro, que consisten en hacer pruebas simulando las condiciones del cuerpo humano en condiciones artificiales. Sin duda esta es la gran solución al problema de la experimentación con animales. Desarrollando esta tecnología al máximo no serían necesarias estas pruebas, además de la ventaja de que un ensayo que modelase e imitase al cien por cien las condiciones del cuerpo humano sería muy superior, mucho más fiable, que un ensayo con animales [59].

Ensayos In Vitro

La elección de la solución SBF para probar la capacidad de unión de los huesos de los materiales es arbitraria. Además, el protocolo propuesto por Kokubo y Takadama para preparar soluciones de SBF deja margen para la mejora, ya que el procedimiento es largo y complicado, las soluciones no están filtradas, y el contenido de carbonato tampoco está controlado. A pesar de estas críticas, el uso de un protocolo in vitro para probar el potencial de enlace óseo de un material sigue siendo un concepto muy atractivo y debe tenerse en cuenta. Esta es una opinión compartida por numerosos científicos como lo demuestra el gran número de documentos que describen el uso de SBF. [60]

Ensayos In Vivo

Estos estudios consisten en la implantación del material en un organismo vivo y la comprobación de si se forma unión con el hueso.

La primera confirmación de unión ósea con BG se logró en 1976 por el profesor Peter Griss en Heidelberg. Implantes de BG cubiertos de alúmina fueron probados en ovejas. En 1977 una vitrocerámica bioactiva basada en BG, fórmulada con pequeñas adiciones de K_2O y MgO , marca registrada Ceravital, fue implantada en animales por el profesor Ulrich Gross. Descubrieron que la vitrocerámica se unía al hueso con una interfaz mecánicamente fuerte. La modificación más importante de los vidrios bioactivos fue el desarrollo de la vitrocerámica A / W (apatita / wollastonita) por los profesores T. Yamamuro y T. Kokubo. La fuerza mecánica, dureza y estabilidad de AW Glass-Ceramics (AW-GC) en entornos fisiológicos es excelente. Numerosas pruebas con animales condujeron a la aprobación para usar el material AW-GC en aplicaciones ortopedicas con particular éxito en el reemplazo vertebral y reparación espinal [60].

Para la HA la medición de las propiedades mecánicas del implante in vivo se estudiaron por Trecant, quien en 1994 diseñó un estudio que mostró cómo aunque los implantes de fosfato de calcio tienen bajas propiedades mecánicas al momento de colocarse en el organismo, posteriormente mejoran sus propiedades debido al crecimiento de tejido óseo y gracias a la formación de colágeno y apatita biológica [60]. En 1996 Zongjian y Cols realizaron implantes en distintos animales y demostraron que la hidroxiapatita y el fosfato de calcio pueden generar procesos de ontogénesis aun cuando el implante no se coloque en tejido óseo, sino de manera intramuscular o subcutánea. La velocidad y forma de la generación de tejido varía según sea el tipo de animal. En perros se mostró el crecimiento de tejido vascular conectivo a los 15 días, alojamiento de células mesenquimales a los 30, generación de matriz ósea a los 45 días y remodelado del tejido óseo a los 60 días [60].

3.5.1 Microdureza

La dureza es la capacidad que tiene un material de oponerse a ser penetrado por una punta (cono, bola, pirámide, etc.). El ensayo convencional de dureza Vickers, se fundamenta en la aplicación de una carga controlada sobre un material, a través de un cuerpo rígido conocido

como penetrador o indentador, el cual tiene una geometría determinada para cada ensayo y por lo tanto una “huella” característica. Matemáticamente la dureza se evalúa según la ecuación:

$$H = \alpha \frac{P}{d^2}$$

Donde se relaciona la carga aplicada, P, con el área de contacto o el área proyectada dejada por la huella. Siendo d la diagonal de la huella dejada por la indentación y un factor de geometría del indentador relacionado con la superficie real de contacto. Destacan los ensayos de dureza Brinell (esfera), Rockwell (cono), Meyer, Berkovick (tres caras), Vickers (pirámide de 4 caras) y Knoop siendo los tres últimos los más utilizados en ensayos para determinar la dureza de materiales cerámicos [40]. Las geometrías más utilizadas para el indentador son: esférica, cónica y piramidal de base cuadrada, triangular o rectangular.

En función de la carga aplicada o la profundidad de penetración se pueden diferenciar tres tipos de escalas:

Macro-indentación: $P > 10\text{N}$

Micro-indentación: $10\text{N} > P > 10\text{mN}$

Nano-indentación: $P < 10\text{mN}$

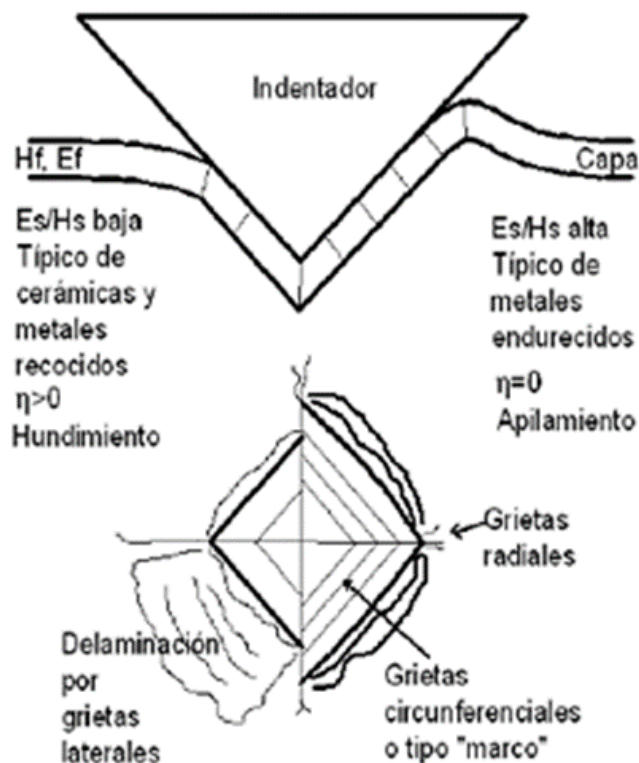


Figura 14: Flujo bidimensional para materiales rígido plásticos.

Las medidas de la huella (micro-dureza) a escalas micro y/o nano-métrica en materiales relativamente duros (huellas muy pequeñas y/o presencia de desconche) es inviable experimentalmente. En este escenario, se ha desarrollado en las últimas décadas, la técnica conocida como indentación instrumentada, EIT. Esta técnica permite evaluar en tiempo real el proceso durante la carga y descarga. El análisis de la curva asociada (curva P-h) permite

obtener la dureza (micro y/o nano) del material, el módulo de Young (pendiente durante la descarga) y la recuperación elástica. Además, se puede usar para evaluar la presencia de fenómenos de pseudo-creep y relajación de tensiones, usando tiempos de mantenimiento elevados tras alcanzar la carga máxima del ensayo realizado en control de carga y deformación, respectivamente.

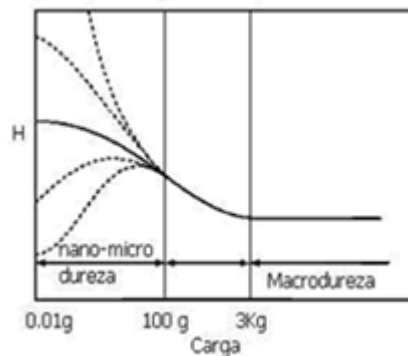


Figura 15: Variación de la dureza al disminuir la carga de indentación en materiales cerámicos [61].

En la figura 17 se presenta las curvas típicas P-h y los fenómenos que se producen a nivel superficial en una muestra al ser penetrada con un indentador asimétrico de perfil arbitrario. Al aplicarse la carga, ocurren procesos de deformación elástica y plástica, produciendo una huella conforme a la forma del indentador a una profundidad de penetración h. Esta profundidad h es el resultado de la suma de la profundidad de contacto h_c y del desplazamiento de la superficie a través del perímetro de contacto, h_s .

Tras la descarga, parte de la deformación se recupera elásticamente y cuando se separa totalmente el indentador de la superficie queda una profundidad residual, h_f . El valor de esta h_f depende de la naturaleza del material. Como regla general, los metales presentan un comportamiento preferentemente plástico con lo cual el valor de h_f es bastante grande. Sin embargo, otro tipo de materiales como los cerámicos presentan grandes recuperaciones elásticas que hacen que el valor de h_f sea pequeño [61-62]. En la figura 18 se muestra un esquema de una curva P-h típica. En la misma, la rigidez S, viene dada por la pendiente de la primera parte de la curva de descarga ($S = dP/dh$), la carga máxima aplicada en la indentación (P_{max}), el desplazamiento máximo (h_{max}) y el desplazamiento residual que queda tras la descarga del indentador (h_f). A partir de los datos contenidos en la curva carga-desplazamiento, es posible obtener otros valores relativos a las propiedades mecánicas del material tales como la dureza (H), el módulo de elasticidad (E), los trabajos elástico, plástico y total de indentación (W_e , W_p y W_T) y el porcentaje de recuperación elástica (%R).

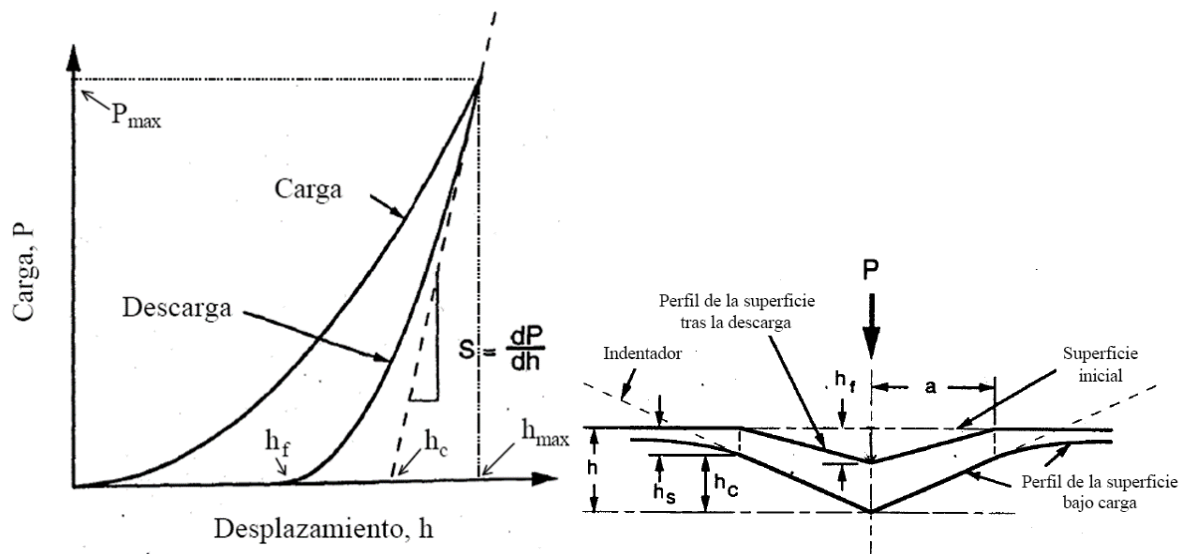


Figura 16: -a) Curva característica P-h en un ensayo típico de indentación instrumentada [62], y b) Sección de una indentación en la que se indican las magnitudes empleadas en el análisis de las propiedades mecánicas del material.

La respuesta del material durante la carga incluye generalmente la deformación elasto-plástica del material y sigue la relación descrita por la ley de Kick.

$$P = kh^2$$

Donde P es la carga de indentación, h es la profundidad de penetración medida desde la superficie y k es una constante que depende de la geometría del material. Sin embargo, se pueden obtener otros tipos de comportamientos (Figura 18): perfectamente elástico, completamente plástico y el ya comentado elasto-plástico.

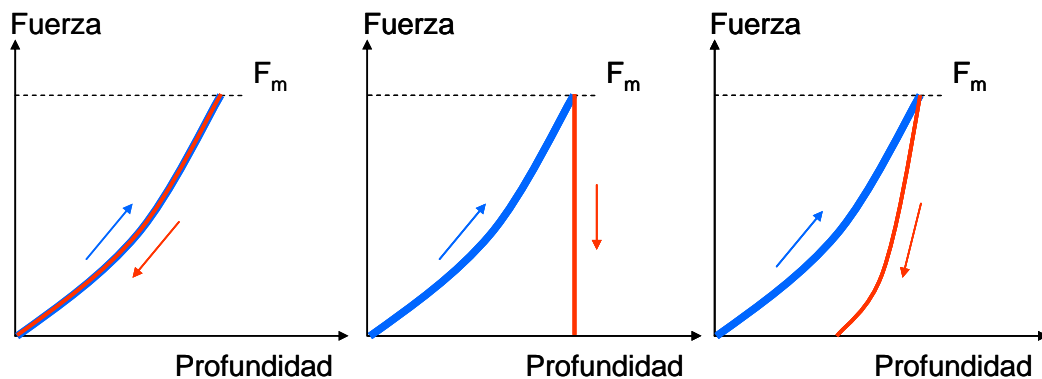


Figura 17: Ejemplos de curvas de carga-desplazamiento.

La relación fundamental entre la dureza y el módulo elástico viene determinada por la combinación de las ecuaciones siguientes

$$H = \frac{P}{A_c}$$

Donde P es la carga y A_c es el área proyectada de contacto a esa carga, y

$$E_r = \frac{\sqrt{\pi}}{2\beta} \frac{S}{\sqrt{A_c}}$$

Donde E_r es el módulo elástico reducido, β es una constante que depende de la geometría del indentador, S es la rigidez del contacto elástico y A_c el área proyectada de contacto bajo la carga. Esta expresión está basada en la solución de Sneddon (1965) para una deformación elástica de un material isotrópico elástico con un punzón cilíndrico de punta plana y debe ser modificada con el factor β mencionado anteriormente, cuando se aplica para analizar los datos de indentación con diferentes formas [63].

4. Materiales y metodología experimental aplicada

4.1 Materiales

4.1.1 Biovidrios

La tabla 8 resume la composición en peso de los dos biovidrios con los que se ha trabajado.



Figura 18: Polvos de vidrio: 1) 45S4 y 2) 13-93.

Tabla 8: Composición en % en peso de los polvos de vidrio.

Composición	45S5	13-93
Na₂O	24,5	6,0
K₂O	0	12,0
MgO	0	5,0
CaO	24,5	20,0
SiO₂	45	53
P₂O₅	6,0	4,0

La composición 45S5 tiene el nombre comercial: SCHOTT Vitryxx® Bioactive Glass, con un tamaño de grano que queda especificado por: d50: $4.0 \pm 1.0 \mu\text{m}$; d95: = $20 \mu\text{m}$, con una solubilidad del 10 %.

Los polvos, fabricados son fundidos a más de 1200°C , por lo que no quedan impurezas orgánicas en el material. Además, se llevan a cabo estrictas revisiones para minimizar el contenido de impurezas inorgánicas. La suma de todas las impurezas de metales pesados (plomo, mercurio, bismuto, arsénico, antimonio, estaño, cadmio, plata y cobre) no supera 50 ppm.

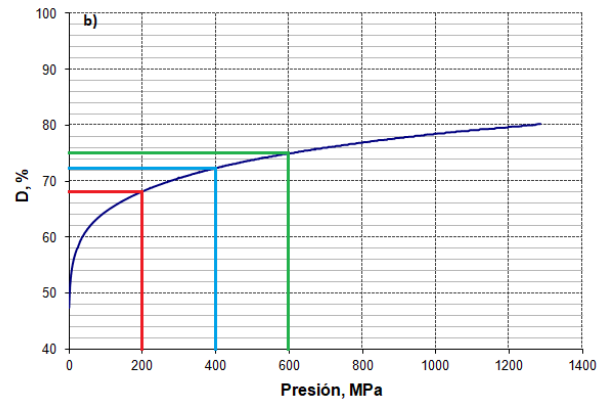
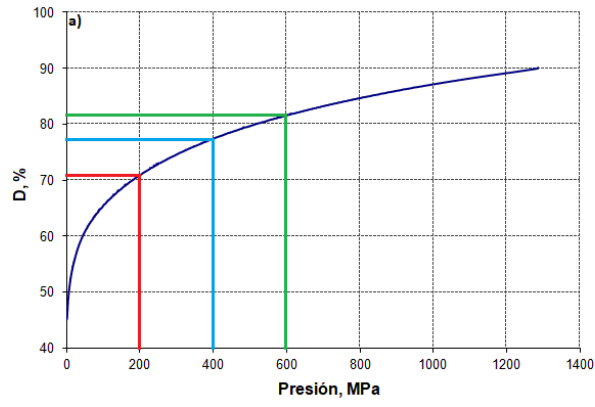


Figura 19: Curvas de compresibilidad: a) 45S5. b) 13-93.

