

224



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO DE TEJIDO OSEO IMPLANTADO CON ACERO Y ZINALCO EMPLEANDO TECNICAS FISICAS.

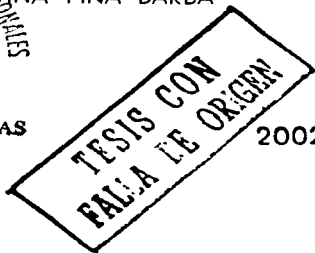
T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
EDUARDO VILLARREAL RAMIREZ



ASESORA PARA ESTUDIOS PROFESIONALES
MARIA CRISTINA PIÑA BARBA



MEXICO, D.F. FACULTAD DE CIENCIAS SECCION ESCOLAR



2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



ZINACANTAN
ESTADO DE QUERÉTARO
MEXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:
"Estudio de tejido óseo implantado con acero y Zinalco empleando técnicas
físicas"

realizado por Eduardo Villarreal Ramírez
con número de cuenta 9102200-6 , quién cubrió los créditos de la carrera de
Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis	Dra. Ma. Cristina Piña Barba	
Propietario	Dr. Lauro Bucio Galindo	
Propietario	Biol. Alfonso José Vilchis Peluyera	
Suplente	M. en C. José Ocotlán Flores Flores	
Suplente	Dra. Gertrudis Hortensia González Gómez	

FACULTAD DE CIENCIAS
M.

Consejo Departamental de Biología

Dra. Patricia Ramos Morales



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

A mi madre y a mi padre.

A mis hermanos: Dulce, Hesiquio y Hugo.

A ellos en última y en primera instancia.

Agradecimientos

A la Dra. Maria Cristina Piña Barba por su guía académica y por su maravillosa amistad.

Al Dr. Lauro Bucio Galindo por su gran presencia durante la elaboración de esta tesis y por los divertidos partidos de fútbol.

Al Biólogo Alfonso Vilchis Peluyera por sus valiosas aportaciones a esta tesis y por sus clases de biología molecular.

Al M. C. José Ocotlán Flores Flores por su enorme ayuda en la elaboración de los experimentos de ATG e IR, además de aportar sus conocimientos y experiencia en esta tesis.

A la Dra. Gertrudis Hortensia González Gómez por sus importantes contribuciones a esta tesis.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la educación recibida.

Al Instituto de Investigaciones en Materiales por todo el apoyo recibido para la realización de esta tesis.

Al Dr. Gabriel Torres Villaseñor pieza fundamental en esta investigación.

Al Médico Veterinario Benjamín León en la elaboración de las placas radiográficas y al Dr. Salvador Martín en la operación de los perros implantados.

A todo el personal del Instituto de Investigaciones en Materiales, especialmente a Sara Jiménez Cortés y Roberto Pérez Cisneros, por la ayuda técnica.

Al técnico académico Carlos Flores, del laboratorio de microscopía electrónica del Instituto de Física, en la elaboración de las muestras para microscopía electrónica.

A Adriana Tejeda y Nelly Medina, del grupo de biomateriales por sus valiosos consejos y por su grata compañía durante mi estancia en el IIM.

Al Dr. Octavio Álvarez Fregoso, por sus recomendaciones.

A Alejandro Heredia Barbero por el intercambio constante de información e ideas.

A Luis Fernando Lozano Aguirre-Beltrán, por proporcionar el termograma y el espectro de infrarrojo de tejido óseo fémur sano.

A los Dres. José Saniger Blesa, José Reyes Gasga por el apoyo logístico.

Al Dr. Pedro Bosch Giral por sus consejos para la presentación oral.

Al proyecto : BIOCERÁMICAS BASADAS COMPUESTOS DE CALCIO, con el número 31354-U, de CONACYT por la beca otorgada.

A todos mis amigos por los buenos momentos.

Y por último, a mi familia; abuelo, tíos y tías, primos y primas.

A todos gracias.

ÍTACA

Si vas a emprender el viaje hacia Ítaca, pide que tu camino sea largo, rico en experiencias, en conocimiento.

A Lestrigones y a Cíclopes, al airado Poseidón nunca temas, no los hallarás en tu ruta si alto es tu pensamiento y limpia la emoción de tu espíritu y tu cuerpo.

A Lestrigones y a Cíclopes, ni al fiero Poseidón hallarás nunca, si de tu alma no provienen, si no es tu alma quien los pone ante tí.

Pide que tu camino sea largo. Que numerosas sean las mañanas de verano en que con placer, felizmente arribes a bahías nunca vistas; detente en los emporios de Fenicia y adquiere hermosas mercancías, madreperla y coral, y ámbar y ébano, perfumes deliciosos y diversos, cuanto puedas invierte en voluptuosos y delicados perfumes; visita muchas ciudades de Egipto y con avidez aprende de sus sabios.

Ten siempre a Ítaca en la memoria. Llegar allí es tu meta. Mas no apures el viaje. Mejor que se extiendan largos años; y en tu vejez arribes a la isla con cuanto hayas ganado en el camino, sin esperar que Ítaca te enriquezca. Ítaca te regaló un hermoso viaje. Sin ella el camino no hubieras emprendido. Mas ninguna otra cosa puede darte.

Aunque pobre la encuentres, Ítaca no te ha engañado.

Rico en saber y en vida, como has vuelto, comprenderás lo que las Ítacas significan.

Konstantinos Petrou Kavafis

ΙΘΑΚΗ

Σα βρε ἴς στ ον π ηγα ἰ μό για τ ην ἰ θάκη.
να ε ὕ χεσαι νάι μα κρύς ο δρόμος,
γε μά ος π ε ρι π ά ε ἰ ε ς, γε μά ος γνώσε ἰ ς.
Του ς Δἰ στ ρυ γόνας και τ ου ς Κύ κλωπ ας,
τ ονθυ μῶμο Γβσε ἰ δώνα μη φοβῶσαι,
τ ά οια στ ονδρόμοσου π οτ άσου δε νθα βρε ἰ ς,
ανῆλ ησκάμἰς σου υ ψηλῆ ανε κλε κτ ῆ
συ γά ηστἰ στ οπ ν ε ὕ μα και τ ο σώμα σου αγγίξε ἰ.
Του ς Δἰ στ ρυ γόνας και τ ου ς Κύ κλωπ ας,
τ ον άηρι ο Γβσε ἰ δώνα δε νθα συ να ν ἴρε ἰ ς,
ανδε ντ ου ς κου βαε ἴς με ς στ ην ψυ χ ἴ ησου,
α ηησυ χ ἴ ησου δε ντ ου ς στ ἴε ἰ ε μ ρός σου .

Νε ὕ χεσαι νάι μα κρύς ο δρόμος.
Γβλλάτ α καλοκαιρι νάπ ροωῖ άνα ε ἰ α ἰ
π ου με τ ἴ ε υ χαρίστ ησι, με τ ἴ χαρά
θα μ α ἴνε ἰ ς σε λι μάς π ρωτ οε ἰ δώμου ς,
να σταματ ἴρε ἰ ς ἔ μ πορε ἰ α Φειν κικά
και τε ς καλές π ρα γιά ε ἰ ε ς να π οκτ ἴρε ἰ ς,
σε ν άρα και κοράλλια, κε χρι μ φια κῆφε νου ς,
και ηδου κάμ ρωδι κά κάθε λογιῆ,
οσο με ορε ἰ ς π ἰ δ άρθονα ηδου κάμ ρωδικά
σε π ὄλε ἰ ε Αἰ γυ π τ ια κές π ολλές να π α ς,
να μθε ἰ και να μθε ἰ ς α π τ ου ς π να δασμού ς.

Πνα στ ονιου σου νάχε ἰ ς τ ην ἰ θάκη.
Το φθάσἰ μονε κε ἴ ε ἰ ω ὄ πο ρορἰ σμός σου .
Αλλά η βἰ άε ς το τα ξε ἰ δι διόλου .
Καλλί τε ρα χ ρόνα π ολλάνα διαρκάε ἰ,
και γά ος π ἰ ά ν ά ράε ἰ ς στ ο ησι,
π λούσιος με ὅσα κέφἰσε ς στ ονδρόμο,
μη ροσδοκῶν άς π λούτ ηνα σε δώσε ἰ ηθάκη.
Η ἰ θάκη σ ἰ δωσε τ ὄωρα ἰ ο τα ξε ἰ δι.
Χαρίσ αυ τ ἴ ηδε νθόβῆαι ε ς στ ονδρόμο.
Άλλα δε νάχε ἰ να σε δώσε ἰ π ἰ α.

Κι αντ τ ω χ ἰ κῆ η ἴβε ἰ ς, η ἰ θάκη δε νσε γθασε .
Ἐτ ἰ σοφός π ου ἔ γινε ς, με τ ὄση π ε ἴρα,
ἴ ηθα το κατ ὄα βε ς η ἰ θάκε ς τ ἰ σημάι νυ

Κ. Π Καβάφης - 1910

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I.	
Conocimientos preliminares.....	2
Clasificación de los materiales.....	2
Materiales metálicos.....	2
Materiales poliméricos.....	3
Materiales cerámicos.....	4
Materiales compuestos.....	5
Biomateriales.....	6
Definición de biomateriales.....	6
Definición de biocompatibilidad.....	7
Definición de biofuncionalidad.....	8
Requisitos de un metal para ser biomaterial.....	8
Metales como biomateriales.....	9
Tejido óseo.....	11
Características generales.....	11
Estructura y función de las células óseas.....	11
Coordinación de las actividades celulares durante el desarrollo y la maduración del esqueleto.....	13
Formación del Esqueleto.....	14
La aleación zincalco.....	15
Propiedades físicas.....	15
Microestructura.....	16
Clavos ortopédicos intramedulares, empleo y expectativas.....	16
Antecedentes del zincalco como biomaterial.....	18
CAPITULO II.	
Técnicas utilizadas para el análisis de la bio-compatibilidad del zincalco.....	20
Radiodiagnóstico.....	20
Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).....	21
El método del "ion sputtering".....	22
Análisis termogravimétrico (ATG).....	23
Espectroscopía de infrarrojo (IR).....	24
CAPITULO III.	
Objetivos.....	26
Material y método.....	26
CAPITULO IV.	
Resultados.....	29
CAPITULO V	
Discusión y conclusiones.....	50
Referencias.....	53

INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de mejorar la calidad de vida de las personas, desde finales de los años 30's y principios de los años 40's se ha investigado el desarrollo de nuevos materiales para reemplazar tejidos y órganos de los seres vivos que ante la adversidad tienen la necesidad de ser sustituidos. Es por ello, que la investigación de nuevos biomateriales es un compromiso para varios científicos de las Ciencias en Materiales.

Para las personas que han sufrido algún percance se convierte en una exigencia primaria, volver a recuperar la funcionalidad o la estética del órgano o tejido dañados en el menor tiempo posible. Por consiguiente, el desarrollo de biomateriales puede ser visto como una necesidad básica, en un sector de la población.

Es completamente cierto que la mayoría de la población de nuestro país, por sus condiciones socioeconómicas no pueden acceder a productos médicos encarecidos. Por lo tanto no sólo debe pensarse en el desarrollo de biomateriales, sino también debe considerarse que los costos de los mismos sean accesibles.

La mayoría de los implantes metálicos intramedulares comerciales para hueso, están basados en aleaciones de titanio, cobalto y acero, estas tienen un costo significativo, aún cuando el Estado (SSA, IMSS, ISSSTE) absorba parte de los gastos de las mencionadas aleaciones. Por estas razones, nace el interés por desarrollar biomateriales que reúnan características de biocompatibilidad y tengan bajo costo en su elaboración.

La aleación zinalco tiene propiedades físicas y mecánicas que cubren las necesidades de un biomaterial ortopédico para sustitución de hueso, por lo cual se ha propuesto como biomaterial. En las pruebas preliminares de biocompatibilidad *in vitro* se encontró que el zinalco no producía daño citotóxico significativo. Por lo que se estimó que se tenían las antecedentes y las condiciones para realizar pruebas *in vivo* ⁽⁵⁷⁻⁶³⁾.

Para los experimentos *in vivo* se trabajó con *Canis familiaris*, las cirugías para la implantación intramedular del zinalco en los fémures de los cánidos se llevaron a cabo en el Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la UNAM por el Dr. Salvador Martín Mandujano.

Parte de los resultados de esta investigación son los que conforman la presente tesis.

CAPITULO I

CONOCIMIENTOS PRELIMINARES

CLASIFICACIÓN DE LOS MATERIALES

Desde el comienzo de la civilización, los materiales han sido utilizados por el hombre para mejorar su nivel de vida. Podemos encontrar materiales en cualquier lugar de nuestro entorno. Algunos de los materiales que más comúnmente nos encontramos son: madera, hormigón, ladrillo, acero, plástico, vidrio, tela, y papel, pero hay muchas más clases de materiales; sólo hace falta mirar a nuestro alrededor para darse cuenta de ello. La mayoría de los materiales se incluyen dentro de cuatro grandes grupos: materiales metálicos, poliméricos, cerámicos y compuestos ⁽¹⁾.

MATERIALES METÁLICOS

Los materiales metálicos están formados por uno o más elementos metálicos y pueden contener también algunos elementos no metálicos. Ejemplos de elementos metálicos son: hierro, cobre, aluminio, níquel y titanio. Elementos no metálicos que pueden estar contenidos en los materiales metálicos son: carbono, nitrógeno y oxígeno. Los metales tienen una estructura cristalina en la que los átomos están dispuestos de una manera ordenada, son en general buenos conductores térmicos y eléctricos. Muchos metales tienen relativamente alta resistencia mecánica y son dúctiles a temperatura ambiente, y algunos tienen elevada resistencia a la fusión a altas temperaturas.

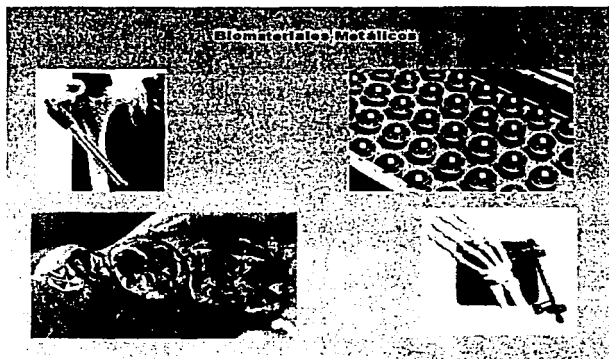


Figura 1. Ejemplos del uso de los metales como biomateriales.

Los metales también pueden formar aleaciones, pues una aleación metálica es una combinación de dos o más metales o un metal y un no metal. Los metales y aleaciones se

dividen normalmente en dos grupos: metales y aleaciones ferrosas, que contienen un gran porcentaje de hierro tales como aceros y hierros fundidos, y aleaciones y metales no ferrosos, que no contienen hierro o contienen cantidades relativamente pequeñas de hierro. Ejemplos de metales no ferrosos son Al, Cu, Zn, Ti y Ni⁽¹⁾.

El uso de metales puros en el cuerpo humano es limitado debido a una dureza limitada y su tendencia a una rápida corrosión. Para evitar estas dificultades, los metales más comúnmente usados son las aleaciones (Fig. 1). Muchas aleaciones son utilizadas en Medicina y en Odontología, como 1) la aleación plata-estaño-mercurio-cobre que es utilizada para amalgamas dentales; 2) aleaciones cromo-cobalto en aplicaciones dentales, válvulas cardíacas, para fracturas de articulaciones y de huesos largos; 3) aleaciones de titanio como clavos intramedulares, para fracturas de cadera y 4) acero inoxidable en fracturas, anillos cardiovasculares e hilos de acero (Tabla I)^(2,3,4,5).

METALES CON APLICACIONES MEDICAS	
Aplicación	Metal
Implante de cadera	Aleaciones de Ti
Amalgamas dentales	Aleaciones Ag-Sn-Cu, Laminas de Au-Platino
Placas para fracturas	Acero inoxidable
Hilos para suturas	Aleaciones Cr-Co
Válvulas cardíacas	Aleaciones Cr-Co
Implantes para articulaciones	Aleaciones Cr-Co-Ti
Clavos ortopédicos	Aleaciones Ti
Tornillos ortopédicos	Aleaciones Cr-Co-Ti
Anillos vasculares	Acero inoxidable, nitinol

Tabla I. Aleaciones y usos comunes en el campo de los biomateriales.

MATERIALES POLIMÉRICOS

La palabra polímero literalmente significa "muchas piezas". Por definición se puede decir que son, materiales que constan de cadenas moleculares largas de elementos de bajo peso atómico como carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Un polímero es una especie química que se distingue por su alto peso molecular que consiste en una cadena de "unidades de base" idénticas y repetidas. También se les conoce con el nombre de macromoléculas^(1,106). De entre los polímeros destacan por su utilización, los polímeros *plásticos* y *elastómeros*. Los polímeros plásticos, un grupo grande y variado grupo de materiales sintéticos que se procesan mediante el moldeado de la forma. Al igual que tenemos muchos tipos de metales, como el aluminio y el cobre, tenemos muchos tipos de plásticos, como el polietileno y el nylon. Los polímeros plásticos pueden dividirse en dos clases, termoplásticos y termoestables. Los elastómeros pueden deformarse grandemente de forma elástica cuando se les aplica una fuerza y pueden volver a su forma original (o casi) cuando se elimina la fuerza⁽¹⁾.

Los polímeros termoplásticos necesitan calor para deformarse y al enfriarse mantienen la forma a la que fueron moldeados. Estos materiales pueden calentarse y volverse a moldear un buen número de veces sin cambio, significativo de sus propiedades. La mayoría de los termoplásticos consisten de cadenas principales muy largas de átomos de carbono enlazados entre sí. Puede suceder que átomos o grupos de átomos, se enlacen de forma covalente a la cadena principal de átomos. En los polímeros termoplásticos constan de largas cadenas moleculares se enlazan entre sí mediante enlaces secundarios.

Los plásticos termoestables tienen una forma permanente y se curan mediante una reacción química, no se pueden refundir y remodelarse en otra forma, sino que se degradan o descomponen cuando son calentados a temperaturas demasiado altas. Por ello, los plásticos termoestables no pueden ser reciclados. La mayoría de los plásticos termoestables consisten en una red covalente de átomos de carbono enlazados entre sí para formar un sólido rígido. Algunas veces el nitrógeno, oxígeno, y azufre se enlazan de forma covalente en la red de la estructura reticular del plástico termoestable ⁽¹⁾.

Los polímeros se usan extensamente en medicina debido a sus propiedades físicas, similares a las que presentan los tejidos suaves de los organismos. Se usan en un sin número de dispositivos médicos, incluyendo vendajes de heridas, catéteres, para reemplazar tendones y ligamentos, implantes vasculares, lentes intraoculares, etc (Fig. 2) ^(2,6).

BIOMATERIALES BASADOS EN POLÍMEROS

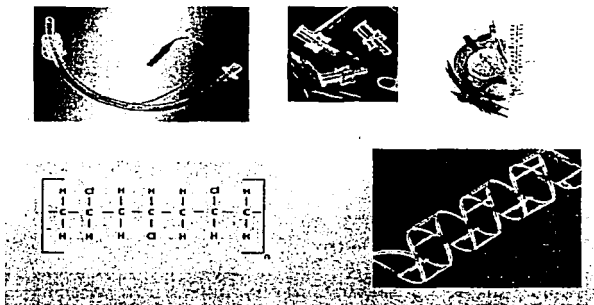


Figura 2. Algunos polímeros utilizados en la medicina.

MATERIALES CERÁMICOS

Los materiales cerámicos, son materiales inorgánicos no metálicos, constituidos por elementos metálicos y no metálicos, enlazados principalmente por enlaces iónicos y/o covalentes. Las composiciones químicas de los materiales cerámicos varían considerablemente, desde compuestos sencillos a mezclas de muchas fases complejas enlazadas.

Las propiedades de los materiales cerámicos varían mucho debido a las diferencias en los enlaces. En general, los materiales cerámicos son típicamente duros y frágiles con baja tenacidad y ductilidad, usualmente se comportan como buenos aislantes eléctricos y térmicos debido a la estabilidad de sus fuertes enlaces ⁽¹⁾.

