

“CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA Y MECÁNICA DE TRES  
CEMENTOS ÓSEOS EN BASE ALFA FOSFATO TRICÁLCICO  
REFORZADOS CON ÓXIDO DE ZIRCONIO”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIA  
E INGENIERIA DE MATERIALES

P R E S E N T A :

I.Q.M. EDGAR BENJAMÍN MONTUFAR JIMÉNEZ

Tutor: Dra. Ma. Cristina Piña Barba





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.

Jurado asignado:

Presidente: Dr. Gabriel Torres Villaseñor

Vocal: Dra. Maria Cristina Piña Barba

Secretario: Dr. José Bernardo Hernández Morales

Suplente: Dr. Lauro Bucio Galindo

Suplente: Dr. Alfonso Huanosta Tera

Sitio donde se desarrollo el tema:

Instituto de Investigaciones en Materiales, U.N.A.M.

Asesor del tema:

Dra. Maria Cristina Piña Barba

Sustentante

I.Q.M. Edgar Benjamín Montufar Jiménez

## Resumen

El tratamiento de tumores óseos, malformaciones y de cirugías correctivas así como la fijación de implantes metálicos es un tema vital en la cirugía ortopédica. Los cementos óseos con base en alfa fosfato tricálcico son una solución excelente para corregir estos problemas debido a su maleabilidad que le permite al cirujano colocar adecuadamente al material sobre el defecto a tratar. Aunado a esto, los cementos óseos en base a alfa fosfato tricálcico a diferencia de un implante metálico o a un cemento polimérico fraguan formando hidroxiapatita, material del cual están compuestos los huesos, permitiendo así la regeneración natural del tejido óseo por parte del paciente.

En este estudio se comparan tres formulaciones distintas de cementos óseos, todas ellas en base a alfa fosfato tricálcico. La primera corresponde a un cemento óseo comercial de la marca Merck, mientras que la segunda es un desarrollo previo del Laboratorio de Biomateriales del Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM. Por último la tercera formulación es un intento de incrementar las propiedades mecánicas de la segunda formulación adicionándole partículas de óxido de zirconio como material de refuerzo.

La caracterización de los tres cementos consistió en realizar pruebas físicas a la pasta cementante de tiempo de cohesión, tiempos de fraguado inicial y final, temperatura de fraguado e inyectabilidad de la pasta. Pruebas mecánicas de resistencia a la compresión y fuerza de adhesión del cemento y ensayos de difracción de rayos X y microscopia electrónica de barrido para monitorear la evolución química y estructural de la reacción de fraguado.

Como resultado se obtuvieron datos que permitieron comparar las formulaciones analizadas y evaluar la posible aplicación de los cementos óseos propuestos, y concluir que físicamente, químicamente y mecánicamente los últimos dos biocementos propuestos son aptos para su aplicación médica.



## **Agradecimientos**

El destino no es casualidad, sino elección; no es lo que se espera, sino lo que se realiza; sin ustedes muchas cosas no serían posibles.

**A mi esposa**  
Estela Ramírez

Por el apoyo incondicional que me ha brindado y el cual prometo corresponder.

**A mis padres**  
Humbertina Jiménez y Vicente Montufar

Nuevamente esta es una mínima forma de agradecimiento, pues toda una vida no es suficiente para compensarles lo que me han dado sin ningún interés.

**A mis compañeros**

Les agradezco la confianza, la disposición de trabajo, y el tiempo que me han dedicado estos dos años.

**Al personal de la UNAM**

Leticia Baños López (difracción de rayos X), José Guzmán Mendoza (microscopía electrónica de barrido), Alfredo Maciel Cerda y Ernesto Sánchez Colin (pruebas mecánicas), Sr. Martín (taller mecánico), todos ellos del IIM y al Jefe del Dpto. de estructuras de la facultad de ingeniería Octavio García Domínguez junto con el Sr. Francisco y Don Mario (tiempos de fraguado). Porque sin ellos este trabajo no se hubiera podido realizar.

**Al CONACYT y la DEGEP**

Por el soporte económico otorgado para el desarrollo de éste trabajo a través de las becas para estudios de posgrado.

# Contenido

<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Marco teórico y objetivo</b>	<b>5</b>
2.1 Biocerámicas.....	5
2.2 Cementos óseos.....	10
2.3 Características de los cementos de fosfatos de calcio.....	11
2.3.1 Distribución de tamaño de partícula.....	13
2.3.2 Relación líquido-polvo (L/P).....	14
2.3.3 Tiempo de cohesión.....	14
2.3.4 Tiempo inicial y final de fraguado.....	15
2.3.5 Temperatura de fraguado.....	16
2.3.6 Inyectabilidad de las pastas.....	16
2.3.7 Resistencia a la compresión.....	18
2.3.8 Fuerza de adhesión de los cementos.....	20
2.3.9 Evolución química.....	20
2.3.10 Evolución estructural.....	22
2.3.11 Modificaciones del entorno.....	23
2.4 Aditivos de los biocementos.....	23
2.4.1 Semi llas de fraguado.....	24
2.4.2 Iones comunes.....	24
2.4.3 Modificadores de tamaño de partícula.....	24
2.4.4 Combinaciones de reactantes.....	24
2.4.5 Partículas de refuerzo.....	25

2.5	Características de los componentes de los cementos de fosfatos de calcio.....	26
2.5.1	Fosfato tricálcico.....	26
2.5.2	Hidroxiapatita.....	27
2.5.3	Hidrógeno fosfato de calcio.....	28
2.5.4	Carbonato de calcio.....	29
2.5.5	Óxido de Zirconio.....	29
2.6	Composición del medio fisiológico.....	29
2.7	Técnicas de análisis y esterilización.....	30
2.7.1	Difracción de rayos X en polvos.....	30
2.7.2	Microscopia electrónica de barrido.....	32
2.7.3	Métodos de esterilización.....	33
2.8	Objetivo y metas.....	34
<b>3.</b>	<b>Procedimientos experimentales</b>	<b>35</b>
3.1	Materias primas.....	35
3.1.1	Síntesis del $\alpha$ - fosfato tricálcico.....	35
3.1.2	Síntesis de la hidroxiapatita.....	36
3.1.3	Molienda de los componentes.....	37
3.2	Formulación de los biocementos.....	37
3.3	Caracterización de los cementos óseos.....	38
3.3.1	Caracterización de las pastas.....	38
3.3.2	Propiedades mecánicas de los biocementos.....	40
3.3.3	Evolución química y estructural de los biocementos.....	42
3.4	Esterilización de los materiales.....	43

<b>4. Resultados y discusión</b>	<b>45</b>
4.1 Materias primas.....	45
4.2 Cementos óseos obtenidos.....	48
4.3 Generalidades de las pastas de los cementos óseos.....	51
4.4 Propiedades físicas de las pastas cementantes.....	51
4.4.1 Tiempo de cohesión.....	51
4.4.2 Tiempos de fraguado.....	52
4.4.3 Temperatura de fraguado.....	53
4.4.4 Inyectabilidad de las pastas.....	55
4.5 Propiedades mecánicas de los cementos óseos.....	56
4.5.1 Resistencia a la compresión.....	56
4.5.2 Fuerza de adhesión.....	59
4.6 Propiedades fisicoquímicas de los cementos óseos.....	64
4.6.1 Evolución química.....	64
4.6.2 Evolución estructural.....	66
4.6.3 Evolución del entorno.....	71
<b>5. Conclusiones</b>	<b>74</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>76</b>

## Lista de figuras

1. Relación entre las ciencias biológicas y la ciencia de materiales.....	5
2. Aplicaciones de las biocerámicas en el cuerpo humano.....	7
3. Clasificación de los huesos.....	8
4. Geometría del hueso y esquema del proceso de regeneración del hueso.....	9
5. Molino rotatorio y tipos de medios de molienda.....	13
6. Modelos de la viscoelasticidad. a) Maxwell y b) Voigt.....	17
7. Curva esfuerzo-deformación para un material viscoelástico.....	18
8. Curva esfuerzo-deformación para materiales dúctiles y frágiles en un ensayo de compresión.....	19
9. Diagrama de solubilidad para el sistema $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ a 37 °C.....	21
10. Microestructura característica de los cementos de fosfato de calcio basados en $\alpha\text{-TCP}$ .....	23
11. Diagrama de fases para el sistema $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ , a) presión parcial de agua de 0 mmHg y b) presión parcial de agua en la atmósfera de 500 mmHg.....	27
12. Estructura cristalina de la hidroxiapatita.....	28
13. Difractómetro de rayos X.....	32
14. Señales generadas en un microscopio electrónico de barrido.....	33
15. Esquema del proceso térmico para la obtención de $\alpha\text{-TCP}$ .....	36
16. Equipo de Gillmore para determinar tiempos de fraguado en cementos.....	39
17. Termómetro digital y probeta empleados en el monitoreo de temperaturas de fraguado.....	40
18. Prueba de adhesión para los biocementos.....	42
19. Métodos de esterilización por: a) temperatura y presión y b) filtrado.....	44

20. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al fosfato tricálcico alfa.....	45
21. Patrón de difracción de rayos X correspondiente a la hidroxiapatita.....	46
22. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al carbonato de calcio (calcita)...	47
23. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al fosfato de calcio monohidratado.....	47
24. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al óxido de zirconio.....	48
25. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al biocemento A, donde se indica la correspondencia de los picos con cada componente de la formulación.....	49
26. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al biocemento B, donde se indica la correspondencia de los picos con cada componente de la formulación.....	50
27. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al biocemento C, donde se indica la correspondencia de los picos con cada componente de la formulación.....	50
28. Cohesión, a) muestras que se desintegran, y b) muestra que presenta cohesión.....	52
29. Cambio de la temperatura durante el fraguado de los biocementos.....	54
30. Curvas esfuerzo-deformación durante la inyección de los biocementos.....	55
31. Esfuerzos de fractura en compresión de los biocementos a diferentes tiempos durante el fraguado y esfuerzos de fractura en compresión de hueso de bovino con diferentes características.....	57
32. Módulos de elasticidad de los biocementos a diferentes tiempos durante el fraguado y módulos de elasticidad de hueso de bovino con diferentes características.....	58
33. Curva típica carga-deformación durante una prueba de adhesión.....	60
34. Efecto del acabado superficial del clavo metálico en la fuerza de adhesión.....	61
35. Diferentes acabados superficiales de los clavos metálicos.....	62
36. Fuerza de adhesión en función del tiempo de prueba.....	62

37. Patrón de difracción de rayos X para el biocemento A, a distintos tiempos de reacción.....	64
38. Patrón de difracción de rayos X para el biocemento B, a distintos tiempos de reacción.....	65
39. Patrón de difracción de rayos X para el biocemento C, a distintos tiempos de reacción.....	66
40. Imágenes de MEB a 1000X por electrones retrodispersados, a) por columna: mismo cemento a distintos tiempos y b) por fila: mismo tiempo distinto cemento.....	68
41. Imágenes de MEB a 4000X por electrones retrodispersados, a) por columna: mismo cemento a distintos tiempos y b) por fila: mismo tiempo distinto cemento.....	69
42. Imágenes de MEB a 10000X por electrones retrodispersados, a) por columna: mismo cemento a distintos tiempos y b) por fila: mismo tiempo distinto cemento.....	70
43. Variación del pH con el tiempo de la solución de fluido fisiológico huésped de cada biocemento.....	72

## Lista de tablas

1. Componentes viables para la fase sólida de los cementos óseos.....	11
2. Concentración de iones en los fluidos fisiológicos humanos y simulados.....	30
3. Formulación de las fases sólida y líquida de los biocementos analizados.....	38
4. Cantidad total de componentes sintetizada y molida para formular los biocementos.....	48
5. Tiempos de cohesión.....	51
6. Tiempos de fraguado.....	52
7. Inyectabilidad de los biocementos.....	56
8. Comparación entre la fuerza de adhesión experimental y calculada por la regla de las mezclas para el biocemento C.....	63



# Capítulo 1

## Introducción

En la actualidad se reconoce que la salud es uno de los valores más importantes del individuo y de la colectividad. Desde la década de los años setenta la Organización Mundial de la Salud fijó la meta de alcanzar para todos los ciudadanos del mundo un grado de salud que les permita llevar una vida social y económicamente activa [1]. Diversos factores influyen en lograr dicha meta, tal vez los más importantes sean la crisis económica en la que se encuentran varios países del mundo y la marginación de ciertos sectores sociales.

De acuerdo a datos estadísticos correspondientes al periodo 1998 – 2001 [2], en México entre los casos que más atiende el sector salud destacan las lesiones óseas, ya sea por traumatismo en la modalidad de traumatismo y envenenamientos (cuya frecuencia ocupa la posición número cuatro) o traumatismo y heridas, en la posición número trece. Por otro lado se encuentran las fracturas en el lugar número ocho. Analizando las entidades federativas los traumatismos también son citados con un alto índice de frecuencia después de los problemas de obstetricia, que sólo aplican para mujeres. Cabe mencionar que los casos de fracturas aumentan considerablemente en los estados en los que la marginación de la población es notoria.

El tratamiento de traumatismos y fracturas no es un tema reciente, la evidencia encontrada en restos fósiles muestra que desde las civilizaciones antiguas el hombre ha estado familiarizado con los efectos del traumatismo, las fracturas causadas por accidentes o durante los combates eran tratadas utilizando principios que son válidos aún en nuestra época [3]. El empleo de fijadores externos para inmovilizar las extremidades era de uso común durante el tratamiento de las fracturas. Con el paso del tiempo se logró la introducción de técnicas de cirugía aséptica y de radiología. Con ello, se amplió la gama de tratamientos posibles, se introdujeron los implantes. Los implantes antiguos eran similares a los de hoy en día, pero la ciencia e ingeniería de materiales ha llevado a cambios en el

diseño y en los materiales empleados en la fabricación de dichos implantes. El desarrollo de los implantes se impulsó de forma similar a la cirugía ortopédica que se ha basado en la necesidad de corregir la deformidad, restaurar la función y aliviar el dolor. Los cirujanos ortopédicos han desarrollado la capacidad de prevenir la pérdida sustancial de la función corporal y en algunos casos pueden evitar la muerte del paciente. Se busca que el paciente alcance una condición óptima en el menor tiempo posible utilizando el método más seguro disponible.

Diariamente ocurren accidentes automovilísticos y de otras índoles en los que el tratamiento ortopédico con implantes es necesario. Por ejemplo, sólo en un hospital de zona del IMSS se atienden diariamente un promedio de 150 casos al día (según datos no oficiales), desde traumatismos leves hasta fracturas que requieren de cirugía. En promedio el 50% de estos casos es atendido con fijación externa como lo es un yeso mientras que el otro 50% requiere de cirugía. Una cirugía típica que requiere de fijación con un implante metálico es la de remplazamiento total de cadera que se realiza alrededor de 30 ocasiones al mes por hospital regional (datos no oficiales). Las principales lesiones óseas de acuerdo a las edades de los pacientes son: 1) para niños: muñeca, antebrazo, codo y contusión craneal inherentes a lesiones durante el juego, 2) para adulto: traumatismos en extremidades ya sean fracturas o esguinces producidos principalmente por accidentes de trabajo y 3) en personas de la tercera edad: fractura de muñeca o cadera causadas por caída o desgaste y proceso degenerativo. Como es de esperarse el tratamiento quirúrgico de estas lesiones así como los materiales empleados en ellas son costosos; por ejemplo el costo quirúrgico de corrección de fractura de fémur es de 240 mil pesos [4].

Los implantes metálicos utilizados en la fijación interna de fracturas requieren de un anclaje para asegurar su funcionamiento. Dentro de los avances quirúrgicos en la aplicación de los fijadores internos se encuentra el uso de biocementos o cementos óseos que unen al implante (metálico por lo general) con el hueso. Otros tipos de lesiones en huesos (como tumores o malformaciones) requieren de un material de relleno óseo para su tratamiento, siendo el biocemento el adecuado debido a su maleabilidad antes del fraguado lo cual permite posicionar de manera óptima el material dentro de la zona afectada por la lesión.

En el mercado existe una gran variedad de cementos óseos que se emplean en la fijación de implantes odontológicos, el relleno de lesiones óseas, la fijación de implantes ortopédicos, etcétera. Estos biocementos pueden ser biomateriales cerámicos o poliméricos. Los biocementos poliméricos fijan y endurecen mediante una reacción de polimerización la cual libera cantidades considerables de calor que provocan un calentamiento excesivo del tejido circundante causando la muerte del mismo y por lo tanto el desprendimiento del implante. Además, los productos de reacción no son reabsorbibles por el organismo, por lo tanto, no se genera nuevo tejido óseo. En cambio, la reacción de fraguado de los biocementos cerámicos involucra reacciones de disolución y precipitación que, por lo general, no aumentan la temperatura de los alrededores y el producto final de reacción es hidroxiapatita, cerámica de la cual están formados los huesos permitiendo el proceso natural de regeneración del esqueleto. Por este motivo la investigación en cementos óseos se ha dirigido en el sentido de biocementos cerámicos y no en poliméricos.

En este trabajo se compararon tres formulaciones distintas de biocementos cerámicos a base de alfa fosfato tricálcico. La primera de las formulaciones corresponde a un cemento comercial de marca Merck, la segunda formulación corresponde a un cemento desarrollado previamente en el Laboratorio de Biomateriales del Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM la cual presentó características preliminares de poder ser empleada como cemento óseo y la tercera formulación fue diseñada en base a la segunda formulación. A la composición del segundo cemento se le agregaron partículas de óxido de zirconio para determinar su efecto sobre las propiedades mecánicas.