4.2 Fabricación de los biovidrios

La secuencia convencional de la fabricación de las probetas desde polvos de vidrios consiste en tres pasos: 1) Mezclado de los polvos, 2) compactación, en la cual se prensan los polvos para obtener la forma deseada; y 3) sinterizado, que implica calentamiento a una temperatura por debajo de la temperatura de cristalización para provocar la unión de las partículas en estado sólido (amorfo) y el fortalecimiento de la parte. Estos tres pasos se denominan operaciones primarias del procesado de polvos.

4.2.1 Mezclado de polvos

Para lograr buenos resultados en la compactación y en el sinterizado, los polvos deben homogeneizarse perfectamente antes del proceso. Para ello, se deben mezclar para conseguir una distribución uniforme de partículas de diferentes tamaños y desapelmazar las posibles aglomeraciones.

Para agitar los polvos, se posiciona éstos con cuidado en la túbula WAB Machinery, Túbula T2C. Se acciona la máquina girando la rueda de la izquierda y se deja mezclar durante 20 minutos.



Figura 20: mezcladora WAB Machinery, Túbula T2C.

4.2.2 Compactación

Antes de la compactación es necesario, medir el peso de los compactos. Para ello se coloca en la balanza de precisión un vial limpio donde se pesará el polvo. Se tara la balanza. Se toma el polvo necesario, y se pesa el polvo hasta alcanzar 0,13 g. Así con todos los compactos.



Figura 21: Balanza de precisión OHAUS Explorer Pro.

La compactación consiste en aplicar presión a los polvos para darles forma. El método convencional de compactación es el prensado, en el cual punzones opuestos aprietan el polvo contenido en una matriz o en un molde. Los objetivos de la compactación son obtener la forma, densidad y contacto entre partículas necesarios para que la probeta tenga la resistencia y consistencia suficiente para que se pueda seguir procesando.

Durante esta etapa de la fabricación y tras un largo proceso de ensayo y error, siguiendo el protocolo que se describe más abajo, se probaron matrices de diferentes diámetros, hasta que se consiguió llegar a unos parámetros (4 mm de diámetro) que permitieron realizar una cantidad de probetas suficiente para continuar con la experimentación. Por consiguiente, ha sido necesario utilizar matrices de diámetro 4 mm, además de sus respectivas sufrideras y punzones.



Figura 22: Matrices compactación.

La probabilidad de que el polvo empleado quede incrustado en las paredes de la matriz tras la extracción de los compactos es muy alta debido a su pequeño tamaño. Para evitar obstrucciones durante la manipulación de las muestras, la matriz ha de estar impoluta antes de lubricarla. El primer mecanismo de limpieza es introducir la escobilla para eliminar el polvo residual. Posteriormente, se pasa a través del orificio papel impregnado en acetona, realizando movimientos circulares y de vaivén dos veces seguidas. De este modo se evita que restos de polvo y cera queden dentro del hueco. De igual modo, si las sufrideras y el punzón poseen restos de material debido a compactaciones anteriores, es más que probable que desemboquen en problemas durante la extracción. El procedimiento seguido para su esterilización consiste en colocarlos sobre papel encima de la mesa, rociarlos con suficiente acetona y frotarlos con papel hasta desincrustar cualquier resto de polvo que quede sobre sus superficies.

Una vez se haya completado la limpieza exhaustiva de todos los utensilios, se puede comenzar con la lubricación, usando una mezcla de 2gr cera por cada 10ml de acetona. La lubricación de la matriz es fundamental en la etapa de compactación. Para asegurar una buena lubricación, se taponan el orificio de la matriz por un lado y se vierte el lubricante hasta que el hueco quede totalmente lleno. Se destaponan el hueco y se sopla a través del mismo para que se evapore la acetona, quedando la cera adherida a las paredes de la matriz. El procedimiento ha de realizarse una segunda vez, pero por la cara opuesta.

Por la cara inferior, se introduce la sufridera grande (cilindro mediano) para que desempeñe la labor de tapón. Se recomienda posicionarla dejando la cara en mejor estado hacia el interior del hueco,

para obtener substratos más uniformes y sin rebabas, y colocar una cinta de sujeción, para evitar caídas del montaje al manejarlo. Por la cara superior, se introduce la mezcla de polvos con ayuda de un pincel de laboratorio, de modo que no queden partículas en el plato. Con un martillo de goma, se golpea la superficie externa de la matriz, consiguiendo de este modo que los polvos depositados se asienten homogéneamente. De cara a conseguir probetas planas, sin inclinaciones, es ideal que los polvos se distribuyan uniformemente sobre el área de la sufridera. Después del golpeo ligero, se introduce con cuidado la sufridera pequeña por la cara superior de la matriz y tras ella, el punzón empujándola. Al igual que con la sufridera grande, la sufridera pequeña habrá de ser colocada dejando hacia el interior la cara en mejor estado.

En el momento en el que se hayan introducido todas las piezas, se coloca la matriz sobre la superficie de la prensa INSTRON 5505 y se procede a la compactación.



Figura 23: Máquina de ensayos Instron.

Una vez se extraen los substratos en verde, se guardan con cuidado en un vial acolchado con papel y se introducen en un desecador para evitar que se alteren hasta que se elimine el espaciador.

Para finalizar esta parte, se vuelve a limpiar de nuevo todo lo que se ha utilizado de forma exhaustiva.

4.2.3 Sinterización

La sinterización consiste en el calentamiento de las partículas por encima de su temperatura de transición vítrea, T_g , fusionando las partículas de polvo compacto en sus puntos de contacto. Para mantener la estructura y propiedades amorfas de vidrio, la temperatura no debe elevarse por encima de la temperatura de inicio de la cristalización, T_c . La diferencia de temperatura entre T_c y T_g , se denomina "ventana de sinterización".

Para analizar la vitrificación y sinterabilidad del vidrio, se sinterizan las probetas en dos hornos distintos. A saber; Horno VITA y horno de Molibdeno.

Para el horno de Molibdeno se espera a que la presión este por debajo de 5×10^{-4} mbar.



Figura 24: 1) Horno Thermolab y equipo de vacío, 2) Horno Vita.

La rampa de temperatura empleada para la sinterización del 45S5 se puede ver a continuación. Consiste en un calentamiento lento, a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta los 600°C , otro calentamiento más rápido, $40^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta 820°C y finalmente se mantiene a esa temperatura durante 5 segundos. Este calentamiento ha sido realizado en condiciones de alto vacío 10-5.

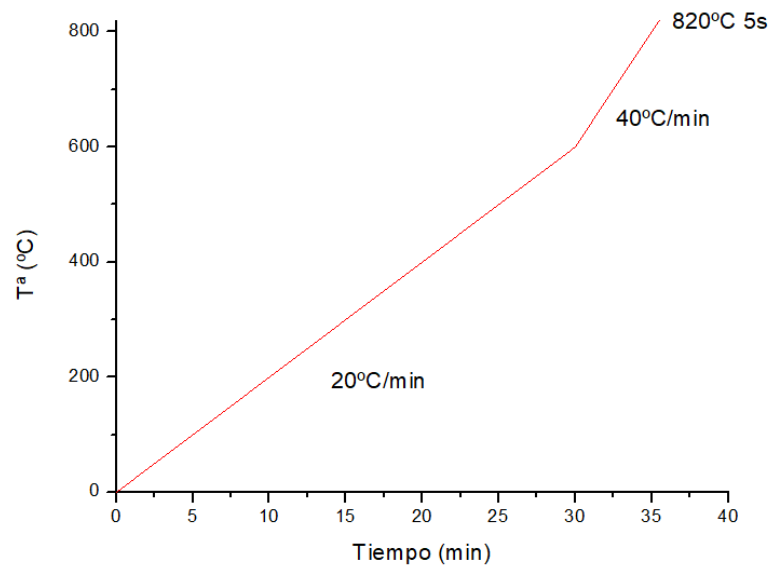


Figura 25: Rampa sinterización 45S5.

Mientras que la rampa para el biovidrio 13-93 es la siguiente.

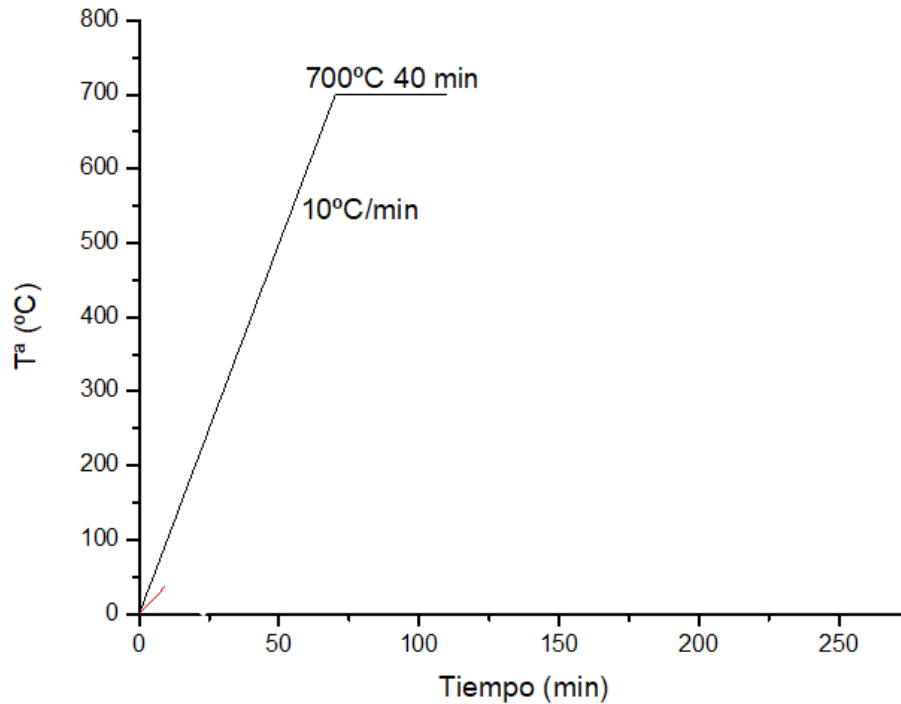


Figura 26: Rampa sinterización 1393.

4.3 Caracterización de los biovidrios

4.3.1 Caracterización micro-estructural

4.3.1.1 Método Geométrico

La caracterización de las muestras es muy útil, tanto para conocer los lotes de probetas fabricados a la perfección como para tener capacidad de identificar ciertas características y/o errores gracias al seguimiento de trazabilidad de los mismos.

Las propiedades físicas analizadas son las pérdidas de volumen (contracciones) y la variación de densidad.

Las contracciones volumétricas se obtendrán a través de la caracterización geométrica de los substratos. La medida de las dimensiones de los compactos se toman mediante un calibre digital, marca MITUTOYO, con apreciación de 0.01 mm.



Figura 27: Calibre digital MITUTOYO.

Se divide mediante líneas imaginarias la muestra en ocho sectores para medir cuatro diámetros en la cara de referencia (superior) y dos diámetros tanto en la parte central como en la inferior. La altura

de los substratos se obtiene en el borde de cada división de los cilindros. Posteriormente, se pesan en una balanza de precisión.

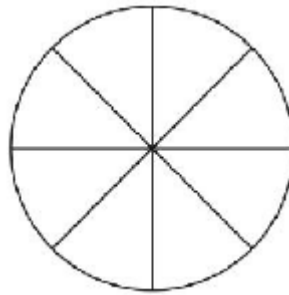


Figura 28: Líneas imaginarias ocho sectores.

A efectos de cálculo, se utiliza el valor promedio de cada dimensión con aproximaciones hasta las décimas. Este procedimiento se realiza antes y después de la etapa de sinterizado, de forma que se comparen los siguientes parámetros para cada tamaño de poro: diámetro a diferente altura (para comprobar si se produce en este tipo de probetas contracción en forma de reloj de arena), diámetro medio, altura media y volumen. Se calculará el volumen de cada muestra después de eliminar el espaciador (V_e) y tras la sinterización (V_s) (ecuación (III)). Para el cálculo de contracciones (C_x) se resta el parámetro antes de sinterizar y después de sinterizar y se normaliza dividiendo entre el valor antes de sinterizar (ecuación (IV)).

$$V_x = \frac{\pi d^2}{4} \cdot h$$

$$C_x(\%) = \frac{X_e - X_s}{X_e}$$

La densidad de la muestra tras eliminar el espaciador y tras la sinterización se halla con estos volúmenes. Únicamente necesitamos pesar la masa de las mismas tras ambos procesos (D), de modo que la densidad (ρ) se hallaría mediante la ecuación (V).

$$\rho = \frac{D}{V}$$

La densidad también puede calcularse a través del método de Arquímedes con impregnación mediante agua destilada, al ser el más sencillo y fiable desde el punto de vista experimental. El método de Arquímedes viene descrito en la norma ASTM C373-88. No se utiliza antes de sinterizar para evitar que la muestra se dañe.

4.3.1.2 Difracción por rayos X (DRX)

El estudio de las muestras por Difracción por Rayos X completa la información sobre la composición química de la superficie. Permite identificar y verificar las fases en las que se encuentran los compuestos de la superficie del material.

El análisis se ha realizado utilizando un difractor de RX perteneciente al Instituto de Ciencia y Tecnología de Sevilla, marca PANanalytical X'Pert Pro, equipado con un goniómetro θ/θ , con radiación Cu K α (40kV, 40 mA de alimentación de tubo), un filtro secundario K β y un detector X'Celerator. El perfil de difracción se ha analizado con un escaneo entre 20° y con un paso 0,02, y con un tiempo de cálculo de 300 s/paso.

El proceso consiste en hacer incidir una radiación monocromática sobre la superficie de la muestra, que procede de filtrar los rayos R que se han generado en el interior de un tubo catódico. La interacción de los rayos incidentes con la muestra produce una interacción constructiva y una difracción del rayo si se cumple una determinada relación entre la longitud de onda de la radiación electromagnética y el ángulo de difracción.

Esta relación está determinada por la Ley de Bragg's:

$$n * \lambda = 2 * d * \sin\theta$$

De este modo, cada fase de cada compuesto tiene asociados unos picos de intensidad para unos determinados valores del ángulo de difracción. La intensidad de cada uno de los picos es una medida indirecta de la proporción en que se encuentra cada una de esas fases en la superficie incidida por el rayo (al aumentar la intensidad del pico aumenta la cantidad).

4.3.1.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La composición química de las superficies de cada una de las muestras ha sido determinada en diversos análisis con microscopía electrónica de barrido, en SEM, a fin de determinar las variaciones de los distintos tipos de horno así como las distintas presiones de compactación, para constatar la presencia o ausencia de fases que mejoren la biocompatibilidad y bioactividad de la superficie.

El microscopio electrónico de barrido es uno de los mejores métodos adaptados al estudio de la morfología de las superficies. A diferencia de un microscopio óptico, que utiliza fotones del espectro visible, la imagen obtenida por el SEM se genera por la interacción de un haz de electrones con una capa superficial y fina de la muestra mediante un proceso de rastreo. Se sustituye un haz de luz por un haz de electrones. Con esto se consiguen aumentos que no son posibles mediante microscopía óptica, ya que la luz presenta un espectro de longitudes de onda muy limitado y que resulta demasiado grande para conseguir mayor resolución.

Las imágenes se han tomado mediante la radiación de electrones secundarios y de electrones retrodispersados:

- Los electrones secundarios son electrones de baja energía, del orden de decenas de eV. El haz de luz incide sobre la muestra y libera los electrones de su superficie.
- Los electrones retrodispersados son, por otra parte, los electrones del haz incidente que han interactuado con los átomos de la muestra y que han sido reflejados.

La señal emitida por los electrones es recogida con un detector y amplificada para cada posición de la sonda. La intensidad de la señal depende en todo momento de la topografía de la muestra, es decir, del ángulo que forma la luz incidente con la superficie del material. La sonda va barriendo la muestra y en función de la intensidad de la señal así va variando la intensidad de la señal en un tubo de rayos catódicos. De este modo, se va formando una imagen muy ampliada de la muestra.

Una de las restricciones de la microscopía electrónica es la necesidad de que la pieza sea conductora, para evitar que se cargue al irradiarla.