En general, las biocerámicas pueden clasificarse como sigue ⁽⁷⁾:

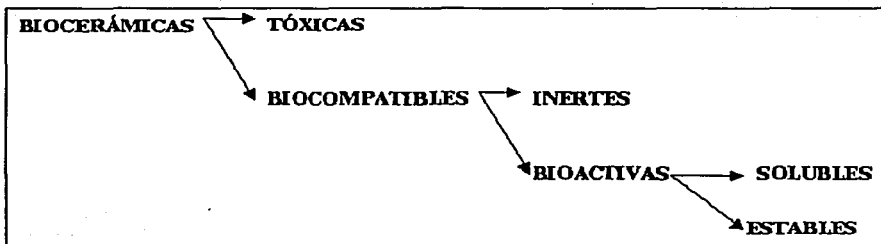


Figura 3. Clasificación de las biocerámicas.

MATERIALES COMPUESTOS

El diccionario describe el término "compuesto" como algo formado por varias partes o constituyentes. A nivel atómico, los materiales metálicos y materiales poliméricos podrían ser llamados materiales compuestos dado que constan de distintas agrupaciones atómicas. A nivel microestructural (alrededor de los 10^{-4} a 10^{-2} cm) una aleación metálica como acero que contenga ferrita y perlita podría ser llamada material compuesto, puesto que la ferrita y la perlita son constituyentes visiblemente distintos si los observamos en un microscopio óptico. A nivel macroestructural (alrededor de 10^{-2} cm) un plástico reforzado de fibra de vidrio, en el que las fibras de vidrio sean distintas a simple vista, podría ser considerado como material compuesto. Por lo antes expuesto, se comprende la dificultad de definir el término material compuesto o composite (composite; anglicismo integrado al léxico común de las ciencias en materiales), pues la dificultad radica en las limitaciones de tamaño que imponemos a los constituyentes del material. Una definición válida de material compuesto es:

Un material compuesto es un sistema de materiales constituido por una mezcla o combinación de dos o más micro o macro-constituyentes que difieren en forma y composición química y que son esencialmente insolubles entre sí.

La importancia de un material compuesto en la ciencia de materiales reside en que dos o más materiales distintos se combinan para formar un material compuesto cuyas propiedades sean superiores, a las de sus componentes ^(1,2).

Los materiales compuestos no han sido utilizados de forma extensa en la medicina, debido a la limitada investigación para evaluar estos materiales. La mayoría de los compuestos estudiados son ácido poliláctico y fibras de carbón reforzadas con polietileno. Estos materiales se utilizan para reemplazar tendones y ligamentos y para articulaciones e implantes faciales. Un problema asociado con el uso de estos materiales es la ruptura del

implante, originando migración de las fibras de carbón dentro de los nodos linfáticos. Por lo que se han complicado las aplicaciones de estos materiales. Los materiales compuestos biológicos son mucho más frecuentes. El tejido conectivo es un ejemplo de un material compuesto debido a que contiene fibras de colágena embebidas en una matriz de proteoglicanos y agua⁽²⁾.

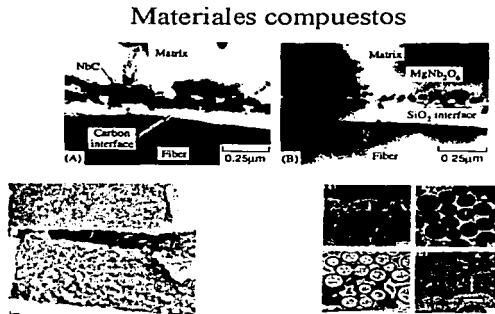


Figura 4. Ejemplos de materiales compuestos naturales y artificiales.

BIOMATERIALES

DEFINICIÓN DE BIOMATERIALES

Históricamente, el registro más antiguo del uso de un material para prótesis data del año 484 A.C. por Herodoto, quien narra como le fue amputada una pierna a un hombre para escapar de la muerte en prisión y más tarde cómo le fue substituida por una de madera⁽⁸⁾.

Actualmente, los científicos que trabajan en el área de biomateriales son los responsables de desarrollar reemplazos para tejidos y órganos afines en estructura y función (figura 5)⁽²⁾.

Los biomateriales se elaboran para sustituir a tejidos naturales y órganos del cuerpo humano, y no sólo incluyen materiales de origen sintético; en este contexto incluyen todos los materiales que deriven de otros organismos vivos que son tratados para su posterior implantación⁽⁸⁾.

Biomaterial es un material simple o complejo, usado solo o como parte de un dispositivo médico en la interacción con los tejidos humanos, para examinar funciones del cuerpo y/o tratar condiciones patológicas del mismo^(9,10).

También se ha acuñado una nueva palabra para tratar de definir el concepto clásico de "biomateriales", este nuevo término es "Biological Performance" o desempeño biológico

en su traducción más literal⁽¹¹⁾, se refiere a la interacción entre los tejidos vivos y los materiales. La introducción del nuevo término comprende otros dos términos relacionados:

Respuesta del huésped: La respuesta local o respuesta sistémica, o alguna otra respuesta del organismo hacia el material.

Respuesta del material: La respuesta del material en el organismo en el que está implantado.

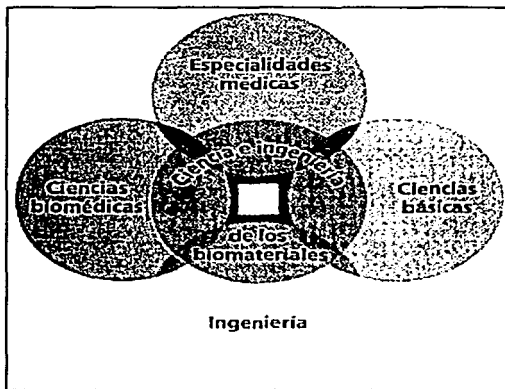


Fig. 5 El campo de los biomateriales, necesariamente multidisciplinario.

DEFINICIÓN DE BIOCOMPATIBILIDAD

Es la capacidad de un material para adaptarse adecuadamente a las respuestas del hospedero en una situación específica⁽¹²⁾.

Biocompatibilidad puede definirse como la capacidad de un biomaterial para obtener una respuesta apropiada del tejido y del material cuando este es implantado⁽¹⁰⁾. Cuando un biomaterial tiene un comportamiento esperado en una determinada aplicación se dice que existe una adaptación biológica conveniente⁽¹³⁾.

La biocompatibilidad de un biomaterial (dispositivo médico o implante) en una aplicación específica está referida a la capacidad del material para obtener una respuesta apropiada del huésped⁽¹¹⁾. La biocompatibilidad también se subordina a la localización del implante, pues el organismo puede tener reacciones desiguales al implante dependiendo de su colocación en el cuerpo. Por ejemplo, un implante de colágena subcutáneo puede estimular la angiogénesis y ayudar en la regeneración del tejido. Sin embargo, el mismo implante en la córnea para protección después de una cirugía, promueve la angiogénesis puede ser

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

indeseable y llevar a la pérdida de la visión. Por lo tanto, la biocompatibilidad es depende de la aplicación⁽¹⁴⁾. Además, la biocompatibilidad depende del tiempo. Un implante puede ser biocompatible para aplicaciones a corto tiempo, pero no a largo tiempo. También puede ser de forma inversa, un implante puede disparar una respuesta negativa a corto plazo y tener una buena respuesta a largo tiempo⁽¹⁵⁾.

DEFINICIÓN DE BIOFUNCIONALIDAD

La biofuncionalidad está definida como la capacidad de un implante para satisfacer la(s) función(es) requerida(s) con un mínimo de reacciones adversas⁽¹⁶⁾.

Para el estudio de la biofuncionalidad se requieren conocimientos básicos de biomecánica, anatomía patológica y fisiología del miembro implicado, etc^(16,17). En la interfase tejido-implante se puede evaluar la reacción del organismo a la presencia del implante. Parte de las respuestas del organismo son originadas por reacciones celulares, que están directamente relacionadas con la biocompatibilidad del implante, las células no sólo son sensibles al ambiente químico sino también a otros aspectos físicos, los cuales, se relacionan principalmente con la función del implante, de hecho, la reducción en la cantidad de reacciones desfavorables del tejido alrededor de un implante es tarea parcial de la biofuncionalidad^(18,19).

REQUISITOS DE UN METAL PARA SER BIOMATERIAL

Una aleación metálica que pretenda ser utilizada en el campo de los biomateriales, debe tener una buena resistencia a la corrosión y de preferencia debe pasivarse —pasivación se refiere a la corrosión de la superficie de implante, formando una capa que evita la extensión de la corrosión—, en el menor tiempo posible dentro del organismo implantado^(3,20). Otro punto importante es la biocompatibilidad que presente el metal. Si un material no presenta una biocompatibilidad satisfactoria iniciará procesos de inflamación y reacciones a cuerpo extraño por parte del organismo⁽⁵⁾. Se requiere de una buena bioadhesión del tejido al implante, ya que en el caso de que no existiera una buena bioadhesión, podrían iniciarse micromovimientos del implante en el organismo lo cual causará efectos secundarios de diferentes índoles (inflamación, dolor, etc.)⁽¹³⁾. Las propiedades físicas del implante son de vital importancia, por ejemplo en el caso específico de tejido óseo una de sus funciones es la de soporte, por lo tanto el metal debe tener propiedades mecánicas similares a las del tejido óseo. Es de igual importancia asegurarse que el metal propuesto como biomaterial, pueda manufacturarse a gran o mediana escala, pues como mencionamos en la introducción buscamos mejorar la calidad de vida del mayor número de personas posible. También, es importante buscar un material de alta calidad y de bajo costo. Debido a todos estos requisitos sólo unas pocas aleaciones pueden ser considerados⁽²¹⁾.

METALES COMO BIOMATERIALES

Después de la Segunda Guerra Mundial, muchos médicos se dedicaron a perfeccionar el tratamiento de las fracturas óseas, en particular con el uso de clavos metálicos y alambres en la fijación de fracturas. Considerando sólo la parte física y química del material se encontró que los implantes metálicos pueden fallar por fractura o por corrosión⁽²²⁾. Para evitar estas dificultades, los metales más comúnmente usados son aleaciones, aún así se puede presentar la corrosión. Por esa razón, es común que las prótesis metálicas en el cuerpo humano logren ser una fuente de iones, hasta ahora no se conoce prótesis alguna que dure el curso de una vida. Algunos de los mecanismos percibidos en las fracturas tienen incluida la carencia de integración del hueso con la interfase metálica. Un problema básico, es que sus propiedades mecánicas deben ser similares a las del hueso, la mayor diferencia entre los metales y el hueso se encuentra en sus propiedades viscoelásticas⁽²⁾.

Una forma de evaluación es a través del estudio del sistema tejido-implante, pues varias interacciones se generan en los tejidos del huésped. Los siguientes son ejemplos característicos de dichas interacciones⁽²³⁻²⁸⁾:

- i. Daño orgánico, por reacción directa del implante o por los productos de corrosión primaria con proteínas del tejido, logrando causar una inflamación.
- ii. Generación de H_2O_2 por las células inflamadas y descomposición de H_2O_2 por formación de un radical hidroxilo que puede dañar los sistemas biológicos. La liberación de iones del implante puede causar necrosis o apoptosis de los tejidos circundantes a la prótesis.
- iii. Los iones liberados del implante son transportados por los fluidos corporales a diferentes órganos donde se concentran y producen efectos sistémicos o efectos de hipersensibilidad (toxicidad) de un órgano.
- iv. Por procesos de corrosión, el flujo de iones dentro de los tejidos puede ser distribuido por movimientos fisiológicos de los iones a las células nerviosas.

Si ocurre o no alguna de estas interacciones dependerá de las propiedades físicas o químicas del metal implantado.

Los metales tienen diferentes efectos en los organismos y las formas de reacción pueden ser muy complejas, estas pueden ser estudiadas respecto a la concentración, tiempo de exposición y ruta de administración.

- A concentraciones muy bajas, algunos elementos como el cobalto, cobre, cinc, hierro, manganeso y níquel son elementos esenciales.
- A concentraciones altas o excesivas, las sustancias pueden inducir reacciones tóxicas en organismos humanos y otros animales. Los elementos que han sido reconocidos extensamente como tóxicos son: arsénico, cobalto, cobre, níquel y otros. Los efectos citotóxicos de los iones metálicos han sido investigados en cultivos de tejidos.

Los iones metálicos tienen potencial alergénico, es decir, producen reacciones inmunes. El níquel, cobalto y cromo son reconocidos por ser agentes sensibilizadores, además no son pocos los casos en los que se pueden producir alergias o dermatitis por contacto.

Todos los metales, en contacto con sistemas biológicos, presentan corrosión y liberación de iones y pueden activar el sistema inmune para la formación de complejos con proteínas nativas. Se ha demostrado la existencia de anticuerpos, ante la presencia de complejos metal-proteína en pacientes con implantes de aleaciones de Cobalto. Debido a su bajo peso atómico y a la simplicidad de su estructura, los iones metálicos pueden ser capaces de inducir directamente cualquier respuesta humoral o mediada por células. Por esto, pueden llegar a interferir en los procesos metabólicos, y tomar parte en reacciones de oxidación inapropiadas y/o interferir en procesos por intercambio de iones. Debido a esto, se pueden presentar efectos estimuladores e inhibidores, a determinadas funciones. Otro punto de gran importancia, es que ningún metal es completamente puro, existen en ellos muchos elementos traza, aunque no tienen de forma inmediata un efecto tóxico si pueden afectar de forma secundaria. Muchos de estos efectos, no son considerados por numerosos investigadores del campo de biomateriales.

Los iones metálicos en el hueso, tienen influencia en la tasa de crecimiento de la regeneración ósea. En el hueso existen vías para incorporar materiales exógenos, especialmente en el caso de los implantes metálicos, ya que los iones serán absorbidos con suma facilidad, lo cual, es determinante en los eventos de implantación. También es conocido que existen enzimas asociadas al crecimiento óseo, que requieren de ciertos metales y las deficiencias y toxicidad de los iones metálicos afectan la tasa de crecimiento del hueso en formación. La actividad de las enzimas depende de metales como el Cu y Zn, y estas enzimas pueden ser indicadoras de crecimiento óseo⁽²⁷⁾.

También es común que, los implantes metálicos provoquen una reacción de inflamación crónica debida a la corrosión. Los iones metálicos en el hueso pueden producir reacciones inflamatorias que posteriormente inducirán la necrosis celular o apoptosis, la pérdida del hueso periprotético, muerte de tejido óseo u osteólisis, formación de tejido fibrilar en una forma crónica y efectos sistémicos, dependiendo del tiempo y la dosis⁽²⁹⁾.

TEJIDO ÓSEO

CARACTERÍSTICAS GENERALES

El hueso, o tejido óseo, es una forma de tejido conectivo duro especializado, que provee de varias funciones para los animales vertebrados como soporte, locomoción, protección de órganos, almacén de componentes químicos, homeostasis de Ca y transmisión de sonido⁽³⁰⁾. Este tejido puede considerarse un material compuesto o composite (anglicismo integrado al vocabulario de la ciencia de materiales), formado principalmente por dos fases, la orgánica formada principalmente de fibras de colágena y la inorgánica que es el carbonato de hidroxapatita (CHAp)⁽³¹⁾. El hueso está compuesto de una matriz orgánica fortalecida por depósitos de sales de calcio. La *colágena tipo I* constituye aproximadamente el 95% de la matriz orgánica; el remanente 5% está compuesto por numerosas proteínas no-colágenas y proteoglicanos. Las fibras de colágena contribuyen en gran medida a la resistencia a la tensión y elasticidad del hueso^(32-36,45). Las sales minerales depositadas en la matriz orgánica de hueso, están bajo control celular, primariamente calcio y fosfatos en forma de $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ o Hidroxapatita en cristales cilíndricos con diámetros de 20 a 70 Å y longitudes de 50 a 100 Å. De las sales inorgánicas dependen la dureza y la rigidez del hueso⁽³⁷⁻⁴²⁾.

El hueso presenta dos formas morfológicamente diferentes: *hueso compacto o denso* y *hueso esponjoso o trabecular* (figura 6, A). El hueso esponjoso incluye trabéculas irregulares delgadas tabiques que se ramifican y unen entre sí para formar una trama reticular o matriz porosa, cuyos espacios están llenos de médula ósea, debido a que el hueso trabecular realiza funciones metabólicas. En el hueso compacto, los paquetes de fibras de colágena densas forman láminas; las fibras en las láminas corren adyacentemente en un plano perpendicular como tablón de madera, lo que le da un aspecto sólido. El hueso compacto cumple primariamente funciones mecánicas y de protección^(43,44).

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS CÉLULAS ÓSEAS

El hueso está compuesto por cuatro tipos de células: *osteoblastos*, *osteoclastos*, *células forro del hueso* y *osteocitos*. Los osteoblastos, osteocitos y células forro del hueso tienen su origen de un osteoprogenitor local, mientras los osteoclastos provienen de precursores mononucleares, los cuales se originan en varios tejidos hematopoyéticos (Figura 6, B).

Los osteoblastos se encuentran junto a la superficie del hueso, en donde se deposita la matriz y varían en forma, algunos son cúbicos y otros piramidales, se encuentran en una capa continua que sugiere un ordenamiento epitelial. Son células diferenciadas responsables de la producción de la matriz ósea. Los osteoblastos son células productoras de proteínas por lo cual tienen un prominente aparato de Golgi con un desarrollado retículo endoplásmico. Este secreta la colágena tipo I y las proteínas no colágenas. Aún no se conocen las funciones que realizan las proteínas no colágenas. Los osteoblastos son los encargados de la mineralización de la matriz, aunque estos mecanismos no están completamente estudiados. En el tejido óseo, la mineralización se inicia desde afuera de la superficie celular en vesículas de la matriz que brotan de la membrana plásmática de los osteoblastos.

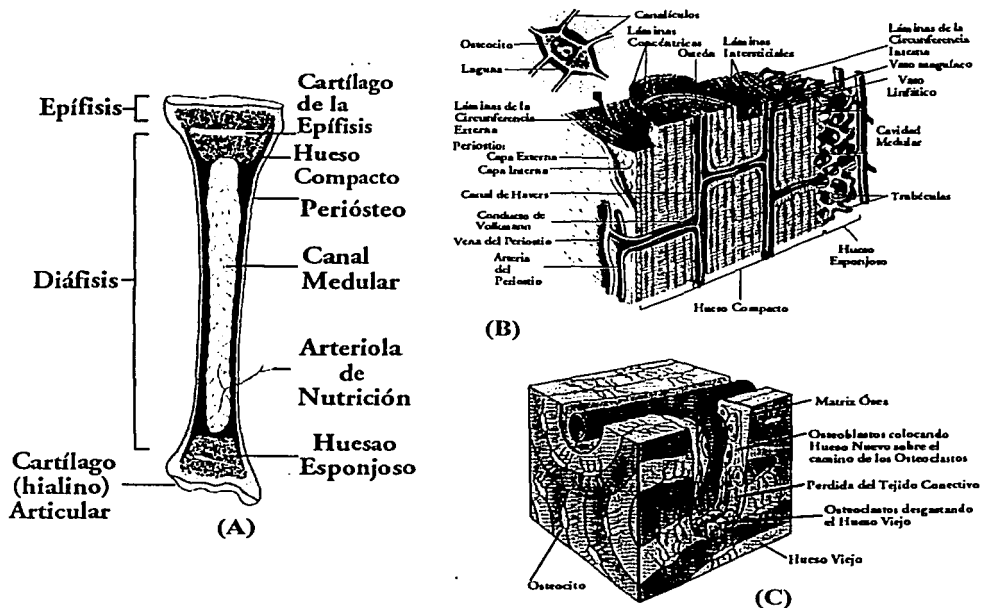


Figura 6. La figura (A) se muestra un corte del fémur, mostrando sus principales estructuras. En la figura (B) se observa un corte esquemático a mayor aumento del hueso, donde se observan los sistemas de Havers y otras estructuras importantes. En la figura (C) se observan las células óseas, realizando sus actividades correspondientes.