La comparación de los tres biocementos se realizó ejecutando pruebas de caracterización física, química y mecánica. El biocemento de composición comercial se tomó como parámetro de referencia durante el desarrollo de las pruebas, mientras que para el segundo biocemento se deseaba determinar su factibilidad en el uso médico. Por otro lado se quería determinar si con la adición de óxido de zirconio a la formulación se incrementaba la factibilidad de uso médico del segundo biocemento.

La caracterización de los cementos consistió en pruebas de tiempo de cohesión, tiempo de fraguado inicial y final, temperatura de fraguado e inyectabilidad, todas ellas aplicadas a la pasta cementante. Por otro lado al cemento endurecido se le realizaron ensayos mecánicos (de compresión y fuerza de adhesión) a distintos tiempos desde su preparación, al igual que pruebas de difracción de rayos X para determinar su composición en fases cristalinas y microscopía electrónica de barrido para observar su microestructura conforme avanzaba la reacción de fraguado.

De las propiedades físicas de un biocemento se espera que su tiempo de cohesión sea lo más cercano a cero, mientras que los tiempos de fraguado inicial y final sean de alrededor de 8 y 15 minutos respectivamente. Estos tiempos indican el periodo de tiempo en el que el cirujano podrá moldear y colocar al cemento en la lesión sin que abandone la zona al estar en contacto con fluidos fisiológicos. La inyectabilidad de la pasta es un parámetro de que tan fácil o difícil es manipular la pasta cementante para poder cubrir una lesión.

Mientras que de las propiedades mecánicas se desea que se incrementen lo más posible en el periodo más corto de tiempo, el endurecimiento de la pasta cementante está ligado con la reacción de fraguado y con la estructura final del cemento. Si el cemento adquiere una buena resistencia a la compresión en un periodo corto de tiempo el paciente podrá recuperar la movilidad más rápidamente.

Así pues, un biocemento probado *in vitro* es aceptable cuando cumple con los tiempos de cohesión y fraguado, es fácil de manipular, adquiere rápidamente resistencia mecánica y la reacción de fraguado no libera calor.

## Capítulo 2

### Marco teórico y objetivo

#### 2.1 Biocerámicas

Una cerámica es un compuesto formado por elementos metálicos y no metálicos con enlaces atómicos predominantemente iónicos [5]. Son sólidos policristalinos usualmente inorgánicos con propiedades de aislante térmico y eléctrico; son materiales duros y frágiles como los silicatos, los óxidos metálicos, los carburos, sulfuros, etcétera [6].

Un biomaterial es un material de origen sintético o biológico que es implantado en un ser vivo (animal o humano) diseñado para cumplir una función biológica específica, tal como: tratar, aumentar o sustituir un tejido, órgano o función del cuerpo alterada por trauma, malformaciones o por procesos degenerativos [7]. El estudio de los biomateriales requiere de la interdisciplinariedad de las ciencias (Figura 1), tales como, la ciencia e ingeniería de materiales, la medicina y las ciencias biológicas para lograr avances y beneficios para la humanidad.

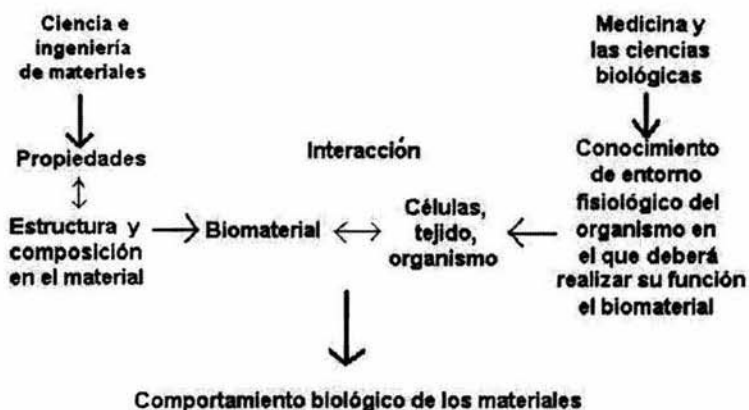
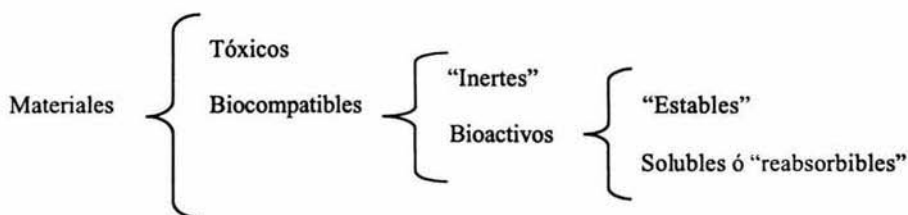


Figura 1. Relación entre las ciencias biológicas y la ciencia de materiales.

La clasificación de los materiales de acuerdo a su comportamiento en el tejido que los hospeda es la siguiente:



Los materiales que presentan toxicidad son descartados para uso médico. Los biomateriales se pueden clasificar en biocompatibles, inertes, estables y reabsorbibles. La biocompatibilidad es la propiedad de un material para coexistir con un tejido vivo sin provocar en él reacciones adversas, mientras que la bioactividad es licitar o modular la actividad biológica que presenta un material dentro del organismo vivo.

Una biocerámica es un material cerámico empleado como biomaterial. La principal aplicación de las biocerámicas es la sustitución ósea, con aplicaciones en pie, rodilla, fémur, cadera, costilla, columna, codo, brazo, boca, y cabeza (Figura 2) [8]. Existe una gran variedad de productos biocerámicos como tapones, cementos, cerámicas sólidas y porosas en una variedad extensa en forma y tamaños.

La razones del empleo de cerámicas como biomateriales es su biocompatibilidad [7], y la razón de su uso como sustituto de hueso es la similitud en propiedades. El hueso se comporta como un material compuesto formado por la parte inorgánica (fosfatos de calcio, principalmente hidroxapatita) y la parte orgánica (células, proteínas, colágena y tejidos vivos) [9].

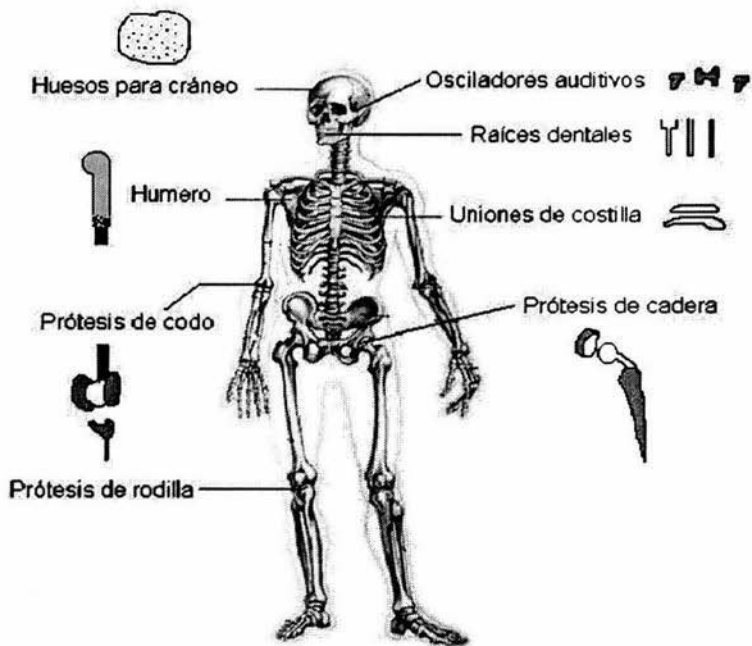


Figura 2. Aplicaciones de las biocerámicas en el cuerpo humano [8].

Anatómicamente los huesos se clasifican en: huesos largos, tales como, el fémur, tibia y peroné; huesos planos como el omoplato y huesos cortos como las falanges o vértebras de la columna. También existe una clasificación de los huesos en base a su estructura, tal es hueso duro o cortical y hueso esponjoso o trabecular [9], ambas clasificaciones se muestran en la Figura 3.

Los huesos son materiales anisotrópicos que presentan sus máximos en propiedades mecánicas en el sentido en el que el cuerpo soporta una carga, es decir en la dirección de soporte del cuerpo ante la fuerza de gravedad. Algunas propiedades mecánicas del hueso cortical son: densidad de 1.85 g/cc, módulo de elasticidad entre 11.7 y 17.4 GPa, resistencia a la tensión de 75 a 135 MPa, resistencia a la compresión de 135 a 196 MPa [9].

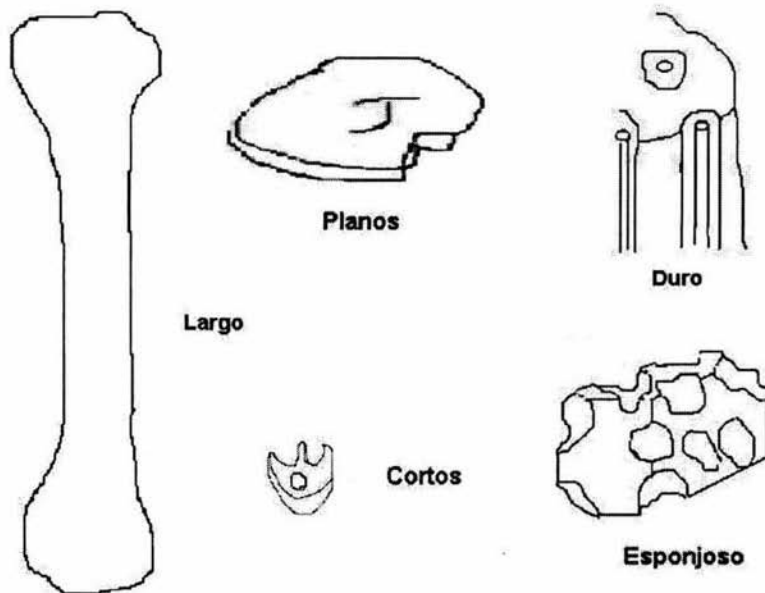
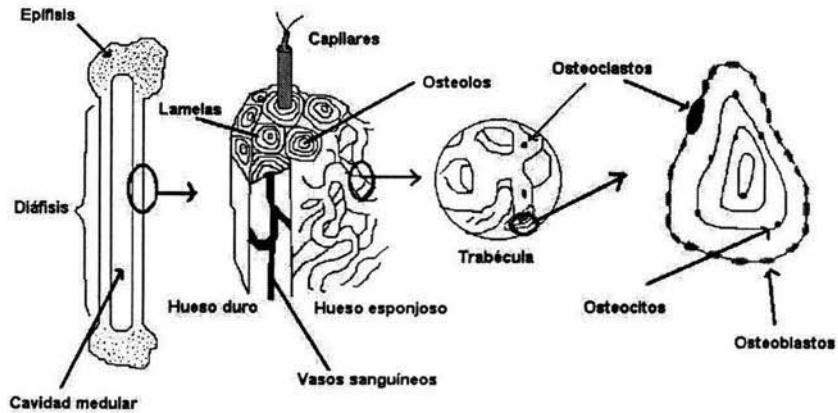


Figura 3. Clasificación de los huesos.

La formación, crecimiento y renovación del hueso son procesos biológicos asistidos por células [8] como osteoblastos y osteocitos que se encargan de la formación y mantenimiento del hueso y los osteoclastos que son los encargados de desintegrar el hueso para permitir su regeneración (Figura 4a). El proceso consiste en la formación de hueso a partir de minerales disueltos en sangre depositándolos sobre cartilago de lo cual son responsables los osteoblastos. Durante este crecimiento algunos osteoblastos quedan rezagados y son envueltos por la parte sólida del hueso, estas células cambian de papel en el organismo siendo ahora encargadas de propiciar el mantenimiento local del hueso en la zona donde fueron confinados, llamándose ahora osteocitos. El proceso contrario a la formación del hueso se da por medio de los osteoclastos, los cuales generan un ácido capaz de disolver al mineral del hueso, que inmediatamente será renovado gracias a los osteoblastos (Figura 4b). El proceso de regeneración de los huesos se lleva a cabo durante toda la vida de un ser humano, siendo más acelerado (en desarrollo y renovación) en los niños y más lento en los



ancianos, en promedio una persona adulta regenera por completo su esqueleto en un lapso de siete años.



**4a) Geometría de un hueso largo.**



**4b) Proceso de crecimiento y disolución del hueso.**

**Figura 4. Geometría del hueso y esquema del proceso de regeneración del hueso.**

A continuación se presentan las características de las biocerámicas de acuerdo a su clasificación:

## Biocerámicas inertes

Las cerámicas bioinertes o inertes mantienen sus propiedades físicas y mecánicas cuando son implantadas. Resisten la corrosión y los esfuerzos, ejemplos de cerámicas bioinertes son los óxidos de aluminio, óxidos de zirconio, algunos aluminatos y el carbón. Se utilizan típicamente en implantes de soporte estructural [6].

## Biocerámicas reabsorbibles

Las cerámicas biodegradables o reabsorbibles se degradan en el lugar de implantación y el material reabsorbido es reemplazado por tejido vivo. La rapidez de degradación varía de material a material. En general las cerámicas reabsorbibles a excepción del biocoral y el yeso son variaciones de fosfatos de calcio. Ejemplos de cerámicas reabsorbibles son aluminato fosfatos de calcio, hidroxiapatita y fosfato tricálcico [6].

## 2.2 Cementos óseos

Hay varios tipos de cementos óseos: los cementos poliméricos y los cementos a base de fosfatos de calcio. La principal desventaja de los primeros es la liberación de calor durante su fraguado lo cual causa la muerte de tejido circundante al biomaterial (necrosis), mientras que los segundos no presentan este problema [10].

Los cementos a base de fosfatos de calcio consisten en un polvo que contiene uno o más compuestos de calcio y/o sales de fosfato y un líquido cementante que puede ser agua o alguna solución acuosa. Si la fase sólida y líquida son mezcladas en una proporción adecuada formarán una pasta que a temperatura ambiente o a temperatura del cuerpo humano (37 °C) fraguará por el acomplejamiento de los cristales precipitados dentro de la pasta [11]. La ventaja que tienen los cementos óseos sobre las biocerámicas sólidas es que no requieren ser obtenidos en formas prefabricadas o gránulos, los cementos pueden ser moldeados en el momento e inyectados en el defecto óseo [12]. El tiempo de moldeo depende de la relación líquido-polvo (L/P) empleada en la elaboración de la pasta. Una de

las principales características de los cementos de fosfato de calcio es que son osteoconductivos, esto es, que se absorben lentamente y se transforman simultáneamente en nuevo tejido óseo [11].

Existen dos métodos generales para fijar implantes ortopédicos, el primer método emplea cementos y consiste en rellenar el espacio entre en hueso y el implante con cemento óseo para formar una estructura de cemento que fije la prótesis con el hueso. El segundo método no utiliza fijador alguno, consiste en insertar la prótesis a presión dentro del hueso y la fijación depende del crecimiento del tejido óseo [11].

Las aplicaciones de los cementos de fosfato de calcio como biomaterial para la regeneración de hueso se enfocan a campos como la cirugía ortopédica, odontología, cirugía maxilofacial y reconstructiva [13], sus principales usos son la reparación, el incremento y la regeneración de hueso, además de poder fijar implantes ortopédicos [14].

### 2.3 Características de los cementos de fosfatos de calcio

La composición de la fase sólida del biocemento varía dependiendo de la reacción de fraguado que se desee conseguir. En la Tabla 3 se presentan todos los fosfatos de calcio probables para formar el polvo cementante. Como se observa en la tabla, los componentes de la fase sólida corresponden al sistema  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$  y otros compuestos que contienen sodio, magnesio, potasio, cloro o flúor que también forman parte de la composición natural del hueso humano [15].

Tabla 1. Componentes viables para la fase sólida de los cementos óseos [15].

Ca/P	Compuesto	Fórmula
0.5	Fosfato Monocálcico Monohidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
0.5	Fosfato de Calcio y Zinc (CZP)	$\text{CaZn}_2(\text{PO}_4)_2$
1	Hidrógeno Fosfato de Calcio Dihidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
1	Hidrógeno Fosfato de Calcio (DCP)	$\text{CaHPO}_4$
1	Rhenanita (RH)	$\text{CaNaPO}_4$
1	Fosfato de Calcio y Fósforo (CPP)	$\text{CaKPO}_4$
1	Fosfato Cálcico de Potasio y Sodio (CSPP)	$\text{Ca}_2\text{NaK}(\text{PO}_4)_2$
1.28	Whitlockita de Magnesio (MWH)	$\text{Ca}_2\text{Mg}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5$

1.33	Fosfato Octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
1.33	Fosfato Tricálcico de Magnesio (MTCP)	$\text{MgCa}_8(\text{PO}_4)_6$
1.35	Fosfato de Calcio Amorfo (ACP)	-
1.42	Whitlockita Sódica (SWH)	$\text{Ca}_{10}\text{Na}(\text{PO}_4)_7$
1.5	Hidroxiapatita Deficiente en Calcio (CDHA)	$\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$
1.5	Fosfato Tricálcico $\beta$ ( $\beta$ -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
1.5	Fosfato Tricálcico $\alpha$ ( $\alpha$ -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
1.67	Hidroxiapatita Precipitada (PHA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
1.67	Hidroxiapatita Sinterizada (SHA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
1.67	Cloroapatita (CLA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$
1.67	Fluorapatita (FA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$
2	Fosfato Tetracálcico (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$
2	Espodiosita (SP)	$\text{Ca}_2\text{PO}_4\text{Cl}$
$\infty$	Carbonato de Calcio (Calcita o Aragonita)	$\text{CaCO}_3$
$\infty$	Dolomita (DOL)	$\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$

No es posible predecir que combinaciones darán lugar a un producto cementante, ya que eso depende de factores como la reactividad de los productos y su morfología. Monma y Kanazawa [8] encontraron que el alfa fosfato tricálcico ( $\alpha$ -TCP) fragua para formar hidroxiapatita deficiente en calcio (CDHA). El mecanismo de reacción por el cual fragua este tipo de cemento es llamado “disolución-precipitación” el cual consiste en la disolución de la fase sólida del cemento (polvo) al mezclarse con la fase líquida del cemento, se genera una solución de iones de calcio y fosfato que a temperatura ( $\approx 37^\circ\text{C}$ ) y pH ( $\approx 7.4$ ) del cuerpo humano precipitan para formar CDHA [8].