Figura 29: Microscopio electrónico de barrido.

4.3.1.4 Energía Dispersiva de Rayos X (EDX)

Los equipos de SEM permiten realizar un microanálisis químico haciendo uso de la técnica de EDX (Energía dispersiva de rayos-X. Con ello, se obtienen los elementos químicos presentes en la superficie incidida (análisis cualitativo) y la proporción entre dichos elementos (análisis cuantitativo).

El estudio se ha realizado en el Instituto de Ciencia de los Materiales, en la Cartuja, Sevilla, con el equipo Bruker AXS Microanalysis GmbH. Los valores obtenidos son los porcentajes en peso de cada uno de los componentes sobre la superficie de las muestras.

El principio de funcionamiento se basa en determinar el espectro que se emite tras bombardear la superficie de la muestra con el haz de electrones. Tras ser incididos por el haz, los átomos de la muestra emiten una mayor o menor energía en función de la composición de la superficie (debido a la configuración electrónica de cada uno de los elementos). Esto permite identificar el porcentaje atómico y en peso de cada uno de ellos. También recibe el nombre de EDS (Energy Dispersive Spectroscopy).

Los resultados obtenidos para cada muestra se han representado gráficamente, indicando los keV a los que son característicos los picos para cada elemento.

4.3.2 Caracterización Micro-Mecánica

La caracterización del comportamiento mecánico de cada una de las superficies de las probetas se han llevado a cabo realizando diferentes análisis: se ha determinado la dureza superficial a la

superficie mediante sucesivas microindentaciones para así también identificar a qué valor de carga realizar las curvas PH.

4.3.2.1 Microindentaciones

La dureza de las probetas se ha determinado mediante ensayos de microindentaciones con el indentador Shimadzu Micro-Vickers (modelo HMV-G). El equipo pertenece al Departamento de Ingeniería y Ciencia de los Materiales y del Transporte, de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería, en Sevilla.



Figura 30: Equipo de microindentación Shimadzu Micro-Vickers (modelo HMV-G).

Para cada una de las cargas se ha sometido cada muestra a 5 microindentaciones, para poder realizar una estimación más aproximada del valor de la dureza y de su dispersión.

4.3.2.2 Curvas PH

La dureza es definida como la resistencia de un material a la penetración, y no es una propiedad inherente de un material específico, como otras constantes como módulo de Young, coeficiente de Poisson, etc. La dureza del material puede estar afectada por la microestructura (tamaño de grano, límite de grano, inclusiones, etc.), orientación de la carga (efectos de anisotropía de la microestructura), condiciones del ensayo (temperatura, humedad, etc).

El equipo de en cuestión consta de un indentador, que suele ser una punta de pirámide, un microscopio óptico con cámara de video y una mesa de precisión que desplaza las muestras entre el microscopio y el indentador.

En los ensayos de indentación instrumentada, el área de contacto es inferida a partir de los datos de carga y desplazamiento y de la geometría del indentador empleado. La curva carga contra desplazamiento (P-h) obtenida, permite calcular la dureza, el módulo de Young, entre otras propiedades.

La dureza, H, se define como la presión media que el material soporta durante la carga.

$$H = \frac{P_{max}}{A(h_c)}$$

donde P es la carga y $A(h_c)$ es el área de la sección transversal del indentador a una distancia h_c desde la punta. Esta definición de dureza es distinta de la convencional, donde el área de contacto es la medida del tamaño de la huella.

Al aplicar la carga, el material adquiere la forma del indentador, siendo el desplazamiento total h_{max} , la suma de la profundidad de contacto h_c (distancia vertical a lo largo del cual el contacto es hecho) y el desplazamiento de la superficie en el perímetro de contacto h_s , debido a la deformación elástica de la superficie plana: $h_c = h_{max} - h_s$. Tras la descarga, el desplazamiento elástico se recupera, y retirado el indentador, la profundidad final de la dureza residual es h_f . Para determinar h_c de los datos experimentales, es necesario conocer h_s , que depende de la geometría del indentador.

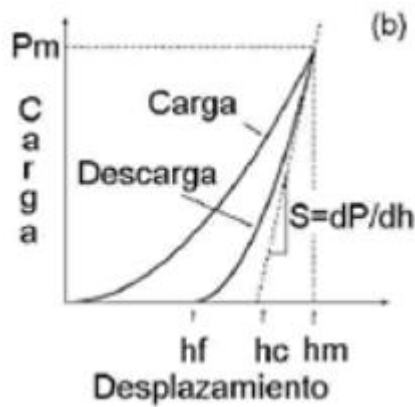


Figura 31: Curva PH típica.

5.1 Resultados de los biovidrios

En la figura 33, se muestran las curvas correspondientes a las distribuciones de tamaños de los polvos estudiados, cuyos parámetros característicos quedan recogidos en la tabla 9. Se observa que la distribución correspondiente al polvo de vidrio 45S5 es más homogénea (campana de distribución más estrecha), observándose para el vidrio 13-93 dos claras poblaciones de tamaños de partículas de polvos. En este caso, se observa una población de polvos con tamaños medios de $3.3 \mu\text{m}$ aproximadamente y otra población de partículas mayores, cuyo diámetro ronda las $15.1 \mu\text{m}$. Además, el tamaño medio de polvo del 45S5 es un 44.1 % menor que para el vidrio 13-93. Por otro lado, la densidad de golpeo para el vidrio 13-93 resulta ser mayor, 1.31 g/cm^3 (aproximadamente el 50% de su densidad teórica); mientras que para el vidrio 45S5 es 1.10 g/cm^3 (45% de la teórica). Una tendencia similar experimenta la capacidad de compactación del polvo del vidrio 13-93 (ver figura 13), a pesar de tener un diámetro medio en volumen D [4,3] mayor. Este hecho se puede atribuir a que las partículas del polvo 13-93, son más irregulares y presentan además un rango de tamaños más amplio, optimizándose de esta forma los espacios intersticiales entre éstas durante el proceso de golpeo y la compactación uniaxial de los polvos.

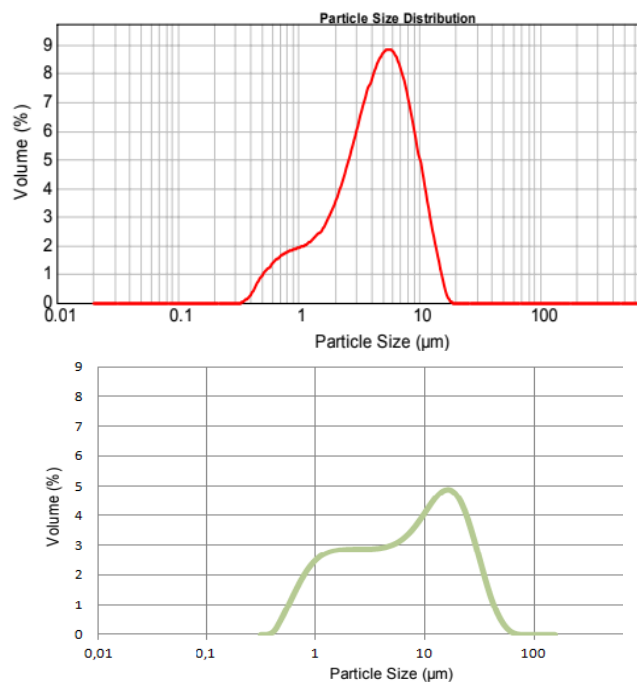


Figura 32: Distribución de los polvos: **a)** 45S5 y **b)** 13-93.

Tabla 9: Diámetro de partícula para ambos vidrios.

	D(0,1) μm	D(0,5) μm	D(0,9) μm	D[4,3] μm
45S5	1.17	4.48	9.64	5.04
13-93	1.02	6.13	21.27	9.02

La figura 33 muestra las imágenes obtenidas mediante microscopía SEM de los polvos de vidrios bioactivos. Éstas corroboran, que los tamaños son más uniformes para el 45S5. Por otro lado, ambos tipos de polvos presentan una morfología irregular, siendo este hecho mucho más relevante para el polvo 13-93, observándose además aglomeraciones de partículas pequeñas (ver imágenes a 10000X). En este contexto, la mayor morfología irregular y la presencia de “aglomerados de polvos” (se pueden separar y reacomodarse durante el prensado), pueden relacionarse con el mayor grado de compresibilidad del 13-93.

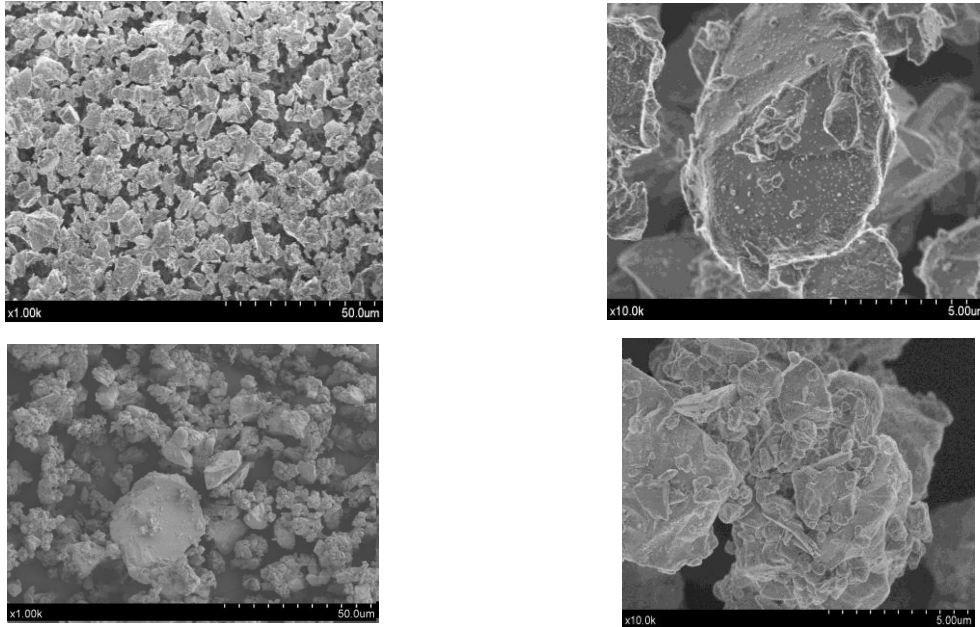


Figura 33: Imágenes SEM de los polvos.

La figura 34 recoge los patrones de difracción de Rayos-X de los dos tipos de polvo de partida. Ambos difractogramas muestran que ambos tipos de polvo en estado de recepción son totalmente amorfo, no se observan de picos en los patrones (ausencia de fases cristalinas).

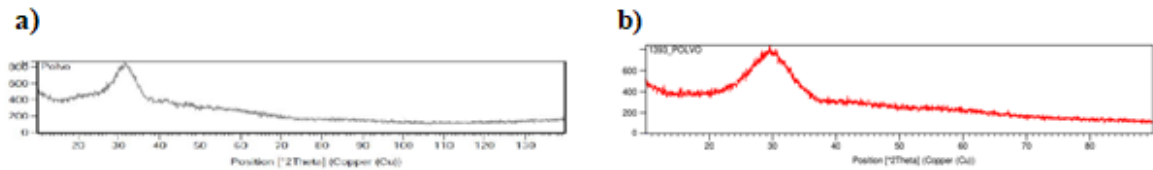


Figura 34: Patrones de DRX de los polvos de vidrios estudiados: a) 45S5 y b) 13-93.

5.1.1 Resultados de la compactación

Como ya se ha comentado, tras la compactación fue necesaria una etapa de verificación de las probetas en verde compactas. El objetivo de esta parte del trabajo ha sido conseguir una geometría idónea para poder fabricar un número suficiente de probetas para poder continuar con la sinterización.

Las probetas fabricadas en matrices de 8 y 12mm de diámetro tenían poca consistencia y fallaban a realizar la extracción de la matriz.



Figura 35: Probetas no aptas de 8 y 12 mm.

Finalmente se llegó a la conclusión que la única forma de continuar era fabricar todas las probetas en la matriz más pequeña de la que disponíamos, la matriz de 4mm.



Figura 36: Probetas de 4 mm.

En la siguiente tabla se resumen las probetas disponibles para sinterizado después de la compactación.

Tabla 10: Probetas de diámetro 4 mm realizadas.

	Número probetas 45S5	Número probetas 1393
200MPa	2	2
400MPa	12	12
600MPa	2	2

Es importante, remarcar la importancia que supone el efecto de la porosidad de las piezas de vidrios bioactivos en su comportamiento micro-mecánico y futura bioactiva en presencia del fluido fisiológico corporal (relación directa con la superficie de contacto). El análisis de las curvas de compresibilidad de los polvos permite indicar que a presiones bajas el polvo del vidrio 13-93 presenta mayor densidad relativa, invirtiéndose las tendencias a partir de los 70 MPa. La densidad relativa máxima (“aproximadamente plateau” de las curvas) para el vidrio 45S5 es del 90%, mientras que para el 13-93 es del 80 %.

La figura 37 recoge el aspecto macroscópico de los cilindros fabricados con los dos tipos de vidrios bioactivos estudiados, para los distintos parámetros de fabricación (diámetro de la matriz, presiones de compactación y condiciones de sinterización) y los diferentes estados del proceso (compactación y sinterizado). El análisis de los resultados permite indicar los siguientes aspectos generales: 1) los cilindros fabricados con las matrices de compactación de 8 mm y 12 mm, ven comprometida su integridad (agrietamiento, desconche y fractura) durante el proceso de extracción de las muestras de las matrices. Sin embargo, los cilindros en verde obtenidos con la matriz de 4 mm presentan un aspecto y dimensiones adecuados para los ambos tipos de vidrios bioactivos y las presiones de compactación estudiadas en este Proyecto; 2) los cilindros del vidrio 13-93 sinterizados usando la Rampa 1 (820 °C, durante 5s), presenta claros signos (abarrilamiento) que se haya superado la temperatura de fusión del correspondiente material. En este sentido, se ha implementado la segunda Rampa (700 °C, durante 1h), 3) como cabría esperar, en todos los casos estudiados se observa de forma general una tendencia directa entre presión de compactación y densidad del vidrio bioactivo, 4) independiente mente del tipo de rampa, horno empleado y presión de compactación aplicada, el vidrio 13-93 es más denso que el 45S5, y 5) un cambio de coloración (color grisáceo) de los vidrios es observado, aunque este hecho debe ser estudiado en detalle en trabajos futuros, se puede especular con un posible efecto de “cambios de valencia en los óxidos de los vidrios”.














		Influencia del diámetro de la matriz			
		12 mm	8 mm	4 mm	
Durante el Prensado					
		Distintas presiones de compactación (Matriz de diámetro 4 mm)			
		200 MPa	400 MPa	600 MPa	
Rampa 1 (820 °C y 5 segundos)	45S5	Termo lab			
		VITA			
	13-93	Termo lab			
		VITA			
Rampa 2 (700 °C y 1 hora)	13-93	Termo lab			
		VITA			

Figura 37: Aspecto Macroscópico de los cilindros.

5.1.2 Resultados del sinterizado

Tras la sinterización es lógico pensar que las rampas realmente realizadas en los hornos no han sido exactamente iguales a las teóricas descritas en el apartado de metodología experimental.

La siguiente figura muestra las rampas reales que hacen cada horno durante el sinterizado. El horno VITA realiza una rampa muy ajustada con la teórica pero el horno de molibdeno hace un calentamiento brusco al inicio y tarda al alrededor de 20 minutos en ajustarse a la teórica.

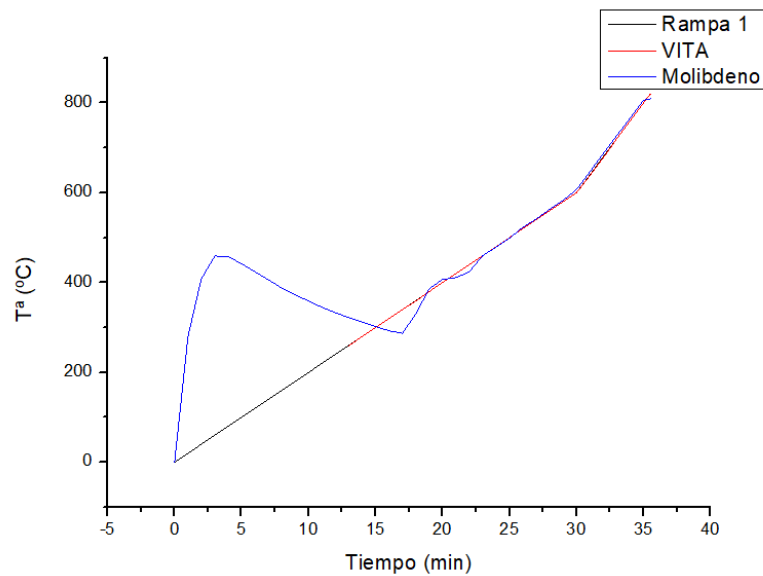


Figura 38: Rampas reales VS teórica 45S5.