En el hueso lamelar el mecanismo de mineralización parece ser diferente, la mineralización empieza de la región hueca por medio de moléculas de colágena superpuestas donde éstas son pocas. En cualquiera de estos mecanismos de mineralización, la colágena es necesaria para la iniciación y propagación. La matriz de deposición es próxima a la superficie del hueso, los osteoblastos producirán la siguiente capa de osteocitos en forma periódica. Esta deposición mineral la hace impermeable y asegura una línea de vida metabólica, los osteocitos establecen conexiones citoplasmáticas con células adyacentes antes de la mineralización.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los osteocitos son osteoblastos maduros dentro de la matriz ósea y son los responsables de la manutención celular. Estas células tienen la capacidad de sintetizar y reabsorber a la matriz en sus límites. Cada osteocito ocupa un espacio o laguna dentro de la matriz ósea y por procesos filopodiales atraviesa la matriz en medio de canaliculos para establecer contacto celular con las células adyacentes, logrando uniones tipo gap. Dado que la difusión de nutrientes y metabolitos a través de la matriz mineralizada es limitada, las conexiones filopodiales permiten la comunicación intercelular de osteocitos de la superficie interna y externa del hueso, y también con los vasos sanguíneos atravesando la matriz. La capacidad funcional de los osteocitos se puede comprobar por su estructura. Los osteocitos producen matriz pues tienen los organelos celulares característicos de los osteoblastos, además los osteocitos tienen propiedades osteolíticas, pues poseen vacuolas lisosomales y otras características de las células fagocíticas.

Las células forro del hueso son aplanadas, son células inactivas que cubren las superficies del hueso, éstas no actúan ni en la resorción ni en la formación ósea. Como estas células están inactivas tienen pocos organelos citoplasmáticos, y se conoce poco sobre las funciones celulares de estas células; se ha especulado que las células forro pueden ser precursoras de los osteoblastos.

Los osteoclastos son células alargadas, multinucleadas, que tienen por función la resorción ósea. Cuando están activados los osteoclastos descansan directamente en la superficie del hueso y tienen dos membranas plásmicas especializadas: una con borde arrugado y la otra con una zona clara. El borde arrugado es central y sirve como punto de fijación del osteoclasto a la matriz ósea subyacente. La actividad osteoclástica exhibe una polaridad característica. El núcleo se localiza típicamente en la parte más distante de la superficie ósea y están interconectados por proteínas del citoesqueleto. Además contiene múltiples núcleos, aparatos de Golgi apilados, una alta densidad de mitocondrias y abundantes vesículas lisosomáticas que rodean el aparato de Golgi. En el hueso, la matriz se produce y mineraliza por los osteoblastos y osteocitos, la resorción primaria ocurre por los osteoclastos, pero en la zona perilacunar la resorción puede ocurrir alrededor de los osteocitos.

COORDINACIÓN DE LAS ACTIVIDADES CELULARES DURANTE EL DESARROLLO Y LA MADURACIÓN DEL ESQUELETO.

Las actividades de formación y resorción del hueso varían con relación a la edad de cada persona (figura 6, C). Las dos primeras décadas son dedicadas al desarrollo del esqueleto, llamado *proceso de modelamiento*. Durante este periodo, la formación necesariamente excede a la resorción ósea. Estas actividades son temporales y relativamente espaciadas. Durante las siguientes tres décadas el esqueleto de los adultos se mantiene por el reemplazamiento y movimientos de fracciones del hueso cada año. Durante este tiempo la formación del hueso es igual a la resorción; este es el *proceso de acoplado*. El hueso compacto por resorción osteoclástica produce una abertura cónica a través del sistema Haversiano, y la subsecuente reformación de este sistema produce osteones de desigual edad, talla y configuraciones (figura 6, inciso C). Después de la quinta década, la fase de formación y remodelamiento del hueso cambia para dar paso a una mayor actividad en la resorción, un *proceso de remodelamiento*. La masa esquelética, incluida la conectividad trabecular ósea, decrece. Esta reducción del esqueleto tanto en la talla y fortaleza del hueso

incrementa el riesgo de una fractura. Los cambios de modelamiento y remodelamiento, acoplamiento y desacoplamiento, son a causa de las influencias entre los osteoblastos, osteoclastos y viceversa.

FORMACIÓN DEL ESQUELETO

La formación del esqueleto se da por medio de dos procesos, indirecto o endocondral y directo o intermembranoso; ambos requieren un buen soporte vascular para la elaboración y mineralización de la matriz extracelular.

La osificación intramembranosa tiene lugar durante el desarrollo embrionario por transformación directa de las células del mesénquima en osteoblastos. Este tipo de osificación para huesos enteros es restringido para huesos de la bóveda del cráneo, algunos huesos faciales, partes de la mandíbula y clavícula entre otros.

La formación ósea endocondral o intracartilaginosa entraña la sustitución de un tejido cartilaginoso por hueso, este proceso se observa mejor en los huesos largos. Durante el desarrollo, el cartilago es reemplazado por hueso, salvo en las caras articulares, pero se logra hasta que el hueso alcanza su tamaño definitivo. El modelo cartilaginoso temprano sigue un crecimiento por aposición y por crecimiento intersticial. La osteogénesis se inicia con un área en forma de banda en el pericondrio que rodea al centro de la diáfisis. Las células del pericondrio vecinas al cartilago experimentan hipertrofia y se transforman en osteoblastos y comienzan a formar un hueso tipo intramembranoso. Este último, es el anillo o collar perióstico que rodea la zona media de la región diafisaria del cartilago. El pericondrio alrededor de esta zona se transforma en perióstico. Con la aparición del collar óseo, se observan cambios en el cartilago. En el centro de la diáfisis, las células cartilaginosas experimentan hipertrofia y la matriz entre las lagunas se reduce y se calcifica.

Por hendiduras en el collar óseo, las yemas del tejido conjuntivo, junto con los vasos sanguíneos, crecen en la región de la matriz cartilaginosa transformada, estas son yemas periósticas que penetran en las aberturas entre las células cartilaginosas de mayor tamaño y las cavidades abiertas. Las cavidades constituidas de esta manera se llaman espacios medulares primarios, que contienen vasos sanguíneos, de pared delgada y células embrionarias del tejido conjuntivo, que se transformarán en osteoblastos e incluirán la matriz cartilaginosa calcificada, en primer término con osteoide, enseguida en hueso calcificado, al igual que en la formación del hueso intramembranoso.

En el caso de una fractura, la reparación ósea es muy similar a la formación del hueso y comprende tres estados: inflamación, reparación y remodelación. La primera reacción a una fractura es la formación de coágulos sanguíneos. Los coágulos liberan sustancias quimiotácticas para células fagocíticas, que removerán los desechos celulares del sitio de la fractura. Después se forman fibras de colágena individuales, estas fibras se organizan en grupos y serán mineralizadas, la matriz orgánica desordenada será reabsorbida dentro de un lapso de dos a tres semanas. Esta es la fase inflamatoria. El proceso de reparación continúa con la proliferación de osteoblastos del periostio alrededor de la fractura para cubrir los coágulos sanguíneos. Las células madre del mesenquima (CMM) migran al área de fractura, si la fractura es mecánicamente estable se diferencian en osteoblastos para ayudar a la regeneración del tejido, de la cuarta a la octava semana. Esta es una respuesta adecuada del tejido. Si la fractura es inestable, las CMM se diferencian en condrocitos que secretan colágena que funcionará como un puente temporal. Este tejido cartilaginoso se llama callo de la fractura. El cartilago es reemplazado por tejido óseo por la formación del hueso

endocondral. En la fase del remodelado óseo, el tejido óseo es gradualmente reabsorbido y remplazado con hueso lamelar⁽⁴⁵⁻⁵⁴⁾.

LA ALEACIÓN ZINALCO

En México se ha desarrollado una familia de aleaciones Zn-Al-Cu, basadas fundamentalmente en la aleación Zn-Al de composición eutécticoide. Esta familia de aleaciones se ha caracterizado con el nombre de zinalco, cuya patente y marca registrada pertenecen a la Universidad Nacional Autónoma de México^(55,56).

México es un productor importante de cinc primario y concentrados de cinc, su volumen de producción es tan alto que la demanda nacional apenas es capaz de consumir sólo el 50%. La búsqueda de aplicaciones de cinc como elemento primario en la fabricación de aleaciones con características de adaptarse a los procesos convencionales de conformado mecánico se remonta a finales del siglo XIX. Los primeros estudios se desarrollaron en Alemania y su finalidad era aplicar el cinc dentro de productos laminados. Entre las aleaciones basadas en cinc, uno de los sistemas de mayor potencial de aplicación es el Zn-Al en la región rica en cinc.

En México, desde 1977 se ha estado estudiando el sistema de aleación Zn-Al, en la región rica en cinc con el fin de generar aleaciones para aplicaciones estructurales. Como resultado de estos estudios se ha encontrado que la aleación Zn-Al de composición eutécticoide -es la transformación de una fase sólida a otro(s) estado sólido diferente-, es la que posee mayor resistencia mecánica y a la vez mayor ductilidad. Además, se encontró que al agregar pequeñas cantidades de cobre, la resistencia mecánica se eleva considerablemente sin que se disminuya la ductilidad de la aleación, la superplasticidad característica en esta aleación, continúa presentándose y se eliminan los problemas de fluencia lenta a temperatura ambiente. Estos estudios sobre aleaciones Zn-Al-Cu fueron la base del desarrollo del zinalco.

La densidad del zinalco es de 5.4 g cm^{-3} , haciéndolo 31% más ligero que el acero (7.8 g cm^{-3}). Sin embargo, su resistencia mecánica es muy semejante a un acero bajo en carbono. Por otra parte, su resistencia a la corrosión, es intermedia entre el aluminio y el cinc, lo cual lo sitúa entre los metales con buena resistencia a la corrosión⁽²⁹⁾.

PROPIEDADES FÍSICAS

El zinalco es básicamente una aleación Zn-Al, modificada con cobre (Zn 80%, Al 18%, Cu 2%). Sus principales propiedades físicas se muestran en la tabla II. El zinalco tiene un intervalo de solidificación bastante amplio (694 a 754 K). El bajo punto de fusión de esta aleación, en comparación con el aluminio, el latón, el bronce, o el hierro de fundición, permite ahorros considerables de energía.

La densidad de la aleación la coloca en una posición entre acero y el aluminio. Comparativamente es 18% más ligera que el zamak, la aleación de cinc más conocida para fundición; 30% más ligera que el hierro de fundición; 40% más ligera que el latón y pesa el doble que el aluminio. Su coeficiente de expansión térmica, el cual reviste importancia en situaciones como ajustes de ventanas o fundiciones de precisión, es muy similar al del aluminio⁽²⁹⁾.

Tabla II

Propiedades Físicas del Zinalco

Temperatura de fusión	694 a 754 K
Densidad	$5.4 \cdot 10^3 \text{ kg m}^{-3}$
Módulo elástico	100 G Pa
Conductividad Eléctrica	$0.0000059 \text{ ohm cm}^{-1}$
Conductividad térmica	$125.5 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$
Coefficiente de expansión térmica (entre 290 y 548 K)	$25 \cdot 10^{-6} \text{ K}^{-1}$

MICROESTRUCTURA

Básicamente, el zinalco tiene una microestructura compuesta de dos fases; la fase alfa, es aluminio con menos del 1% del zinc disuelto y la fase beta, la cual consiste de cinc con menos del 0.5% de aluminio disuelto y en ambas fases hay una cierta cantidad de cobre, no bien determinada, que también se encuentra en solución. La forma geométrica que toman estas fases depende de la trayectoria seguida durante el enfriamiento a partir de una temperatura superior a 553 K pero inferior a 693 K, que es la región en donde el zinalco adquiere una estructura atómica idéntica a la del aluminio (cúbica F). Si se enfría rápidamente, la estructura resultante está formada por granos muy finos de fase alfa y beta, mientras que si se enfría lentamente las fases alfa y beta se arreglan en forma de láminas alternadas dando una estructura perlítica similar a la observada en los aceros.

En ambos casos los granos o láminas son tan finos que sólo se observan con la ayuda de las técnicas de microscopía electrónica. Su ancho, o diámetro, es menos a 3 micrómetros. Las observaciones hechas por medio de microscopía electrónica, muestran que el número de dislocaciones dentro de los microcristales de fases alfa o beta es tan pequeño (una por grano), que casi podemos considerar a estas fases, cristales perfectos ^(55,56).

CLAVOS ORTOPÉDICOS INTRAMEDULARES, EMPLEO Y EXPECTATIVAS.

El desarrollo de los biomateriales metálicos para implantes no avanzó de modo sistemático hasta que se conoció la técnica de asepsia quirúrgica. Los diferentes tipos de metales usados eran de hierro, oro, plata, platino y no todos pudieron ser probados para su aceptación por los tejidos biológicos ya que todos los implantes fallaban debido a infecciones. Ahora se sabe que el éxito de un implante además del material adecuado, depende de la técnica del cirujano y del estado de salud física del paciente. Las nuevas tecnologías de obtención de aleaciones metálicas, desde principios del siglo XX y el entendimiento de los modos de falla de los implantes, ha hecho posible el desarrollo continuo de esta rama interdisciplinaria. Fue a mediados del siglo pasado cuando se introdujeron las aleaciones Ti, Co-Cr y Ni-Cr-Fe para la fabricación de varios implantes ortopédicos y dentales ya que presentan alta resistencia a la corrosión dentro del organismo y excelentes propiedades mecánicas, Tabla III.

Las propiedades mecánicas de aleaciones metálicas más usadas en la actualidad para prótesis ortopédicas e implantes médicos se muestran en la tabla III, así como, las del hueso femoral con el objeto de que se puedan comparar y hacer patente que cualquiera de estas aleaciones supera las características mecánicas del hueso.

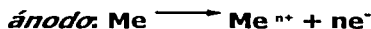
Tabla III

PROPIEDADES MECÁNICAS DEL HUESO FEMORAL Y ALEACIONES METÁLICAS PARA IMPLANTES QUIRÚRGICOS						
ALEACIÓN	Esfuerzo Cedencia (MPa)	Esfuerzo de Tensión (MPa)	Ductilidad (%)	Módulo elástico (GP)	Densidad (VPN)	Límite. A la Fatiga (MPa)
Hueso	350	139	2.4 - 3.4	17	----	----
Co-Cr-Mo	950	1450	9	230	60	----
Co-Ni-Cr-Mo	1313	1727	8	----	----	----
Ti-6Al-4V	895	896	10	110	10	----
Ac. Inox 316	795	965	7 - 10	220	55 - 60	300
Zinalco*	350	410	30 - 35	100	5.6	----

*La aleación zinalco (80% Zn, 18% Al, 2% Cu)

La mayor parte de los materiales empleados en la manufactura de implantes como: Fe, Cr, Co Ni, C, Mo y W pueden ser tolerados por el cuerpo en pequeñas cantidades, algunos de ellos incluso son esenciales para efectuar muchas de las funciones de los tejidos, como es el caso del Fe en los hematocitos para llevar a cabo la síntesis de la vitamina B₁₂.

Los metales en presencia del aire tienden a deteriorarse por oxidación, los metales sumergidos en un fluido tienden a deteriorarse por corrosión. La corrosión es un fenómeno electroquímico particular de la oxidación. La corrosión electroquímica es un proceso espontáneo que denota siempre la existencia de una zona anódica (la que sufre la corrosión), una zona catódica y un electrolito, y es imprescindible la existencia de estos tres elementos, además de una unión eléctrica entre ánodos y cátodos, para que este tipo de corrosión pueda tener lugar. Las reacciones que tienen lugar en las zonas anódicas y catódicas son las siguientes:



Este proceso, causa el debilitamiento del implante y es muy probable que los productos de la corrosión produzcan una reacción en el organismo poco favorable, la mayor parte de las veces se presenta una reacción de rechazo al implante por parte del organismo, haciendo

fracasar la función del implante. Este tipo de problemas limita el uso de biomateriales metálicos⁽²⁰⁾.

En los experimentos, para conocer las respuestas a la carga mecánica de los osteoblastos y fibroblastos, se ha encontrado que son sensibles a las tensiones dentro de un intervalo llamado fisiológico y que existe un mecanismo específico para detectar la tensión. Los osteoblastos derivados de los sistemas Havers y fibroblastos de la piel, responden a tensiones fuera de este intervalo, el mecanismo está localizado en el citoesqueleto y activa a la fosfolipasa C de la membrana en un tiempo del orden de milisegundos y puede reaccionar a la distensión de una proteína sensible de la tensión. La activación de la fosfolipasa C puede explicar solamente algunas de las respuestas observadas del hueso a la carga mecánica, como estímulo de la división de la celular, del aumento en la colágena y en la producción de colagenasa.

ANTECEDENTES DEL ZINALCO COMO BIOMATERIAL.

La aleación zinalco (80% Zn, 18%, 2% Cu), tiene propiedades físicas y mecánicas similares al acero 316L y al titanio. Ver Tabla III.

En estudios de corrosión en sueros fisiológicos con el zinalco y el acero 316L, usándose como medios fisiológicos suero no glucosado y solución de Hartmann se realizó el estudio de las superficies expuestas por microscopia electrónica de barrido, se encontró que el zinalco es menos resistente a la corrosión que el acero. El acero inoxidable presenta una zona de pasividad grande y una resistencia a la corrosión mayor que la del zinalco. Es notorio que a potenciales de 0 volts o casi 0, como sería el caso dentro del organismo, ambos materiales se encuentran en una zona de pasivación. El principal mecanismo de corrosión que afecta a éstas aleaciones en los medios considerados es el de picadura seguido por el de fisura^(59,61).

En estudios *in vitro* se concluyó que el zinalco presenta efectos citotóxicos y genotóxicos, por ello esta aleación puede ser considerada como un biomaterial para usos ortopédicos, por periodos no más largos de dos meses⁽⁶²⁾.

Los experimentos *in vivo* que se han llevado a cabo son los siguientes:

- a) Se han realizado pruebas estándar de inyección sistémica en ratas, para medir el efecto toxico de los productos de corrosión de la aleación zinalco. En esta prueba se utilizaron cinco ratas y se disectaron el bazo, riñón y músculo. Se realizaron análisis de rayos x para determinar la composición de la sustancia inyectada y análisis histológicos para evaluar el efecto tóxico sobre los órganos disectados. Los análisis de rayos x de la sustancia nos revela una composición de Al (10.49%), Cl (1.20%), Cu (5.02) O₂ (51.01 %) y Zn (32.29). Se concluyó en este estudio que los cationes al ser inyectados en las ratas no tuvieron ningún efecto fisiológico y tampoco a nivel histológico⁽⁶⁰⁾.
- b) En otro estudio se implantaron placas redondas de zinalco y de acero inoxidable 316L en ratas Wistar, tanto en forma subcutánea como intramuscular. Las placas permanecieron implantadas por un periodo de 120 días. Los tejidos que rodearon a los implantes fueron procesados histológicamente con las técnicas de hematoxilina-

cosina y tricrómica de Gallego, encontrándose que la reacción del organismo es muy semejante en los dos biomateriales. Además, se midieron las concentraciones de Zn, Al, Cu y se comprobó que no se alteran las concentraciones por la presencia de estas aleaciones. Por lo que se llegó a la conclusión, de que la respuesta del organismo ante implantes de zinalco es similar a la que se presenta ante implantes de acero. Los estudios histológicos muestran que el implante de zinalco presentó una reacción similar a la del acero inoxidable 316L, ya que en ambos casos se presentó hipersensibilidad a los implantes, la diferencia consiste en que la cápsula de tejido fibroso que rodea al implante fue más gruesa para el zinalco que para el acero inoxidable 316L⁽⁵⁷⁾.

- c) En otro experimento a más largo plazo también con ratas Wistar, se implantaron placas de zinalco en regiones intramusculares y subcutáneas, este estudio fue llevado hasta ocho meses. La observación con microscopía electrónica de los tejidos alrededor del implante revelaron una ligera reacción de inflamación, al final del periodo de implantación los tejidos presentaron una apariencia normal. Como en la mayoría de los biomateriales metálicos se formó una cápsula de tejido fibroso alrededor del implante, con un grueso de 1 a 3 mm⁽⁶⁰⁾.