La cinética de la reacción de fraguado depende de la solubilidad de los componentes del biocemento y de la rapidez de precipitación del producto, la solubilidad de los componentes está fijada termodinámicamente por la constante de solubilidad ( $K_{ps}$ ) la cual se define como el producto de la concentración de aniones y la concentración de cationes en el punto de equilibrio químico (Ecuación 1) [16], y la cinética de disolución está ligada directamente con la distribución de tamaños de partícula del reactivo [13].

$$K_{ps} = [\text{aniones}] [\text{cationes}] \quad (1)$$

Los reactivos de tamaños de partícula pequeños presentan reacciones de fraguado aceleradas en comparación con partículas grandes, debido a la mayor área superficial que

permite una mayor rapidez de disolución. Aunado a esto, la cohesión de los biocementos se incrementa debido a las fuerzas electrostáticas de unión que se producen entre partículas finas. En cambio la resistencia del biocemento se ve ligeramente incrementada con la disminución del tamaño de partícula de los reactivos [13].

### 2.3.1 Distribución de tamaño de partícula

La distribución de tamaños de partícula de los biocementos se obtiene por la molienda de los componentes de la fase sólida del mismo. La molienda es un proceso de conminución el cual tiene por objetivo el adecuar el tamaño de las materias primas para el procesamiento y la obtención de productos. Los equipos empleados son molinos los cuales se clasifican según el medio de molienda que empleen; por ejemplo molinos de bolas, de barras o autógenos (Figura 5), estos últimos emplean el mismo material que será molido como medio de molienda mientras que para los dos primeros el medio de molienda está fabricado principalmente de acero o de materiales cerámicos estructurales.

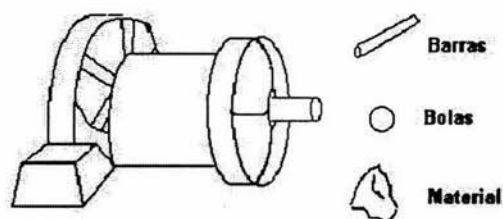


Figura 5. Molino rotatorio y tipos de medios de molienda.

Los tipos principales de molinos son rotatorios, vibratorios y de adicción, en los tres el principio de molienda es el mismo, la disminución en tamaño se realiza por el choque entre el medio de molienda y las partículas del material a moler o por el choque entre el material a moler y las paredes del molino. La molienda puede realizarse en seco o con la ayuda de un líquido, en cuyo caso se obtienen distribuciones de tamaño más pequeñas.

La medición de tamaños de partícula puede realizarse por varias técnicas como determinación por microscopía comparando con una escala de referencia, difracción láser

y/o cribado. La técnica de cribado consiste en colocar una serie de mallas en orden descendente en tamaño de apertura. El material a caracterizar se hace pasar a través de dicho juego de mallas y quedará retenido en la malla cuya apertura sea menor al tamaño de partícula del material. Así pues la distribución en tamaño de partícula dependerá de la cantidad y variedad de mallas que sean empleadas, la norma que regula este procedimiento es la ASTM B214-99 [17].

### 2.3.2 Relación líquido-polvo (L/P)

La relación L/P determina las propiedades de la pasta cementante como son el tiempo de cohesión, el tiempo de fraguado, la inyectabilidad y maleabilidad de la pasta. La cantidad de líquido presente en la elaboración de la pasta participa en la cinética de fraguado ya que una mayor cantidad de líquido facilitará la etapa de disolución de los componentes pero disminuirá la cohesión de la pasta e incrementará el tiempo de precipitación del producto. Por otro lado una cantidad deficiente de líquido provoca una mala maleabilidad de la pasta y se dificulta la disolución de los componentes. La selección correcta de la relación L/P es determinante para obtener las mejores propiedades de la pasta cementante. La relación L/P se determina experimentalmente variando la cantidad de fase líquida agregada al polvo del cemento y comparando los resultados obtenidos en las propiedades. Es recomendable que al mezclar la fase líquida y sólida del cemento se coloque primero el líquido y posteriormente se adicione el polvo para evitar atrapar burbujas de aire que puedan ocasionar porosidad al interior del cemento.

### 2.3.3 Tiempo de cohesión

Cuando la pasta del biocemento empieza a fraguar y es puesta en contacto con fluidos fisiológicos, como la sangre, tiende a desintegrarse. El tiempo de cohesión es el tiempo mínimo necesario en que se deja la pasta al aire para que una forma geométrica fabricada por la pasta de cemento no pierda su consistencia al ser sumergida en un medio líquido. La cohesión de la pasta depende de interacciones electrostáticas entre partículas, de fuerzas

iónicas de unión entre los componentes disueltos y de puentes de hidrógeno formados en la pasta, entre otras cosas [18].

Es deseable que el tiempo de cohesión sea menor al tiempo inicial de fraguado del biocemento.

#### 2.3.4 Tiempo inicial y final de fraguado

El tiempo de fraguado se define como el tiempo que transcurre desde el contacto de la fase sólida con la fase líquida hasta que la pasta cementante adquiere cierta dureza fijada arbitrariamente. Esta magnitud permite comparar las características del fraguado con respecto a otros cementos. El tiempo de fraguado es afectado por factores como la relación  $L/P$ , la temperatura y la humedad ambiental entre otros; por estas razones es necesario determinar los tiempos de fraguado bajo condiciones estándar [15]. Existen varios métodos para determinar los tiempos de fraguado en los cementos de construcción como las agujas de Vicat [19] y las agujas de Gillmore [20] los cuales se basan en la inserción de un indentador de peso constante y conocido sobre la superficie del cemento.

El método de Gillmore tiene la ventaja de poder determinar el tiempo inicial de fraguado con una aguja gruesa y ligera y el tiempo final de fraguado con otra aguja fina y pesada. El tiempo inicial de fraguado (I) indica el término de la maleabilidad de la pasta sin provocar daños estructurales y el tiempo final de fraguado (F) indica el tiempo en el que el cemento puede ser manipulado sin ser deformado. En aplicaciones clínicas es deseable que el tiempo inicial de fraguado se encuentre entre 4 y 8 minutos, mientras que el tiempo final de fraguado esté entre 10 y 15 minutos. Un método para controlar el tiempo de fraguado es variar la relación  $L/P$ , los tiempos de fraguado final e inicial aumentan con el aumento de dicha relación [10].

La rapidez de endurecimiento de la pasta cementante puede variar con el tiempo y se nombra trabajo de fraguado al proceso de cambio de dureza de la pasta cementante.

### 2.3.5 Temperatura de fraguado

Las reacciones como la disolución y la precipitación se clasifican termodinámicamente en reacciones exotérmicas y endotérmicas. Las reacciones exotérmicas se caracterizan por liberar energía y por lo tanto incrementar la temperatura del entorno donde se realizan, mientras que las reacciones endotérmicas consumen energía y por ello disminuyen la temperatura del entorno [16]. Por otro lado los sistemas vivos son altamente sensibles a los cambios de temperatura, incrementos ligeros en la temperatura provocan fiebres y por tanto reacciones de rechazo por parte del organismo, incrementos mayores de temperatura causan necrosis de los tejidos. Una disminución en la temperatura por tiempos prolongados genera hipotermia en el organismo. Es deseable que la reacción de fraguado de los cementos de fosfato de calcio no presente cambios en la temperatura del sistema; ya que esto no es factible termodinámicamente se busca que los cambios sean en la menor cantidad posible y por un período corto de tiempo.

### 2.3.6 Inyectabilidad de las pastas

La inyectabilidad es una medida de que tan fácil o difícil resulta extruir la pasta cementante con el empleo de una jeringa para su adecuada colocación durante una cirugía; la buena inyectabilidad es una propiedad deseada para los biocementos. La composición de la fase sólida de los biocementos es determinante en la inyectabilidad del mismo. Otros factores que modifican la inyectabilidad de las pastas son la relación L/P y el tiempo transcurrido desde el mezclado de la fase sólida y líquida del biocemento. La inyectabilidad se incrementa con el aumento de la relación L/P y disminuye con el aumento del tiempo transcurrido desde la preparación de la pasta [14].

La deformación de los materiales como lo son las pastas cementantes se representa a través de diferentes modelos como el modelo de Newton para la viscosidad o el modelo de Voigt o Maxwell para la viscoelasticidad [9].



La ley de Newton de la viscosidad establece que el esfuerzo cortante que actúa sobre un fluido es linealmente proporcional al cambio de velocidad en un punto del fluido (Ecuación 2) [9].

$$\tau = \eta \, d\gamma/dt \quad (2)$$

donde  $\tau$  es el esfuerzo cortante aplicado,  $\eta$  es el coeficiente de viscosidad y  $d\gamma/dt$  es la velocidad de deformación. El ejemplo típico de un fluido que cumple con la ley de Newton es el agua.

La viscoelasticidad es la combinación de dos fenómenos que intervienen en la deformación de un fluido, la deformación elástica (Ecuación 3) y la deformación viscosa (Ecuación 2) [9].

$$\tau = G \, \gamma \quad (3)$$

donde  $\tau$  es el esfuerzo cortante aplicado,  $G$  es el módulo de elasticidad del material en corte y  $\gamma$  es la deformación del material. El modelo de Maxwell considera que la deformación elástica y viscosa actúan de forma lineal, mientras que el modelo de Voigt considera que las contribuciones se dan en forma paralela (Figura 6) [9].

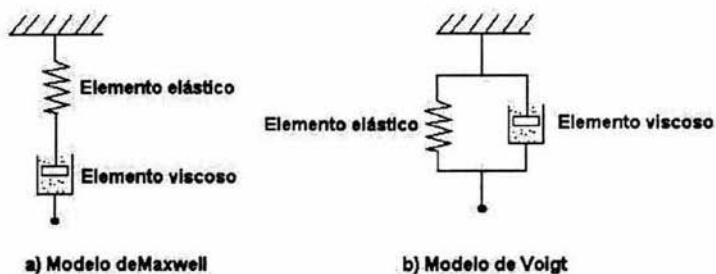


Figura 6. Modelos de la viscoelasticidad. a) Maxwell y b) Voigt [9].

Una curva típica esfuerzo-deformación para un material viscoelástico se presenta en la siguiente figura.

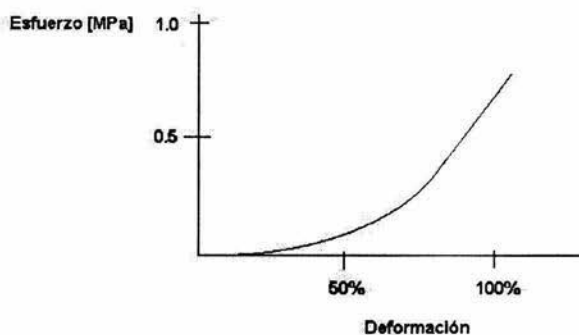


Figura 7. Curva esfuerzo-deformación para un material viscoelástico [9].

### 2.3.7 Resistencia a la compresión

La prueba de compresión se emplea para determinar propiedades mecánicas de diseño para los materiales a partir de la curva esfuerzo-deformación obtenida. Una probeta es deformada, comúnmente hasta su fractura, con un incremento gradual de la carga de compresión que es aplicada uniaxialmente a lo largo de la probeta. Las probetas empleadas son generalmente probetas cilíndricas las cuales mantienen una relación longitud / diámetro de 2 [21]. La muestra se coloca entre dos platos con superficies paralelas entre sí de una máquina diseñada para comprimir la muestra a una velocidad constante y medir la carga aplicada de manera continua y simultánea así como la elongación resultante. Para eliminar los factores geométricos la carga aplicada y la elongación se normalizan a los parámetros esfuerzo (Ecuación 4) y deformación (Ecuación 5) respectivamente [5].

$$\sigma = F / A_0 \quad (4)$$

$$\varepsilon = \Delta l / l_0 \quad (5)$$

donde  $\sigma$  es el esfuerzo,  $F$  la carga aplicada,  $A_0$  es el área transversal inicial de la probeta,  $e$  es la deformación,  $l_0$  es la longitud inicial de la probeta y  $\Delta l$  es el cambio en la longitud de la probeta. La curva típica esfuerzo-deformación y los parámetros principales obtenidos por la prueba de compresión se presentan en la siguiente figura.

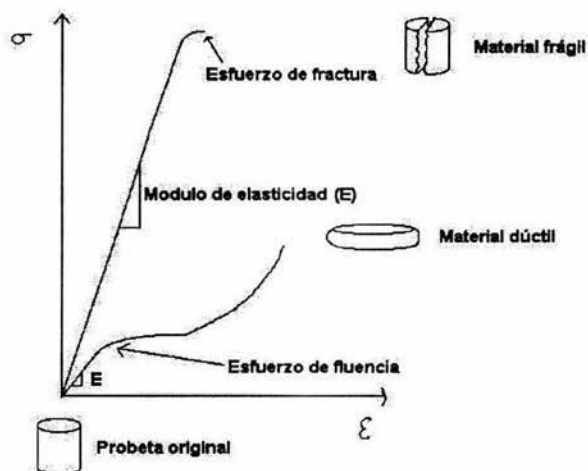


Figura 8. Curva esfuerzo-deformación para materiales dúctiles y frágiles en un ensayo de compresión.

El material dúctil presenta una mayor deformación con la aplicación de un esfuerzo menor en comparación con un material frágil, el cual se deforma poco con la aplicación de un gran esfuerzo. El módulo de elasticidad ( $E$ ) es la relación que existe entre el cambio del esfuerzo aplicado y el cambio en deformación producido por dicho esfuerzo (Ecuación 6).

$$E = \Delta\sigma / \Delta\varepsilon \quad (6)$$

Por lo general, los materiales dúctiles no llegan a fracturarse durante un ensayo de compresión, sin embargo es común determinar el esfuerzo de fluencia ( $\sigma_H$ ) para el material. En cambio los materiales frágiles no presentan un esfuerzo de fluencia, sino que se

fracturan antes de deformarse plásticamente, al último esfuerzo alcanzado antes de fracturar el material se le conoce como esfuerzo último de fractura ( $\sigma_{rot}$ ) del material [5].

Antes de superar el esfuerzo de fluencia la relación entre la deformación y el esfuerzo aplicado es lineal y corresponde a un comportamiento elástico, donde la constante de proporcionalidad es el módulo de elasticidad (E). La característica principal del comportamiento elástico es que al retirar la carga el material recupera sus dimensiones originales. Por otro lado, al superar el esfuerzo de fluencia la deformación del material será permanente aún cuando la carga sea retirada [5].

### 2.3.8 Fuerza de adhesión de los cementos

El entorno de los tejidos y su capacidad de regeneración dificultan el desarrollo de adhesivos, el adhesivo ideal para tejidos debería ser humectable y unir al mismo tiempo los tejidos, ser capaz de fraguar rápidamente sin producir un calentamiento excesivo o productos tóxicos, ser reabsorbible y no interferir con el proceso normal de curación, ser de fácil preparación y esterilizable [9].

La fuerza de adhesión depende en gran cantidad del tipo y rugosidad del sustrato, una mayor rugosidad y por ende una mayor área de contacto entre el sustrato y el adhesivo mejorará la fuerza de adhesión [22]. Las superficies a unir deben estar libres de polvo o grasa para mejorar los resultados de adhesión. La fuerza de adhesión de los biocementos se mide aplicando una fuerza de tensión uniaxial a los componentes unidos por el biocemento [23, 24].

### 2.3.9 Evolución química

La termodinámica de las sales de fosfato de calcio en solución acuosa, a temperatura ambiente o a la temperatura del cuerpo humano, permite la predicción de los posibles precipitados de fosfato de calcio que pueden encontrarse a partir de una solución supersaturada durante la reacción de fraguado de los biocementos [25].

La Figura 9 muestra el diagrama de solubilidad para el sistema ternario  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  a  $37^\circ\text{C}$ , muestra las curvas de solubilidad de diferentes sales de fosfato de calcio en equilibrio con sus soluciones saturadas, representadas en los ejes  $\log[\text{Ca}^{2+}]$  vs. pH. La característica común de las isotermas mostradas es que presentan una pendiente negativa en la zona ácida, esto indica que estos compuestos son más solubles cuando el pH disminuye. El cambio en la pendiente proporciona una idea del aumento en la solubilidad de las sales en función de la disminución del pH, en ese sentido, la pendiente de la isoterma es tomada como una medida de la basicidad de la sal porque la solubilidad de una sal básica será mayor que la solubilidad de una sal ácida para la misma disminución en el pH [26].

En la zona alcalina la Figura 9 muestra que la solubilidad de las sales se incrementa con el aumento del pH. La Figura 9 es importante porque indica la estabilidad relativa de las diferentes sales a diferentes valores de pH. Se observa también que en el intervalo de pH entre 4.2 y 9.7 la HA es la sal menos soluble. De acuerdo a la termodinámica de este sistema, se piensa que la fuerza motriz que controla las reacciones químicas de fraguado de un cemento de fosfatos de calcio está relacionada con la solubilidad de sus componentes. El diagrama de la Figura 9 es válido únicamente para el sistema  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  a  $37^\circ\text{C}$ , esto significa que la solución saturada no debe contener compuestos adicionales como  $\text{CaCl}_2$  o  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  [26].