Como se observa en las macrografías realizadas a las probetas resultantes de la sinterización, en diferentes hornos tienen aspectos distintos. Las muestras sinterizadas en el horno de molibdeno, b),f) e i), tienen un aspecto grisáceo mientras que las muestras sinterizadas en el horno VITA, c),g) y j), son de color blanco.

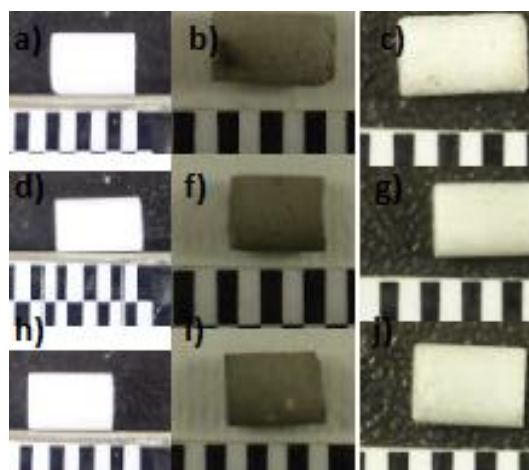


Figura 39: Sinterización de probetas del 45S5. Muestras a),d) y h) en “verde” a 200,400 y 600MPa respectivamente. Muestras b),f) y i) en el horno de Molibdeno. Muestras c),g) y j) en el horno VITA.

Para el 1393 se prueba también con el tipo de rampa que viene a continuación.

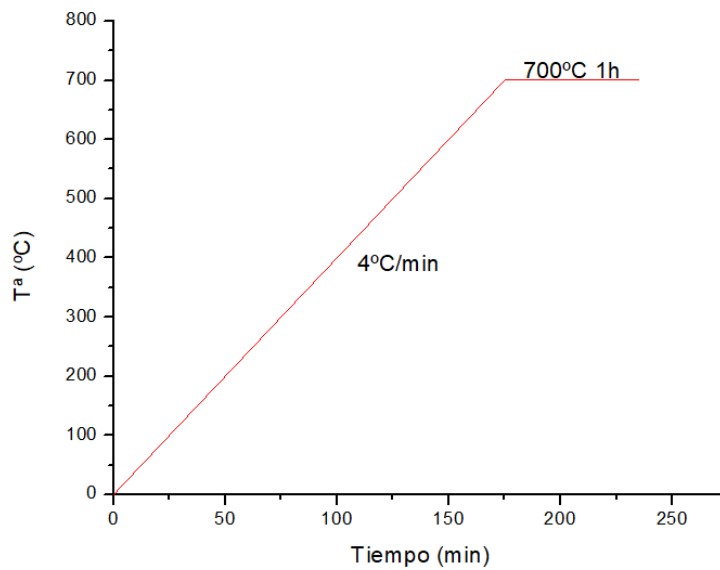


Figura 40: Rampa real 1393.

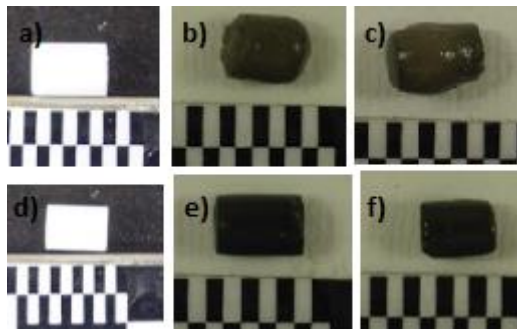


Figura 41: Probetas 13-93 prensadas a 400MPa antes y después del sinterizado. Muestra a) en el horno de Molibdeno y muestra d) en el Horno Vita.

La curva representada en la imagen de arriba, es la rampa teórica que queríamos llegar a conseguir. En un principio únicamente se ha probado esta rampa en las muestras de 400MPa de 1393 ya que teníamos un mayor número de probetas fabricadas y si por alguna razón ésta no fuera la rampa definitiva para el sinterizado de este biovidrio, tendríamos posibilidad de seguir sinterizando más probetas a diferentes rampas. A continuación se muestra las rampas reales conseguidas para cada uno de los hornos.

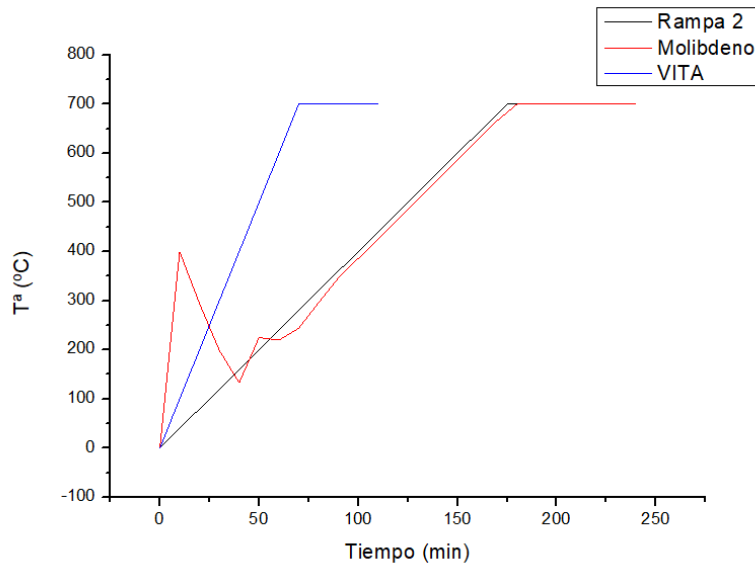


Figura 42: Rampa real vs teórica 1393.

Tal y como se aprecia en la figura anterior, El horno no permite introducir valores por debajo de 10°C/min así como intervalos superiores a 40 min, tanto para rampas como para mesetas. Por tanto la rampa final para el horno VITA quedaría (hasta 700°C a 10°C/min y 1 hora a 700°C).

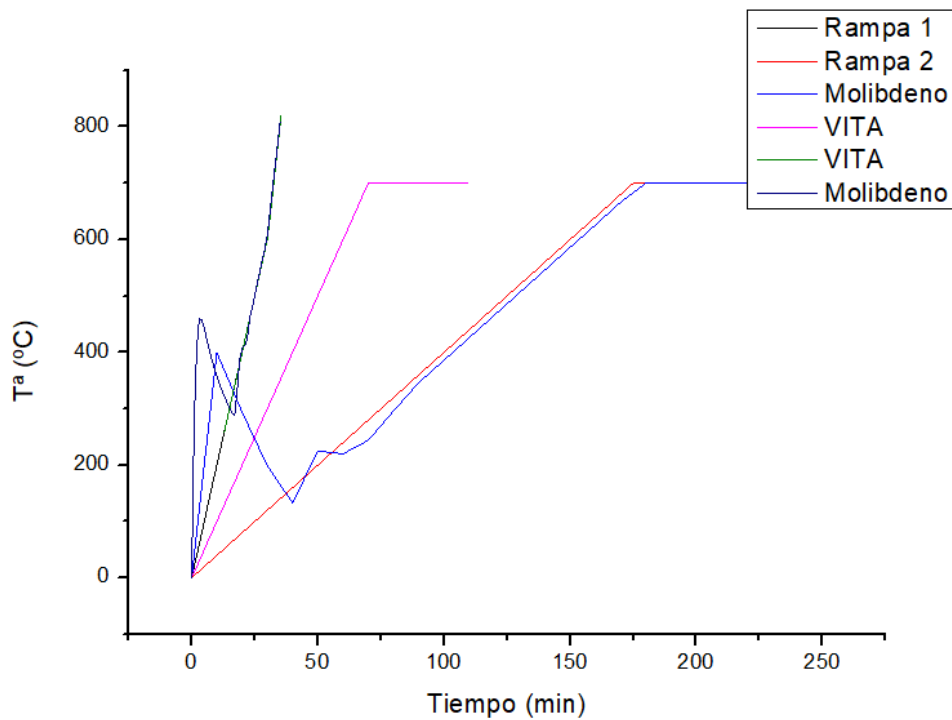


Figura 43: Rampa real Vs teórica para ambos vidrios.

5.1.3 Resultados del método geométrico

Los cambios más característicos que sufren las probetas a simple consisten en la contracción y el consecuente aumento de la densidad. A continuación se desglosan en tablas las medidas realizadas antes y después de la sinterización.

Tabla 11: Características dimensionales antes y después del sinterizado en 45S5 VITA.

45S5 VITA	$(V_0 \pm 0,5) \text{ mm}^3$	$(V_f \pm 0,4) \text{ mm}^3$	$(\rho_0 \pm 0,01) \text{ gr} \cdot \text{cm}^{-3}$	$(\rho_f \pm 0,02) \text{ gr} \cdot \text{cm}^{-3}$
200MPa	84,4	58,5	1,63	2,14
400MPa	76,7	52,8	1,71	2,32
600MPa	73,4	53,8	1,83	2,31

Tabla 12: Características dimensionales antes y después del sinterizado en 45S5 Molibdeno.

45S5 Mo	$(V_0 \pm 0,5) \text{ mm}^3$	$(V_f \pm 0,4) \text{ mm}^3$	$(\rho_0 \pm 0,01) \text{ gr} \cdot \text{cm}^{-3}$	$(\rho_f \pm 0,02) \text{ gr} \cdot \text{cm}^{-3}$
200MPa	83,9	53,7	1,67	2,35
400MPa	77,9	50,7	1,69	2,37
600MPa	70,8	49,4	1,82	2,37

El error del volumen viene determinado por el error de resolución en la medida y por la expresión:

$$\frac{\Delta V}{V} = \frac{2 \cdot \Delta D}{D} + \frac{\Delta h}{h}$$

Siendo $V = \pi \left(\frac{D^2}{4} \right) h$, D el diámetro y h la altura.

De manera análoga el error en la densidad viene dado por:

$$\frac{\Delta \rho}{\rho} = \frac{\Delta m}{m} + \frac{2 \cdot \Delta D}{D} + \frac{\Delta h}{h} \quad \text{Siendo } \rho = \frac{m}{\pi \left(\frac{D^2}{4} \right) h} \text{ y m la masa.}$$

Tabla 13: Densidad final de probetas tras el sinterizado y ganancia de densidades con respecto al proceso anterior, donde "Tras prensado" corresponde a la ganancia de densidad con respecto a la densidad de golpeo y "Tras sinterizado" a la ganancia de densidad con respecto a la de prensado. **Nota:** valores de densidad teóricos, $2,45 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$ del 45S5 y los $2,71 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$ para el 13-93. Valores de densidad por golpeo, $1,10 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$ del 45S5 y los $1,28 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$ para el 13-93. [20].

Distintas presiones de compactación (Matriz de diámetro 4 mm)											
		200 MPa			400 MPa			600 MPa			
		Densidad final $g \cdot cm^{-3}$	Ganancia D %		Densidad final $g \cdot cm^{-3}$	Ganancia D %		Densidad final $g \cdot cm^{-3}$	Ganancia D %		
Rampa 1 (820 °C y 5 s)	45S5	Termolab	2,35	Tras prensado	57,8	2,35	Tras prensado	72,4	2,37	Tras prensado	81,5
				Tras sinterizado	35,2		Tras sinterizado	23,7		Tras sinterizado	18,5
		VITA	2,14	Tras prensado	57,8	2,32	Tras prensado	72,4	2,31	Tras prensado	81,5
				Tras sinterizado	23,1		Tras sinterizado	22,2		Tras sinterizado	15,5
Rampa 2 (700 °C y 1 h)	13-93	Termolab	2,35	Tras prensado	44,0	2,40	Tras prensado	52,9	2,59	Tras prensado	58,4
				Tras sinterizado	27,2		Tras sinterizado	22,3		Tras sinterizado	27,4
		VITA	2,49	Tras prensado	44,0	2,54	Tras prensado	52,9	2,57	Tras prensado	58,4
				Tras sinterizado	34,7		Tras sinterizado	29,5		Tras sinterizado	26,4

Queda evidenciada la contracción volumétrica de las probetas tanto en el horno VITA como en el horno de Molibdeno.

Tabla 14: Contracción volumétrica sufrida para las probetas 45S5 en %.

45S5 VITA	Contracción Volumétrica
200MPa	31%
400MPa	31%
600MPa	27%
45S5 Mo	Contracción Volumétrica
200MPa	36%
400MPa	35%
600MPa	30%

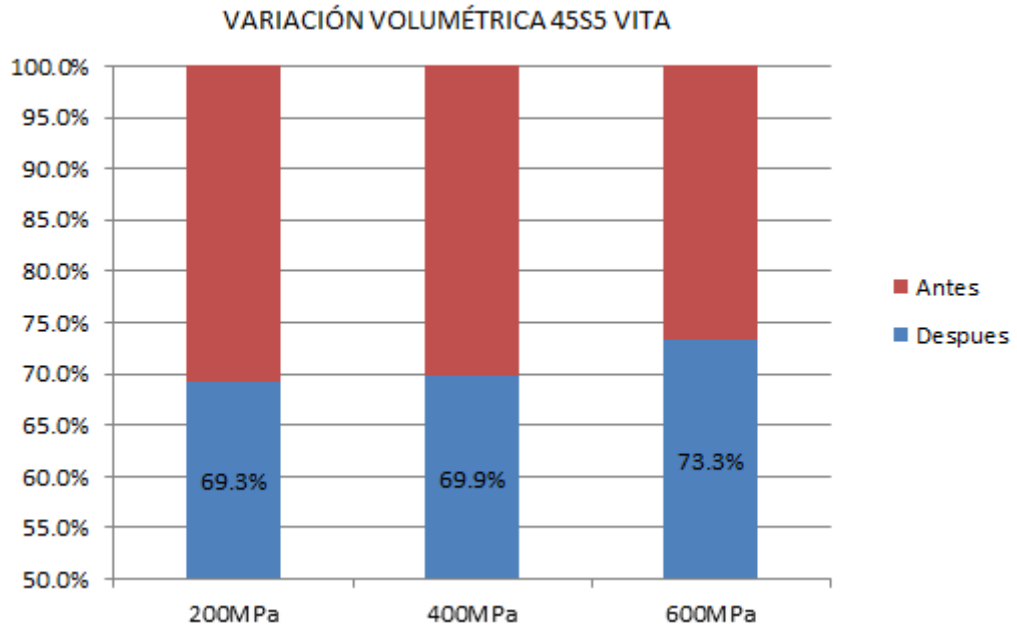


Figura 44: Gráfico comparativo variación volumétrica 45S5 VITA.

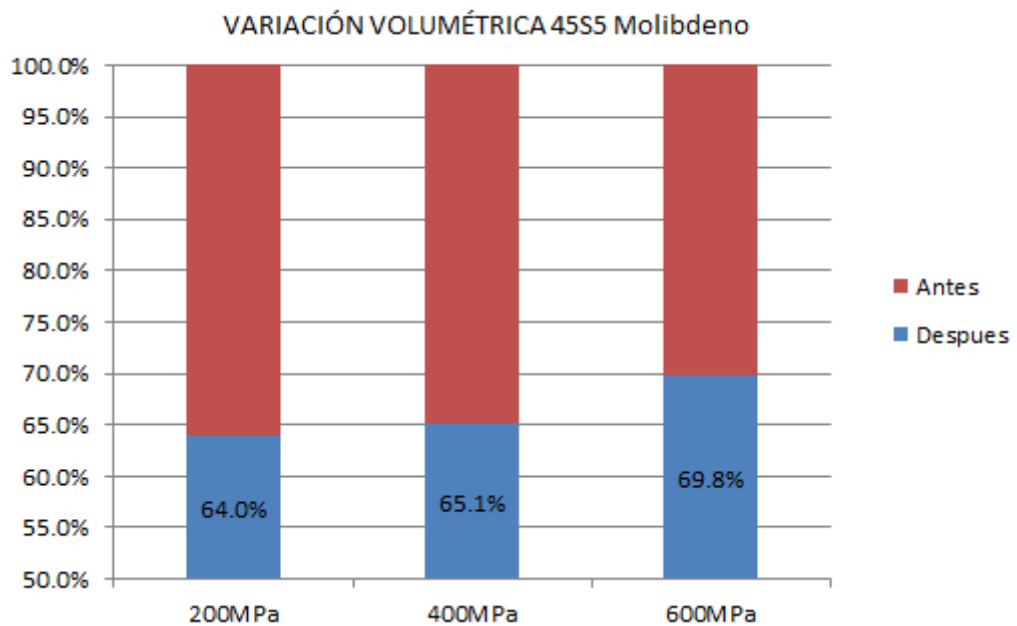


Figura 45: Gráfico comparativo variación volumétrica 45S5 Molibdeno.