CAPITULO II

TÉCNICAS UTILIZADAS PARA EL ANÁLISIS DE LA BIOCOMPATIBILIDAD DEL ZINALCO

RADIODIAGNÓSTICO

En 1895, el físico Wilhelm Röntgen, experimentando con tubos de rayos catódicos, observó que cuando los electrones de altas velocidades, incidían en un material, se producía una radiación capaz de penetrar materiales que no permiten el paso de la luz. Un tubo de rayos X, esta compuesto por un tubo de vidrio al alto vacío en el que se encuentran el cátodo y el ánodo. El cátodo, se calienta por medio de un filamento por el que pasa una corriente eléctrica, produciendo una gran cantidad de electrones debido al calentamiento del filamento, lo que se llama emisión termoiónica. Mientras más caliente este el filamento, más electrones disponibles habrá. Al incidir los electrones en la superficie del ánodo, producen rayos X que salen del tubo de vidrio por la pared lateral; para facilitar este fenómeno se coloca la superficie del ánodo con cierto ángulo respecto al haz de electrones incidentes, el valor de dicho ángulo oscila entre los 15 y los 20 grados (Figura 7)

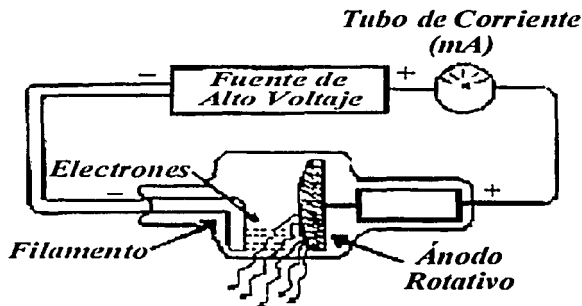


Figura 7. Tubo de rayos X

Las bases del radiodiagnóstico se encuentra en el hecho de que los rayos X, se absorben selectivamente por diversas sustancias, en razón directa de sus coeficientes de absorción lineal⁽¹⁰⁴⁾. Lo anterior se ilustra por ejemplo con la poca o ninguna absorción que ocurre cuando los rayos X pasan a través de la materia gaseosa, mientras se logra una absorción casi total por capas delgadas de metales.

En la composición del cuerpo humano, hay variación en la densidad de sus tejidos -por ejemplo la densidad del pulmón no es igual que la del esqueleto- cuando se hace pasar un haz de rayos X a través de un tejido y es captada en una película fotográfica, las zonas de baja densidad aparecen como áreas ennegrecidas y las áreas de alta densidad aparecen

como siluetas claras contra un fondo oscuro en la película revelada⁽⁶³⁻⁶⁵⁾. El radiodiagnóstico permitió evaluar la posición del implante, la remodelación del tejido y la reacción del tejido ante el implante.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

En 1924, De Broglie demostró avances teóricos sobre las propiedades ondulatorias de un haz de electrones acelerados, esto permitió que se realizaran trabajos experimentales como los de Busch en 1926, quien encontró la forma de hacer lentes para haces electrónicos. Posteriormente varios científicos se consagraron a la construcción de un microscopio que utilizara haces de electrones acelerados como radiación de iluminación. Sólo dos grupos llegaron a la meta en el mismo año, 1932. Brüche y Johannson, construyeron un prototipo con lentes electrostáticas. Otro fue el de Knoll y Ruska, con lentes electromagnéticas. En el año de 1934, Ruska agregó una lente condensadora en su prototipo, logrando obtener por primera vez mayor poder de resolución que en el microscopio de luz.

Un microscopio electrónico requiere que el espacio en que se van a mover los haces de electrones este libre de partículas que pudieran interactuar con ellos (electrones). Por ello es necesario crear condiciones de vacío y alto vacío ($\sim 10^{-7}$ torr), para no afectar en la trayectoria de los electrones.

Hoy en día, se utilizan de forma muy regular en las ciencias biológicas, dos tipos de microscopios: el microscopio electrónico de transmisión (MET) y el microscopio electrónico de barrido (MEB). Una diferencia fundamental entre uno y otro radica en el tipo de muestra susceptible de ser estudiada en cada equipo. En el de transmisión un haz de electrones acelerados incide en la superficie de la muestra y sale por la cara opuesta de ella. Esto tiene influencia directa en el tipo de muestra que pueden ser observados, puesto que el haz de electrones no alcanza los 0.05 mm. En cambio, una muestra para un microscopio de barrido puede ser de unos cuantos mm a varios cm (4). El MEB proporciona imágenes y datos físicos y químicos de la superficie de cuerpos generalmente opacos a los electrones, por medio de un delgadísimo haz de electrones que recorre dicha superficie y de detectores que traducen las señales que de ella emanan, transformándolas en corrientes eléctricas que se emplean en formar una imagen en un monitor de televisión (2).

En el año de 1935, Knoll construyó el primer MEB con una resolución del orden de 100 μ m. Los microscopios, actuales cuentan con una configuración básica como sigue: 1) el sistema de iluminación formado por el cañón de electrones, un conjunto de lentes condensadoras y el sistema de deflexión responsable del barrido del haz electrónico; 2) el portamuestras; 3) los sistemas de detección de las diferentes emisiones; 4) el sistema de visualización de la imagen. Con este tipo de equipo se ha desarrollado una amplia variedad de microscopios por electrones secundarios, retrodispersados, Auger, etc. Además, puede hacerse análisis químico y, actualmente cuentan con dispositivos para hacer difracción de electrones. En un MEB, un haz de electrones con una energía de 1 y 50 keV y en un vacío de 10^{-7} bars, se hace incidir sobre una muestra gruesa, generando una serie de interacciones, elásticas e inelásticas, un producto de estas últimas son los electrones secundarios, cuyas energías son del orden de 3-5 eV. Este haz electrónico se focaliza sobre la superficie de la muestra, se producen una serie de fenómenos, entre los cuales destacan, la emisión de electrones secundarios con energías de unas pocas decenas de electrón-voltios y la reflexión de electrones primarios que dan lugar al haz de electrones retrodispersados de alta energía. La corriente emitida por la muestra se recoge y amplifica, los cambios de aumento se

consiguen variando el tamaño del área barrida en la muestra, mientras se mantienen constantes las dimensiones de la imagen en la pantalla, del orden de 10×100 cm. En general, los aumentos pueden variar entre $10\times$ y $200\ 000\times$. La imagen de la muestra, se forma con la totalidad de los electrones procedentes de la misma; esto es, los electrones retrodispersados y los electrones secundarios. Los electrones, son detectados por un centellador y un fotomultiplicador. Los electrones retrodispersados frecuentemente son direccionales, sólo revelan detalles de la muestra que estén en línea con el sistema de detección, mientras que los secundarios, al no tener esa limitación, muestran una imagen de apariencia tridimensional (topografía de la muestra) ^(66, 67). Con la microscopía electrónica de barrido se evaluó la respuesta del tejido ante la presencia del implante y viceversa, en la interfase.

El Método del "Ion Sputtering"

Las muestras biológicas desecadas son malas conductoras de la electricidad, por lo tanto se necesita para su observación un tratamiento, el cual nos aportará los siguientes beneficios;

- 1) Impedir que la muestra se cargue eléctricamente, de otra manera, al recibir el impacto del haz de electrones la muestra se cargaría eléctricamente en forma negativa y se distorsionaría la imagen o se podría impedir su formación.
- 2) Facilitar la disipación del calor producido por el bombardeo del haz de electrones, el cual podría producir serias alteraciones de la muestra.
- 3) Aumentar la resolución.
- 4) También se ha reportado que este proceso puede ayudar a aumentar la estabilidad mecánica de la muestra, puesto que el recubrimiento metálico es una película continua que cubre tanto la superficie de la muestra como la del portamuestra, contribuyendo de esta manera a su sujeción. Aunque a este punto lo consideramos muy controversial.

El método del "ion Sputtering" utiliza el fenómeno físico denominado ionización que tiene lugar en un gas a bajo vacío cuando se aplica un alto voltaje a dos electrodos entre los que se interponen las moléculas gaseosas residuales. Debido al voltaje aplicado, los electrones se aceleran hacia el ánodo y en su trayecto chocan con moléculas de gas, fenómeno que se manifiesta por emitir una luminiscencia o brillo dando lugar a un ion positivo y un electrón libres; en estas condiciones las moléculas de gas forman un plasma. Los iones positivos son atraídos hacia el cátodo y los electrones hacia el ánodo. Los iones positivos chocan contra el cátodo con una energía proporcional al voltaje aplicado a los electrodos, liberando finas partículas del metal del que está construido. Estas partículas se dispersan en todas direcciones en trayectorias erráticas no rectilíneas.

El fenómeno que se denomina "cathode sputtering" consiste, en que sobre el cátodo se monta el metal con el que se va a recubrir la muestra y ésta, la situamos cerca del ánodo; el

resultado es que se recubre con las partículas metálicas desprendidas del metal y la muestra queda recubierta uniformemente.

El diseño básico de un "ion sputter" consiste en una campana de vidrio en la que puede hacerse vacío con una bomba mecánica. Dentro de la campana están dispuestos el cátodo y el ánodo sobre el que existe un dispositivo para sujetar el portamuestra con la muestra. Frecuentemente, el cátodo se dispone en un plano superior y el ánodo en uno inferior, aunque pueden estar en el mismo plano. El aparato se completa con un sistema que proporciona alto voltaje e indicadores de vacío, voltímetro y amperímetro; así como los mandos para modificar estos parámetros ^(66,67).

ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (ATG)

Los análisis térmicos son un grupo de técnicas por cuales se examinan las características termodinámicas de las muestras en función del tiempo y la temperatura, en una atmósfera específica. El cambio de la temperatura se mantiene a una velocidad de calentamiento constante y se habla entonces de una rampa de calentamiento. Se advierte que en la misma muestra pueden aplicarse dos o más rampas de calentamiento. La gráfica obtenida se llama "curva de termografía".

La termogravimetría es una técnica de análisis térmico, en donde se determina el cambio de la masa de la muestra (pérdida o ganancia) en función de la temperatura y/o el tiempo. Las tres formas de termogravimetría que son más comúnmente usadas se ilustran en la figura 8:

- (a) *Termogravimetría Isotérmica*, en la cual la masa de la muestra se registra en función del tiempo a una temperatura constante (Figura 8.A).
- (b) *Termogravimetría Cuasi-Isotérmica*, en la cual se calienta la muestra en una de serie de segmentos de temperatura casi constante (Figura 8. B).
- (c) *Termogravimetría Dinámica*, aquella donde la muestra se calienta en una atmósfera determinada y donde la temperatura va cambiando en una pendiente constante. Los estudios discutidos aquí serán en referencia a la *termogravimetría dinámica* (Figura 8 C).

La curva, temperatura vs cambio de masa, proporciona información de la estabilidad térmica y composición de la muestra, pues la técnica ofrece gran información, sobre los procesos químicos y físicos que ocurren. En la figura 8 inciso D, se observa una curva de termografía sencilla, donde se aprecia el cambio en la masa de la muestra. Donde T_1 es la temperatura en la cual la muestra empieza a mostrar el cambio de su masa, que es detectado por la termobalanza; T_2 es la temperatura en la cual, la reacción que llevó al cambio en la masa llega a su máximo valor, correspondiendo a la reacción completa.

La estabilidad térmica de la muestra está determinada por su capacidad para mantener sus propiedades físicas y químicas sin cambio bajo el calentamiento. La termogravimetría, nos proporcionara la pérdida en peso del tejido óseo a causa de la pérdida de agua, de la pirólisis de sus constituyentes orgánicos y de los cambios producidos por la temperatura en las fases inorgánicas. En este estudio se empleó los porcentajes en peso ^(68,69).

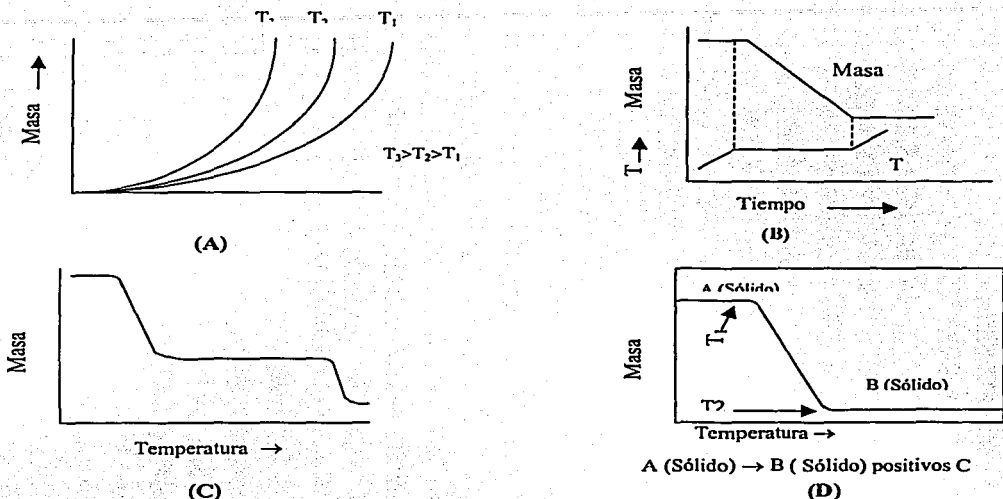


Figura 8. Se muestran las tres formas de la termogravimetría, (A) termogravimetría isotérmica; (B) termogravimetría cuasi-isotérmica; (C) termogravimetría dinámica; y (D) se muestra una reacción sencilla en una curva de termoanálisis

ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (IR)

La espectroscopia, es el estudio de la interacción de la radiación electromagnética con las moléculas de un material. La espectroscopia infrarroja, o IR, es un tipo de espectroscopia que analiza las vibraciones moleculares. Para comprender la espectroscopia IR, se deben entender los principios del *movimiento armónico simple*. Para ello, podemos imaginar dos esferas, o masas, conectadas por medio de un resorte (Figura 9).



Figura 9. Movimiento Armónico Simple

La esfera de menor masa, se moverá con mayor facilidad que la otra, por lo que las masas más pequeñas oscilan a mayor frecuencia que las masas más grandes. Un resorte sumamente rígido, es difícilmente deformable y rápidamente retorna a su forma original

cuando se deja de aplicar una fuerza deformante. Por otro lado, un resorte débil se deforma fácilmente y demora mucho tiempo en volver a su forma original. De ahí que un resorte más rígido oscilará a menor frecuencia que uno débil. El enlace químico entre dos átomos se puede considerar como un oscilador armónico simple.

A cualquier temperatura por encima del cero absoluto, todos los pequeños osciladores armónicos simples que constituyen una molécula se encuentran en vibración. Así, la radiación infrarroja, como cualquier radiación electromagnética, puede caracterizarse tanto por esta frecuencia de oscilación, ν , como por la longitud de onda, λ . Ambas están vinculadas por la relación:

$$\nu \lambda = c$$

Donde c representa la velocidad de propagación de la luz, que en el vacío es una constante ($c = 3 \times 10^{10}$ cm/s). La longitud de onda de la radiación infrarroja se expresa en micrómetros o micras μm . La frecuencia se expresa siempre por el símbolo s^{-1} , que representa el número de ciclos por segundo y por hertz, cuya abreviatura es Hz.

Como la luz infrarroja está en el mismo rango de frecuencia que las moléculas en vibración, si irradiamos una molécula en vibración con luz infrarroja, absorberá aquellas frecuencias de la luz que sean exactamente iguales a las frecuencias de los distintos osciladores armónicos que constituyen dicha molécula. Cuando la luz es incidida, pequeños osciladores de la molécula absorben la energía de la luz y tendrán una amplitud de vibración más grande. Esto significa que los "resortes" se estirarán más que antes de absorber la luz. La luz que no fue absorbida por ninguno de los osciladores de la molécula, se transmite desde la muestra, a un detector y una computadora la analizará y determinará las frecuencias que fueron absorbidas.

Antes, sólo era posible obtener buena información irradiando la molécula con una sola frecuencia de luz IR por vez. Esto llevaba mucho tiempo porque existe una gran cantidad de frecuencias y debían realizarse muchos barridos para obtener un buen espectro. Ahora, se utiliza el Algoritmo de la Transformada de Fourier, logrando irradiarse una molécula con cada frecuencia de luz IR a la vez y obtener un espectro en muy poco tiempo^(70,71). El infrarrojo nos proporcionara información sobre la identidad y orientación de los enlaces presentes en la matriz orgánica y en la fase mineral. La espectroscopia de infrarrojo se usó para determinar los grupos funcionales asociados al tejido óseo.

CAPITULO III

OBJETIVOS

En este trabajo se evalúa la posibilidad de emplear la aleación zinalco como un biomaterial. Se analiza la recuperación del tejido óseo al estar en contacto con los implantes de zinalco por diferentes periodos de implantación.

Esta evaluación estuvo basada en las siguientes técnicas:

- A. Rayos X
- B. Microscopía electrónica de Barrido
- C. Espectroscopía de Infrarrojo
- D. Termogravimetría (ATG)

MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron 17 perros criollos sanos, jóvenes, con un peso de 8 a 10 Kg A 9 de los cuales se les implantaron clavos de zinalco (2% Cu, 18% Al, 80%Zn) y a los restantes se les implantaron clavos de acero 316L, en el canal intramedular del fémur derecho, los implantes con acero fueron practicados con el objeto de tener un grupo control, los clavos tuvieron 5mm diámetro y una longitud de 10 cm.. El Dr. Salvador Martín realizó las operaciones quirúrgicas de los perros según "*Guide for care and use of the laboratory animals*". Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico con una dosis de 25 mg/kg. Se consideraron diferentes periodos de experimentación: 1, 2, 3, 6 y 9 meses.

Inmediatamente después de la operación a los perros les fueron tomadas placas radiográficas por el médico veterinario Benjamín León, y al cabo de cada periodo experimental. Los perros estuvieron sujetos a condiciones de bioterio durante el tiempo de experimentación.

Al final de cada periodo fueron sacrificados los perros y se extrajo el fémur implantado para su estudio. Se prepararon muestras para las diferentes técnicas de estudio que se aplicaron y que se presentan en la Tabla IV.

- ❖ El radiodiagnóstico permitió evaluar la posición del implante, la remodelación del tejido y la reacción del tejido ante el implante.
- ❖ Con microscopía electrónica de barrido se evaluó la respuesta del tejido ante la presencia del implante y viceversa, en la interfase.
- ❖ La termogravimetría se empleó para examinar las diferencias entre los porcentajes en peso de la fase orgánica y la fase mineral de las muestras.
- ❖ La espectroscopía de infrarrojo se usó para determinar los grupos funcionales asociados al tejido óseo.

Tabla IV. Identificación de las muestras, tipo, tiempo de implante, y análisis realizado.

Rx ≡ Radiodiagnóstico, *MEB* ≡ Microscopía Electrónica de Barrido,
ATG ≡ Termogravimetría, *IR* ≡ Espectroscopía Infrarroja.

Identificación de las muestras	Tipo de Implante	Tiempo del Implante (meses)	Análisis Aplicado
AB	Acero	1	MEB, IR, ATG
5	Acero	1	Rx, MEB
X	Acero	1	Rx, MEB, ATG
23	Acero	2	Rx, MEB
V	Acero	2	Rx, MEB
XII	Acero	3	Rx, MEB, IR, ATG
VII	Acero	6	MEB, IR, ATG
K	Acero	9	MEB, IR, ATG
BB	Zinalco	1	RX, MEB, ATG
AG	Zinalco	1	RX, MEB, IR, ATG
7	Zinalco	2	RX, MEB, ATG
G	Zinalco	3	RX, MEB, IR, ATG
M	Zinalco	3	RX, MEB
F	Zinalco	6	MEB, IR, ATG
11	Zinalco	6	MEB
3	Zinalco	9	MEB, IR, ATG
B	Zinalco	9	MEB

RADIODIAGNÓSTICO

A los perros inmediatamente después de haber sido operados y al final de cada periodo experimental les fue tomada una placa radiográfica en un Phillips Modelo Diagnost 70, para después ser sacrificados o regresar al bioterio. Las radiografías reveladas en un Kodak Modelo RT X-Omat Processor, muestran la respuesta del huésped al material implantado.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Una vez retirados los fémures de los perros sacrificados, éstos fueron fijados en formaldehído al 10%. Después de ser fijados se cortaron transversalmente con una cortadora South Bay Technology modelo 650, empleando un disco de diamante. El grosor de los cortes de los huesos fue de 3-6 mm. Posteriormente los huesos fueron deshidratados en una cámara de vacío por un periodo de 3 a 5 días. Al terminar el secado de los huesos, se les aplicó un recubrimiento de oro en el ion sputtering con un JEOL Ion Sputter JFC-1100, para ser observados en MEB. El MEB es un Leica-Cambridge Stereoscan 440.