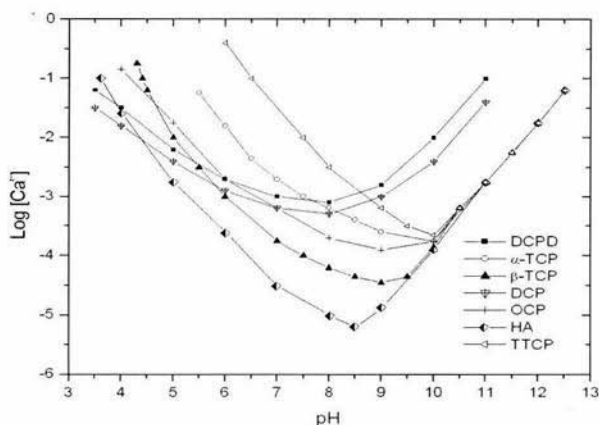


Figura 9. Diagrama de solubilidad para el sistema  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  a  $37^\circ\text{C}$  [26].

La cinética de reacción de fraguado está controlada en una primera etapa por la rapidez de disolución de los componentes, y en una segunda etapa por la rapidez de precipitación del producto. La reacción de solubilidad es una reacción química homogénea, esto es que se lleva a cabo en la interfase sólido-líquido por lo tanto al incrementar el área de contacto entre ambas fases se acelerará el proceso. Por otro lado la precipitación del producto es un fenómeno de nucleación, es decir que se debe cumplir una relación área-volumen del embrión nucleante para que sea termodinámicamente estable y pueda seguir su crecimiento para formar cristales. Existen dos tipos de nucleación, la homogénea en la que la formación de los embriones se presenta en forma aleatoria sobre el seno de la solución y la heterogénea donde partículas o cristales sólidos son empleados como semillas para facilitar el crecimiento de los cristales [27].

### 2.3.10 Evolución estructural

Al tiempo cero de reacción, la microestructura de los cementos de fosfato de calcio está caracterizada por presentar aglomerados de los componentes (por ejemplo  $\alpha$ -TCP). Las pequeñas partículas esféricas de  $\alpha$ -TCP características del proceso de molienda empleado comienzan a disolverse con el tiempo, y una nueva fase precipita fuera de ellas en forma de placas cristalinas que crean una red interconectada de aglomerados. Los aglomerados esféricos tienden a desaparecer con el tiempo, favoreciendo la conversión total de  $\alpha$ -TCP a CDHA. Conforme el proceso de fraguado continúa, la nueva superficie llega a estar completamente cubierta de placas cristalinas, las cuales se entrecruzan con el tiempo (Figura 10), y los puntos de contacto entre placas forman una estructura de poros interconectados. Existe una correlación entre la estructura y las propiedades mecánicas de los cementos, el endurecimiento de los cementos de fosfato de calcio puede explicarse mediante el desarrollo y crecimiento de la red interconectada de cristales [28].



Figura 10. Microestructura característica de los cementos de fosfato de calcio basados en  $\alpha$ -TCP [28].

#### 2.3.11 Modificaciones del entorno

Durante la etapa de precipitación de la reacción de fraguado, el pH de la solución que rodea al cemento varía y es el principal factor que afecta a la basicidad o acidez del biocemento. Lo ideal para un cemento de uso clínico es que el proceso de precipitación se desarrolle alrededor de un valor neutro de pH [25].

#### 2.4 Aditivos de los biocementos

Existe una gran variedad de aditivos que pueden ser adicionados a la fase sólida o líquida de los cementos de fosfato de calcio con el objetivo de incrementar o establecer ciertas propiedades como: incrementar la cohesión, controlar los tiempos de fraguado, facilitar la maleabilidad de la pasta e incrementar las propiedades mecánicas de resistencia [18].

#### 2.4.1 Semillas de fraguado

El empleo de HA como semilla para favorecer la precipitación de CDHA en los cementos de fosfato de calcio es común, debido a que es un material disponible y biocompatible, se ha encontrado que para ciertos cementos el tiempo final de fraguado disminuye de 22 a 8 minutos al adicionar semillas de HA. También se sabe que un mayor número de pequeños cristales empleados como semilla disminuyen en mayor cantidad los tiempos de fraguado que un número pequeño de semillas de mayor tamaño [10]. El efecto de las semillas está asociado a la nucleación heterogénea del producto cementante.

#### 2.4.2 Iones comunes

La adición de sales como  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2$  o ácido fosfórico diluido, a la fase líquida de los cementos de fosfato de calcio, tiene el efecto de acelerar la reacción de fraguado [10]. Probablemente la presencia de los iones contenidos en este tipo de sales distintos a los iones del sistema  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  incrementan la estabilidad de la HA y la solubilidad de otros fosfatos de calcio.

#### 2.4.3 Modificadores de tamaño de partícula

Es conocido que los biocementos cuya estructura de poros interconectados es más cerrada presentan mejores propiedades mecánicas en comparación con los biocementos cuyas estructuras son abiertas. Los aditivos empleados también juegan un papel importante en las propiedades mecánicas de los biocementos ya que controlan el tamaño cristalino de las placas que conforman la estructura de estos [28].

#### 2.4.4 Combinaciones de reactantes

No sólo el  $\alpha\text{-TCP}$  puede reaccionar para formar CDHA, se ha reportado que otros fosfatos de calcio como el hidrógeno fosfato de calcio reacciona de manera similar para formar CDHA [8]. En la Tabla 3 se listan otros fosfatos de calcio que también son viables para



elaborar cementos óseos, las combinaciones de estos compuestos en diferentes cantidades pueden mejorar las propiedades del producto.

#### 2.4.5 Partículas de refuerzo

Un concreto es un material compuesto que consiste en partículas de refuerzo unidas en un cuerpo sólido por un cemento, las partículas de refuerzo incrementan la resistencia mecánica del cemento.

El concreto es un ejemplo típico de un material compuesto reforzado con partículas grandes; el término “grande” indica que la interacción partícula-matriz (cemento) no puede ser tratada a nivel atómico o molecular, por ello la mecánica del medio continuo es empleada para describir dicha interacción [5].

La regla de las mezclas obtenida por el análisis mecánico del sistema predice el módulo elástico de un material (biocemento) reforzado con partículas de mayor resistencia mecánica (Ecuación 7). Si además se considera que la matriz y el refuerzo se deforman en la misma cantidad la regla de las mezclas también predice el esfuerzo que puede soportar el material compuesto (Ecuación 8) [8].

$$E_C = E_M f_M + E_P f_P \quad (7)$$

$$\sigma_C = \sigma_M f_M + \sigma_P f_P \quad (8)$$

donde el subíndice C indica la propiedad del material compuesto, el subíndice M la propiedad del material empleado como matriz (biocemento), el subíndice P denota la propiedad del material empleado como partícula de refuerzo, E es el módulo de elasticidad,  $\sigma$  es el esfuerzo y f es la fracción en peso empleada en la formulación.

## 2.5 Características de los componentes de los cementos de fosfatos de calcio

### 2.5.1 Fosfato tricálcico

El fosfato tricálcico (TCP) cuya composición química es  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  presenta tres formas polimórficas,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\alpha'$  con diferente estructura cristalina de acuerdo a la temperatura. La estructura cristalina del  $\alpha$ -TCP es monoclinica, mientras que la estructura del  $\beta$ -TCP es rombohedral. El  $\alpha$ -TCP es la fase estable a temperaturas superiores a los 1125 °C, a temperaturas menores la fase estable es la  $\beta$ . El  $\beta$ -TCP es una cerámica biodegradable y se emplea como sustituto de tejido óseo, el  $\alpha$ -TCP es más soluble que el  $\beta$ -TCP y se hidroliza rápidamente para formar hidoxiapatita deficiente en calcio. Por tal motivo es ampliamente usado como componente de los cementos óseos a base de fosfatos de calcio [8].

El  $\beta$ -TCP puede sintetizarse por reacciones vía húmeda, mientras que el  $\alpha$ -TCP sólo puede obtenerse por reacción en estado sólido a altas temperaturas. La Figura 11a muestra el diagrama de fases para el sistema  $\text{CaO-P}_2\text{P}_5$  si la atmósfera no contiene agua, mientras que la Figura 11b muestra el mismo diagrama de fases con una presión parcial de agua en la atmósfera de 500 mmHg. Ambas figuras remarcan la importancia en la exactitud de la relación Ca/P para poder sintetizar TCP, además señalan que en presencia de agua el producto de reacción puede estar contaminado con HA. Por otro lado al ser la fase  $\beta$  estable a temperatura ambiente y la fase  $\alpha$  estable a alta temperatura, es necesario que en el proceso de síntesis del  $\alpha$ -TCP exista una etapa de temple para poder fijar la fase  $\alpha$  a baja temperatura [29].

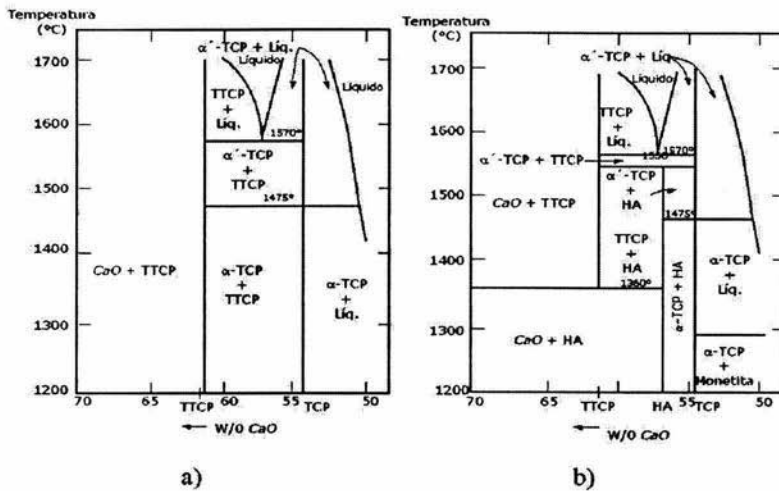


Figura 11. Diagrama de fases para el sistema  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ , a) presión parcial de agua de 0 mmHg y b) presión parcial de agua en la atmósfera de 500 mmHg [29].

### 2.5.2 Hidroxiapatita

La hidroxiapatita (HA) es denominada el componente mineral de los tejidos duros del cuerpo humano como los dientes y los huesos. Los minerales de la familia de las apatitas tienen la fórmula química general  $\text{A}_{10}(\text{BO}_4)_6\text{X}_2$  y cristalizan como prismas hexagonales. La relación Ca/P ideal para la HA es de 10/6, en el campo de los biomateriales se representa con la fórmula  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  y es común referirsele como apatita (Figura 12) [8].

La propiedad más importante de la HA es su excelente biocompatibilidad, se emplea como implante en forma de hueso artificial. La HA puede obtenerse de forma natural a partir de hueso de bovino o humano o en forma sintética en el laboratorio [9].

Se han desarrollado varios métodos para producir la HA, métodos de reacción en estado sólido que tienen la ventaja de obtener HA altamente cristalina con la desventaja de

emplear grandes cantidades de energía y métodos por vía húmeda (precipitación y sol-gel) que tienen la ventaja de ser procesos a temperatura ambiente donde se obtiene HA libre de impurezas y poco cristalina. Para incrementar la cristalinidad de la HA se puede calcinar durante 3 horas a 900 °C [9].

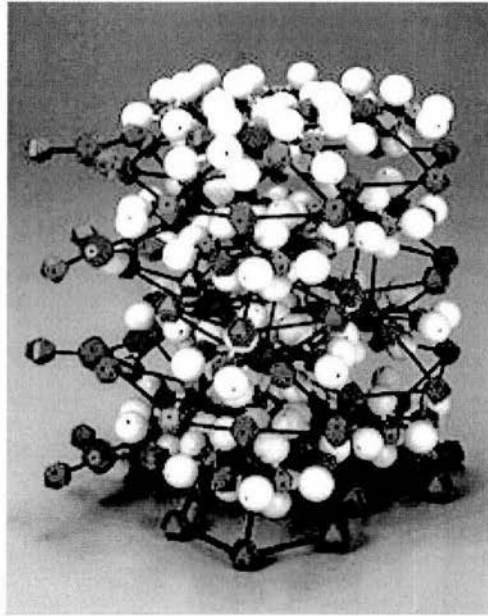


Figura 12. Estructura cristalina de la hidroxiapatita.

### 2.5.3 Hidrógeno fosfato de calcio

El hidrógeno fosfato de calcio o fosfato dicálcico anhídrido (DCP) con composición química  $\text{CaHPO}_4$  es un compuesto usado exclusivamente como componente de cementos bioactivos. Se sabe que existen varias formas de fosfatos de calcio como ortofosfatos ( $\text{PO}_4$ ), metafosfatos ( $\text{PO}_3$ ), pirofosfatos ( $\text{P}_2\text{O}_7$ ), trifosfatos ( $\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) y tetrafosfatos ( $\text{P}_4\text{O}_{13}$ ), sin embargo, las sales de fosfato empleadas como biomateriales son con muy pocas excepciones los ortofosfatos, por simplicidad el término “fosfato de calcio” es empleado en vez de “ortofosfato de calcio” para referirse a estos biomateriales [8].

El producto de reacción de un biocemento compuesto por  $\alpha$ -TCP y DCP es directamente CDHA debido a la baja solubilidad de la HA y su relativa estabilidad con estos fosfatos de calcio [28].

#### 2.5.4 Carbonato de calcio

EL carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) tiene tres formas polimórficas en la naturaleza, calcita, aragonita y vaterita. La calcita es la única fase estable entre 0 y 90 °C, las otras dos fases son metaestables a temperatura ambiente. El coral marino está compuesto por aragonita con una estructura microporosa que es morfológica y químicamente similar al hueso humano, por esta razón el carbonato de calcio ha sido empleado como sustituto de tejido óseo [8]. El carbonato de calcio mejora las propiedades mecánicas de los biocementos al disminuir el tamaño de los cristales precipitados [28].

#### 2.5.5 Oxido de Zirconio

Las biocerámicas más estudiadas por su biocompatibilidad son  $\text{Al}_2\text{O}_3$  y  $\text{ZrO}_2$ . Estos materiales han presentado una mínima reacción con tejidos vivos, sólo presentan una ligera capa que encapsula y aísla al material [9]. La zirconia  $\text{ZrO}_2$  por su alta resistencia mecánica (esfuerzo de fluencia = 1200 MPa), su elevada tenacidad ( $5 \text{ MNm}^{-1.5}$ ) y su módulo de elasticidad relativamente bajo (210 Gpa) es una biocerámica inerte de gran potencial [8]. Los principales refuerzos de biomateriales compuestos son partículas de zirconia estabilizada [7], la zirconia se ha usado como un aditivo de la HA con el objetivo de proporcionar al cemento su resistencia mecánica [6].

### 2.6 Composición del medio fisiológico

El hueso se forma sobre la superficie bioactiva de una cerámica posterior a la sobresaturación de la sangre con la correspondiente apatita. La Tabla 4 resume la composición y concentración de los iones inorgánicos presentes en los fluidos fisiológicos.

La osteoconductividad puede ser evaluada empleando soluciones simuladas de fluidos fisiológicos (SBF), las cuales contienen únicamente las especies inorgánicas de un fluido fisiológico humano [8].

Tabla 2.: Concentración de iones en los fluidos fisiológicos humanos y simulados [8].

	Concentración de iones [ mmol /l ]							
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
Sangre	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0	0.5
Fluido simulado	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.2	1.0	0.5

## 2.7 Técnicas de análisis y esterilización

### 2.7.1 Difracción de rayos X en polvos

La difracción es el ejemplo común de la dispersión y el posterior efecto de interferencia producido por un enrejado, cuando un haz monocromático de radiación pasa a través de una placa transparente sobre la cual se encuentran marcadas una gran cantidad de líneas paralelas entre sí, se observa que el haz se divide en varios rayos. Uno de esos rayos cruza la placa directamente como si la placa no estuviese marcada, los otros rayos se desvían continuando hacia el frente, el ángulo de la desviación depende del espacio entre las líneas marcadas y de la longitud de onda de la radiación. Este fenómeno puede explicarse asumiendo que cada espacio entre las líneas marcadas actúa por sí mismo como una fuente de radiación. Los rayos que provienen de estas fuentes secundarias se eliminarán entre sí en la mayoría de las direcciones por interferencia, sólo en ángulos en los que la geometría es adecuada los rayos se reforzaran unos a otros. Puesto que los rayos X son ondas electromagnéticas pueden ser difractados de forma similar que las radiaciones, la longitud de onda de los rayos X ( $\lambda$ ) es pequeña (en un factor de 1000 con respecto a la luz visible) por lo tanto para obtener valores razonables de ángulos en los que la interferencia sea constructiva ( $\theta$ ), la distancia entre los espacios del enrejado deben ser menores en el mismo factor. Afortunadamente la distancia entre planos adyacentes de átomos en cristales ( $d$ ) es justo de la magnitud requerida, la ley de Bragg (Ecuación 9) impone la condición que debe

de cumplirse geométricamente para que la interferencia de los rayos dispersados sea constructiva [30].

$$2 d \sin(\theta) = n \lambda \quad (9)$$

donde:  $n$  es el orden de la difracción (generalmente asignada como la unidad).

Es poco probable que dos sustancias químicas diferentes formen cristales en los que la distancia entre los planos sea idéntica en todas las direcciones análogas; por ello el análisis de una muestra en todas las posiciones angulares posibles con respecto a un haz de rayos X resultará en un único patrón para cada sustancia.