Se puede apreciar cómo a menor presión de compactación mayor ha sido la contracción volumétrica sufrida. Además, en cuanto a los diferentes tipos de horno, se observa que las probetas sinterizadas en el horno de Molibdeno han sufrido una mayor contracción volumétrica.

Se calcula la variación que implica el proceso de sinterización. La evaluación de la gráfica, indica cómo la densidad ha sufrido un aumento de su valor generalizado tras la sinterización de las probetas, alcanza un rango mayor en el horno de Molibdeno.

A pesar de que a medida que aumenta la presión de compactación la densidad es mayor, tras la sinterización ha alcanzado una variación relativa mayor las probetas compactadas a 200MPa. (Que no implica que tenga un valor de densidad mayor que las de 600MPa, sólo que ha variado en mayor medida).

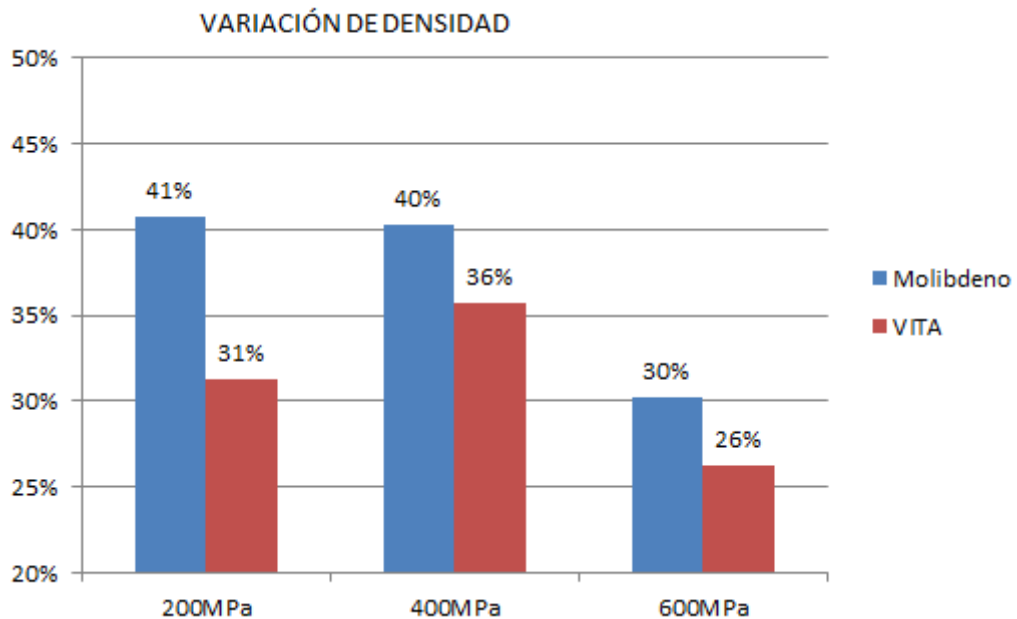


Figura 46: Gráfico comparativo variación densidad.

Tabla 15: Características dimensionales antes y después del sinterizado en 1393 Molibdeno.

1393 Mo	$V_0 \pm 0,01$ mm^3	$V_f \pm 0,02$ mm^3	$\rho_0 \pm 0,01$ $gr \cdot cm^{-3}$	$\rho_f \pm 0,02$ $gr \cdot cm^{-3}$
200MPa	72,25	48,12	1,8	2,49
400MPa	65,32	44,51	1,99	2,54
600MPa	64,35	46,64	2,02	2,57

Tabla 16: Características dimensionales antes y después del sinterizado en 45S5 VITA.

1393 VITA	$V_0 \pm 0,01$ mm^3	$V_f \pm 0,02$ mm^3	$\rho_0 \pm 0,01$ $gr \cdot cm^{-3}$	$\rho_f \pm 0,02$ $gr \cdot cm^{-3}$
200MPa	74,38	51,12	1,75	2,37
400MPa	66,18	47,07	1,9	2,4
600MPa	62,51	46,89	2,2	2,59

Tabla 17: Contracción volumétrica sufrida para las probetas 1393 en %.

1393 VITA	Contracción Volumétrica
200MPa	31%
400MPa	29%
600MPa	25%
1393 Mo	Contracción Volumétrica
200MPa	33%
400MPa	32%
600MPa	28%

5.1.4 Resultados DRX

En las figura 47 se muestran los patrones de difracción de rayos X para cada tipo de muestra estudiada. Se observa que, independientemente del horno empleado, las muestras del vidrio 45S5 cristalizan tras ser sometidas al ciclo térmico, mientras que las correspondientes al vidrio 13-93 conservan el estado amorfo del polvo de partida.

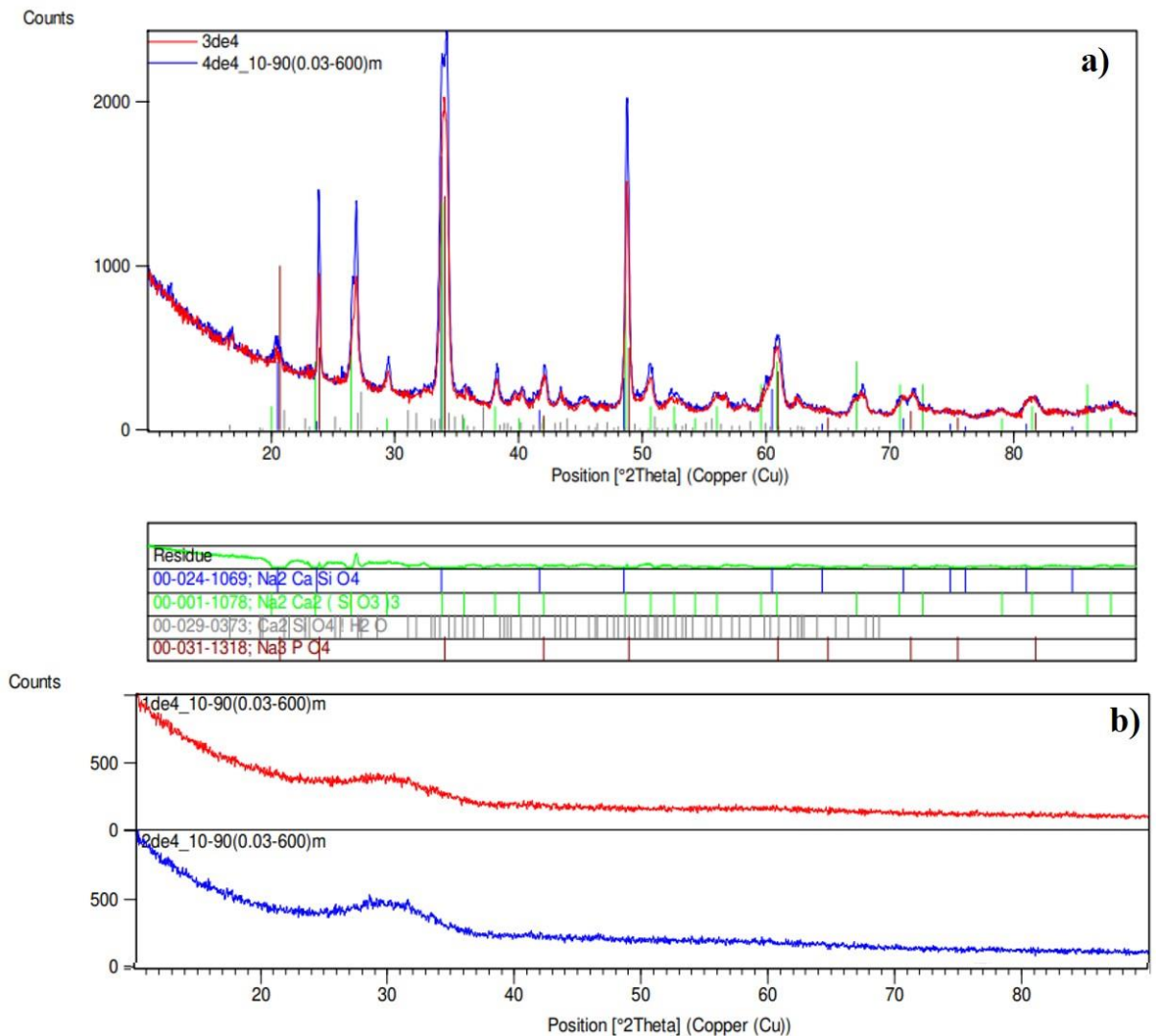


Figura 47: Patrones de difracción a) 45S5 (semicristalino) y la b) al 13-93 (amorfo).

5.1.5 Resultados SEM +EDX

Las figuras 48,49 y 50, resumen las imágenes obtenidas a distinta magnificación mediante microscopía electrónica de barrido de las distintas condiciones de fabricación estudiadas (tipo de vidrio bioactivo, presión de compactación y condiciones de sinterización). Un análisis global en este caso, permite constatar: 1) un aspecto más irregular y poroso (se conserva el aspecto obtenido tras la etapa de prensado) de las superficies del vidrio 45S5 mientras que el 13-93 muestra signos de fenómenos de fusión (aspecto de lava); en ambos caso, independientemente del tipo de horno empleado y de la presión de compactación aplicada (ver imágenes obtenidas a baja magnificación), 2) el vidrio 45S5 obtenido en el horno VITA (enfriamiento rápido), presenta zonas con una morfología columnar de sus granos, indicando una orientación preferencial durante el proceso de cristalización, 3) un análisis detallado de la composición química (EDX) permitió comprobar que estos granos columnares tenían una composición muy rica en sodio, mientras que el resto del material conservaba la composición química típica del vidrio, y 4) por su parte, el vidrio 13-93,

presenta un aspecto “más vítreo”, presencia de una superficie muy lisa con presencia de planos.

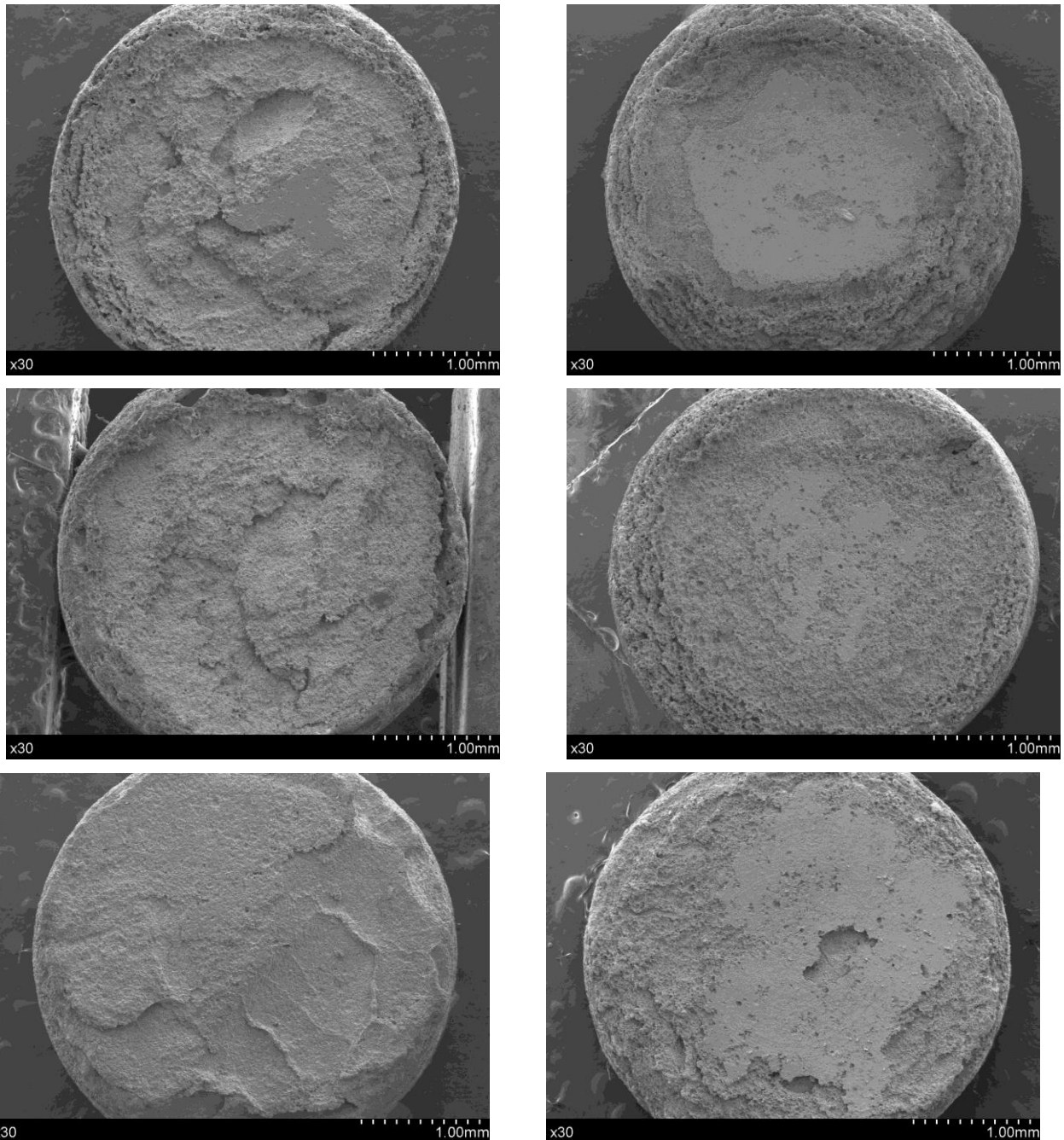
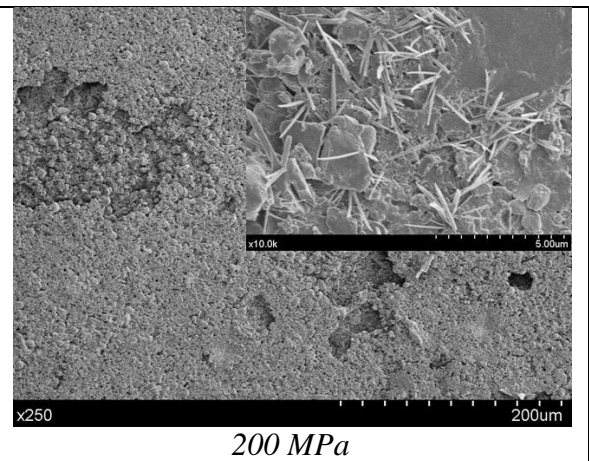
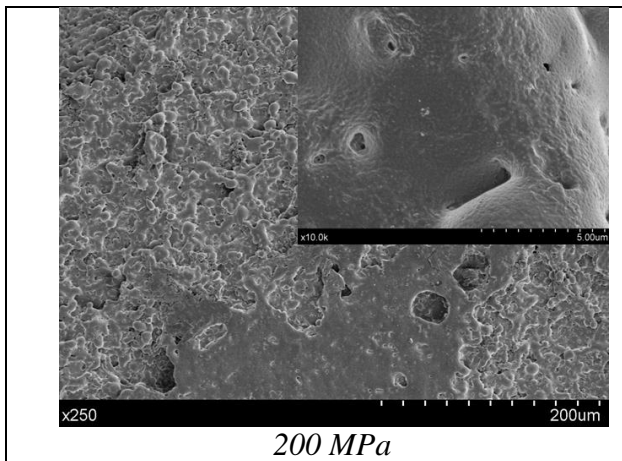
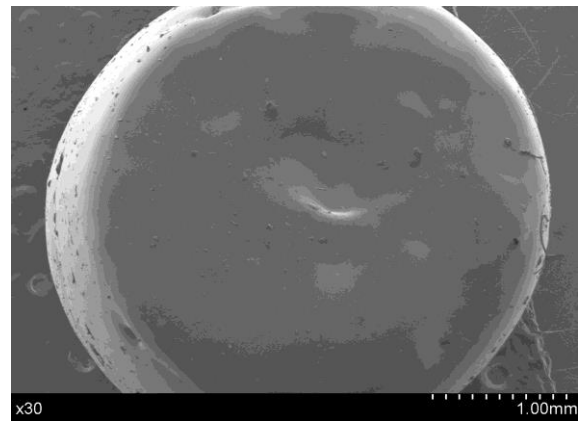
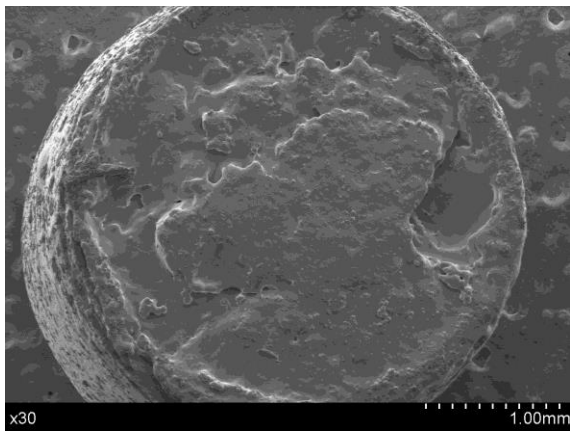
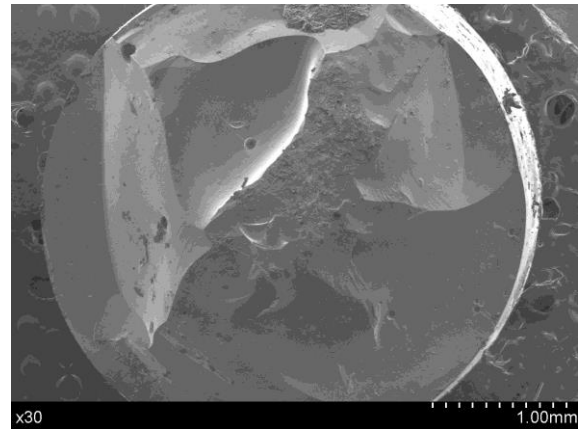
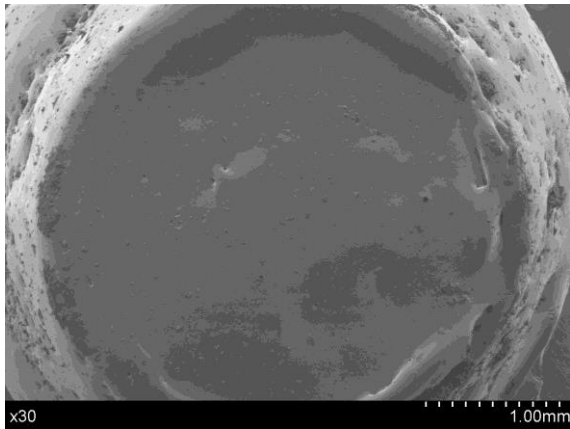
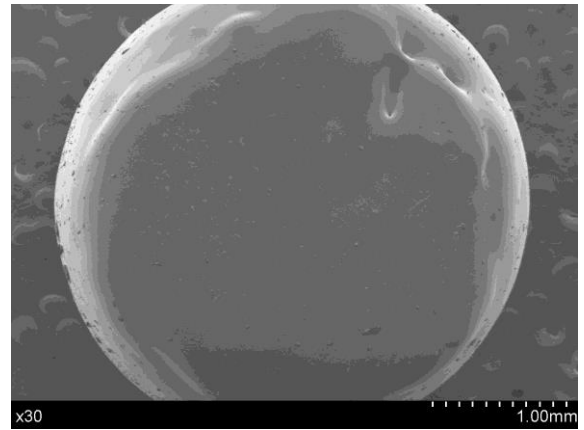
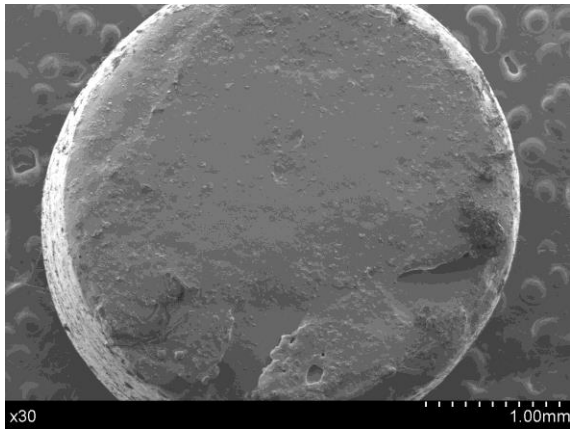