TERMOGRAVIMETRÍA

Las muestras utilizadas fueron pulverizadas en un molino de ágata y posteriormente fueron analizadas en un Thermal Análisis System 9900, Du Pont 951. El calentamiento fue realizado en un crisol de platino con una atmósfera de oxígeno y con dos rampas, una de temperatura ambiente hasta 1000° C con una rampa de calentamiento de 10° C/min hasta 1000° C y otra rampa de 20° C/ min desde 1000° C hasta llegar a temperatura ambiente. Se analizó también la primera derivada de los datos obtenidos, para observar las temperaturas específicas de las reacciones producidas en las muestras, utilizando el programa *ORIGIN 6.0*.

ELECTROSCOPÍA INFRARROJA

La espectroscopía IR, es una técnica analítica relativamente sencilla. La muestra fue molida en un molino de ágata hasta quedar reducida a polvo. Este polvo resultante, se pulverizo junto con bromuro de potasio, KBr, para obtener una pastilla compacta. El manejo de KBr se justifica dado que esta sal funciona como ventana a la radiación IR. Para los análisis de IR se usaron 0.0007 grs. de la muestra en polvo de hueso y se mezclaron con 0.07 grs. de KBr, es decir, con una relación en peso de 1:100. Las muestras fueron analizadas a 20, 200, 300, 400, 500 y 600 °C, cada pastilla estuvo bajo un tratamiento isotérmico durante 5 minutos a las temperaturas especificadas. Se utilizó un espectrómetro marca Nicolet 680, los intervalos de registro estuvieron entre 300 y 4100 cm^{-1} .

RESULTADOS

RADIODIAGNÓSTICO

Conforme al protocolo inicial de investigación, todos los perros, después de haber sido intervenidos quirúrgicamente, les fue tomada una placa radiográfica. Todas las radiografías son similares a la Figura 10. En ella, se observa un clavo metálico implantado de forma intramedular, en el fémur derecho de los perros. En la ampliificación se puede apreciar la fractura en la diáfisis del hueso.



Figura 10. Radiografía tipo de un hueso fracturado y con un clavo metálico intramedular, luego después de haber sido operado.

En el grupo control, los perros implantados con acero 316L, se observa en el primer mes de implantación una ligera inflamación en la zona de unión de las diáfisis, un callo mineralizado que une a la diáfisis (Figura 11).



Figura 11. Radiografía de un hueso implantado con un clavo de Acero 316L en el primer mes.

En todos los huesos implantados con acero 316L, después de los dos meses se observa la unión en la diáfisis de lo que antes fue la fractura (Figura 12), esta muestra una rehabilitación en proceso, se espera obtener el mismo desarrollo con los huesos implantados con zinalco.



Figura 12. Radiografía de un hueso implantado con Acero 316L después de dos meses de la operación.

En los huesos implantados con clavos de zinalco, se observan notorios signos de inflamación en el fémur. En la figura 13 no se exhiben indicios de algún callo mineralizado en la fractura, por lo que se considera que existe tejido fibroso, pero dada su baja densidad, no es apreciable mediante esta técnica. En la figura 14 se observan signos de inflamación en todo el hueso, la densidad ósea parece reducida, no obstante en este hueso presenta un callo mineralizado.



Figura 13. Radiografía de un hueso con implante de Zinalco después de un mes de la operación.



Figura 14. Radiografía de un hueso con implante de Zinalco después de un mes de la operación.

En los huesos implantados con clavos de zinalco posteriormente al primer mes, se observa que en la zona donde el tejido óseo sufrió la fractura, se encuentra el tejido óseo delgado y la diáfisis, se encuentra inflamada hasta la epífisis de la cadera (Figura 15).

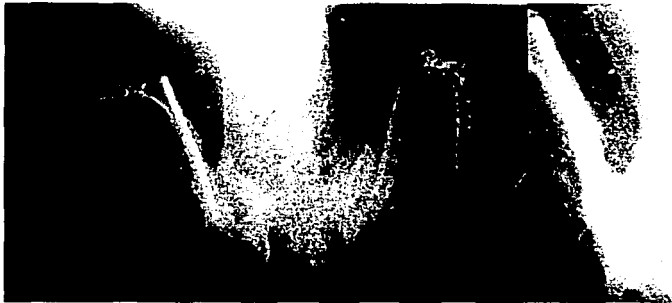


Figura 15. Radiografía hueso con implante de Zinalco luego de dos meses de la operación.

ESTUDIO DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Uno de los problemas por los cuales puede fallar un implante metálico, es que este sufra una fractura. Y ninguno de los clavos implantados tuvo fractura.

1^{er} mes de implantación:

En el hueso con implante de acero, se puede observar claramente que existe una recuperación. En la interfase, zona de contacto del material con el tejido, se observa tejido óseo compacto y células que pueden ser células óseas, no se presentan fibroblastos, tampoco se presentan fibras, que puedan ser consideradas signos de reacción contraria al implante (Figura 16).

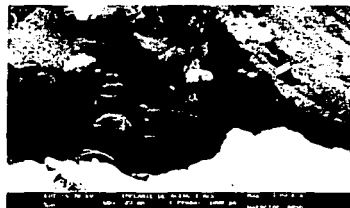
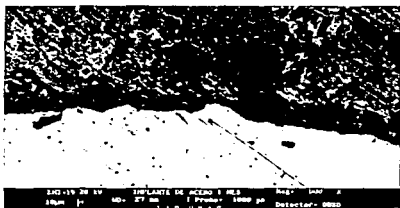


Figura 16. A) Fémur implantado con Acero durante 1 mes, 500 x. B) Acercamiento de la zona central de A, 1000 x.

En el caso del implante de zinalco, pareciera que el hueso que estuvo alrededor del implante tiene una estructura esponjosa y existe una clara desorganización del tejido óseo, esta desorganización es más notoria mientras menor es la distancia al zinalco. En este periodo se forma una capa fibrosa alrededor del implante. Estas fibras tienen una organización irregular conformando una red o cápsula alrededor del implante (Figura 17).

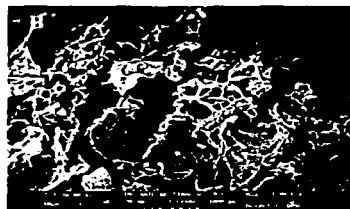
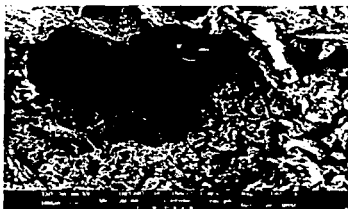


Figura 17. Fémur Implantado con Zinalco durante 1 mes, A) 100 x y B) 1000 x

3^{er} mes de implantación:

En el tercer mes, se aprecia claramente en el hueso implantado con acero la formación de hueso nuevo alrededor del implante, que muestra que el implante no interfiere de forma destructiva con el proceso de recuperación de la estructura ósea (Figura 18).

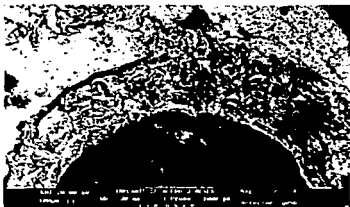


Figura 18. Fémur Implantado con Acero durante 3 meses, A) 27 x y B) 100 x

En el hueso implantado con zinalco, se forma una capa fibrosa alrededor del implante (Figura 19). También es apreciable la corrosión del implante, esta corrosión ejerce presión hacia el exterior provocando microfracturas. Y seguramente liberando iones de la aleación hacia la región periprotésica.

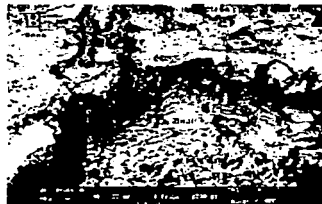
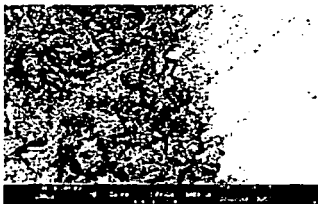


Figura 19. A) Hueso implantado con zinalco 3 Meses. B) Acercamiento de la zona central de A, se observó que existe una reacción adversa del tejido al material, por la presencia de corrosión de la aleación.

6^o mes de implantación:

En el hueso con implante de acero 316L, se observa que el implante no se presentan signos adversos y la estructuración del hueso se encuentra en una forma normal, lleva a pensar que el acero no ha intervenido en la recuperación del tejido, ni en sus actividades metabólicas normales. Obsérvese las laminas características del tejido (Figura 20).

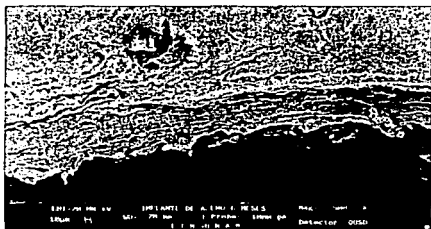


Figura 20. Fémur implantado con acero durante 6 meses, A) 500 x y B) 51 x

Los huesos implantados con zinalco presentan, como en el primer mes, una desorganización ósea; tejido fibroso alrededor del implante. La desorganización ósea es tal que, aparecen pequeñas lamelas de hueso, éstas se encuentran alteradas y en diferentes direcciones (Figura 21).

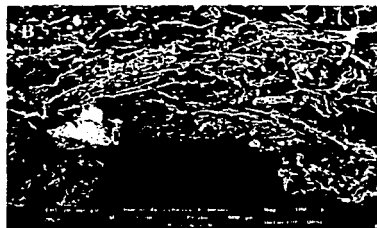
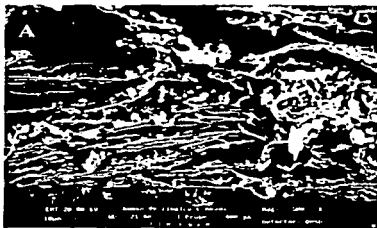


Figura 21. Fémur implantado con zinalco durante 6 meses, A) 500 x y B) 100 x

9^o mes de implantación:

En el hueso que estuvo sujeto durante 9 meses al implante de acero 316L, se pueden observar características semejantes a los huesos implantados con acero de seis meses, es decir, presenta un patrón óseo adecuado, en algunas se pueden observar las lamelas dispuestas de forma transversal al implante y sobrepuestas. Alrededor del implante se encuentra hueso, no existe ninguna capa fibrosa (Figura 22).

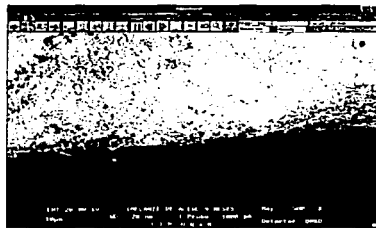
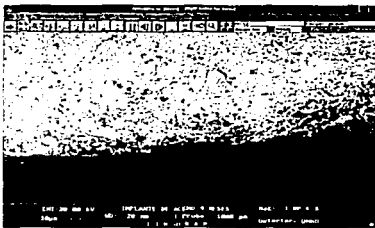


Figura 22. Fémur implantado con acero durante 9 meses, A) 1000 x y B) 500 x

En el hueso con implante de zinalco; se puede determinar que el crecimiento desorganizado es el patrón constante; también es posible observar que el hueso que se encuentra más lejano del implante comienza a presentar fisuras; puede pensarse en la existencia de un(os) factor(es) que está(n) actuando de tal forma induce esta desorganización (Figura 23).

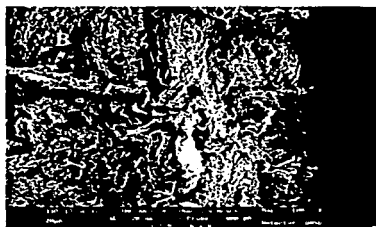


Figura 23. Fémur implantado con zinalco durante 9 meses, A) 23 X y B) 100 X

TERMOTERMOMETRÍA

Una curva característica de ATG para el hueso fémur sano puede verse en la Figura 24 ⁽⁸⁵⁾. En la curva se observan tres procesos térmicos que han sido identificados como sigue ⁽⁸⁶⁻⁹⁰⁾:

- 1) La pérdida de agua se encuentra entre la temperatura ambiente y 200° C.
- 2) La descomposición de la materia orgánica se localiza entre los 200 y 450° C donde se observa la mayor pérdida de peso.
- 3) La combustión de los residuos orgánicos se halla entre 450 y 650° C. Después los 650° C sólo se pueden encontrar residuos de la fase inorgánica del hueso.

El porcentaje final en peso, correspondiente a la fase inorgánica en huesos sanos se encuentra reportada entre 55% ⁽⁸⁷⁾ y 62% ⁽⁸⁹⁾. Por medio de los resultados obtenidos por esta técnica se puede evaluar la constitución del tejido. Los resultados conseguidos se encuentran en la Tabla V.

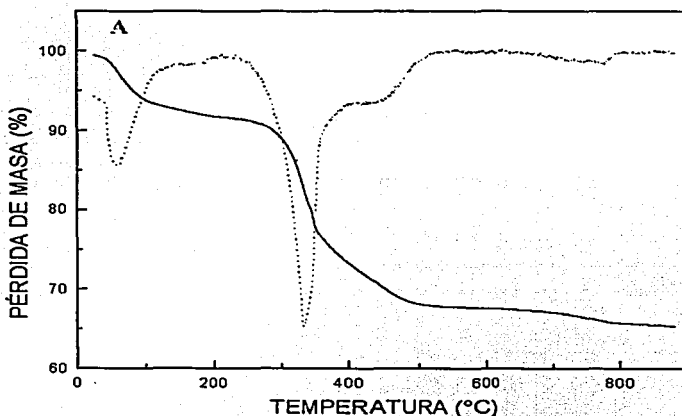


Figura 24. Curva característica de ATG para un hueso fémur sano

Muestra	Agua (%peso)	Desnaturalización de la fase orgánica (%peso)	Combustión de los residuos orgánicos (%peso)	Fase Orgánica Total (%peso)	Fase Inorgánica Residual (%peso)
ace1m	12.7	18.2	10.6	28.8	58.5
ace3m	5	21.5	12.5	34	61
ace6m	7	26	13	39	54
ace9m	11.5	18.5	11	29.5	59
Zin1m	13	44	27	71	16
Zin1m	6.5	31.5	36.5	68	25.5
Zin3M	21.5	17.8	14.7	32.5	46
Zin6m	9	26	10	36	55
Zin9m	6.5	27.5	11	38.5	55

Tabla V. Pérdida en peso asociada con los procesos térmicos identificados en las curvas de ATG de los huesos implantados con acero y zinalco con diferentes contenidos en la fase inorgánica.

La Figura 25 corresponde al termograma de un hueso implantado con acero durante 1 mes, en ella, se observan tres pérdidas de peso importantes: la pérdida de agua, la descomposición de la materia orgánica y finalmente la pirolisis de los residuos orgánicos, antes mencionadas. El termograma muestra que el porcentaje en peso residual para la fase inorgánica es de 58%.

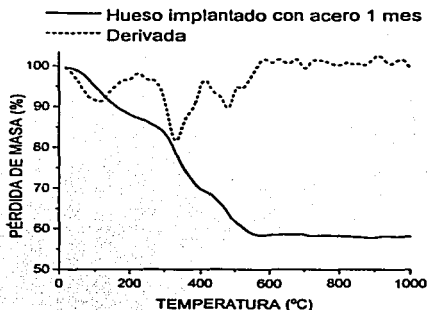


Fig 25. ATG de un hueso implantado con acero durante 1 mes.

La Figura 26, se observa un ATG de un hueso implantado con acero durante 3 meses, el porcentaje en peso asociado a la fase inorgánica de 61%.

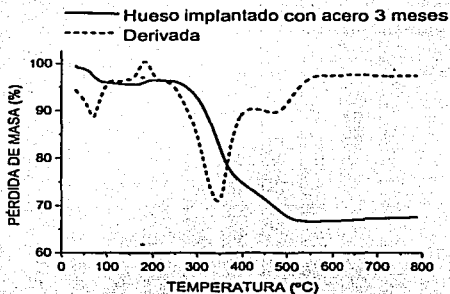


Figura 26. ATG de un hueso implantado con acero durante 3 meses.

El termograma de un hueso implantado con acero durante seis meses se muestra en la figura 27 y tiene un 54% en peso para la fase inorgánica.

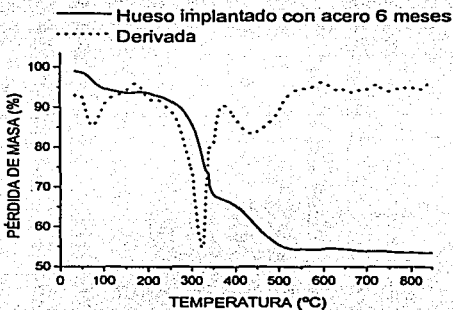


Figura 27. ATG de un hueso implantado con acero durante 6 meses

El termograma de la figura 28 corresponde a un hueso implantado con acero durante 9 meses, la fase inorgánica presenta un 59%.

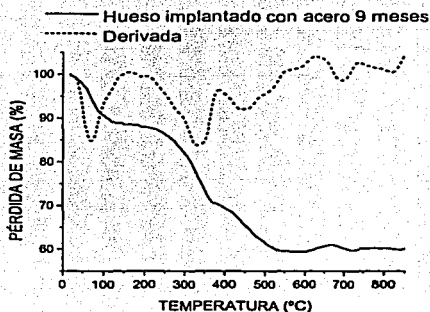


Figura 28. ATG de un hueso implantado con acero durante 9 meses.

En los huesos implantados con zinc se aprecia en los primeros meses de implantación un considerable incremento de la porción orgánica del hueso, en relación con los huesos implantados con acero y a los datos obtenidos de la literatura. Este incremento de la fase orgánica en función del tiempo, se va reduciendo, hasta llegar a niveles similares a los huesos implantados con acero y a los de un hueso fémur sano.

En el primer mes de implantación de los huesos con zinc, se aprecia un considerable incremento de la porción orgánica del hueso. En este primer mes, los porcentajes encontrados para la fase inorgánica residual están entre 25.5% (Figura 29A) y 16% (Figura 29B). Al contraponerse estos datos con los datos correspondientes a los huesos implantados con acero (56%) y con los datos obtenidos de la literatura para hueso fémur sano (62% y 55%), e incluso en callo óseo secundario (45.4%), se advierte que los porcentajes en peso de la fase inorgánica de los huesos implantados con zinc por un mes son muy bajos. En el tercer mes de implantación de los huesos implantados con zinc, se observa un incremento en la fase inorgánica, pero no es aun equivalente a los huesos implantados con acero y los de un hueso sano. En los huesos implantados con zinc durante 6 y 9 meses, el porcentaje en peso de la fase mineral parece estabilizarse, esta tendencia puede observarse en la figura 32.

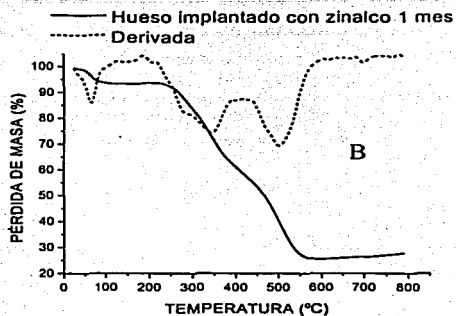
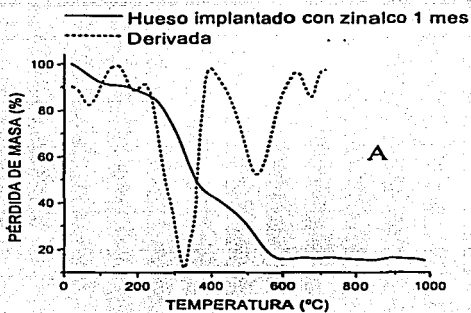


Figura 29 . Termogramas de huesos implantados con zinalco durante 1 mes.