Un difractómetro de rayos X es un equipo que mide la intensidad de los rayos X difractados por un cristal con un detector electrónico. La Figura 13 muestra las partes esenciales de un difractómetro (una muestra cristalina, un haz de rayos X y un detector de rayos X). El equipo está diseñado de tal manera que el cristal y el detector de rayos X giren, sin embargo, el detector siempre se mueve al doble de la velocidad de la muestra, de tal forma que el detector recoge la intensidad de la reflexión asignándole el ángulo exacto durante la rotación del cristal al cual sucede la reflexión. Por ello se recoge cada reflexión de Bragg en el momento que ocurre, de esa forma se obtiene una gráfica de la intensidad detectada contra los ángulos de Bragg (patrón de difracción). La precisión del equipo es tal que al comparar con patrones estandarizados de compuestos cristalinos se puede realizar un análisis cuantitativo y cualitativo de la composición química de la muestra analizada.

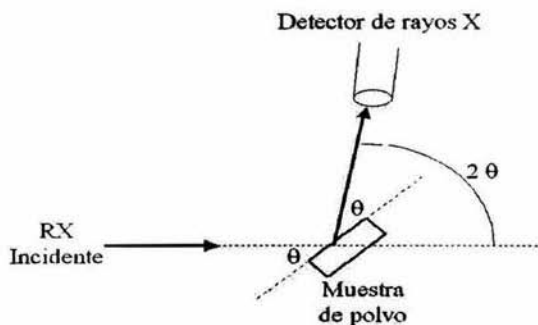


Figura 13. Difractómetro de rayos X.

### 2.7.2 Microscopía electrónica de barrido

En el microscopio electrónico de barrido (MEB) la superficie de la muestra es recorrida por un haz puntual de electrones, la interacción del haz con la superficie de la muestra produce varios tipos de señales como electrones retrodispersados, electrones secundarios, electrones Auger, rayos X continuos y rayos X característicos (Figura 14). Todas esas emisiones contienen información útil sobre la naturaleza de la muestra en una pequeña área por debajo de la superficie del haz, comúnmente se emplean los electrones secundarios para formar una imagen en un monitor con la ayuda de un detector y un equipo electrónico, la señal de electrones secundarios proviene principalmente del área directamente por debajo del haz por lo tanto forma una imagen de gran resolución de la topografía de la muestra. Por otro lado, los electrones retrodispersados son capturados por un detector más sensible que el anterior. Con la señal generada es posible formar una imagen topográfica de mayor contraste y además, los electrones retrodispersados pueden emplearse para formar una imagen de las diferencias entre los números atómicos de varias zonas de la muestra [31]. Los electrones del haz electrónico penetran en el material, chocan con los núcleos atómicos y son rebotados con diferentes intensidades dependiendo del tamaño del núcleo (número atómico) con el que choquen, si son rebotados por núcleos pesados la intensidad con la que saldrán será mayor a la intensidad de un electrón que sea rebotado por un núcleo ligero y por tanto el detector formará una imagen más clara (brillante) de las zonas con átomos pesados y una imagen oscura de las zonas del material que contengan átomos ligeros.



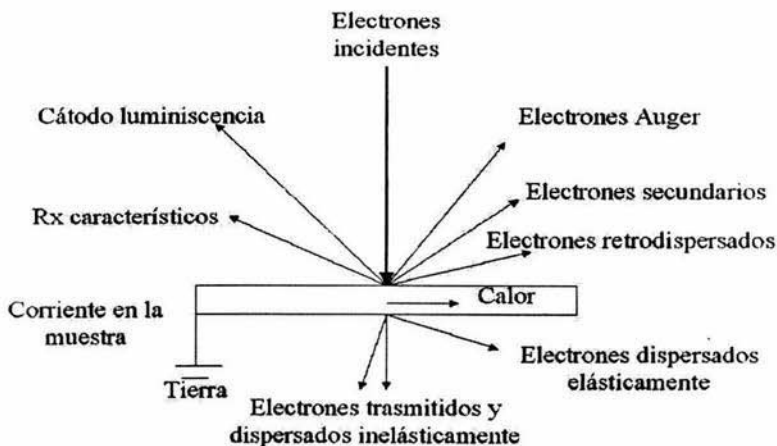


Figura 14. Señales generadas en un microscopio electrónico de barrido.

### 2.7.3 Métodos de esterilización

Las técnicas comunes de esterilización son calor húmedo, autoclave, radiación, y con gas de óxido de etileno. En la esterilización por calor húmedo, la temperatura varía entre 160 y 190 °C. La esterilización por vapor (autoclave) se lleva a cabo a elevadas presiones y a temperaturas relativamente menores (125 a 130 °C). Agentes químicos como el etileno u óxido de propileno y soluciones fenólicas e hipoclorito son empleadas para esterilizar materiales que se degradan con la temperatura, ya que es un método a temperatura ambiente y con bajos tiempos de exposición al gas. Por último la esterilización por radiación emplea un isótopo de cobalto y puede causar el deterioro del material en dosis elevadas [6].

## 2.8 Objetivo y metas

### Objetivo

El presente trabajo tuvo el objetivo general de desarrollar, caracterizar y comparar tres distintos cementos óseos a base de fosfatos de calcio, uno de ellos de uso médico y los otros dos para determinar su posible aplicación médica.

### Metas

Para cumplir con el objetivo se plantearon las siguientes metas:

- 1) Sintetizar las materias primas para poder elaborar los biocementos mediante técnicas de reacción en estado sólido y vía húmeda, y validar la síntesis.
- 2) Adecuar los componentes obtenidos y preparar los biocementos a base de fosfatos de calcio para controlar los parámetros: tamaño de partícula y composición química.
- 3) Ejecución de pruebas estándar de caracterización física, química, mecánica y estructural.
- 4) Implementación de pruebas no estandarizadas de caracterización (inyectabilidad y fuerza de adhesión).

Los dos últimos para caracterizar y comparar a los biocementos analizados.

## Capítulo 3

### Procedimientos experimentales

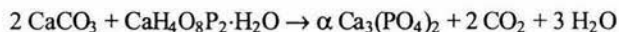
En este capítulo se describe a detalle la obtención y preparación de las materias primas utilizadas, la formulación y preparación de los biocementos analizados, así como las pruebas y las condiciones a las que fueron sometidos para ser caracterizados en forma química, estructural y mecánica.

#### 3.1 Materias primas

Los componentes de los cementos óseos caracterizados en el presente trabajo fueron alfa fosfato tricálcico ó ( $\alpha$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>), hidroxiapatita ó HA (Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>), carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>), fosfato de calcio monohidratado (CaHPO<sub>4</sub>) y óxido de zirconio (ZrO<sub>2</sub>). Los dos primeros componentes listados fueron sintetizados debido a que no son productos comerciales, mientras que el carbonato de calcio, el fosfato de calcio monohidratado fueron comprados a la marca Backer y el óxido de zirconio a la marca Riedel-de Haën. Como se menciona en el capítulo dos, el tamaño de partícula de los biocementos es determinante en las propiedades del mismo, por lo cual, todos los componentes fueron reducidos en tamaño a distribuciones menores a 20 micrómetros, para ello, se realizó la molienda de cada uno de los componentes por separado con el empleo de un molino de bolas.

##### 3.1.1 Síntesis del $\alpha$ - fosfato tricálcico

La síntesis del  $\alpha$ -TCP se llevó a cabo empleando la técnica de reacción en estado sólido, mezclando las cantidades estequiométricas de carbonato de calcio y de dihidrógeno fosfato de calcio monohidratado, para que ocurriera la siguiente reacción:



El proceso consistió en colocar la mezcla de polvos reactivos en un crisol de platino e introducirla a un horno en el cual se calienta durante 30 minutos hasta 700 °C, se mantiene a esa temperatura por 2 horas, posteriormente se calienta durante 45 minutos hasta alcanzar 1250 °C, temperatura que se mantiene durante 12 horas, y finalmente, se temple el compuesto formado sobre una placa de cobre. Este proceso se ilustra en la Figura 15.

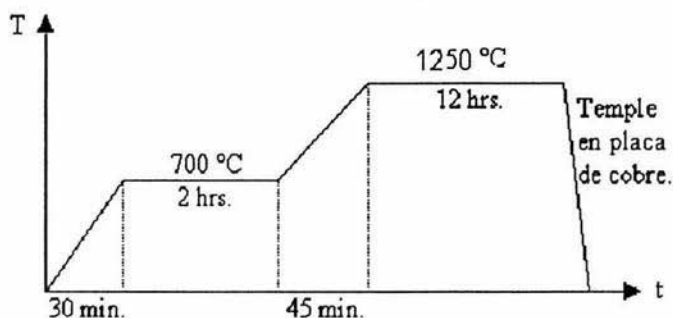
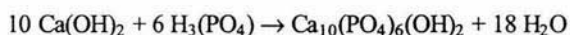


Figura 15. Esquema del proceso térmico para la obtención de  $\alpha$ -TCP.

### 3.1.2 Síntesis de la hidroxiapatita

La HA fué sintetizada por la técnica de vía húmeda, la cual consiste en la reacción a temperatura ambiente de una solución 0.6 molar de hidróxido de calcio con una solución 0.3 molar de ácido fosfórico. La solución de ácido fosfórico fué adicionada lentamente a la solución de hidróxido de calcio manteniendo una condición de homogenización hasta lograr un pH alrededor de 8.7 para la mezcla. Una vez alcanzado el pH deseado se dejó reposar la solución durante dos semanas para posteriormente separar por filtrado la fase sólida (HA) de la fase líquida (agua), finalmente la HA se recristalizó a una temperatura de 850 °C durante tres horas. La reacción de formación de la HA es:



### 3.1.3 Molienda de los componentes

Para lograr distribuciones de tamaño de partícula menores a 20 micrómetros para cada uno de los componentes fue necesario molerlos por separado dentro de un molino de bolas. Las bolas del molino empleado tienen un diámetro de un centímetro y están fabricadas con zirconia, mientras que el material de la carcasa del molino es alúmina. Las condiciones de molienda fueron: velocidad de giro del molido de 60 rpm, tiempo de molienda de cuatro horas, el 70% del volumen total del molino fue ocupado, del volumen ocupado el 60% fue la carga de bolas y el 40% restante fue el material, y la molienda se realizó en seco debido a la naturaleza química de los componentes. Para comprobar la eficacia de la molienda se empleó la técnica de cribado empleando una apertura de malla de 0.02 milímetros.

### 3.2 Formulación de los biocementos

En este trabajo se compararon tres formulaciones de biocementos con características distintas entre sí.

La primer formulación (biocemento A) corresponde a un cemento óseo comercial de la marca Merck cuya composición de la fase sólida es:  $\alpha$ -TCP al 61 % w/w,  $\text{CaHPO}_4$  al 26 % w/w,  $\text{CaCO}_3$  al 10 % w/w y HA al 3 % w/w, mientras que la fase líquida consiste en una solución al 2 % w/w de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , la relación líquido-polvo (L/P) para preparar la pasta es de 0.36 [32].

La segunda formulación (biocemento B) es un desarrollo realizado en el laboratorio de biomateriales del IIM-UNAM. La fase sólida de este cemento óseo consiste en:  $\alpha$ -TCP al 99 % w/w y HA al 1 % w/w, la fase líquida es una solución de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.6 molar y una solución de  $\text{CaCl}_2$  0.1 molar en una proporción uno a uno, la relación L/P para preparar la pasta en este caso es de 0.55.

La composición de la tercera formulación (biocemento C) es similar a la composición del biocemento B, mientras que la fase líquida y la relación L/P son idénticas, a la composición

de la fase sólida se adiciona 10 % de  $ZrO_2$  sobre el total como agregado para formar, en analogía, un concreto.

En la Tabla 5 se presentan las composiciones de la fase sólida y líquida de cada biocemento, así como, la relación líquido polvo empleada en la preparación de las pastas:

Tabla 3. Formulación de las fases sólida y líquida de los biocementos analizados.

Biocemento	% $\alpha$ -TCF	% HA	% $CaHPO_4$	% $CaCO_3$	% $ZrO_2$	$Na_2HPO_4$	$CaCl_2$	L / P [ml/gr]
A	61	3	26	10	-	2%	-	0.36
B	99	1	-	-	-	0.6 M	0.1 M	0.55
C	90	1	-	-	9	0.6 M	0.1 M	0.55

La mezcla de los componentes de la fase sólida de los cementos óseos se realizó por agitación magnética dentro de un recipiente de vidrio con el empleo de un vehículo líquido, volátil e inerte a los componentes del cemento (acetona). La velocidad de agitación fue tal que se consiguió un vórtice estable de la mezcla. El tiempo de mezclado fue de cuatro horas para asegurar la completa homogeneidad de los biocementos.

### 3.3 Caracterización de los cementos óseos

Para caracterizar los cementos óseos se prepararon distintos tipos de probetas con la pasta cementante, la preparación de la pasta de cemento óseo en cada caso se realizó colocando la fase líquida del cemento en un mortero de ágata y posteriormente agregando la fase sólida del cemento para finalmente mezclar ambas fases con una espátula metálica, la mezcla de las fases del cemento se realizó durante un minuto.

#### 3.3.1 Caracterización de las pastas

La caracterización de las pastas de biocemento consistió en determinar los tiempos de cohesión y fraguado (inicial y final) de la pasta, así como, la evolución de la temperatura durante el fraguado y la inyectabilidad de la pasta.

Tiempo de cohesión: El tiempo de cohesión de los biocementos fue medido empleando probetas cilíndricas de 10 mm de diámetro con 5 mm de altura, las probetas fueron sumergidas en solución de fluido fisiológico (a 37 °C y pH = 7.4) a distintos tiempos posteriores a su preparación, considerando como tiempo de fraguado el tiempo mínimo requerido para que la probeta conserve permanentemente la geometría una vez sumergida. Dichas probetas fueron preparadas dentro de moldes de teflón con las dimensiones descritas, el tiempo de moldeo de las probetas fue de un minuto una vez preparada la pasta del cemento óseo.

Tiempos de fraguado: El tiempo de fraguado inicial y final de los biocementos se determinó con el método de Gillmore [20], Figura 16, el cual considera como tiempo inicial de fraguado el tiempo transcurrido desde la preparación de la pasta cementante hasta el momento en que una aguja con diámetro de 2.13 mm y 113.4 g de peso no deja huella sobre la superficie del cemento, y como tiempo final de fraguado al tiempo transcurrido para que otra aguja con diámetro de 1.06 mm y 453.6 g de peso no deje huella sobre la superficie del cemento. La pasta cementante de cada biocemento fue colocada en un molde de teflón con un diámetro interno de 10 mm y altura de 13 mm en la cual se realizó la inserción de las agujas cada 60, 30 y 10 minutos hasta determinar los tiempos de fraguado.

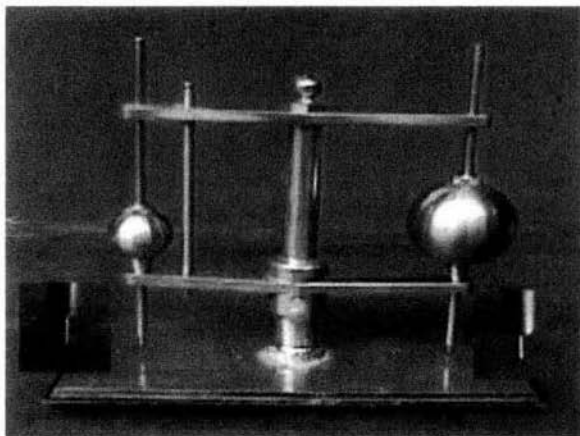


Figura 16. Equipo de Gillmore para determinar tiempos de fraguado en cementos.

Temperatura de fraguado: El monitoreo de la temperatura durante el fraguado de los biocementos se realizó con un termómetro digital, el cual emplea un termopar tipo K (cromel-alumel) para registrar la temperatura. Se tomaron lecturas de temperatura cada 30 segundos durante 3 horas desde que la pasta fue preparada e introducida en moldes cilíndricos de teflón con diámetro de 5 mm y altura de 12 mm (Figura 17).



Figura 17. Termómetro digital y probeta empleados en el monitoreo de temperaturas de fraguado.

Inyectabilidad: La inyectabilidad de la pasta cementante se determinó midiendo el esfuerzo máximo requerido para extruir 1.5 cc de pasta recién preparada a través de una jeringa con capacidad de 3 cc (Plastipak<sup>MR</sup>) sin aguja (tamaño de la apertura de la salida de 2 mm). La prueba se realizó en una máquina Instron con una velocidad de avance del cabezal de 50 mm/min.

### 3.3.2 Propiedades mecánicas de los biocementos

La caracterización mecánica de los biocementos consistió en realizar pruebas de compresión y adhesión a los cementos óseos de acuerdo a las siguientes especificaciones:



Ensayo de compresión: Se prepararon probetas cilíndricas de los cementos con una altura de 10 mm y diámetro de 5 mm. La pasta formada por la fase sólida y líquida de los biocementos fue colocada dentro de moldes de teflón con las dimensiones requeridas. Una vez transcurrido el tiempo de cohesión para cada formulación de cemento las probetas fueron colocadas en contacto de una solución de fluido fisiológico a 37 °C y pH = 7.4 para simular el medio en el cual deben de fraguar durante su operación in vivo. Posteriormente se tomaron probetas a diferentes tiempos desde su preparación (1, 3, 7 y 30 días) para realizar la prueba de compresión y analizar la evolución de las propiedades mecánicas durante el fraguado. Las pruebas se realizaron con el empleo de una máquina universal Instron 5500R con una velocidad de avance del cabezal de 1 mm/min [23].