Figura 48: Imágenes SEM a pocos aumentos del vidrio 45S5 para las tres presiones de compactación (200, 400 y 600 MPa, comenzando desde arriba): Horno Termolab (izquierda) y VITA (derecha).



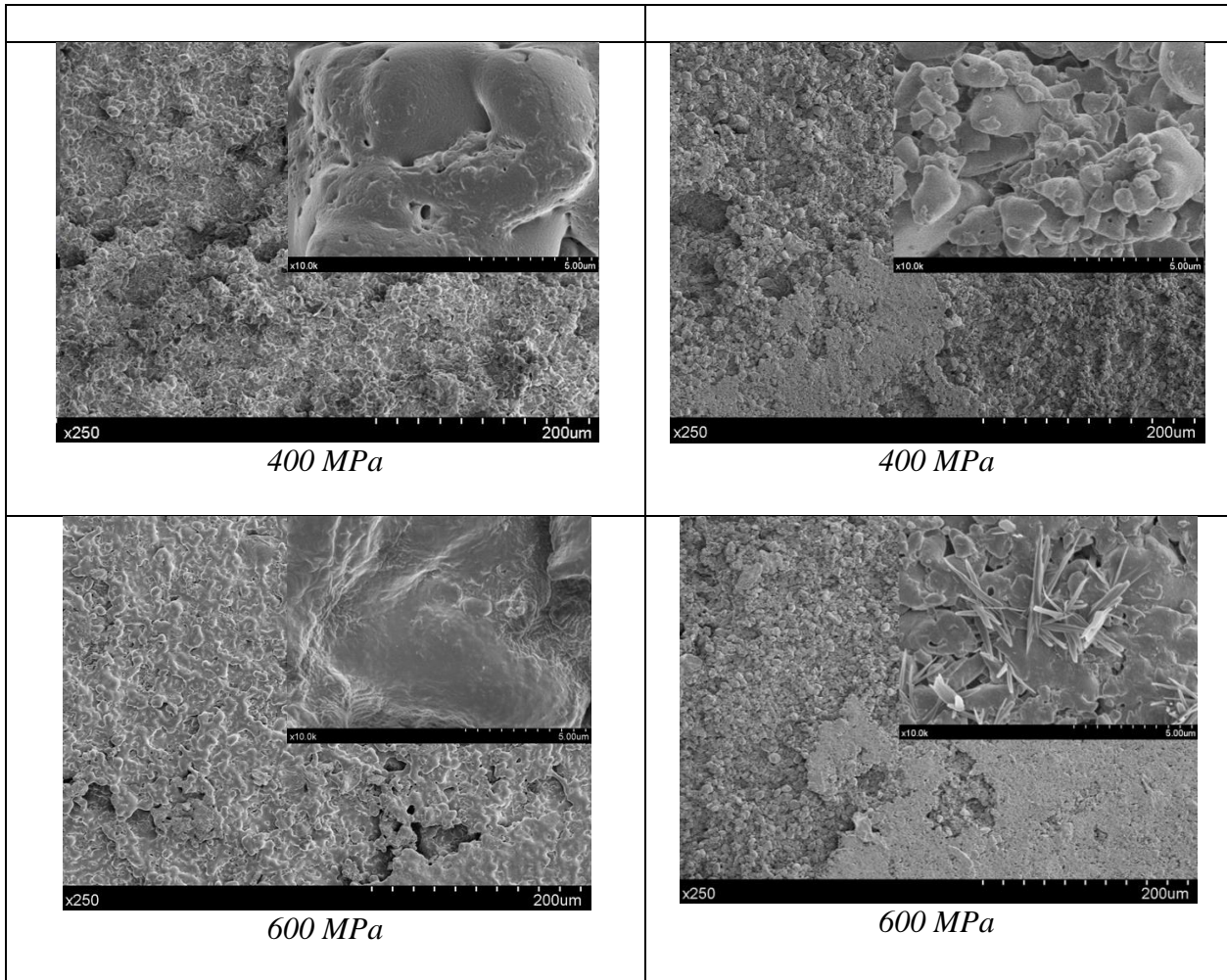
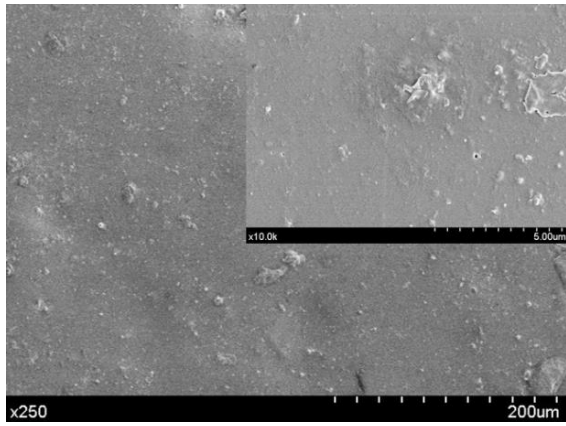
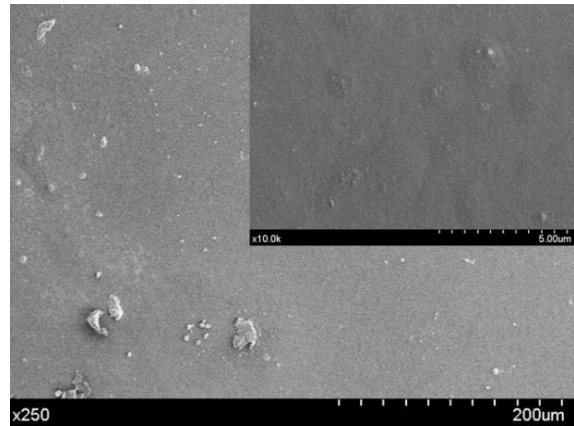


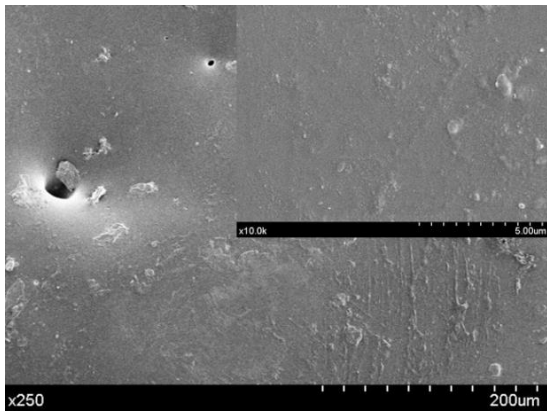
Figura 49: SEM 45S5 izquierda MOLIBDENO derecha VITA. Diferentes presiones de compactación.



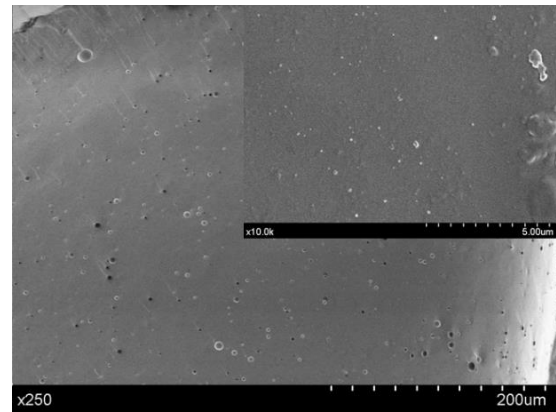
200 MPa



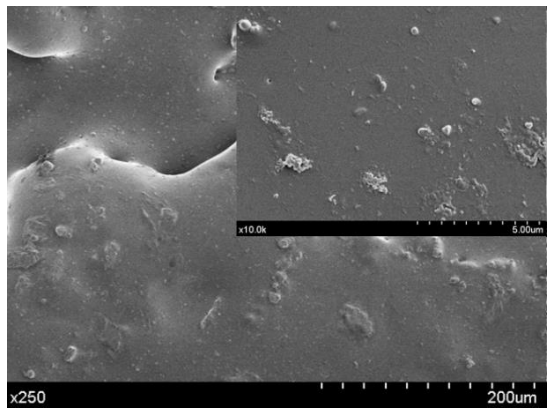
200 MPa



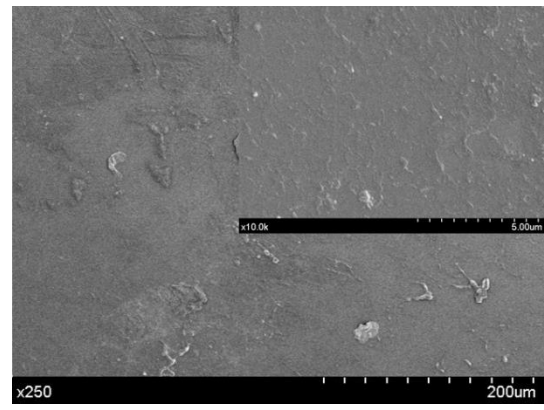
400 MPa



400 MPa



600 MPa



600 MPa

Figura 50: SEM 13-93 izquierda MOLIBDENO derecha VITA. Diferentes presiones de compactación.

5.1.6 Resultados de los ensayos Micro-Mecánicos

La dureza de cada una de las superficies de Bioglass 45S5 ante las diferentes cargas se recogen en la tabla 18 y 19.

Como ya se ha mencionado los valores que se representan en la tabla son la media de las 5 mediciones realizadas para cada carga.

Tabla 18: Ensayos de dureza realizados a las probetas 45S horno VITA.

	HV0.5 (4.903 N)	HV0.2 (1.961 N)	HV0.1 (980.7mN)
45S5 200MPa Vita	365,28 \pm 139	271,36 \pm 110	246,12 \pm 171
45S5 400MPa Vita	455,08 \pm 122	417,66 \pm 102	433,53 \pm 134
45S5 600MPa Vita	276,71 \pm 118	299,91 \pm 47	364,44 \pm 86

A la vista de los resultados la carga que venía bien para todos los valores de presiones era 2N. A esa carga, el microindentador producida una huella medible para las 5 mediciones realizadas por probeta.

En el horno de Molibdeno pasa exactamente igual, adquiriéndose un valor idóneo de carga de 2N. En la siguiente tabla se plasma los valores de dureza medios para esta carga.

Tabla 19: Ensayos de dureza realizados a las probetas 45S5 horno Molibdeno.

	HV0.2 (1.961 N)
45S5 200MPa Mo	380,95 \pm 39
45S5 400MPa Mo	549,62 \pm 21
45S5 600MPa Mo	175,99 \pm 35

Por último, al comparar cómo varía la dureza de cada muestra al aumentar o disminuir la carga aplicada es posible destacar algunos aspectos:

- La dispersión es mayor para los ensayos a baja carga (HV 0,1) o a alta carga (HV0,5). Siendo la óptima la carga intermedia de 2N.

Siguiendo los mismos pasos anteriores para las probetas de 400 MPa de 1393, se recoge las siguientes medidas de dureza a 2N.

Tabla 20: Ensayos de dureza realizados a las probetas 1393.

	HV0.2 (1.961 N)
1393 400MPa Mo	541,68 \pm 34
1393 400MPa VITA	349,16 \pm 48

Una vez más, se aprecia como en el horno de Molibdeno se alcanza una dureza mayor que en el horno VITA, para el mismo material y misma presión de compactación.

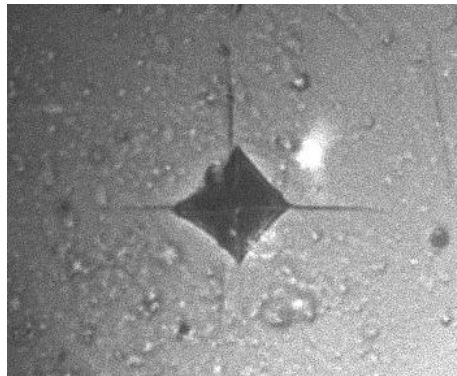


Figura 51: Huella 1393 Mo 400MPa 2 N.

Tabla 21: Ensayos de dureza realizados a las probetas 1393.