Las curvas para el tercer mes de implantación, muestran un porcentaje en peso de 46% en la fase inorgánica Figura 30 .

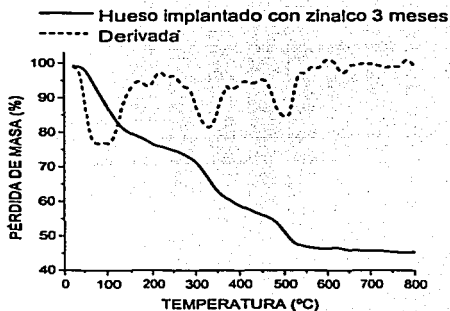


Figura 30. Termograma de un hueso implantado con zinalco durante 3 meses.

El incremento del porcentaje de la fase orgánica con el paso del tiempo se va reduciendo hasta llegar a niveles similares a los huesos implantados con acero y a los datos publicados. Hacia el sexto mes experimental los porcentajes en peso para la fase inorgánica son de 55% y para el noveno mes es el mismo. Parecidos a los datos experimentales del acero y para los obtenidos en la literatura (Figura 31).

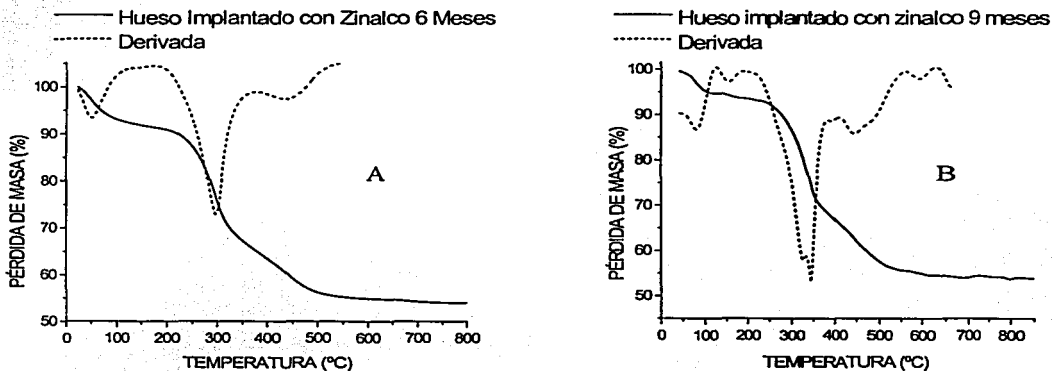


Figura 31. Termogramas de hueso implantados con zinalco durante 6 (A) y 9 (B) meses respectivamente.

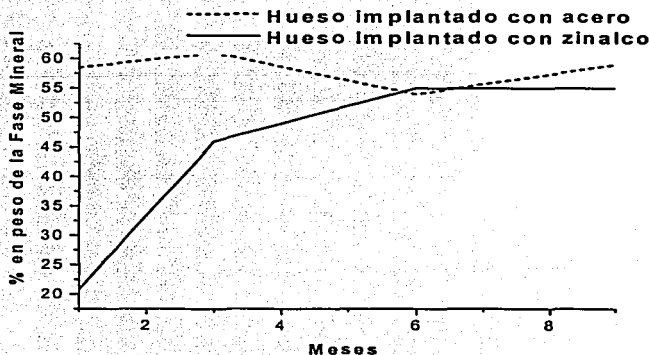


Figura 32. Tendencia en el contenido de la fase inorgánica en los huesos implantados con acero y zinalco.

ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO

La espectroscopía infrarroja proporciona información química de la estructura de la matriz orgánica y de la fase mineral del tejido óseo. Dado que es sensible a enlaces químicos, proporciona información de la identidad de las especies iónicas presentes en el tejido óseo, como fosfatos, carbonatos, oxhidrilos, proteínas y lípidos. Los espectros obtenidos en las muestras fueron analizados comparando las bandas vibracionales en cada muestra. Los cambios comúnmente observados en los espectros del grupo experimental, se compararon con los datos del grupo control, y con trabajos publicados.

El espectro, consiste de varias bandas vibracionales de los componentes de la fase orgánica y de la fase inorgánica. La identificación de las bandas observadas en los espectros, estuvo basado en la literatura y se muestran en la tabla VI. El espectro de un hueso fémur sano se observa en la figura 33⁽⁸⁵⁾.

Tabla VI: Identificación para las bandas de Infrarrojo.

Número de Banda en Gráfica	Número de Onda cm^{-1}	Tipo de Enlace
1	3450-3300	Estiramiento O-H
2	3100-2900	Lípidos y carbonato
3	1740	Materia Orgánica >C=O
4	1700-1595	Amida I
5	1565-1550	Amida II
6	1500-1400	Carbonatos
7	1250	Deformación P-OH
8	1098-1050	Estiramiento de P-O
9	988-960	Estiramiento P-O
10	890-840	Carbonatos
11	610-525	torsión PO_4^{3-}
12	470	Torsión O-P-O

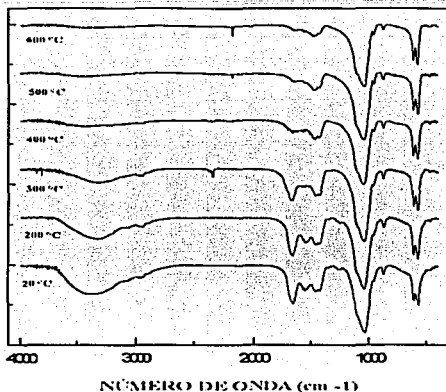


Figura 33. Espectro característico de espectroscopía infrarroja para un hueso fémur sano.

En la región espectral de $3450-3300\text{ cm}^{-1}$ se encuentra una banda amplia asignada al estiramiento del enlace O-H. Entre los $3100-2900\text{ cm}^{-1}$ se encuentra otra banda, la cual, se ha asignado a lípidos y carbonatos, aunque sólo en una referencia se hace mención de que en esta banda, se encuentren carbonatos⁽¹⁰⁵⁾. Alrededor de los 1740 cm^{-1} se encuentra una tercera banda correspondiente a un enlace tipo C=O. Entre los $1700-1595\text{ cm}^{-1}$ y cerca de los $1565-1550\text{ cm}^{-1}$, se encuentran las bandas de absorción de la amida I y la amida II, respectivamente.

La frecuencia de vibración de carbonatos más importante en el tejido óseo, se encuentra entre los $1500-1400\text{ cm}^{-1}$ (forma ν_3), aunque esta banda se halla traslapada por otras bandas de absorción, pertenecientes a proteínas (CH, amida II, COO⁻) o glicosaminoglicanos (NH).

La fase inorgánica del hueso, es una apatita poco cristalina, en comparación con otras apatitas biológicas como en la dentina. Por esto, las bandas generadas por los cristales óseos, se encuentran sobrepuestas y ensanchadas. A pesar de estas dificultades, en trabajos anteriores, se ha obtenido evidencia de la presencia de carbonatos en la región espectral de $890-840\text{ cm}^{-1}$ (forma ν_2). este dominio está libre de absorción de ciertos constituyentes orgánicos.

En la fase mineral del tejido óseo, se presentan dos iones ortofosfatos inorgánicos: PO_4^{3-} y HPO_4^{2-} . El ión libre PO_4^{3-} es tetraédrico y presenta cuatro formas vibracionales. Las formas ν_1 y ν_2 son normalmente inactivas en espectroscopía infrarroja, cuando el ión, es un tetraedro de simetría regular, y sólo dos formas se pueden observar, las bandas de ν_3 y ν_4 . En las apatitas biológicas la forma ν_1 se encuentra representada por una banda angosta en $1000-950\text{ cm}^{-1}$, en una apatita poco cristalina, aparece como un hombro de la banda de la forma ν_3 , la forma ν_2 produce una banda borrosa en 470 cm^{-1} . En este trabajo se enfoca a las formas ν_3 y ν_4 , las cuales, producen las bandas de absorción más intensas del ión PO_4^{3-} . El ión HPO_4^{2-} se considera como un tetraedro de PO_4^{3-} distorsionado.

El dominio ν_3 del ión ortofosfato, consiste de una banda de absorción ancha que generalmente, se fractura dentro de dos componentes, una entre $1200-1085\text{ cm}^{-1}$ y otra en medio de $1085-900\text{ cm}^{-1}$. La posición de las bandas, así como, la intensidad de las mismas, puede tener variaciones considerables de muestra en muestra. En el hueso, la intensidad de estas bandas varía con el envejecimiento. En el hueso joven, las bandas alcanzan un máximo, mientras en hueso viejo sólo aparece un hombro en la banda 1100 cm^{-1} .

El dominio ν_4 , consiste de dos bandas principales (entre los 600 cm^{-1} y 560 cm^{-1}), las cuales se encuentran superpuestas en una banda amplia, sin que se presente absorción de algún componente de la matriz orgánica.

Las muestras fueron sometidas a un tratamiento térmico, como se detalló antes, para resaltar el espectro de la estructura cristalina del tejido. Al calentar las muestras, es notable que la banda correspondiente al OH^- ($3450-3300\text{ cm}^{-1}$) es la que más rápidamente se ve disminuida, esto indica que los grupos OH^- se eliminan en gran parte cuando la muestra se calienta a 200°C , conforme se va aumentando la temperatura esta banda se elimina completamente. Así, la eliminación total de los grupos hidroxilo es entre los $300-400^\circ\text{C}$ y la materia orgánica alrededor de los $400-500^\circ\text{C}$. Estos resultados, corresponden a las pérdidas en peso de los resultados obtenidos por termogravimetría.

En todos los espectros obtenidos, las bandas encontradas se observan a frecuencias similares a las presentadas en la figura 33, y en concordancia con la tabla VI.

En la figura 34A, se observa el espectro de un hueso implantado con acero durante 1 mes. Los mayores cambios respecto a un hueso sano, pueden ser observados en la región espectral de $1200-900$. Estas bandas corresponden a la forma ν_3 de los fosfatos. En la figura, se ve claramente que la banda designada como 8 decrece en forma considerable. Además, la banda asignada como 7, es normalmente un hombro en la banda 8, se halla de forma independiente. En el dominio ν_4 de los fosfatos, en el que normalmente se observan dos bandas, se advierte una banda ancha. Las bandas de los carbonatos son muy pequeñas y no se encuentran bien definidas. La figura 34B pertenece al espectro de un hueso implantado con zinalco durante un mes. Los mayores cambios respecto a un hueso normal se encuentran en las bandas 10 y 11. La banda 10 se encuentra superpuesta sobre la banda 11, por lo que parece un hombro. La banda 11, esta banda no está bien definida y se encuentra ensanchada.

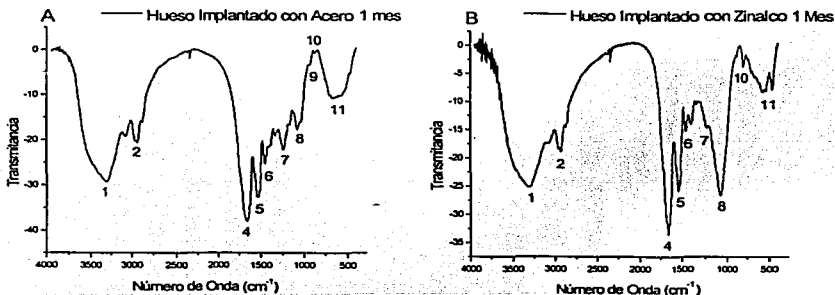


Figura 34. Espectros de infrarrojo, FTIR, de huesos con implantes metálicos durante un mes. A) acero 316L. B) zinalco

En la figura 35A, se muestran los espectros correspondientes a un hueso implantado con acero durante 1 mes y sometido a tratamientos térmicos. En los espectros se puede observar la pérdida de las bandas señaladas como 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, conforme se aumenta la temperatura y permaneciendo la banda 11. El cambio más notorio es la velocidad con que se van desapareciendo las bandas correspondientes al OH⁻, amida I, y amida II. Las bandas de la fase mineral deberían acentuarse. Este sistema es inestable, pues bajas temperaturas sufre cambios grandes la estructura cristalina del hueso. A los 600°C sólo es observable la banda 11.

La figura 35B presenta los espectros infrarrojo para un hueso implantado con zinc por un mes y tratamientos térmicos. En estos espectros se observa que conforme la temperatura aumenta, se pierde la banda 6. La banda 8 también pierde intensidad a la vez que, la banda 10 se pierde. Aparecen dos nuevas bandas entre 820 y 680 cm⁻¹, sus máximos se encuentran en 798 y 720 cm⁻¹, que podrían corresponder a ortofosfatos metálicos. Finalmente, la banda 11 conforme aumenta la temperatura va teniendo mejor definición.

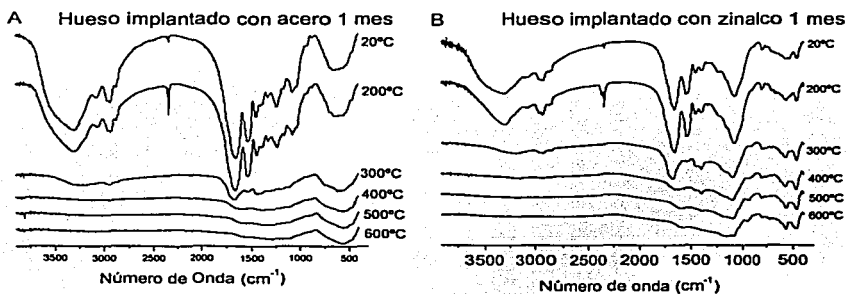


Figura 35. Espectros de infrarrojo, FTIR, de huesos con implantes metálicos durante 1 mes. A) acero. B) zinc

La figura 36A, se presenta un espectro de un hueso implantado con acero durante 3 meses. No se observan variaciones significativas en las bandas. En el espectro de hueso implantado con zinc por 3 meses corresponde a la figura 36B. La variación más fuerte respecto al hueso sano se encuentra registrada en la banda 10, perteneciente a la forma ν_2 de los carbonatos. Esta se encuentra como un hombro en la banda 11, la cual tampoco se encuentra bien definida.

En la figura 37A, se observa el espectro de una muestra de hueso implantado con acero durante 3 meses y los correspondientes tratamientos térmicos. A diferencia de la figura 33A, no se observa que las bandas de la fase mineral del tejido se desvanezcan. Aunque la banda 8, correspondiente al estiramiento P-O, pierde definición con respecto a la figura 33. En la figura 37B, corresponde a un espectro de un hueso implantado con zinc durante 3 meses y con tratamientos térmicos. Esta muestra es de resaltar la pérdida de la banda 6, que

corresponde a los carbonatos, y la falta de definición de la banda 8. También aparecen dos pequeñas bandas que empiezan a reasaltarse a los 400°C y a los 600°C ya son muy claras, estas bandas se localizan en 725 y 630 cm^{-1} , y que pueden asignarse a ortofosfatos metálicos. Por último la banda 11 que a los 20°C no tiene una buena definición conforme se va calentando la banda se va definiendo.

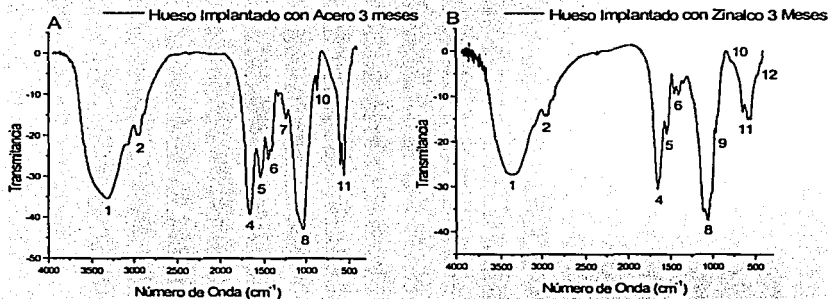


Figura 36. Espectros de infrarrojo, FTIR, de huesos con implantes metálicos durante 3 meses. A) acero 316L. B) zinco

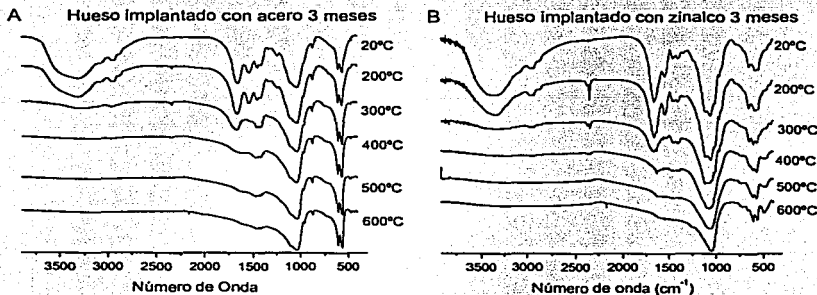


Figura 37. Espectros de infrarrojo de huesos con implantes metálicos durante 3 meses, sometidos a tratamientos térmicos. A) acero 316L. B) zinco

La figura 38A pertenece a un hueso implantado con acero por 6 meses. En este espectro se puede observar la banda 3, correspondiente a lípidos y carbonatos, que en espectros anteriores no había sido posible distinguir. La banda 2, tiene una gran intensidad y la banda 12 esta muy acentuada. Las otras bandas de fosfatos y carbonatos se encuentra mejor definidos. La figura 38B, pertenece a un hueso implantado con zinalco durante 6 meses, en este espectro no se observa la banda 3, y la banda 2 no se encuentra definida. La banda 12 casi no se observa. En las otras bandas no se encuentran cambios significativos respecto al acero.

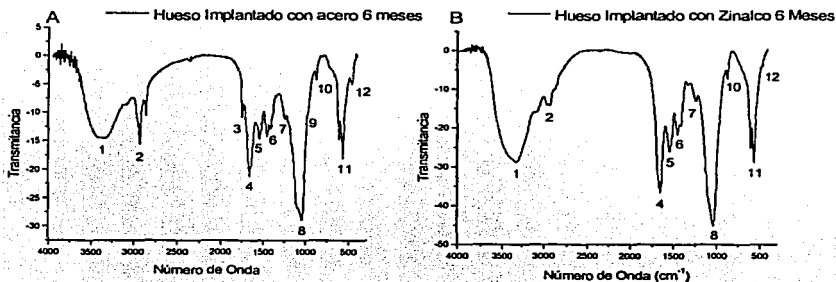


Figura 38. Espectros de infrarrojo de huesos con implantes metálicos durante 6 meses. A) acero 316L. B) zinalco

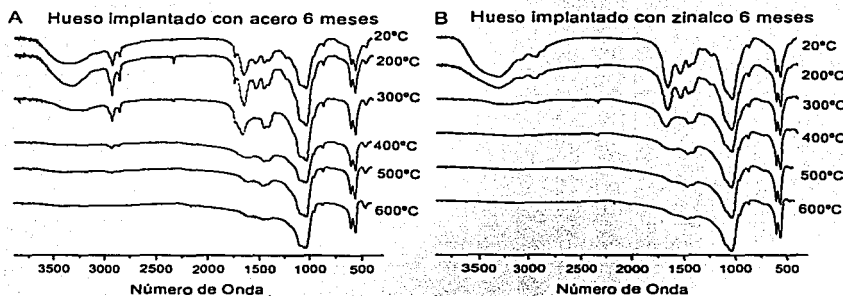


Figura 39. Espectros de infrarrojo de huesos con implantes metálicos durante 6 meses, sometidos a tratamientos térmicos. A) acero 316L. B) zinalco

En la figura 39A, se presenta un espectro de un hueso implantado con acero durante 6 meses y sus correspondientes tratamientos térmicos. En estos espectros se observa que la banda 2 va perdiendo definición conforme se aumenta la temperatura, hasta desaparecer totalmente a los 500 °C, la banda 3 desaparece al llegar a los 300 °C. No hay más cambios sobresalientes con respecto a la figura 33. En la figura 39B se presentan los espectros pertenecientes a un hueso implantado con zincalco durante 6 meses y sus respectivos tratamientos térmicos. No hay cambios significativos con respecto a un hueso sano.