Prueba de adhesión: Las probetas para medir la adhesión del cemento óseo consistieron en un clavo de acero inoxidable AISI 316L embebido dentro de hueso de bovino desproteínizado y liofilizado y unido por un biocemento. Los clavos de acero inoxidable tienen un largo de 30 mm y un diámetro de 4 mm. Se probaron diferentes acabados superficiales del clavo para determinar en cual de ellos se lograba una mejor adhesión, los acabados empleados fueron: pulido espejo, baño de arena (sand blast), desbaste con lija 80 y moleteado. El orificio del hueso en el que se introduce el clavo tiene un diámetro de 5 mm y una profundidad de 10 mm. El espacio entre el hueso y el clavo de acero fue rellenado por el biocemento para lograr la adhesión. Al igual que las probetas de compresión, las probetas de adhesión fueron colocadas en contacto con una solución de fluido fisiológico a 37 °C y pH = 7.4 para simular el medio en el que debe desempeñarse el cemento óseo. Las pruebas de adhesión se realizaron aplicando un esfuerzo de tracción al clavo metálico y midiendo la fuerza requerida para desprenderlo del hueso.

Por último, probetas elaboradas con clavos cuyo acabado presentó la mejor adhesión se probaron a distintos tiempos desde la preparación (1, 3, 7 y 30 días) con el objetivo de determinar el efecto del tiempo sobre la fuerza de adhesión de los biocementos. Las pruebas fueron realizadas en una máquina universal Instron 5500R con una velocidad de avance del cabezal de 1 mm/min [23] y un sujetador especial del hueso para que la mordaza de la máquina pudiera asir la probeta como lo muestra la Figura 18.

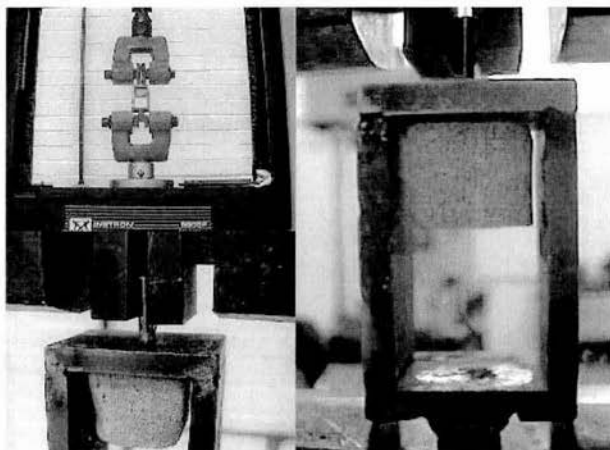


Figura 18. Prueba de adhesión para los biocementos.

### 3.3.3 Evolución química y estructural de los biocementos

Se analizó la composición química de los cementos a distintos tiempos para determinar la cantidad de HA precipitada durante la reacción de fraguado. Para tal efecto se utilizó la técnica de difracción de rayos X para polvos con un equipo Siemens D5000, el cual emplea radiación de cobre ( $\lambda = 1.54056\text{\AA}$ ) a una velocidad de paso de 0.6 segundos con pasos de  $0.020^\circ$ . El material analizado fue obtenido moliendo las probetas de compresión ya fracturadas en un crisol de ágata, de tal forma que se obtuvo información de la evolución química de los biocementos a 1, 3, 7 y 30 días bajo condiciones de fluido fisiológico ( $37^\circ\text{C}$  y pH de 7.4).

La caracterización estructural de los cementos se realizó con microscopía electrónica de barrido. Las muestras analizadas correspondieron a las probetas empleadas en el ensayo de compresión. Se tomaron imágenes formadas por electrones retrodispersados de la microestructura de los biocementos a 1000, 4000 y 10000 aumentos, a los mismos tiempos y bajo las mismas condiciones de temperatura y pH a las que se realizaron los ensayos mecánicos.

Por otro lado, para determinar si el entorno en el que el biocemento se hospeda tiene alguna modificación por efecto de la reacción de fraguado se tomaron valores de pH dentro de la solución de fluido fisiológico. En tubos de ensayo se colocaron 10 ml de solución fisiológica y una pastilla cilíndrica de 10 mm de diámetro por 5 mm de altura formada por el biocemento, los tubos se mantuvieron dentro de una estufa a 37 °C durante un mes para registrar valores de pH a 1, 3, 7, 15 y 30 días desde la preparación de los cementos.

### 3.4 Esterilización de los materiales

Para las pruebas *in vitro* en las que el biocemento y/o el hueso liofilizado y desproteinizado estuvieron en contacto prolongado con la solución de fluido fisiológico (resistencia a la compresión y fuerza de adhesión) se requirió esterilizar los materiales para evitar el crecimiento de bacterias en el medio fisiológico, ya que es un medio rico en nutrientes óptimo para el crecimiento de las mismas.

Se emplearon tres técnicas de esterilización:

- 1) Por temperatura y presión para esterilizar materiales metálicos, vítreos y poliméricos como los clavos de acero inoxidable y el material de laboratorio empleado en la preparación de las probetas.
- 2) Por filtrado para esterilizar la fase líquida de los biocementos y la solución de fluido fisiológico empleada en las pruebas *in vitro*.
- 3) Por radiación  $\gamma$  para esterilizar los materiales cerámicos como los biocementos y el hueso de bovino.

La esterilización por temperatura y presión se realizó en una autoclave a 120 °C de temperatura y 1 Kg/cm<sup>2</sup> de presión durante una hora (Figura 19a). La esterilización por filtrado se llevó a cabo empleando un filtro marca Nalgen con una membrana de 0.22 micrómetros de apertura y una presión de vacío de 20 cm de Hg (Figura 19b). Por último la esterilización con radiación  $\gamma$  se obtuvo con una fuente de cobalto 60 y una dosis de 25 KGy (kilo gray).

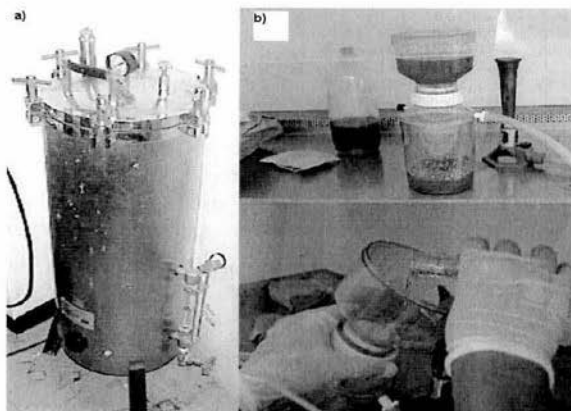


Figura 19. Métodos de esterilización por: a) temperatura y presión y b) filtrado.

# Capítulo 4

## Resultados y discusión

### 4.1 Materias primas

La pureza de los componentes empleados en la elaboración de los biocementos se verificó mediante difracción de rayos X para polvos, los patrones de difracción obtenidos para cada uno de los componentes se muestran a continuación:

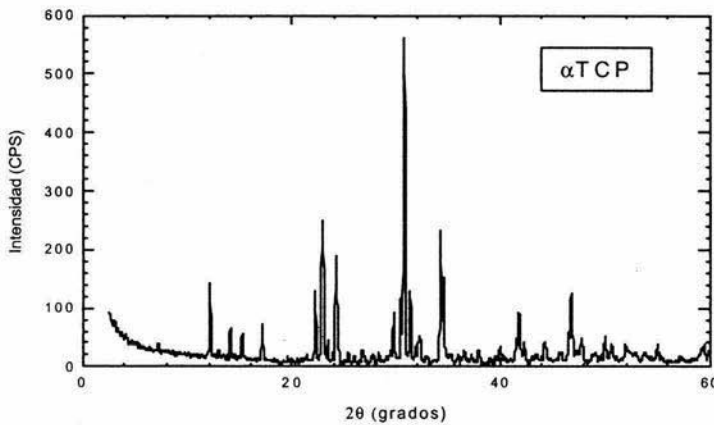


Figura 20. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al alfa fosfato tricálcico.

La Figura 20 muestra que la síntesis de  $\alpha$ -TCP por reacción en estado sólido es eficaz, ya que el difractograma obtenido corresponde únicamente al componente deseado libre de impurezas. Las impurezas que podrían existir son:  $\beta$ -TCP por un templado deficiente del producto de la reacción y HA por la presencia de humedad en el ambiente del horno.

El  $\alpha$ -TCP puro es un compuesto blanco brillante, lo cual es un indicador visual del resultado eficaz de la reacción de síntesis.

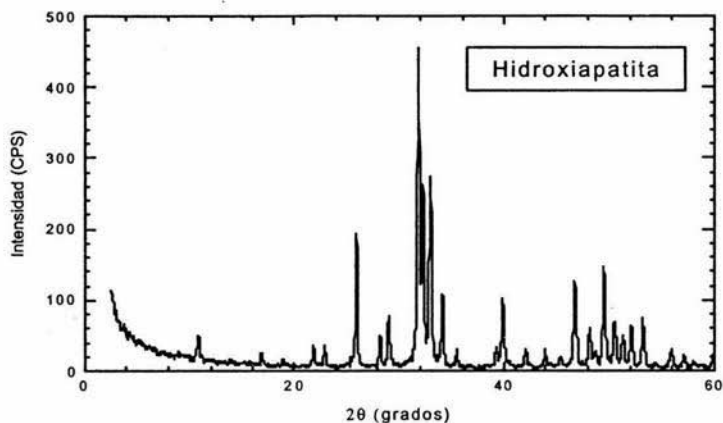


Figura 21. Patrón de difracción de rayos X correspondiente a la hidroxiapatita.

La Figura 21 muestra que la síntesis de HA por vía húmeda es eficaz, ya que el difractograma obtenido corresponde únicamente al componente libre de impurezas. Las impurezas que podrían existir son otros fosfatos de calcio de estequiometría diferente a la HA resultado de un control deficiente del pH de la solución durante la síntesis por vía húmeda.

Las Figuras 22-24 confirman la pureza de los reactivos adquiridos, cada una de ellas corresponde al patrón de difracción del componente puro.

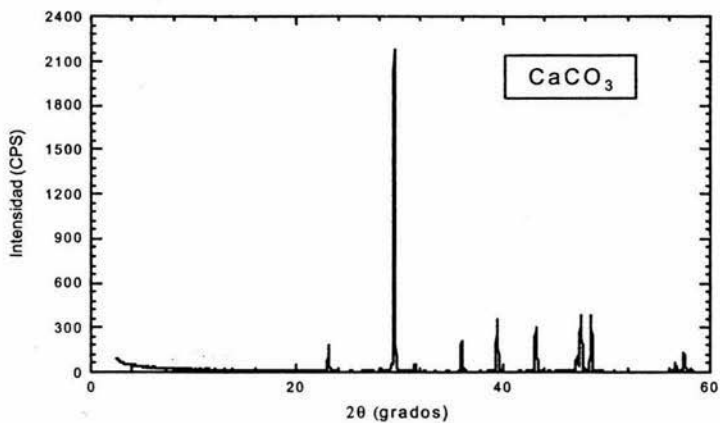


Figura 22. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al carbonato de calcio (calcita).

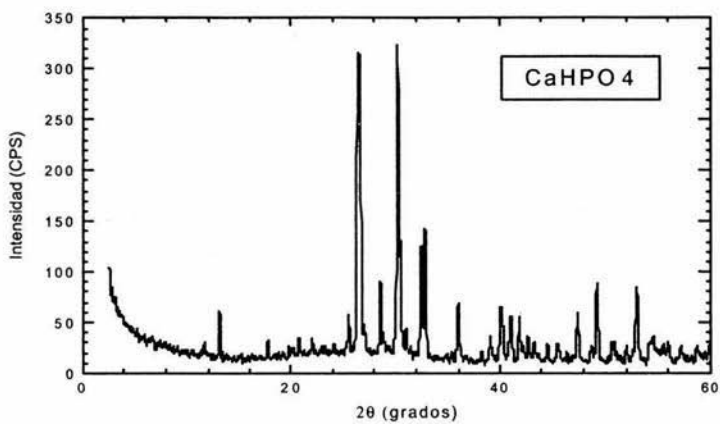


Figura 23. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al fosfato de calcio monohidratado.

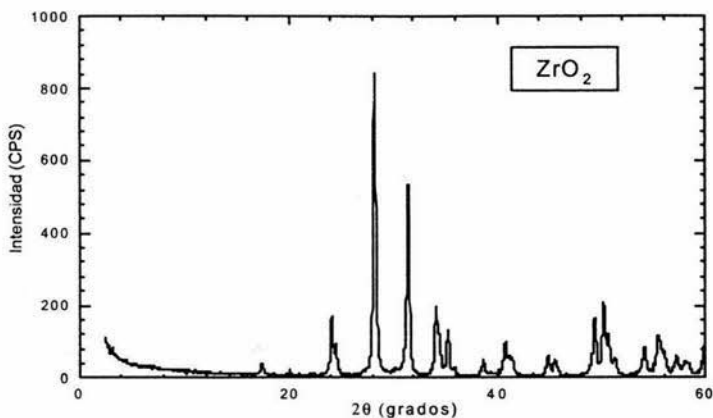


Figura 24. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al óxido de zirconio.

En la siguiente tabla (Tabla 4) se presentan las cantidades totales preparadas por molienda de cada uno de los componentes. Aplicando la técnica de cribado se aseguró que todas las partículas obtenidas fueran menores a 20 micrómetros.

Tabla 4. Cantidad total de componentes sintetizada y molida para formular los biocementos.

Componente preparado	$\alpha$ -TCP	HA	CaCO <sub>3</sub>	CaHPO <sub>4</sub>	ZrO <sub>2</sub>
Cantidad total [gramos]	230	13	13.5	37	10

#### 4.2 Cementos óseos obtenidos

Se prepararon 80 gramos de cada biocemento (A, B y C). La composición y la homogeneidad en la distribución de los componentes se verificó tomando una muestra aleatoria de cada cemento y analizándola por difracción de rayos X. Los patrones de difracción obtenidos se muestran en las Figuras 25-27; en ellos se indica la correspondencia de los picos con cada componente detectado. Cabe recordar que el biocemento A corresponde a un cemento comercial de la marca Merck [32].



De las Figuras 25-27 se observa que la técnica de mezclado por agitación magnética es eficiente ya que el análisis de cada biocemento muestra los picos de difracción para los componentes empleados en la elaboración de los mismos, por tanto la composición de la fase sólida de los biocementos es homogénea.

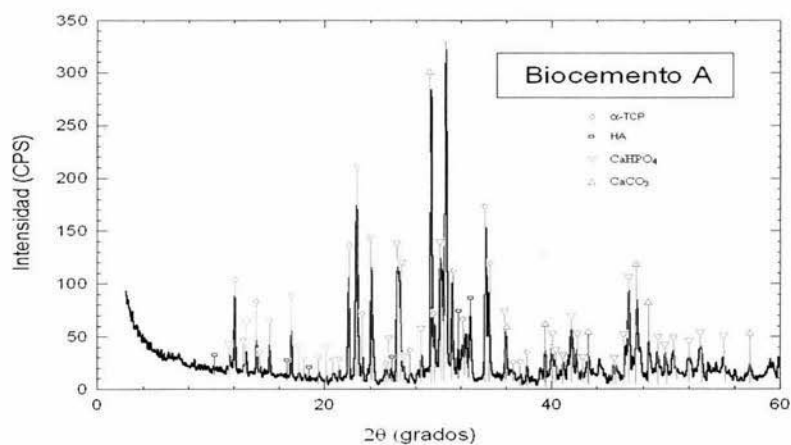


Figura 25. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al biocemento A, donde se indica la correspondencia de los picos con cada componente de la formulación.

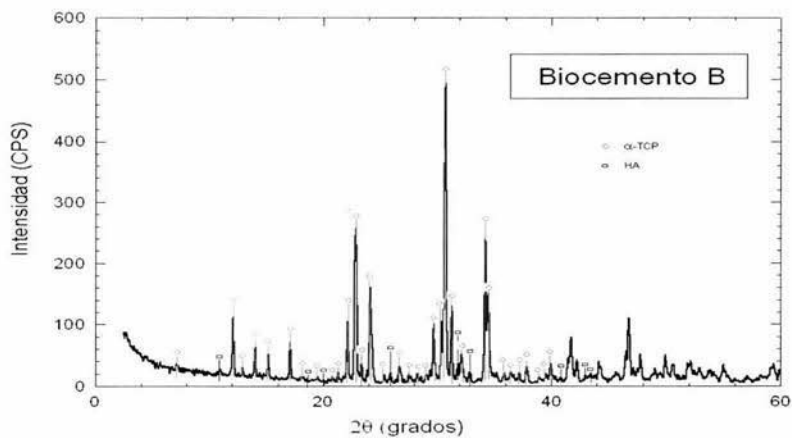


Figura 26. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al biocemento B, donde se indica la correspondencia de los picos con cada componente de la formulación.

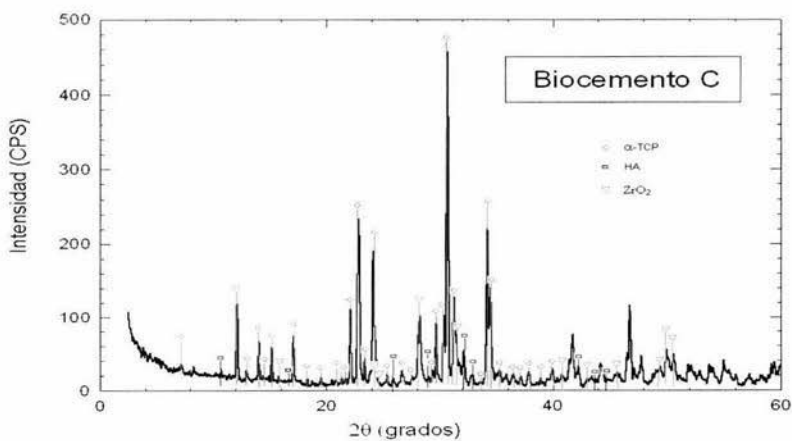


Figura 27. Patrón de difracción de rayos X correspondiente al biocemento C, donde se indica la correspondencia de los picos con cada componente de la formulación.