	HV0.2 (1.961 N)
1393 200MPa Mo	530,98 $\bar{\pm}$ 32
1393 400MPa Mo	541,68 $\bar{\pm}$ 34
1393 600MPa Mo	564,34 $\bar{\pm}$ 9,15

Los valores de microdureza presentan una relación coherente con los valores de densidad de las muestras. Éstos son mayores, en todos los casos, para las probetas sinterizadas en el horno VITA. Se presentan a modo de resumen en las tablas 22 y 23.

Tabla 22: Durezas en probetas del 45S5. Influencia del tipo de horno y de la presión de compactación.

Presión de compactación (MPa)	45S5 Molibdeno		45S5 VITA	
	Densidad (g/cm ³)	HV0.2 (1.961 N)	Densidad (g/cm ³)	HV0.2 (1.961 N)
200	2,35	380 \pm 39	2,14	365 \pm 21
400	2,35	549 \pm 21	2,32	455 \pm 21
600	2,37	175 \pm 21	2,31	276 \pm 21

Tabla 23: Durezas en probetas del 1393. Influencia del tipo de horno y de la presión de compactación.

Presión de compactación (MPa)	13-93 Molibdeno		13-93 VITA	
	Densidad (g/cm ³)	HV0.2 (1.961 N)	Densidad (g/cm ³)	HV0.2 (1.961 N)
200	2,35	530±32	2,49	365±21
400	2,40	541±34	2,54	349±48
600	2,59	564±9	2,57	354±18

Se ha obtenido Curvas PH para todas las probetas sinterizadas de 45S5. Los parámetros para realizar estas microindentaciones han sido 2N a una velocidad de 2N /min. Para obtener una mayor fiabilidad de los datos se ha procedido a realizar 5 mediciones de cada probeta.

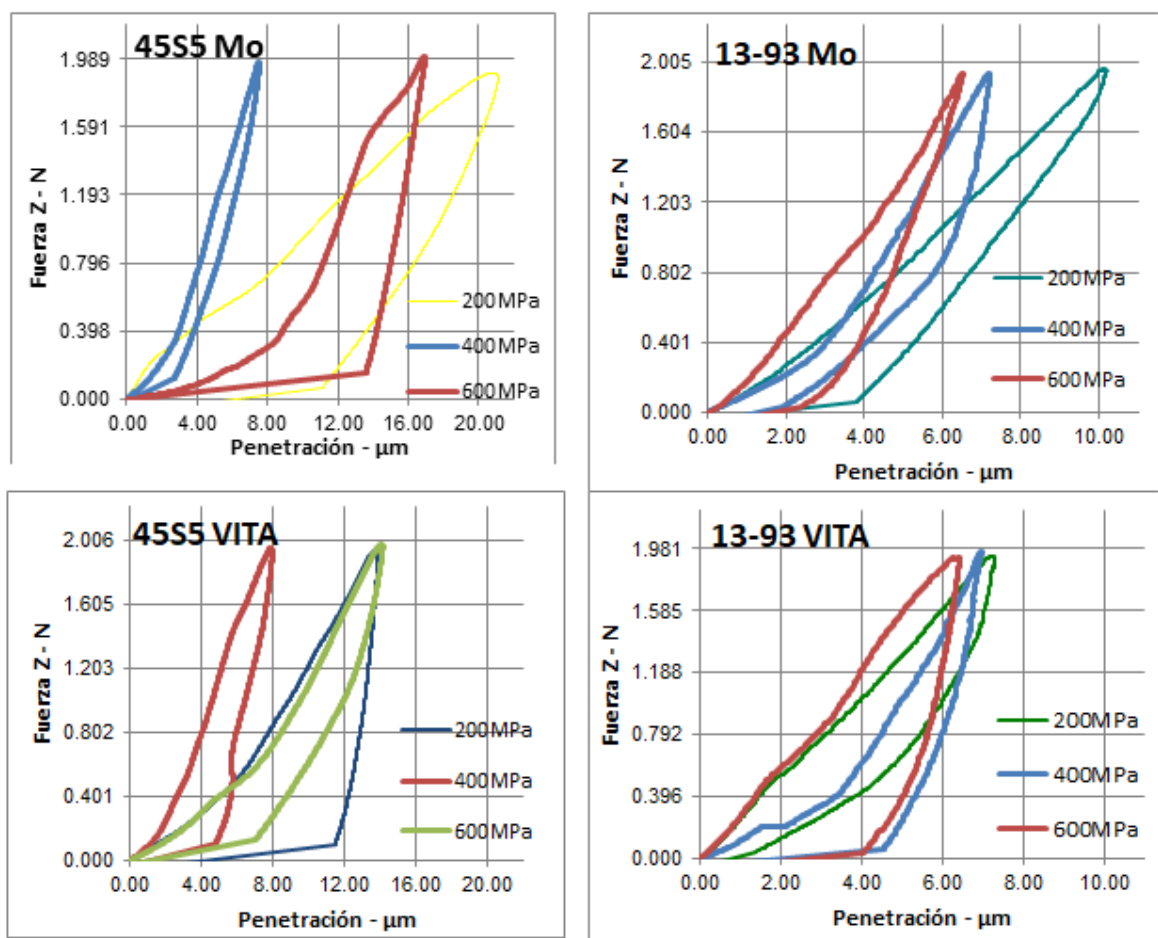


Figura 52: Efecto presión en las curvas P-h. 45S5 sinterizadas con la rampa 1 y 13-93 sinterizadas con la rampa 2.

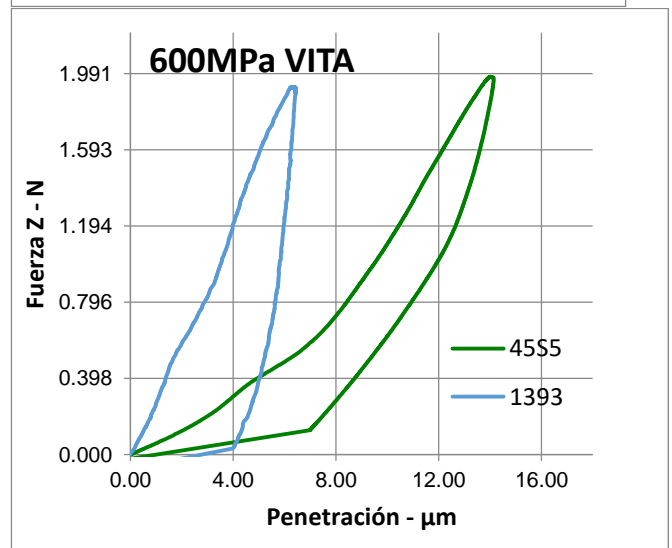
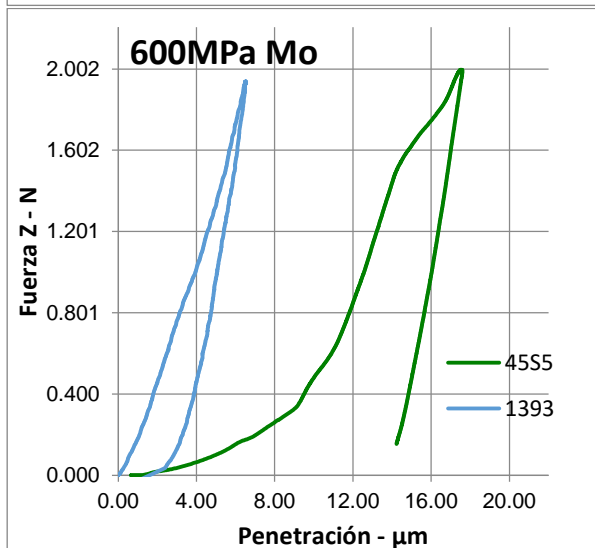
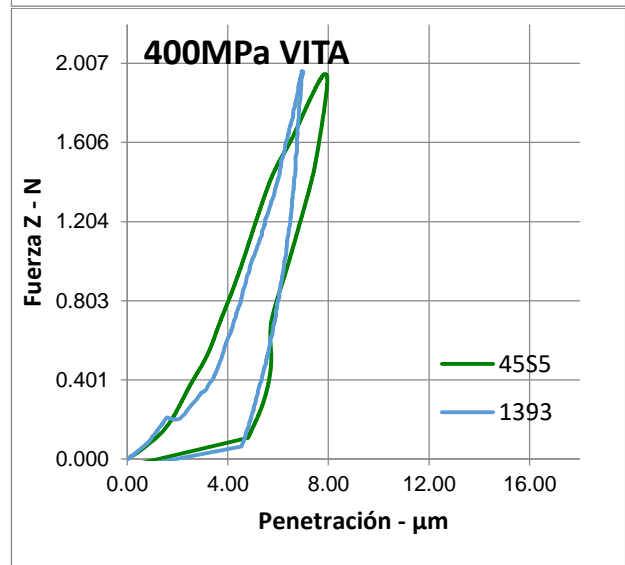
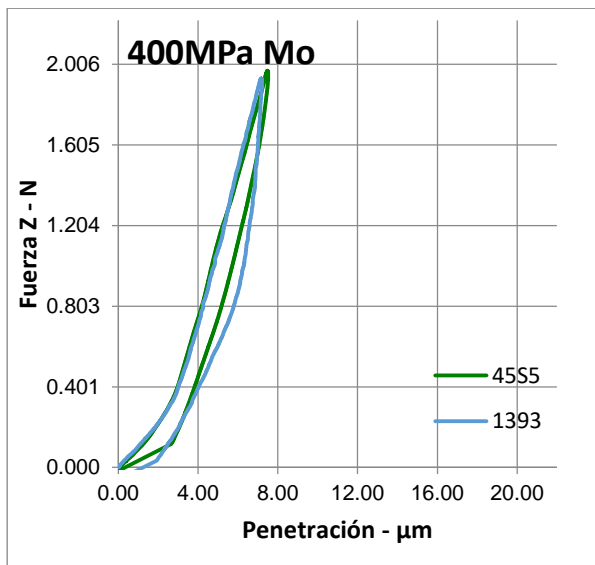
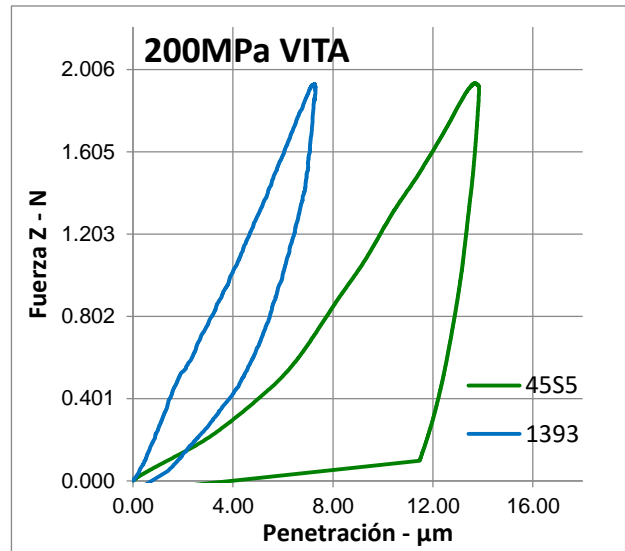
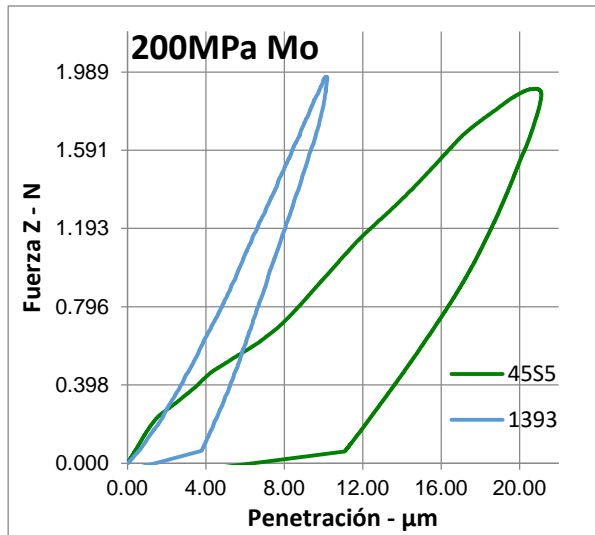


Figura 53: Efecto del tipo de horno en el material en las curvas P-h. 45S5 sinterizadas con la rampa 1 y 13-93 sinterizadas con la rampa 2.

En las tablas 24 y 25 se recogen los parámetros correspondientes a las curvas P-h, cuya nomenclatura se describe en el esquema siguiente, donde A es la penetración máxima, B la penetración tras la deformación plástica, A-B la recuperación elástica absoluta y A-B/A la recuperación elástica relativa.

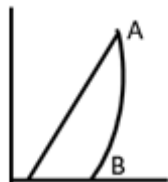


Tabla 24: Resultados de indentación instrumentada para el 45S5.

45S5		A (μm)	B (μm)	A-B (μm)	(A-B)/A (%)	Dureza HV 2N
Molibdeno	200MPa	22,25 \pm 0,06	11,68 \pm 0,08	10,57 \pm 0,14	47,42 \pm 0,07	380 \pm 39
	400MPa	7,93 \pm 0,05	3,21 \pm 0,03	4,72 \pm 0,03	59,49 \pm 0,07	549 \pm 21
	600MPa	18,88 \pm 0,25	15,51 \pm 0,06	3,37 \pm 0,06	17,03 \pm 0,24	175 \pm 21
VITA	200MPa	13,06 \pm 0,12	10,42 \pm 0,16	2,64 \pm 0,28	19,61 \pm 0,43	365 \pm 21
	400MPa	8,42 \pm 0,10	5,35 \pm 0,10	3,07 \pm 0,10	36,45 \pm 0,25	455 \pm 21
	600MPa	14,83 \pm 0,02	7,53 \pm 0,15	7,3 \pm 0,18	49,36 \pm 0,21	276 \pm 21

Tabla 25: Resultados de indentación instrumentada para el 1393.

13-93		A (μm)	B (μm)	A-B (μm)	(A-B)/A (%)	Dureza HV 2N
Molibdeno	200MPa	10,88 \pm 0,05	3,95 \pm 0,02	6,93 \pm 0,03	63,69 \pm 0,06	530 \pm 32
	400MPa	7,82 \pm 0,06	3,31 \pm 0,05	4,51 \pm 0,11	57,86 \pm 0,18	541 \pm 34
	600MPa	19,81 \pm 0,27	15,77 \pm 0,22	4,04 \pm 0,49	20,21 \pm 0,17	564 \pm 9
VITA	200MPa	7,85 \pm 0,03	1,57 \pm 0,03	6,28 \pm 0,06	80,10 \pm 0,07	365 \pm 21
	400MPa	6,52 \pm 0,25	4,47 \pm 0,10	2,05 \pm 0,10	31,52 \pm 0,04	349 \pm 48
	600MPa	6,77 \pm 0,22	4,37 \pm 0,03	2,4 \pm 0,03	35,44 \pm 0,07	354 \pm 18

Los resultados de microindentación instrumentada deben ser analizados de forma semi-cuantitativa. A pesar de las ventajas que ofrece la implementación de esta metodología, debemos ser conscientes de las incertidumbres asociadas a la implementación de esta técnica. Las mismas se describen a continuación:

(1) Localización inicial de la superficie. La definición de la profundidad inicial es un aspecto crítico en los ensayos de indentación instrumentada. La descoordinación entre el momento en que contactan ambas superficies y el momento en que se empiezan a tomar mediciones provoca el desplazamiento de las curvas, por lo que resultan necesario definir minuciosamente la profundidad de contacto inicial.

(2) Forma de la punta del indentador. En realidad la punta del indentador no acaba en un átomo sino que es roma y tiene unos radios del orden de la decena de nanómetros o más. Esto afecta al cálculo teórico del área de contacto. Este aspecto es mucho más acusado en indentaciones llevadas a cabo a muy poca profundidad donde las desviaciones respecto de una forma ideal son mucho más críticas.

(3) Rugosidades de la superficie. Las superficies de las muestras a ensayar no son perfectamente lisas sino que pueden existir diferencias de alturas de decenas de nanómetros entre puntos relativamente cercanos. Al igual que en el apartado anterior, este aspecto se vuelve realmente crítico en indentaciones a muy poca profundidad.