El espectro correspondiente a un hueso implantado con acero durante 9 meses se presenta en la figura 40A. La banda 11, correspondiente a la torsión del PO_4^{3-} , se halla poco definida. La figura 40B pertenece a un hueso implantado con zincalco por 9 meses, los cambios más significativos, pueden encontrarse en las bandas de los fosfatos. La banda 8, que corresponde al estiramiento P-O, se desdobra en dos, esto puede ser observado en espectros de huesos sanos a los cuales se le ha aplicado una deconvolución a las bandas, que es el desenmarañamiento de las bandas superpuestas. En el lugar de la banda 10 se aprecian dos bandas donde la que se halla hacia la izquierda del lector es la banda de los carbonatos. Y a la derecha de la banda 10 aparecen dos nuevas bandas en 795 y 645 cm^{-1} , que corresponde a ortofosfatos metálicos. En la banda elegida como 11, es más pequeña en relación a la del hueso sano.

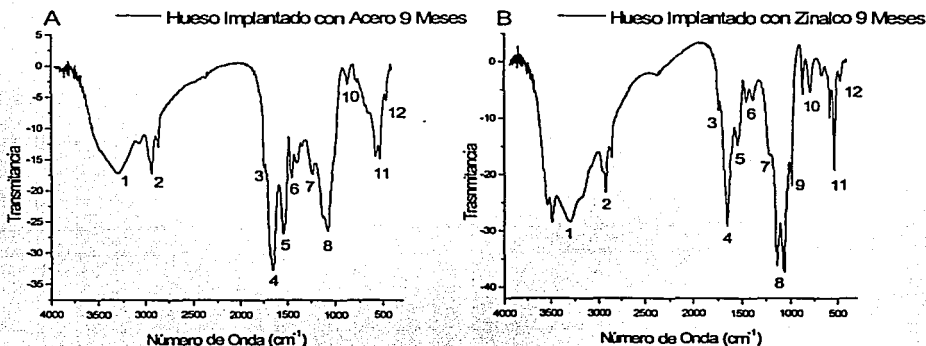


Figura 40. Espectros de infrarrojo, FTIR, de huesos con implantes metálicos durante 9 meses. A) acero 316L. B) zincalco

En la figura 41A, se presentan los espectros de un hueso implantado con acero durante 9 meses y sometido a tratamientos térmicos. En estos espectros se puede observar que la banda 6 disminuye su intensidad, hasta desaparecer a los 500 °C. La banda 8 va perdiendo su forma conforme aumenta la temperatura. La banda 10 al aumentar la temperatura a los 200 °C se ensancha de 920-820 cm^{-1} , posteriormente, conforme continua el aumentando la temperatura se va adelgazando hasta llegar a ser una banda bien definida, con un máximo a los 950 cm^{-1} , es decir se está llevando a cabo un proceso en el cual la banda 10, asociada a los carbonatos, desaparece y se transforma en la banda 9, relacionada con el estiramiento P-O. A los 200 °C aparece una banda entre los 820-770 cm^{-1} , que es asociada con los ortofosfatos metálicos. A los 300 °C esta banda se ensancha de 820 a 690 cm^{-1} y al llegar a los 500 °C se desdobra en dos bandas, la primera 820-770 cm^{-1} y la segunda 770 a 690 cm^{-1} . Esta última llega a tener un máximo a los 600 °C en 720 cm^{-1} , también asociada a ortofosfatos metálicos. La banda 11 a los 20 °C se encuentra desdoblada en dos bandas, en 575 y 530 cm^{-1} , respectivamente. A los 200 °C este desdoblamiento se pierde, para reaparecer a los 600 °C la fractura ahora a los 607 y 565 cm^{-1} .

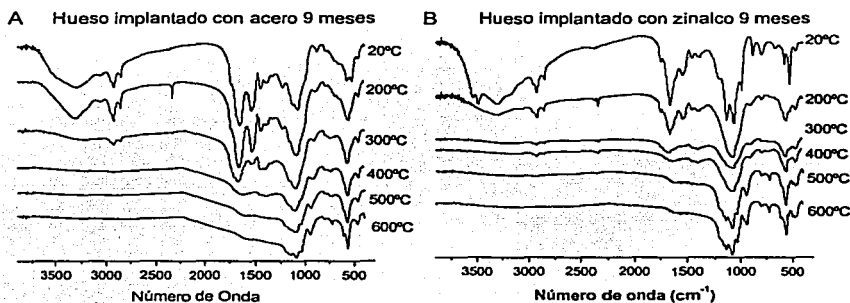


Figura 41. Espectros de infrarrojo de huesos con implantes metálicos durante 9 meses, sometidos a tratamientos térmicos. A) acero 316L B) zincalco

Por otro lado, la figura 41B, corresponde al espectro de un hueso implantado con zincalco durante 9 meses y sometido a tratamientos térmicos. La banda 6 va desapareciendo conforme aumenta la temperatura. La banda 8 a los 20 °C presenta un desdoblamiento en los 1135 cm^{-1} y a los 1063 cm^{-1} , está reportado que a los 1100 cm^{-1} se encuentra un carbonato asimétrico⁽⁹²⁾. Sobre la banda 8 aparece un hombro correspondiente a la banda 9, que desaparece a los 200 °C, a esta misma temperatura se pierde la banda doble, para retornar a los 500 °C, los máximos se encuentran en 1140 y 1085 cm^{-1} . La banda denominada 10 a los 20 °C se encuentra sobrepuesta con otra banda, la banda superpuesta se encuentra entre 910 y 730 cm^{-1} , y con dos máximos en 875 y 975 cm^{-1} . A la derecha de la banda 10 a 20 °C aparece otra banda entre 690-630 cm^{-1} , con un máximo en los 658 cm^{-1} , esta banda se perderá a los 200 °C. A los 200 °C grados la banda 10 desaparece y aparece

una banda entre los 930-820 cm^{-1} , y a su lado derecho se encuentra una nueva banda entre los 820-760 cm^{-1} . Es decir, como efecto del aumento de la temperatura las bandas superpuestas se desdoblán y se pierde la banda correspondiente a los carbonatos en todas las temperaturas subsecuentes. La banda de los 930-820 al aumentar la temperatura se va definiendo para al llegar a los 600 °C como la banda 9. La banda que esta superpuesta con la banda 10 varía solamente en intensidad pero no se pierde ante el aumento de la temperatura. A los 500 °C aparece una banda entre 750 y 700 cm^{-1} , con un máximo a los 721 cm^{-1} . La banda 11 presenta también cambios, se puede observar que no se encuentra bien definida, pero conforme aumenta la temperatura se pierde la doble banda en los 200 °C y después de los 400 °C reaparece. La banda 12 al llegar a los 500 °C se ensancha y se desdobla en dos bandas con máximos en los 498 y 468 cm^{-1} .

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

CAPITULO V

CONCLUSIONES

RADIODIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico por medio del uso de Rayos X, es de suma importancia la definición de las líneas de contorno del hueso, ya que es esto lo que se puede interpretar. Líneas bien definidas implican que el tejido se encuentra bien organizado y mineralizado.

En el caso del clavo de acero, es notorio que las líneas de contorno del hueso a medida que pasa el tiempo, son más definidas, indicando una recuperación normal, pasando por una etapa en la que se nota claramente la formación de un callo óseo, mismo que al reabsorberse da lugar a un hueso sano.

Para el caso de los huesos implantados con Zinalco se observan signos de inflamación en todo el fémur, todo el tiempo que dura el implante colocado en el fémur. Esta respuesta inflamatoria esta cambiando su estructura, es la razón de que las líneas no estén bien marcadas, sino nebulosas. En las radiografías de los perros implantados con zinalco las líneas del hueso fémur no están definidas para ningún periodo de implantación, se hacen más difusas a medida que el tiempo pasa lo cual puede ser causado únicamente por el clavo de zinalco. Un mes después de haber sufrido el traumatismo debería haber un callo óseo mineralizado y bien limitado en sus contornos, consideramos que en la diáfisis en fractura debe encontrarse fibras de colágena. El proceso de rehabilitación se encuentra retardado por la aleación Zinalco, pues la inflamación aguda fomenta la formación de fibras de colágena, la desorganización del tejido y finalmente la necrosis del mismo ^(58,65,72).

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

En las fotografías obtenidas mediante Microscopía Electrónica de Barrido observamos la respuesta del tejido hacia el implante.

En los huesos implantados con Acero 316L es notable que desde el primer mes de implantación el tejido ha respondido adecuadamente. En todos los implantes metálicos que se han implantado siempre se desarrolla alrededor de ellos una cápsula de tejido fibroso, colágena tipo I y III, se sabe que esta cápsula puede tener una duración de una a dos semanas, siempre que el implante no provoque reacciones adversas.

En la Figura 16 se puede observar que alrededor del clavo intramedular se encuentra hueso compacto y células osteoblásticas, reflejo de un buen metabolismo del tejido. No se observan fibras alrededor del implante, signo de que estas ya fueron absorbidas por el organismo. El implante no presenta signos de corrosión. En los siguientes periodos experimentales se aprecia la formación de hueso nuevo, estructuras características del tejido óseo como lamelas sobrepuestas, Figura 20. En general las fotografías observadas de los huesos implantados con Acero 316L reflejan un buen metabolismo.

En los huesos implantados con Zinalco encontramos varias características anómalas. En la figura 17 podemos observar en la zona donde estuvo el implante una desorganización ósea que incluso llegan a parecer estructuras similares al hueso esponjoso, en la zona donde al mes de implantación se debería encontrar hueso compacto esta desorganización es más notoria, esto se acrecenta mientras mayor es la cercanía al implante. Es como si alrededor del clavo de Zinalco se estuviera desarrollando un halo cilíndrico que afecta al hueso.

Además también se puede encontrar tejido fibroso alrededor del implante. En este primer mes se observan signos de corrosión del clavo intramedular de Zinalco.

Para el tercer mes son aún notables los rasgos de la desorganización del tejido óseo, se encuentra tejido fibroso alrededor del implante. Igualmente se mantiene la corrosión del implante de Zinalco, mostrando un incremento del volumen ocupado por los productos de dicha corrosión, provocando puntos de fractura y microfracturas en la zona periprotésica del tejido óseo. Al sexto mes de implantación con clavos de Zinalco, se mantienen las fibras alrededor del implante, estas fibras parecen ramas alineadas. Al 9º mes experimental, la corrosión en los clavos de Zinalco parece estar pasivada. No obstante el desarreglo de la estructura ósea parece irreversible. Se aprecian fibras y son visibles las microfracturas del tejido óseo.

Es notorio que los clavos de Zinalco presentaron una adaptabilidad biológica inconveniente, pues necesariamente existieron eventos electroquímicos en la zona de contacto entre el tejido y el material que dieron lugar a la corrosión del implante. La corrosión ciertamente libera iones alrededor del tejido, estos iones metálicos actuaron de tal forma que ocurren efectos contrarios a los esperados. Los productos de corrosión ejercieron fuerzas mecánicas suficientes para causar una osteogénesis imperfecta, también provocaron puntos de fractura y microfracturas en el tejido óseo⁽⁷³⁻⁸¹⁾.

TERMOGRAVIMETRÍA

Con las curvas de TGA se pueden observar los cambios que tiene el tejido óseo cuando ha sufrido algún traumatismo.

Si analizamos con cuidado los termogramas y la tabla V de esta tesis para los huesos implantados con Acero, encontramos que los porcentajes en peso para la fase mineral sobrepasan los datos reportados por Civjan, a excepción del termograma de la figura 25. Por tanto consideramos que estos huesos tuvieron una buena adaptabilidad al implante, pues el implante no interrumpió la reestructuración del hueso. También se encontró que el hueso con implante de Acero a 1 mes de implantación se encuentra en una de las etapas más avanzadas de la recuperación del tejido. Podemos afirmar que después del primer mes las propiedades térmicas del hueso y los porcentajes de la fase mineral del hueso, no indican una diferencia significativa entre ellos y las de un hueso normal.

Mientras que en los huesos implantados con Zinalco se aprecia después del primer mes de implantación un considerable decremento en peso en la fase mineral y la fase orgánica resulta tener porcentajes sorprendentemente altos. Tomando los datos obtenidos en la literatura, los valores de los huesos implantados con Zinalco a 1 mes se asemejan a la organización del coágulo y a la formación de fibras de colágena después de la lesión y los coágulos y fibras de colágena se esperan en la primera y segunda semana, para la cuarta semana de estar en recuperación en el tejido óseo se espera cuando menos la formación de un callo óseo primario, por lo que se hace patente que estos huesos han estado sometidos a ciertos eventos que de alguna forma alteran o retardan la recuperación del hueso.

Para el tercer mes de implantación con Zinalco encontramos valores de la fase inorgánica son 46% en peso, correspondientes a una estructura de callo primario, cuando ya han pasado 16 semanas de la operación, tiempo suficiente para encontrar una estructura ósea funcional. Es evidente que los huesos implantados Zinalco no han tenido una evolución satisfactoria⁽⁸²⁻⁹⁰⁾

INFRARROJO

Para el caso del hueso implantado con Acero durante 1 mes es evidente, que existen cambios en la estructura cristalina de la apatita. Las bandas se encuentran bien definidas, pero al aumentar la temperatura el sistema se vuelve inestable perdiendo gran parte de las bandas características de la apatita. Es curioso que en los espectros de infrarrojo, ciertas bandas de la fase mineral desaparezcan cuando en los resultados de TGA para este mismo tiempo experimental existe un buen porcentaje en peso de esta fase, lo que sugiere que el implante está afectando a la apatita.

Para los huesos implantados con Acero durante 3 y 6 meses, existen ligeros cambios entre ellos, sin embargo se observa la conservación de las bandas de apatita.

Para todos los espectros implantados con Zinalco, es notorio que conforme se va aumentando la temperatura las bandas de los carbonatos se van disminuyendo hasta ser imperceptibles. En las bandas de los grupos fosfatos también se observan cambios que según Nyquist pertenecen a ortofosfatos metálicos. Según Bigi⁽⁹³⁾ y LeGeros⁽⁹⁴⁾, el zinc puede ser absorbido por la superficie de la apatita, incorporándose. El zinc asociado a la fase apatita promueve la conversión de HA a β -TCP y favorece la incorporación de grupos fosfatos por CO_3^{2-} . La presencia del zinc a concentraciones altas, promueve la formación del fosfato de calcio amorfo, ACP o fosfato β - tricálcico (β -TCP), existe un decremento en la cristalinidad de la apatita causada por los iones metálicos de la corrosión⁽⁹¹⁻¹⁰³⁾.

En todas las pruebas realizadas es innegable que la presencia de la aleación Zinalco es desfavorable para la recuperación del tejido óseo.

La aleación Zinalco al estar en contacto con el tejido óseo y los fluidos biológicos, presenta corrosión desde el primer mes.

La respuesta del tejido a los iones metálicos liberados por la corrosión, es una inflamación aguda.

Los iones metálicos liberados en el tejido óseo, son capaces de cambiar la estructura de la apatita.

Por todo lo anterior, no recomendamos la utilización de la aleación zinalco (80% Zn, 18% Al, 2% Cu) como biomaterial.

REFERENCIAS

- 1) Smith, W F. 1999: Fundamentos de la Ciencia de Materials. Mc Graw Hill, Barcelona, España. Pp 327-28.
- 2) Silver, F.H. and Christiansen, D.L. 1999. Biomaterials Science and Biocompatibility. Ed. Springer-Verlag New York, Inc. Pags. 1-3.
- 3) Hallab, N, *et al*, "Hypersensitivity Associated with Metallic Biomaterials", Biomaterials Engineering and Devices: Human Applications, Vol 1. D. L. Wise, *et al* (eds). © Humana Press, Inc., Totowa, NJ.2000 Pp 15-23
- 4) Black, J. "Biological Performance of Materials: Fundamentals of Biocompatibility" Marcel Dekker, New York 1999 Pp 3-13.
- 5) Jones, DB. *Cells and Metals* . In *Metals as Biomaterials*. J.A. Helsen and H.J. Breme(eds). John Wiley & Sons Ltd, England. 1998. Pp 317-34.
- 6) Feldman, D *et al* . Biomaterial-Enhanced Regeneration for Skin Wounds. In: Biomaterials and Bioengineering Handbook. Marcel Dekker, NY. 2000. Pp 807-842.
- 7) De Aza PN, Guitian F, De Aza S. Bioeutectic: a new ceramic material for human bone replacement. Biomaterials 1997 Oct;18(19):1285-91.
- 8) Piña, B. C. La física en la medicina. Fondo de Cultura Económica. 1987.
- 9) Duchesne, P. 1984. Natural and living biomaterials. Ed. Hastings, W. H. CRC Press, Boca Raton, Florida. Pp 2-3.
- 10) Rivera, M.E.M. Desarrollo, descripción y análisis del método de crecimiento de hidroxiapatita (HAP) Sobre geles monolíticos de sílice y procesamiento y caracterización de esferas de Hap con porosidad controlada para prótesis de globo ocular. Tesis para obtener el grado de Doctor en ciencias: Facultad de ciencias. U.N.A.M. Asesor: Doctor Victor Manuel Castaño Meneses. 1997.
- 11) Williams, D.F. (ed.): **Definitions in Biomaterials: Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials**. Chester, England, March 3-5, 1987. Elsevier, Amsterdam. 1987
- 12) Williams, D.F. *et al*: in Doherty, P.J., Williams , R.L., Williams, D.F., and Lee, A.J.C. (eds): Biomaterials- Tissue Interfaces. Advance in Biomaterials. Vol. 10. Elsevier, Amsterdam. 1992. Pp 525.
- 13) H.F. Hildebrand and J.C. Hornez. *Biological Resonse and Biocompatibility*. In *Metals as Biomaterials*. J.A. Helsen and H.J. Breme(eds).. John Wiley & Sons Ltd, England. 1998
- 14) Anderson, JM. The Extracellular matrix and Biomaterials. In *Implantation Biology: The Host Response and Biomedical Devices*. Greco, RS (ed) CRC Press. 1994. Pp 113-30
- 15) Sikavitsas V, Temenoff S and Mikos G. Biomaterials and Bone Mechano-transduction. Biomaterials 22(2001) 2581-2593.
- 16) Branemark R, Branemark P I, Rydevk B, and Myers R. Osseointegration in Skeletal Reconstruction and Rehabilitation: A Review. Journal of Rehabilitation Research and Development 36, 2 (2001) 175-181.
- 17) Blunn GW, Hua J, Hunter A, Wait ME and Walker PS. The Effect of Implant Stiffness on the Osseointegration of Titanium alloy. In: Biomaterials-Tissue Interfaces, P.J. Doherty *et al* (ed), Advances in Biomaterials, 10. 1992 Elsevier Science Publishers.
- 18) Plenk H Jr. Prosthesis-bone interface. J Biomed Mater Res (1998) ;43(4):350-5.