### 4.3 Generalidades de las pastas de los cementos óseos

Como observaciones adicionales durante la caracterización de los biocementos se obtuvieron los siguientes resultados:

- Cada 1.25 gramos de cemento óseo forman un centímetro cúbico de pasta cementante.
- Se observa visualmente que durante el fraguado el biocemento A presenta una contracción en volumen, mientras que los biocementos B y C no presentan contracción.
- Al mezclar la solución de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  con la solución de  $\text{CaCl}_2$  correspondientes a la fase líquida de los biocementos B y C se observa la precipitación de un compuesto blanco, al realizar el análisis de difracción de rayos X al precipitado se determinó que está formado por NaCl, HA y trazas de CaO.

### 4.4 Propiedades físicas de las pastas cementantes

#### 4.4.1 Tiempo de cohesión

El tiempo de cohesión determinado para cada biocemento se presenta en la Tabla 5. Es notorio que los cementos B y C presentan cohesión desde el primer minuto posterior a su preparación, lo cual les permite ser colocados rápidamente en contacto con sustancias líquidas. Mientras que el biocemento A tiene un tiempo de cohesión de 6 horas.

Tabla 5. Tiempos de cohesión.

Biocemento	t cohesión [min]	
	Experimental	Reportado [32]
A	360	< 5
B	1	-
C	1	-

En la Figura 28 se muestra el discernimiento de cohesión de la pasta, del lado izquierdo se observan muestras que aún no cumplen con el tiempo de cohesión y del lado derecho una muestra que ya presenta cohesión.

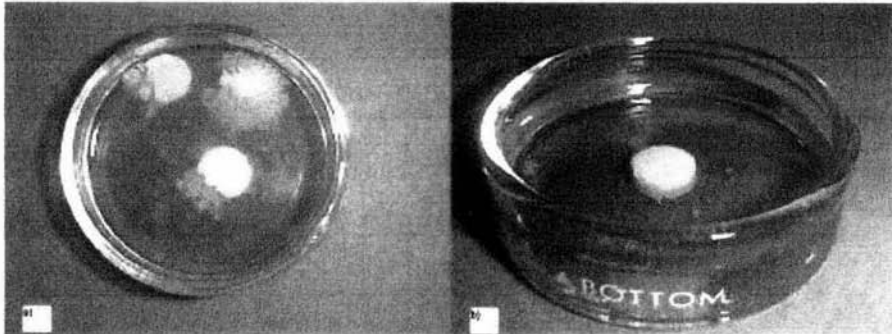


Figura 28. Cohesión, a) muestras que se desintegran, y b) muestra que presenta cohesión.

De acuerdo a la hoja técnica del biocemento A [32], el tiempo de cohesión del biocemento no excede los 5 minutos, lo que sugiere que a la composición reportada para el biocemento A se le adiciona un promotor de cohesión no reportado en la hoja técnica del producto. Algunos promotores de cohesión probados [18] son: almidón hidroxietil, sulfato de sodio,  $\alpha$ -ciclodestrina,  $\beta$ -ciclodestrina,  $\gamma$ -ciclodestrina, polivinil piroidona, ácido hialurónico y condroitina.

#### 4.4.2 Tiempos de fraguado

En la siguiente tabla se presentan los tiempos de fraguado inicial y final determinados para los biocementos empleando el método de las agujas de Gillmore:

Tabla 6. Tiempos de fraguado.

Biocemento	tiempo de fraguado inicial		tiempo de fraguado final	
	Experimental [hrs.]	Reportado [32] [min.]	Experimental [hrs.]	Reportado [32] [min.]
A	2:00	~ 6	3:40	~ 18
B	1:30	-	9:30	-
C	1:30	-	9:30	-

De acuerdo a la referencia 32 el tiempo de fraguado inicial del cemento A es de ~6 minutos y el tiempo de fraguado final de ~18 minutos, mientras que los tiempos determinados en la presente investigación son de 2:00 y 3:30 horas respectivamente. Cabe mencionar que el método de Gillmore empleado está enfocado a determinar los tiempos de fraguado de cementos estructurales para construcción y no para biocementos, por tanto es posible que para obtener los valores citados haya que hacer modificaciones al método, dirigiendo dichas modificaciones a las cargas empleadas para hacer la determinación.

Se observa que el tiempo inicial de fraguado de los cementos B y C es de 1:30 horas, lo que indica que el fraguado se activa con mayor rapidez en comparación del cemento A que le toma 2:00 horas. Sin embargo, el tiempo de fraguado final de los cementos B y C es de 9:30 horas, 5:50 horas más que el cemento A.

Durante la experimentación se observó que el mayor cambio en la dureza de las pastas se presentó alrededor de los primeros 30 minutos de prueba.

Los tiempos de fraguado obtenidos no concuerdan con el intervalo óptimo sugerido para los cementos óseos, sin embargo, el biocemento A que cumple con las condiciones de composición descritas en la literatura tampoco presenta los tiempos de fraguado citados en la literatura, lo cual sugiere que el método de agujas de Gillmore empleado para determinar tiempos de fraguado en cementos óseos tiene algunas modificaciones con respecto al empleado en cementos para la construcción.

#### 4.4.3 Temperatura de fraguado

El cambio en temperatura de la pasta cementante se calculó de acuerdo a la ecuación 10.

$$\Delta T = T - T_{\text{amb}} \quad (10)$$

donde  $\Delta T$  es el cambio en la temperatura,  $T$  la temperatura de la muestra a cada tiempo y  $T_{\text{amb}}$  es la temperatura ambiente en el laboratorio (25 °C).

La Figura 29 muestra el cambio en temperatura durante el fraguado de cada biocemento, donde se observa que la temperatura decrece en los tres casos, lo que da evidencia que la reacción de fraguado es una reacción endotérmica.

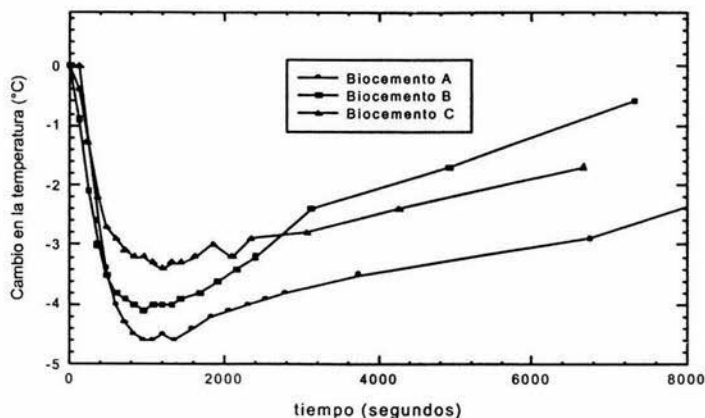


Figura 29. Cambio de la temperatura durante el fraguado de los biocementos.

El biocemento A es el que presenta una mayor disminución en la temperatura con  $-4.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ , seguido por el biocemento B con  $-4.2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y el biocemento C con  $-3.4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . El mínimo en la temperatura se presenta en los tres casos a los 1200 segundos de reacción (20 minutos), posteriormente ( $t > 1200$  segundos) la temperatura de la muestra retorna lentamente a la temperatura ambiente.

El tiempo al cual ocurre el mínimo en la temperatura de fraguado se asemeja al tiempo en el que las pastas de los biocementos presentan un mayor endurecimiento, lo cual podría ser un reflejo de que a este intervalo de tiempo (20-30 minutos) le corresponde el mayor trabajo de fraguado.

Es posible que la diferencia en el mínimo de temperatura entre el cemento B y C se deba a que en porcentaje el biocemento C tiene menor cantidad de reactivo ( $\alpha$ -TCP) que el

biocemento B y por ello requiere de un menor consumo en energía para desarrollar la reacción de fraguado.

#### 4.4.4 Inyectabilidad de las pastas

Para poder expresar la inyectabilidad en términos de porcentajes, se le asignó al agua el valor arbitrario de 100% de inyectabilidad. Luego entonces, todo fluido que requiera mayor esfuerzo para ser extruido que el agua tendrá un valor menor al 100% de inyectabilidad.

En la Figura 30 se presentan las curvas esfuerzo-deformación obtenidas durante la inyección de agua y de los tres cementos óseos a caracterizar.

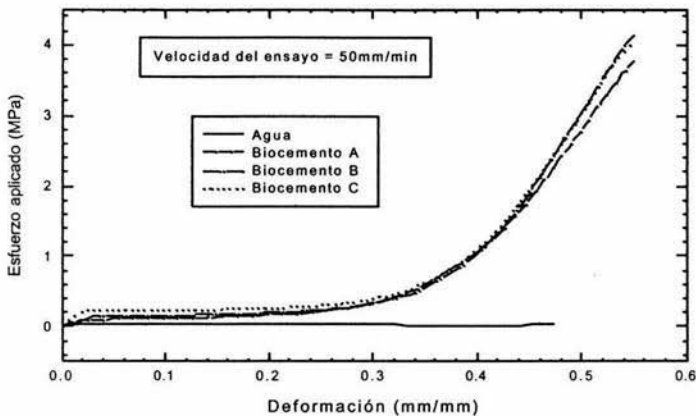


Figura 30. Curvas esfuerzo-deformación durante la inyección de los biocementos.

El esfuerzo necesario para inyectar a los biocementos es considerablemente mayor (en un orden de magnitud) al esfuerzo requerido para inyectar al agua. El agua es un fluido viscoso que obedece la ley de Newton, mientras que los biocementos son fluidos visco-elásticos que pueden ser representados por los modelos de Voigt o Maxwell.

En la siguiente tabla se presentan los esfuerzos máximos aplicados a cada material y su correspondiente porcentaje de inyectabilidad:

Tabla 7. Inyectabilidad de los biocementos.

Muestra	Esfuerzo máximo aplicado (MPa)	% de Inyectabilidad
Agua	0.33	100
Biocemento A	3.76	8.77
Biocemento B	4.14	7.97
Biocemento C	4.05	8.14

El porcentaje de inyectabilidad se determinó aplicando una regla inversa de correspondencia con respecto al agua, es decir al agua se le asocia el valor arbitrario de 100 %, por tanto a un material que requiera mayor esfuerzo que el agua para ser inyectado tendrá un porcentaje menor a 100 de inyectabilidad.

Nuevamente de la Figura 30 y de la Tabla 7 se observa que el comportamiento de los biocementos B y C es muy similar. Con un promedio de inyectabilidad de 8.05 % para los biocementos B y C, mientras que la inyectabilidad del biocemento A es un poco mayor 8.77 %.

Con los resultados de tiempo de cohesión, tiempos de fraguado, temperatura de fraguado e inyectabilidad de las pastas, se observa que los biocementos B y C se comportan igual y en general presentan mejores características que la pasta del biocemento A.

#### **4.5 Propiedades mecánicas de los cementos óseos**

##### **4.5.1 Resistencia a la compresión**

El tipo de fractura que presentaron los biocementos fue frágil y paralela a la dirección de aplicación de la carga. En la Figura 31 se presenta el esfuerzo último de fractura en compresión para cada cemento a distintos tiempos durante el fraguado.



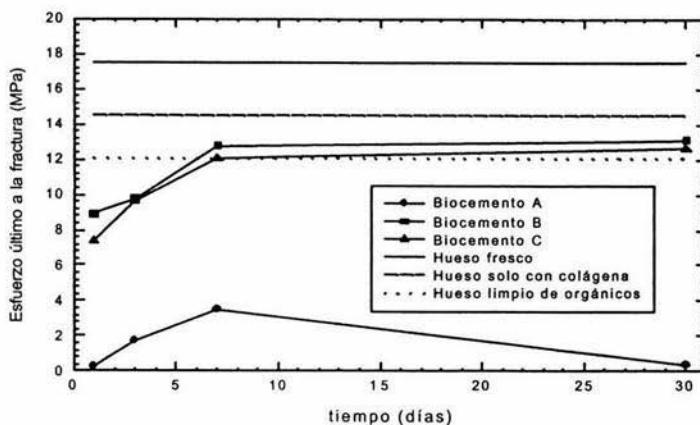


Figura 31. Esfuerzos de fractura en compresión de los biocementos a diferentes tiempos durante el fraguado y esfuerzos de fractura en compresión de hueso de bovino con diferentes características.

La tendencia que presenta el esfuerzo último de fractura en compresión es aumentar con el tiempo, durante los primeros 7 días se presenta el mayor incremento en la resistencia. Posterior a los 7 días los biocementos no presentan un incremento significativo en su resistencia mecánica, a excepción del biocemento A que contrario a los biocementos B y C presenta una caída drástica de resistencia.

El biocemento A es el que presenta menor resistencia a la compresión localizándose entre 7 y 9 MPa por debajo del biocemento C (en los primeros 7 días de prueba) y 12 MPa por debajo al biocemento C a los treinta días de prueba. El biocemento C (el cual contiene partículas de óxido de zirconio) tiene una resistencia a la compresión ligeramente menor al biocemento B de la misma composición. El biocemento B no sigue la regla de las mezclas para materiales compuestos ya que no incrementa su resistencia al ser reforzado con  $ZrO_2$  el cual tiene una resistencia a la compresión mayor.

La literatura reporta [32] que el biocemento A adquiere una resistencia de 60 MPa a los tres días desde su preparación, el valor de resistencia obtenido para el cemento A a tres días es de 3.5 MPa, lo cual sugiere que la formulación reportada por Merck no corresponde a la realidad.

El hueso de bovino fresco es más resistente que el hueso que sólo contiene colágena y este a su vez es más resistente que el hueso libre de orgánicos. Esto se debe a que la materia orgánica proporciona cierta elasticidad a la estructura cerámica porosa del hueso.

Los biocementos B y C alcanzan a los 7 días la resistencia del hueso de bovino libre de orgánicos (12 MPa) el cual es empleado para relleno de defectos óseos en humanos.

Otro resultado obtenido a partir de las pruebas de compresión es el módulo de elasticidad para cada biocemento en función del tiempo, dicho comportamiento se presenta en la Figura 32.

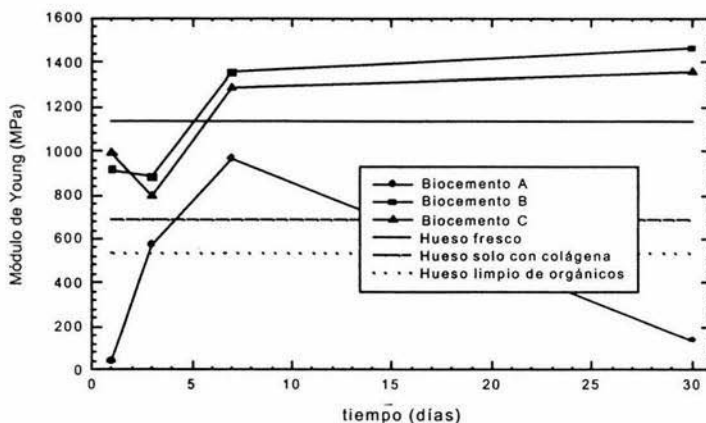


Figura 32. Módulos de elasticidad de los biocementos a diferentes tiempos durante el fraguado y módulos de elasticidad de hueso de bovino con diferentes características.

En forma similar al esfuerzo de fractura en compresión el módulo de elasticidad de los biocementos tiende a aumentar con el tiempo, siendo durante los primeros 7 días el período en el cual el incremento es más acelerado. Posterior a los 7 días el módulo de elasticidad continúa en aumento a una rapidez menor, a excepción del módulo correspondiente al biocemento A que presenta una caída drástica hacia los 30 días de ensayo.

El biocemento A presenta los valores más bajos en el módulo, los biocementos B y C presentan valores de 1464 y 1359 MPa respectivamente a los 30 días de preparados, mientras que el biocemento A tiene un módulo de 140 MPa.

El módulo de elasticidad de los biocementos B y C llega a ser similar dentro los primeros 7 días de ensayo al módulo del hueso de bovino fresco.

Nuevamente se observa que la regla de las mezclas no se cumple en la estimación del módulo de elasticidad del biocemento B reforzado con partículas de óxido de zirconio.

#### 4.5.2 Fuerza de adhesión

A continuación, en la Figura 33, se presenta la forma típica de la curva carga-desplazamiento durante una prueba de adhesión realizada bajo las condiciones descritas en el capítulo 3.

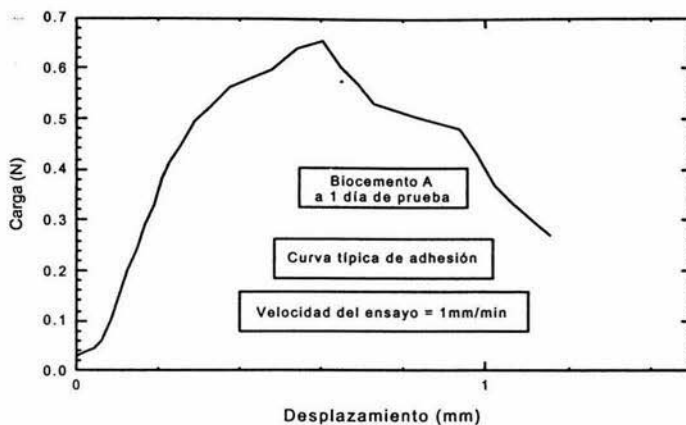


Figura 33. Curva típica carga-deformación durante una prueba de adhesión.

El comportamiento indica que la carga aumenta con el desplazamiento hasta alcanzar un máximo, el cual corresponde al valor de la carga necesaria para desprender el clavo metálico del hueso de bovino, posteriormente se da un decremento en la carga aplicada el cual es reflejo de la disminución paulatina de la fuerza de fricción entre el clavo y el hueso conforme el clavo es extraído.