(4) Forma de la impresión dejada por el indentador. Fruto de la respuesta al contacto del material, en el lugar donde se produce la aplicación de la carga, el área de contacto tiende a deformarse elevándose o hundiéndose a lo largo del eje z y alrededor de la huella de indentación. Este fenómeno es conocido como piling-up en el caso de que exista un apilamiento de deformación y sinking-in en el caso que la respuesta sea contraria. Este comportamiento se traduce en una sobreestimación del área de contacto en caso de hundimiento y una subestimación en el caso de apilamiento.

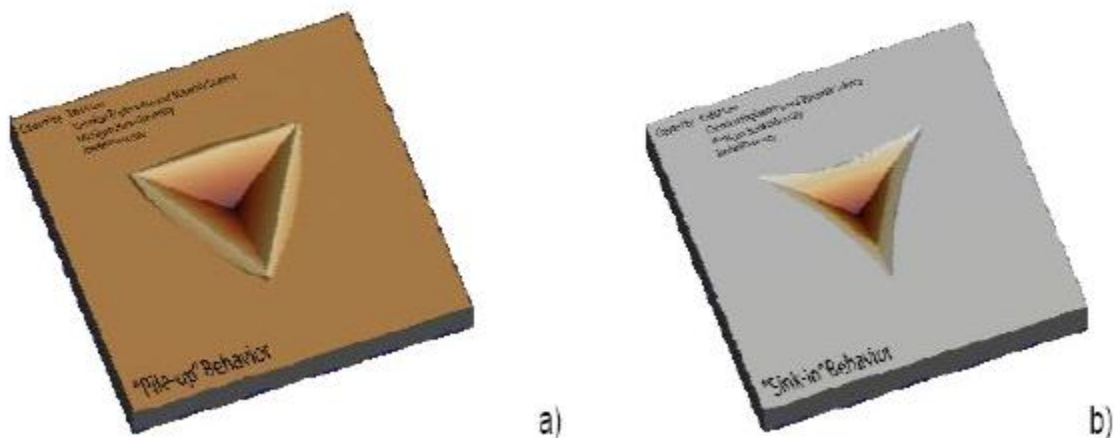


Figura 54: a) Efecto pile-up o “forma de barril” y b) Efecto sink-in o “forma de aguja”.

(5) Variaciones térmicas y vibraciones. Las variaciones de temperaturas en la muestra o en el equipo de medida durante un ensayo pueden dar lugar a errores en las medidas de la dureza y del módulo de elasticidad. Esto es debido a que las dimensiones de la muestra pueden variar (dilatándose o contrayéndose). Para evitar este aspecto hay que conseguir una temperatura homogénea en el recinto donde se lleva a cabo la medida. Las vibraciones que se produzcan a la hora de la realización de los ensayos pueden afectar enormemente a las medidas. Para paliar lo anterior, el equipo de indentación instrumentada debe estar montado sobre una mesa anti-vibratoria en el interior de una cabina aislada.

(6) Deformación del equipo de medida. Las posibles deformaciones del indentador se deben considerar por pequeñas que sean. No obstante esta deformación se tiene en cuenta en la calibración del equipo.

(7) Errores en las medidas de carga y desplazamiento. Se deben a los errores existentes en cualquier aparato de medida, no son muy importantes y pueden ser estimados. Debido a esto, se suelen hacer siempre varias indentaciones para más tarde promediarlos resultados obtenidos.

(8) Dispersión de las propiedades mecánicas del material. El tratamiento estadístico de los datos es necesario no solo por el ruido asociado a las medidas, sino también porque las propiedades del material pueden cambiar bastante en zonas muy próximas.

6 Conclusiones y Trabajos Futuros

Se ha abordado los dos principales puntos que se exponen en la introducción del presente Proyecto fin de Máster, la implementación de rutas de tecnología de polvo y la caracterización de ambos vidrios. Quedaría seleccionar el mejor candidato en términos de mejor equilibrio entre sus propiedades estructurales, físicas y micro-mecánicas para su aplicación como recubrimiento. Es necesario conocer las propiedades de vidrios con diferentes porosidades (diferentes presiones de compactación) ya que la porosidad influye directamente en la capacidad bioactiva de los materiales. Hay que mencionar que la bioactividad comienza con procesos de disolución en superficies. A mayores porosidades mayores las áreas involucradas en la disolución y se esperan mayores índices de bioactividad que deberán ser comprobados experimentalmente y así estudiar la potencial respuesta in-vivo (considerando las tasas de degradación en presencia de fluido fisiológico y cinética de formación de tejido óseo).

La tecnología de polvo ha sido la técnica de fabricación de piezas de materiales bioactivos en el presente trabajo, empleando dos vidrios de distinta composición: 45S5 y 13-93. Tras la caracterización estructural y mecánica de ambos, se persigue el objetivo de conseguir un equilibrio entre sus propiedades estructurales, físicas y micro-mecánicas para su aplicación como recubrimiento sobre sustratos metálicos. Tras el estudio de distintas presiones de compactación, se obtienen vidrios con diferentes porosidades. A su vez, la porosidad influye de manera directa sobre la capacidad bioactiva de los materiales, como consecuencia de que dicha bioactividad se inicia mediante procesos de disolución de la superficie del material. Por ello, mayores porosidades conllevan mayores áreas involucradas en la disolución y consecuentemente, mayores índices de bioactividad. A partir de esto, se plantea la necesidad de evaluar experimentalmente estas características y así estudiar la potencial respuesta in-vivo (considerando las tasas de degradación en presencia de fluido fisiológico y cinética de formación de tejido óseo).

7 Referencias

- [1] R. Crowninshield y e. al. *Clinical Orthopaedics*, vol. 443, pp. 266-272, 2006.
- [2] S. Perez, “Necesidad de implantes sobrepasa la demanda,” *Milenio*. [Online]. Available:http://www.milenio.com/negocios/Necesidad-implantes-sobrepasa-demanda_0_158384390.html. [Accessed: 21-04-2016].
- [3] L. Mellibovsky Saidler and A. Díez Pérez, “Qué significa la calidad ósea,” *Semin. Fund. Esp. Reumatol.*, vol. 7, no. 4, pp. 165–176, Dec. 2006.
- [4] Leopold SS. Minimally invasive total knee arthroplasty for osteoarthritis. *N Engl J Med*. 2009; 360:1749-58. PMID: 19387017. Available: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19387017. [Accessed: 8-01-16].
- [5] N. A. Athanasou, “Current Concepts Review - Cellular Biology of Bone-Resorbing Cells*,” *J Bone Jt. Surg Am*, vol. 78, no. 7, pp. 1096–1112, Jul. 1996.
- [6] P. Hill, “Bone remodeling,” *Br. J. Orthod.*, vol. 25, pp. 101–107, 1998.
- [7] J. Hill Buckwalter et al., “s.1. : Instr Course Lect45,” *Bone Biol. II*, 1996.
- [8] R. Huiskes, H. Weinans, and B. van Rietbergen, “The relationship between stress shielding and bone resorption around total hip stems and the effects of flexible materials,” *Clin. Orthop.*, no. 274, pp. 124–134, Jan. 1992.
- [9] J. Pavón Palacio, *Biomecánica del cuerpo humano*.
- [10] W. Gerber, *Materiales en Medicina*. Universidad Austral, Valdivia, Chile.
- [11] K. Gotfredsen et al., *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 29, no. 2, pp. 1223–1231, 1995.
- [12] C. Mehelich, L. Van Kiuken y M. Woelfel, “Metals Handbook: Surface Engineering,” *ASM Ohio*.
- [13] B. Ratner, *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Primera ed. California: Academic Press, 2004.
- [14] G. Ryan, A. Pandit, and D. P. Apatsidis, “Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 13, pp. 2651–2670, May 2006.
- [15] Y. Chino and D. C. Dunand, “Directionally freeze-cast titanium foam with aligned, elongated pores,” Jan. 2008.
- [16] Y. Huang, S. Onyeri, M. Siewe, A. Moshfeghian, and S. V. Madhally, “In vitro characterization of chitosan–gelatin scaffolds for tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 36, pp. 7616–7627, Diciembre 2005.

- [17] G. E. Ryan, A. S. Pandit, and D. P. Apatsidis, "Porous titanium scaffolds fabricated using a rapid prototyping and powder metallurgy technique," *Biomaterials*, vol. 29, no. 27, pp. 3625–3635, Sep. 2008.
- [18] W. Bonfield, M. D. Grynias, A. E. Tully, J. Bowman, and J. Abram, "Hydroxyapatite reinforced polyethylene — a mechanically compatible implant material for bone replacement," *Biomaterials*, vol. 2, no. 3, pp. 185–186, Jul. 1981.
- [19] "Lafitt Innovación." May 2006
- [20] M. Wehmöller, S. Weihe, C. Rasche, P. Scherer, and H. Eufinger, "CAD/CAM-prefabricated titanium implants for large skull defects—clinical experience with 166 patients from 1994 to 2000," *Int. Congr. Ser.*, vol. 1268, pp. 667–672, Jun. 2004.
- [21] K. Dee, D. Puleo y R. Bizios, *Tissue-Biomaterial Interactions*. Wiley-Liss.
- [22] Z. Huang, P. Noeaid, B. Kohl, J. A. Roether, D. W. Schubert, C. Meier, A. R. Boccaccini, O. Godkin, W. Ertel, S. Arens, and G. Schulze-Tanzil, "Chondrogenesis of human bone marrow mesenchymal stromal cells in highly porous alginate-foams supplemented with chondroitin sulfate," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 50, pp. 160–172, May 2015.
- [23] Hench LL, Polak JM. «Third-generation biomedical materials». *Science* 2002; 295:1014–7.
- [24] Hench LL, Splinter RJ, Allen WC, Greenlee TK. «Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials» *J Biomed Mater Res Symp* 1971; 334:117–41.
- [25] Jones JR. «Review of bioactive glass: From Hench to hybrids» *Acta Biomater* 2013; 9:4457–4486.
- [26] Britel, O. « Modélisation et optimisation par la méthodologie des plans d'expérience de la synthèse de l'hydroxyapatite phosphocalcique, du phosphate tricalcique apatitique et du phosphate de calcium apatitique carbonate» Thèse doctorale, 2007.
- [27] Hanawa T. «An overview of biofunctionalization of metals in Japan». *Acta. Biomater*, 8, 3532-3540, 2012
- [28] W. Suchanek, M. Yoshimura, «Processing and properties of hydroxyapatite based biomaterials for use as hard tissue replacement implants» *J. Mater. Res.* 13 (1998)94–117.
- [29] N. Stiegler, D. Bellucci, G. Bolelli, V. Cannillo, R. Gadow, A. Killinger, L. Lusvarghi, Sola, «High Velocity Suspension Flame Sprayed (HVSFS) hydroxyapatite for biomedical applications» *J. Therm. Spray Technol.* 21 (2012) 275–287.
- [30] Belen Fernandez-Montes Moraleda. «Optimización de Materiales para regeneración ósea. Estudio de las interacciones de hidroxiapatita con proteínas y preparación de andamios porosos» Tesis Doctoral.

- [31] Gallo, J. «Poor survival of ABG I hip prosthesis in younger patients» *Biomedical Papers of the medical faculty of the University Palacky*, vol. 152, issue 1, p. 163-168 (2008).
- [32] J.J Morales de Cano. A. García Ruzafa «Estudio de un cemento bioactivo de hidroxiapatita como material de sustitución ósea» *Biomecánica*, 10 (1), 2002, pp. 19-24
- [33] M. Vallet-Regí, «Ceramics for medical applications» *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (2001)97–108.
- [34] L.L. Hench, «Bioceramics: from concept to clinic» *J. Am. Ceram. Soc.* 74 (1991) 1487–1510.
- [35] G.Goller. H.Demirkiran «Processing and characterization of bioglass reinforced hydroxyapatite composites» *Ceramics International* Volume 29, Issue 6, 2003, Pages 721-724.
- [36] Y. E. Greish, P. W. Brown «Characterization of bioactive glass–reinforced HAP–polymer composites» *Journal of biomedical Materials Research*.
- [37] J.C. Elliot. «Structures and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates. *Studies in Inorganic Chemistry* 18». Amsterdam: Elsevier, (1994).
- [38]
- [39] Heimo Ylänen «Bioactive Glasses: Materials, Properties and Applications»
- [40] B. Sonny Bal, Delbert E. Day, Lynda F. Bonewald, Mohamed N. Rahaman, Qiang Fu, Steven B. Jung.«Bioactive glass in tissue engineering». *Acta Biomaterialia* 7 (2011) 2355–2373.
- [41] Omar Rodriguez, Ali Matinmanesh, Sunjeev Phull, Emil H. Schemitsch, Paul Zalzal, Owen M. Clarkin, Marcello Papini, and Mark R. Towler_«Silica-Based and Borate-Based, Titania
- [42] Goller G, Demirk.ran H, Oktar FN, Demirkesen E. «Processing and characterization of bioglass reinforced hydroxyapatite composites» *Ceram Int* 2003; 29:721–724.
- [43] Martin RA, Yue S, Hanna JV, Lee PD, Newport RJ, Smith ME, et al. «Characterizing the hierarchical structures of bioactive sol–gel silicate glass and hybrid scaffolds for bone regeneration». *Philos Trans R Soc A*2012;370:1422–43.
- [44] C.T. Liu E.H.Lee << *Scripta Metall* >>23(1989)
- [45] Helio Aguiar, Julia Serra, Pío González «Los vidrios bioactivos en el mundo de los biomateriales»

- [46] Mercier C, Follet-Houttemane C, Pardini A, Revel B. «Influence of P₂O₅ content on the structure of SiO₂–Na₂O–CaO–P₂O₅ bioglasses by Si and P» MAS-NMR. *J Non-Cryst Solids* 2011; 357:3901–9.
- [47] Helio Aguiar, Julia Serra, Pío González «Los vidrios bioactivos en el mundo de los biomateriales»
- [48] Hench LL, West JK. «The sol–gel process». *Chem Rev* 1990; 90:33–72.
- [49] Sepulveda P, Jones JR, Hench LL. «Characterization of melt-derived 45S5 and sol–gel-derived 58S bioactive glasses». *J Biomed Mater Res* 2001;58:734–40.
- [50] Lei B, Chen XF, Wang YJ, Zhao NR, Du C, Fang LM. «Surface nanoscale patterning of bioactive glass to support cellular growth and differentiation». *J Biomed Mater Res Part A* 2010;94A:1091–9.
- [51] Lin S, Ionescu C, Pike KJ, Smith ME, Jones JR. «Nanostructure evolution and calcium distribution in sol–gel derived bioactive glass». *J Mater Chem* 2009; 19:1276–82.
- [52] Li R, Clark AE, Hench LL. «An investigation of bioactive glass powders by sol–gel processing». *J Appl Biomater* 1991;2:231–9.
- [53] F. M. Stábile. S. Y. Martinez Stagnaro. J. Ortiga. C. Volzone. «Production of porous scaffolds from Bioglass 45S5-derived glasses» international Congress of Science and Technology of Metallurgy and Materials, SAM –CONAMET 2014
- [54] Ashley CE, Carnes EC, Phillips GK, Padilla D, Durfee PN, Brown PA, et al. «The targeted delivery of multicomponent cargos to cancer cells by nanoporous particle-supported lipid bilayers». *Nat Mater* 2011;10: 389–97.
- [55] Brunner TJ, Grass RN, Stark WJ. «Glass and bioglass nanopowders by flame synthesis». *Chem Commun* 2006; 13: 1384–86.
- [56] Pirhonen E, Niiranen H, Niemela T, Brink M, Tormala P. «Manufacturing, mechanical characterization, and in vitro performance of bioactive glass 13–93 fibers». *J Biomed Mater Res Part B* 2006;77B: 227–33.
- [57] Hench LL, Paschall HA. «Direct chemical bonding of bioactive glass-ceramic materials and bone». *J Biomed Mater Res Symp* 1973; 4:25–42.
- [58] Wilson J, Low SB. «Bioactive ceramics for periodontal treatment – comparative studies in the Patus monkey». *J Appl Biomater* 1992; 3:123–9.
- [59] 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, 276, 461–465.

- [60] Kokubo T, Takadama H.«How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?»Biomaterials 2006; 27: 2907–2915.
- [61] J.R. Cullen, A.E. Clark, M. Wun-Fogle, J.B. Restorf and T. Lograsso, J. Magn. Mater. 226-230 (2001)948.
- [62] K. Szymansky, D. Satula, L. Dobrzynsky, E. Voronina, E.P. Yesukov and T. Miyanaga, Phys. Rev. B 72 (2005)104409-1.
- [63] C.T. Liu, E.H. Lee and C.G. McKamey, «Scripta Metall».23 (1989) 875.