- 19) Puleo, DA and Nanci A. Understanding and controlling the Bone-Implant Interface. *Biomaterials* 20(1999)2311-2321.
- 20) Kruger, J, "Fundamentals aspects of the Corrosion of Metallic Implants", *Corrosion and Degradation of Implant Materials*, ASTM STP 684, B.C. Syrett and A. Acharya, Eds., American Society for Testing and Materials, 1979, pp. 107-127.
- 21) Breme, J, et al. "Criteria for Bioinertness of Metals for Osseo Integrated Implants", *Osseo-Integrated Implants*, Vol 1. Heimke, G. (ed.) CRC Press, Boca Raton, Florida. 1990 Pp 31-80
- 22) Mendenhall, H V, "Surgical Principles of Biomaterials Implantation", *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*, D L Wise *et al* (eds.), Marcel Dekker, Inc., 1995, pp 3-26.
- 23) Jacobs JJ, *et al.* Corrosion of metal orthopaedic implants. *J Bone Joint Surg* 1998;80(A):268-282.
- 24) Salvati EA, Betts F, Doty SB. Particulate metallic debris in cemented total hip arthroplasty. *Clin Orthop* 1993 Aug;(293):160-73
- 25) Lee JM, Salvati EA, Betts F, DiCarlo EF, Doty SB, Bullough PG. Size of metallic and polyethylene debris particles in failed cemented total hip replacements. *J Bone Joint Surg Br.* 1993 Jan;75(1):161-2
- 26) Trindade CD, Smith L, Jacobs J, and Goodman B. News Insights in the Biological Effects Of Wear Debris From Total Joint Replacements. In *Metals as Biomaterials*. J.A. Helsen and H.J. Breme(eds).. John Wiley & Sons Ltd, England. 1998.
- 27) Nakashima Y.; Sun, D.H.; Maloney W.J.; Goodman S.B.; Schurman D.J.; Smith R. Lane: Orthopaedic Wear Debris and Matrix Metalloproteinase Expression in Human Macrophages In Vitro. *J Bone Jt Surg*, 80-B:694-700, 1998.
- 28) Amstutz HC, *et al.* Mechanism and clinical significance of wear debris-induced osteolysis. *Clin Orthop* 1992;276:7-18.
- 29) Stea S, Visentini M, Granchi D, Cenni E, Ciapetti E, Ciapetti G, Sudanese A, Toni A. Apoptosis in Peri-implant Tissue. *Biomaterials* 21(2000) 1393-1398.
- 30) Olsen B, Reginato A, and Wang w. Bone Development. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2000. 16:191-220.
- 31) Ozin, G. A., Varaksa, N., Coombs, N., Davies, J. E., Perovic, D.D and Ziliox, M. 1997. Bone mimetics: a composite of hidroxiapatita and calcium dodecylphosphate lamellar phase: *J. Mater. Chem.* 7(8), 1601-1607.
- 32) Voet, D. & Voet, J. *Biochemistry*. John Wiley & Sons. Pp156-161. 1995.
- 33) Wess, T. J. Hammersley, A.P., Wess, L., and Miller, A. A consensus model for molecular packing of type I collagen. *Journal structural biology*. Vol. 122. Pp92-100. 1998.
- 34) Prockop, D.J., Fertala, A. The collagen fibril: The almost crystalline structure. *Journal of structural biology*. Vol 122. Pp 111-118. 1998.
- 35) Beck, K., Brodsky, B. 1998. Supercoiled protein motifs: The collagen triple-helix and the alfa-helical coiled coil. *Journal Structural Biology*. 122, Pp 17-29.
- 36) Fratzi, P., Misof, K., and Zizak, I. Fibrillar structural and mechanical properties of collagen. *Journal Structural Biology*. Vol 122, Pp 119-122. 1997.
- 37) Carter, G. J. 1990. Skeletal biomineralization: patterns, process and evolutionary trends. V.I. Van Nostrand reinhold. N.Y.
- 38) Mann, S. Molecular tectonics in biomeralization and biomimetic materials chemistry. *Nature*. Vol 365, Oct 7. Pp 499-505. 1993.

- 39) Currey, J.D. Biomechanics of mineralized skeletons. En: Carter, G. (Editor). Skeletal biomineralization: Patterns, process and evolutionary trends. V.I. Van Nostrand Reinhold, N.Y. 1990.
- 40) Einhorn, T.A. Biomechanics of bone. En: Principles of bone biology. De: Bilezikian, J.P., Raisz, L.G. & Roldan, G.A. 1996.
- 41) Elliott, J.C., Mackie, P.E., and Young R.A. Monoclinic hydroxyapatite. Science. Vol. 180, June 8. 1973.
- 42) Kay. M. I., Young, R. A. and Posner, A. S. Crystal structure of hydroxiapatite, Nature, December 12, 1964.
- 43) Leeson, T.S. & Leeson, C.R. 1985. Histología. Interamericana. Pp 144-163.
- 44) Marotti, G. Morphological and quantitative aspects of bone formation and mineralization. En: Bone regulatory factors. Morphology, Biochemistry, Physiology and Pharmacology. Editores: Pecile, A., Bernard, B. 1988.
- 45) Bonucci E. Role of Collagen Fibrills in Calcification. In: Calcification in Biological Systems. Ermanno Bonucci (Editor). Hardcover (April 1992). CRC Press.
- 46) Marks, S.C. JR., Cielinsky, M.J., and Sundquist, K T. (1996) Bone Surface Morphology Reflects Local Skeletal Metabolism. Microsc. Research and Technique 33:121-127.
- 47) Boyde A and Jones SJ. Scannig Electron Microscopy of Bone: Instrument, Specimen, and Issues. Microscopy Research and Technique 33:92-120 (1996).
- 48) Landis WJ, Hodgens KJ, Arena J, Song M and McEwen B. Structural Relations Between Collagen and Mineral in bone as Determinated by High Voltage Electron Microscopy Tomography. Microscopy Research and Technique 33:192-202 (1996).
- 49) Landis WJ and Hodgens KJ. Mineralization of Collagen May Occur on Fibril Surfaces: Evidence from Conventional and High-Voltage Electron Microscopy and Three-Dimensional Imaging. Journal of Structural Biology 117, 24-35 (1996).
- 50) Lakkakorpi PT and Väänänen KH. Cytoskeletal Changes in Osteoclast During the Resorption Cycle. Microscopy Research and Technique 33:171-181 (1996).
- 51) Wiener S and Wagner D. The Material Bone: Structural-Mechanical Function Relations. Annu. Rev. Mater. Sci. 1998, 28:271-98.
- 52) Wiener S, Traub W and Wagner D. Lamellar Bone: Structure-Function Relations. Journal Structural Biology 16, 241-255 (1999).
- 53) Cui FZ, Zhang Y, Wen HB and Zhu WD. Microstructural Evolution in external Callus of Human Long Bone. Materials Science and Engineering C 11 (2000) 27-33.
- 54) Eanes E. Dynamics of Calcium Phosphate Precipitation. In: Calcification in Biological Systems. Ermanno Bonucci (Editor). Hardcover (April 1992). CRC Press.
- 55) Torres Villaseñor, Gabriel. Microestructura y Propiedades Mecánicas del Zinalco. Ciencias (1988) 39. 103-111.
- 56) Sandoval Jimenez, Alberto Ramiro. Caracterizacion de una aleacion eutectoide Zn-Al modificada con Cu. Tesis Maestria (Maestria en Fisica de Materiales) UNAM, Facultad de Ciencias. Torres Villaseñor, Gabriel, asesor. Universidad Nacional Autonoma de Mexico. Facultad de Ciencias. 1992.
- 57) C. Piña, C.K. Torres, J. Guzmán. Preliminar histological Study of Connective Tissue Response to Zinalco and Stainless steel 316L Implants after 120 Days. Journal of Materials Research: Materials in Medicine 9(1998): 9397.

- 58) Izquierdo UM, Piña C, Pérez N, Olivera A, Luna del Villar V, Munguía N. Evaluación Radiográfica de Implantes de Zinalco en Fémur de Perros. *Vet. Méx.*, 30(2) 1999.
- 59) Palma, R. B., C. K. Torres, Piña, C. Biocompatibilidad del Zinalco "In vitro". *Rev. Mexicana de ingeniería biomédica*. Pp 95-98. 1995.
- 60) Pérez, N., Olivera A., Izquierdo, P., Luna, J., Piña, B.C., Torres, V.G., Munguía, N. Pruebas de biocompatibilidad "In vivo" de Zinalco extruido comparado con acero 316L. *Rv. Mexicana de Ingeniería Biomédica*. Pp 99-103. 1995.
- 61) Piña, B.C. & Torres, V.G. Zinalco, material para implantes ortopédicos. I. Pruebas fundamentales de biocompatibilidad. *Rev. Mexicana de Ingeniería Biomédica*. Pp105-115. 1995.
- 62) de los Ángeles Aguilar M, Espinosa S, Rodríguez L, Pina C. Biocompatibility in vitro tests of Zinalco. *Mutat Res* 1999 Oct 29;446(1):129-34.
- 63) Piña, B. C. La física en la medicina II. Fondo de Cultura Económica. 2000.
- 64) Heredia, BA. 2000. Estudio De Huesos Antiguos Y Modernos: Morfología, Estructura Y Aportaciones Al Estudio De Biomateriales. Tesis licenciatura. UNAM
- 65) Hodges, JF, Lampe et al. 1950. Manual de Radiología: Radiodiagnóstico y Radioterapia. Prensa Medica Mexicana. México.
- 66) Vázquez, N. G. and Echeverría, O. 2000. Introducción a la Microscopía Electrónica Aplicada a las Ciencias Biológicas. Ed. Fondo de Cultura Económica. Pags. 16-17.
- 67) Ojeda Sahagun, J. 1997. Métodos de microscopía electrónica de barrido en biología. Santander, España. Universidad de Cantabria.
- 68) Keatch CJ, and Dollimore D. 1975. An introduction to thermogravimetry. London.
- 69) Charles ME. 1988. Compositional analysis by thermogravimetry. Philadelphia, Pennsylvania.
- 70) Stewart JE. 1970. Infrared Spectroscopy. Marcel Dekker, INC. New York.
- 71) Bentley FF, Smithson Ld, Rozek AL. 1968. Infrared Spectra and Characteristic Frequencies -700-300 cm⁻¹. Interscience Publishers, London.
- 72) Okazaki Y, Nishimura E, Nakada H, Hobayashi K. Surface Análisis de Ti-15Zr-4Nb-4Ta Alloy after Implantation in Rat Tibia. *Biomaterials* 22 (2201) 599-607.
- 73) Yamaguchi, M and Kishi S. (1996) Zinc compounds inhibit osteoclast-like cell formation at the earlier stage of rat marrow culture but not osteoclast function. *Molecular and Cellular Biochemistry* 158: 171-177.
- 74) Pålsgård, E.; Grime, G.W.; Johansson, C.; Li, G.; Triffit, J.T. 1997. Bone growth and bone development in the presence of implants or after induced lengthening studied using the Oxford Scanning Proton Microprobe. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol: 130, Issue: 1-4, pp. 431-438
- 75) Muller-Mai CM, Stupp SI, Voigt C, Gross U. Nanoapatite and organoapatite implants in bone: histology and ultrastructure of the interface. *J Biomed Mater Res* 1995 Jan;29(1):9-18
- 76) Ryhänen J, Kallioinen M, Serlo W, Peramaki P, Junila J, Sandvik P, Niemela E, Tuukkanen J. Bone healing and mineralization, implant corrosion, and trace metals after nickel-titanium shape memory metal intramedullary fixation. *J Biomed Mater Res* 1999 Dec 15;47(4):472-80.

- 77) Kishi S And Yamaguchi M. Characterization of Zinc Effect to Inhibit Osteoclast Like Cell Formation in Mouse Marrow Culture: Interaction With Dexamethasone.
- 78) Litchfield TM, Ishikawa Y, Wu L, Wuthier R, Sauer G. Effect of Metal Ions on Calcifying Growth Plate Cartilage Chondrocytes. *Calcif Tissue Int* (1998) 62:341-349.
- 79) Kasemo B and Lausmaa J. Surface Properties and Processes of the Biomaterial-Tissue Interface. *Materials Science and Engineering, C1* (1994) 115-119.
- 80) Kasemo B, Gold J. Implant surfaces and interface processes. *Adv Dent Res* 1999 Jun;13:8-20.
- 81) Haruo Kawamura, Atsuo Ito, Shunpei Miyakawa, Pierre Layrolle, Kenji Ojima, Noboru Ichinose, Tetsuya Tateishi. Stimulatory effect of zinc-releasing calcium phosphate implant on bone formation in rabbit femora. *Journal of Biomedical Materials Research. Volume: 50, Issue: 2, Date: May 2000, Pages: 184-190.*
- 82) Holanger, J. Thermogravimetric Examination of Enamel and Dentin. *J Dent Res.* 49: 546-548, 1970.
- 83) Civjan S, Selting WJ, De Simon LB, Battistone GC, Grower MF. Characterization of osseous tissues by thermogravimetric and physical techniques. *J Dent Res.* 1972 Mar-Apr;51(2):539-42.
- 84) C. Shannon, R. Thull, A. von Recum. Types I and III collagen in the tissue capsules of titanium and stainless-steel implants. *Journal of Biomedical Materials Research. Volume: 34, Issue: 3, Date: 5 March 1997, Pages: 401-408.*
- 85) Lozano, A. B. 2002. Estudio calorimétrico de colágena tipo I presente en hueso y su aplicación como técnica de análisis de restos óseos de interés arqueológico y paleontológico. Tesis licenciatura. UNAM.
- 86) Bigi A, Ripamonti A, Cojazzi G, Pizzutto G, Roveri N, Koch H. Structural Analysis of Turkey Tendon Collagen upon Removal of the Inorganic Phase. *Int. J. Biol. Macromol.*, 1991, Vol. 13, Abril.
- 87) Villanueva PE, Girela F, Castellanos M. The application of differential thermal analysis and thermogravimetric analysis to dating bone remains. *J Forensic Sci.* 1976. Oct; 21(4): 822-833.
- 88) Peters F, Karsten A, Epple M. The structural of Bone Studied with Synchrotron X-ray Diffraction, X-ray Absorption Spectroscopy and Thermal Analysis. *Thermochemica Acta* 361 (2000) 131-138.
- 89) Bigi A, Cojazzi G, Panzavolta S, Ripamonti A, Roveri N, Romanello M, Noris Suarez, and Moro L. Chemical and Structural Characterization of the Mineral Phase from Cortical and Trabecular Bone. *J Inorg Biochem.* 1997 Oct;68(1):45-51.
- 90) Lim JJ, Liboff AR, Thermogravimetric Analysis of Dentin. *J Dent Res* Marzo-Abril 1972.
- 91) Nyquist, R. A. Kagel, R.O.1971. The hanhbook of Infrared and Raman Spectra of Inorganic Compounds and Organic Salts; Infrared Spectra of Inorganic Compounds. Academic Press, INC. Sandiego, USA.
- 92) Flores Flores José Ocotlán, Lozano Aguirre Beltrán Luis Fernando, Peña Rico Miguel Angel. "Estudio Por Análisis Térmicogravimétrico ATG Y Espectroscopia Infrarroja (FTIR) de Huesos de Zonas Arqueológicas Del Valle De México". Informe Técnico. Junio 2001.
- 93) Bigi A, Foresti E, Gandolfi M, Gazzano M, Roveri N. Inhibiting Effect Zinc On Hydroxylapatite Crystallization. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 58, 48-58 (1995).

- 94) LeGeros RZ, Bleiwas CB, Retino M, Rohanizadeh R, LeGeros JP. Zinc effect on the in vitro formation of calcium phosphates: relevance to clinical inhibition of calculus formation. *Am J Dent* 1999 Apr;12(2):65-71.
- 95) Boskey AL, Gadaleta S, Gundberg C, Doty SB, Ducey P, and Karsenty G. Fourier Transform Infrared Microspectroscopic Analysis Of Bone of Osteocalcin-Deficient Mice Provides Insight Into the Function of Osteocalcin. *Bone* 23. 3 Sep 1998:187-196
- 96) Camacho NP, Rinnerthaler S, Paschalis EP, Mendelsohn R, Boskey AL, Fratzl P. Complementary Information on Bone Ultrastructure From Scanning Small Angle Xray Scattering and Fourier-Transform Infrared Microspectroscopy. *Bone* Vol. 25.No.3 sep 1999:287-293.
- 97) Kafalak-Hachulsa A. Kolodziejcki W. Preliminary Results on Infrared Microscopy of Human Bone. *Journal of Molecular Structure* 511-512 (1999) 217-221.
- 98) Boyan RD, Schwartz Z, and Boskey AL. The importance of Mineral in bone and Mineral Research *Bone* Vol. 27 No.3 September 2000. 341-342.
- 99) Pleshko N, Boskey A, and Mendelsohn. Novel Infrared Spectroscopy Method for the Determination of Crystallinity of Hydroxyapatite Minerals.
- 100) Rey C, Collins B, Goehl T, Dickson R, and Glimcher MJ. The Carbonate Environment in Bone Mineral: A Resolution-Enhanced Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study. *Calcif Tissue Int.* (1989) 45: 157-164.
- 101) Rey C, Shimizu M, Collins B, Glimcher MJ. Resolution-Enhanced Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study of the Environment of Phosphate Ions in the Early Deposits of a Solid Phase of Calcium-Phosphate in Bone and Enamel, their Evolution with Age . I: Investigations in the ν_4 PO₄ Domain.
- 102) Rey C, Shimizu M, Collins B, Glimcher MJ. Resolution-Enhanced Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study of the Environment of Phosphate Ions in the Early Deposits of a Solid Phase of Calcium-Phosphate in Bone and Enamel, their Evolution with Age . II: Investigations in the ν_3 PO₄ Domain.
- 103) H. Ou-Yang, E. P. Paschalis, A. L. Boskey, R. Mendelsohn. Two-Dimensional Vibrational Correlation Spectroscopy of In Vitro Hydroxyapatite Maturation. *Biopolymers (Biospectroscopy)*, Vol. 57, 129-139 (2000).
- 104) Bucio L. comunicación personal.
- 105) Turan B, Bayari S, Balcik C, Severcan F, Akkas N. A biomechanical and spectroscopic study of bone from rats with selenium deficiency and toxicity. *Biometals* 2000 Jun;13(2):113-21
- 106) Chang R. 1992. Química. Ed. McGraw-Hill Interamericana de México. México.

- 94) LeGeros RZ, Bleiwas CB, Retino M, Rohanizadeh R, LeGeros JP. Zinc effect on the in vitro formation of calcium phosphates: relevance to clinical inhibition of calculus formation. *Am J Dent* 1999 Apr;12(2):65-71.
- 95) Boskey AL, Gadaleta S, Gundberg C, Doty SB, Ducey P, and Karsenty G. Fourier Transform Infrared Microspectroscopic Analysis Of Bone of Osteocalcin-Deficient Mice Provides Insight Into the Function of Osteocalcin. *Bone* 23. 3 Sep 1998:187-196
- 96) Camacho NP, Rinnerthaler S, Paschalis EP, Mendelsohn R, Boskey AL, Fratzi P. Complementary Information on Bone Ultrastructure From Scanning Small Angle Xray Scattering and Fourier-Transform Infrared Microspectroscopy. *Bone* Vol. 25.No.3 sep 1999:287-293.
- 97) Kaflik-Hachulsa A. Kolodziejski W. Preliminary Results on Infrared Microscopy of Human Bone. *Journal of Molecular Structure* 511-512 (1999) 217-221.
- 98) Boyan RD, Schwartz Z, and Boskey AL. The importance of Mineral in bone and Mineral Research *Bone* Vol. 27 No.3 September 2000. 341-342.
- 99) Pleshko N, Boskey A, and Mendelsohn. Novel Infrared Spectroscopy Method for the Determination of Crystallinity of Hydroxyapatite Minerals.
- 100) Rey C, Collins B, Goehl T, Dickson R, and Glimcher MJ. The Carbonate Environment in Bone Mineral: A Resolution-Enhanced Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study. *Calcif Tissue Int.* (1989) 45: 157-164.
- 101) Rey C, Shimizu M, Collins B, Glimcher MJ. Resolution-Enhanced Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study of the Environment of Phosphate Ions in the Early Deposits of a Solid Phase of Calcium-Phosphate in Bone and Enamel, their Evolution with Age . I: Investigations in the ν_4 PO₄ Domain.
- 102) Rey C, Shimizu M, Collins B, Glimcher MJ. Resolution-Enhanced Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study of the Environment of Phosphate Ions in the Early Deposits of a Solid Phase of Calcium-Phosphate in Bone and Enamel, their Evolution with Age . II: Investigations in the ν_3 PO₄ Domain.
- 103) H. Ou-Yang, E. P. Paschalis, A. L. Boskey, R. Mendelsohn. Two-Dimensional Vibrational Correlation Spectroscopy of In Vitro Hydroxyapatite Maturation. *Biopolymers (Biospectroscopy)*, Vol. 57, 129-139 (2000).
- 104) Bucio L. comunicación personal.
- 105) Turan B, Bayari S, Balcik C, Severcan F, Akkas N. A biomechanical and spectroscopic study of bone from rats with selenium deficiency and toxicity. *Biomaterials* 2000 Jun;13(2):113-21
- 106) Chang R. 1992. Química. Ed. McGraw-Hill Interamericana de México. México.