El acabado superficial es un punto determinante en la adhesión. Por parte del hueso el acabado es poroso, y esta porosidad varía dependiendo de la zona donde se haya extraído y la dirección de corte. Por parte del clavo metálico el acabado superficial depende del procesado final que se le proporcione. A continuación se presenta la fuerza de adhesión (Figura 34) que alcanza el biocemento B a tres días entre hueso poroso (considerando que la porosidad no varía) y diferentes acabados superficiales del clavo de acero inoxidable (Figura 35).

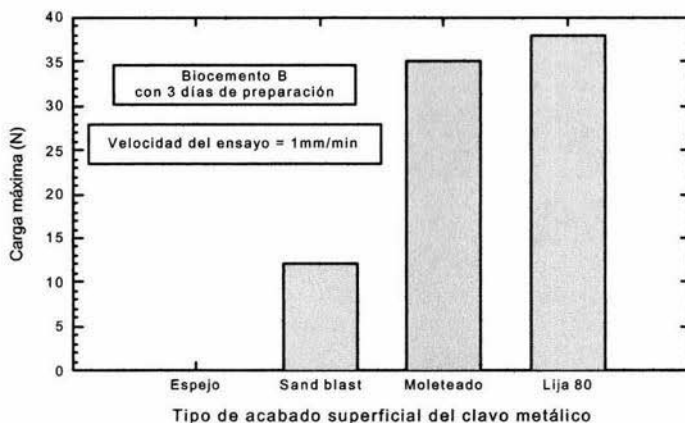


Figura 34. Efecto del acabado superficial del clavo metálico en la fuerza de adhesión.

Con acabado espejo la fuerza de adhesión del biocemento B es de cero debido a que no hay rugosidad para que el cemento pueda adherirse al clavo. El acabado por sand blast presenta una fuerza de adhesión de 12 MPa, este acabado es un poco más rugoso pero la rugosidad no es profunda. El acabado con moleteado y lija 80 es rugoso y más profundo, la fuerza de adhesión que se alcanza con estos tipos de acabado es mayor (35 y 38 MPa respectivamente). Sin embargo, el acabado por moleteado es más regular y con patrones más repetitivos que el acabado con lija 80, por lo cual se decidió continuar la caracterización de los biocementos con este tipo de acabado. En la Figura 35 se muestra la apariencia de cada tipo de acabado empleado.

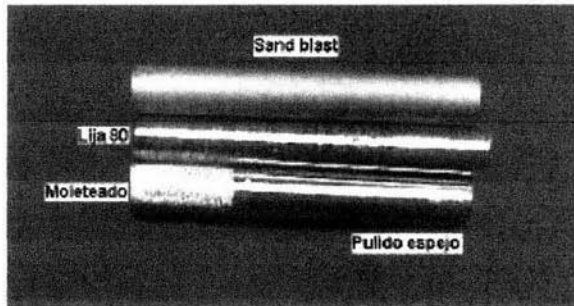


Figura 35. Diferentes acabados superficiales de los clavos metálicos.

El desprendimiento del clavo metálico del hueso se presentó de diversas formas, algunas de ellas son: extracción del clavo sin extracción del biocemento (típico del acabado espejo y por sand blast), extracción del clavo con cierta cantidad de biocemento adherido a su superficie (típico del acabado por moletado y lija 80) y extracción del clavo fracturando el hueso y con cierta cantidad de biocemento adherido (desprendimiento observado en algunas probetas en los tiempos más largos de prueba, 7 y 30 días).

La variación de la fuerza de adhesión de cada biocemento en función del tiempo se presenta en la siguiente figura:

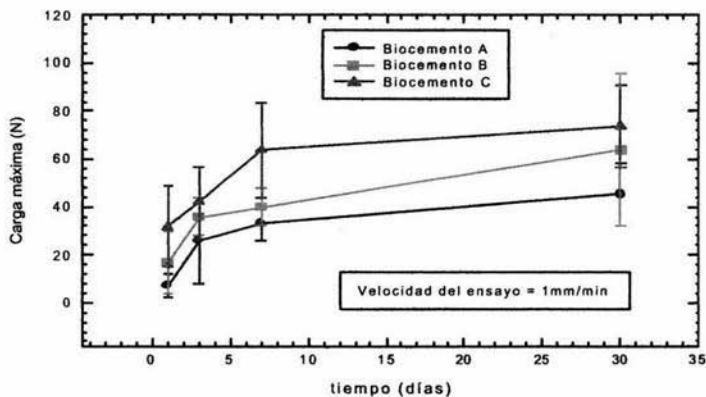


Figura 36. Fuerza de adhesión en función del tiempo de prueba.

La variación en resultados de fuerza de adhesión bajo las mismas condiciones de prueba es tan marcada que en la Figura 36 se presentan las desviaciones estándar correspondientes a cada valor promedio obtenido. Las variaciones se deben a factores como son la forma de elaboración de la probeta, la forma de manipulación de la probeta, el posicionamiento de la probeta en la máquina de prueba, las diferencias entre los huesos a los cuales se adhirió el clavo metálico, entre otras.

Analizando el comportamiento de las medias estadísticas se observa que la fuerza de adhesión de cada biocemento se incrementa con el tiempo. En forma similar a los resultados anteriores, el mayor incremento en la fuerza de adhesión se presenta a los 7 días, sin embargo a tiempos mayores el incremento en fuerza de adhesión sigue siendo considerable.

En orden ascendente de resistencia se encuentra el biocemento A seguido del B y este a su vez del C, por lo tanto la adición de óxido de zirconio al biocemento B trae como consecuencia un incremento en la fuerza de adhesión del biocemento.

Aplicando la regla de las mezclas al biocemento B reforzado con óxido de zirconio y considerando como área de aplicación de la carga el área transversal del hueco entre el clavo metálico y el hueso de bovino, se realizó la siguiente comparación entre el valor experimental y el valor calculado para la fuerza de adhesión del biocemento C:

Tabla 8. Comparación entre la fuerza de adhesión experimental y calculada por la regla de las mezclas para el biocemento C.

tiempo	Biocemento C	
	Fuerza de adhesión [N]	
	Experimental	Calculada
1	32	31
3	42	48
7	64	52
30	74	74

Los valores experimentales y calculados son muy aproximados, lo cual indica que la aplicación de la regla de las mezclas es adecuada para determinar la fuerza de adhesión del biocemento B reforzado con óxido de zirconio.

#### 4.6 Propiedades fisicoquímicas de los cementos óseos

##### 4.6.1 Evolución química

La Figura 37 muestra los patrones de difracción de rayos X para el biocemento A a 0, 1, 3, 7 y 30 días de reacción.

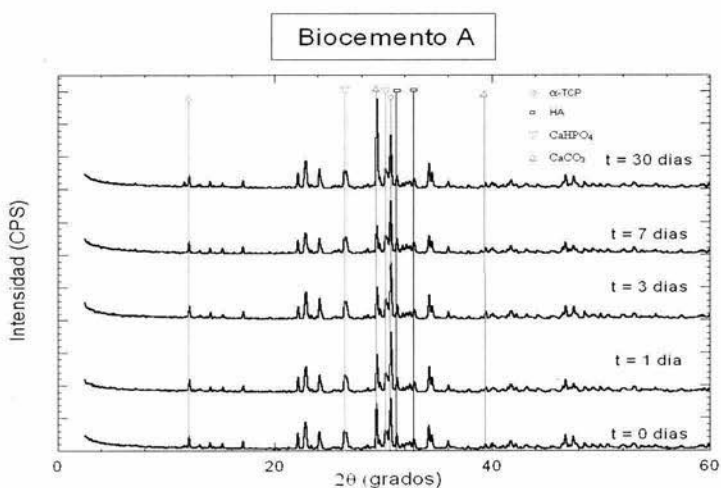


Figura 37. Patrón de difracción de rayos X para el biocemento A, a distintos tiempos de reacción.

Se observa que la composición original del biocemento A se mantiene constante a lo largo del tiempo de prueba lo cual es una posible explicación a las bajas propiedades mecánicas que presenta este cemento óseo.



A diferencia del biocemento A los patrones de difracción del biocemento B si presentan cambios con el tiempo de reacción. En la Figura 38 se marcan los cambios principales en las intensidades de los picos del reactivo ( $\alpha$ -TCP) y el producto(HA).

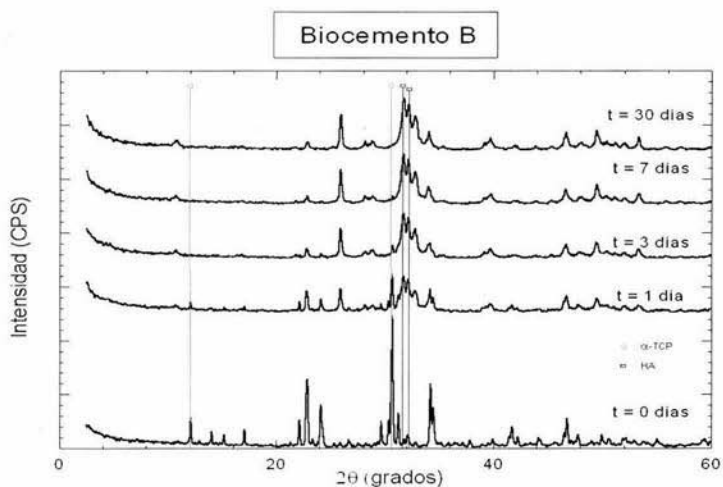


Figura 38. Patrón de difracción de rayos X para el biocemento B, a distintos tiempos de reacción.

En el tiempo cero la fase predominante es el reactivo, conforme transcurre el tiempo de reacción los picos correspondientes a la HA incrementan su intensidad a expensas del decremento de los picos correspondientes al  $\alpha$ -TCP. A los 7 días de reacción prácticamente todo el  $\alpha$ -TCP ha reaccionado a HA, lo cual explica que las propiedades mecánicas del biocemento B alcancen su máximo en ese mismo período de tiempo.

Algo similar sucede con el biocemento C, la diferencia radica en que dentro del patrón de difracción del biocemento C aparecen los picos correspondientes al refuerzo de óxido de zirconio (Figura 39).

Al igual que el biocemento B el cemento óseo C ha transformado prácticamente por completo a HA dentro de los primeros 7 días de reacción, concordando nuevamente con el tiempo en el que el biocemento adquiere las mejores propiedades mecánicas.

Las intensidades de los picos correspondientes al óxido de zirconio se mantienen constantes a lo largo de la reacción debido a que este material es inerte en el sistema analizado.

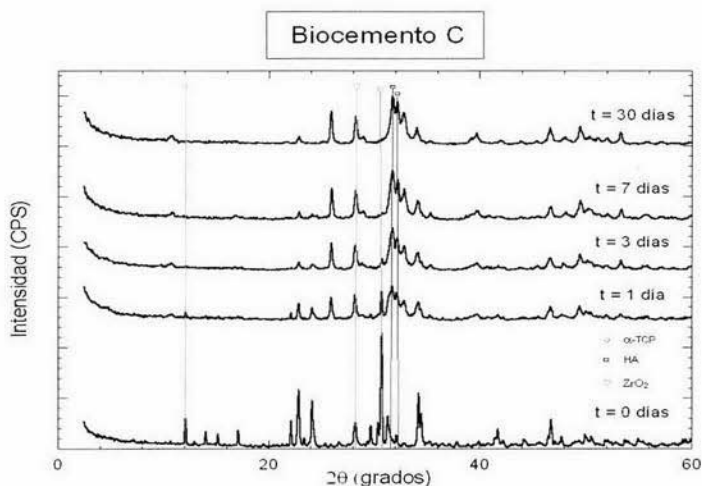


Figura 39. Patrón de difracción de rayos X para el biocemento C, a distintos tiempos de reacción.

Un factor importante a resaltar es que para los biocementos B y C la mayor rapidez de reacción se presenta dentro del primer día, esto se observa en las Figuras 38 y 39 en las que la intensidad del pico principal del reactivo ( $\alpha$ -TCP) muestra un decremento superior en el primer día de reacción con respecto a los tiempos subsiguientes.

#### 4.6.2 Evolución estructural

La morfología de la estructura en la cual fraguan estos biocementos es de placas interconectadas, son hojuelas que parecen crecer a partir de un mismo centro; si las hojuelas son vistas de canto dan la impresión de ser agujas distribuidas al azar.

Para cada cemento y cada periodo de tiempo (1, 3, 7 y 30 días) se obtuvieron imágenes por microscopía electrónica de barrido a 1000X, 4000X y 10000X ampliaciones por medio del detector de electrones retrodispersados. En el primer caso lo que se observa es la homogeneidad en la composición química y en la morfología de la estructura, a 4000X se observan las estructuras con forma de placas correspondiente a la HA, por último a 10000X se tiene una vista cercana de esa morfología.

En las Figuras 40-42 se presentan las imágenes de microscopía electrónica agrupadas por ampliación, es decir, la Figura 40 corresponde a una ampliación original de 1000X en la que se presenta por columna la estructura de cada biocemento a distintos tiempos y por fila la estructura a cada tiempo correspondiente a cada cemento óseo.

En la Figura 40, para el biocemento A se observa que la distribución en composición es homogénea ya que no hay grandes contrastes entre tonalidades en ninguna de las imágenes, para el cemento B la homogeneidad es aún mayor ya que en cada imagen el tono de gris es el mismo, por último, la homogeneidad del biocemento C es similar a la del cemento B y en algunos casos muestra conjuntos de color claro correspondientes a las partículas de óxido de zirconio.

La ampliación de 1000X no es suficiente para observar la estructura en forma de placas.

La ampliación de 4000X (Figura 41) muestra claramente la morfología de placas entrecruzadas para los biocementos B y C. El biocemento A posee una morfología diferente a los cementos B y C, la morfología del cemento A es de partículas aglomeradas que en composición corresponden a los componentes de la fase sólida del biocemento, esto se puede comprobar con la Figura 37 en la cual el patrón de difracción de rayos X no presenta cambios con el tiempo de reacción. Se esperaría que para los biocementos B y C la forma de la estructura a tiempos menores a un día se asemejara a la morfología observada para el cemento A.

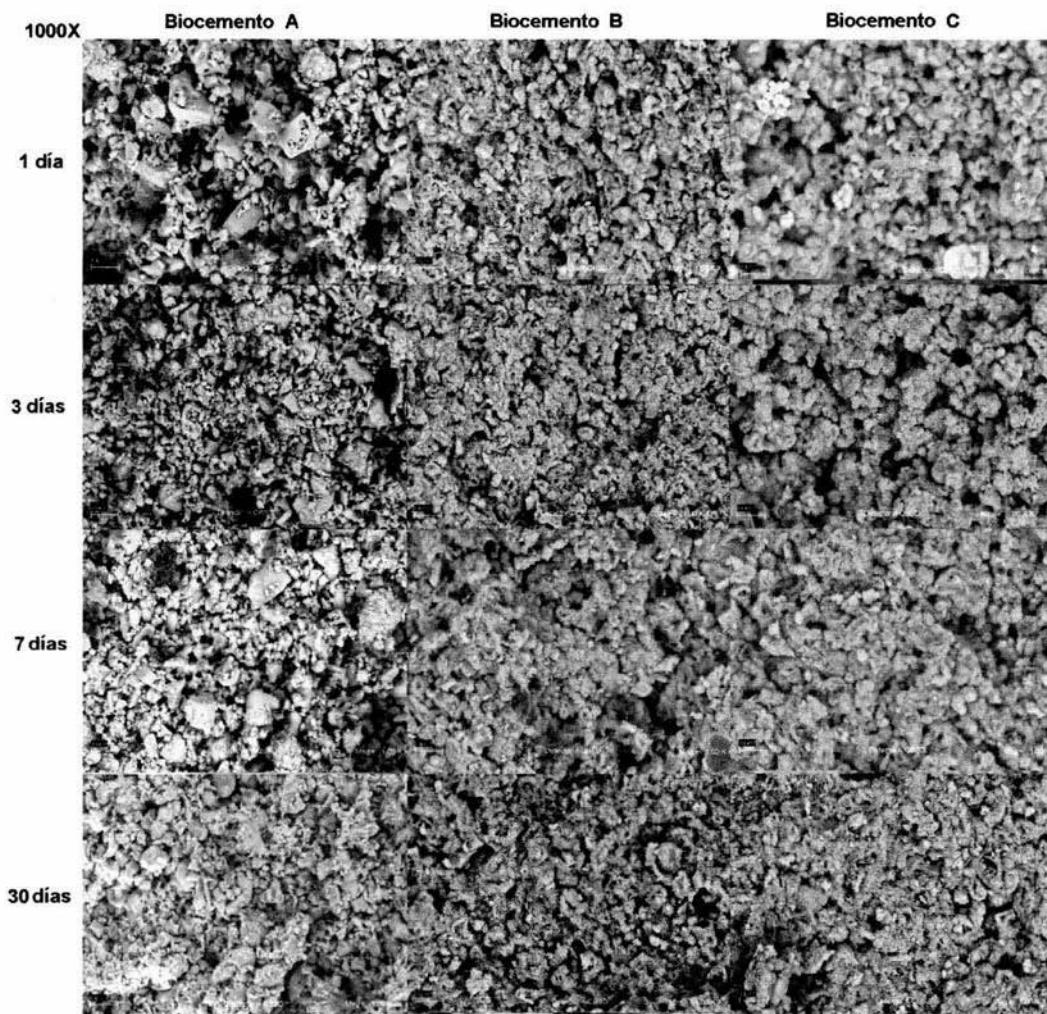


Figura 40. Imágenes de MEB a 1000X por electrones retrodispersados, a) por columna: mismo cemento a distintos tiempos y b) por fila: mismo tiempo distinto cemento.

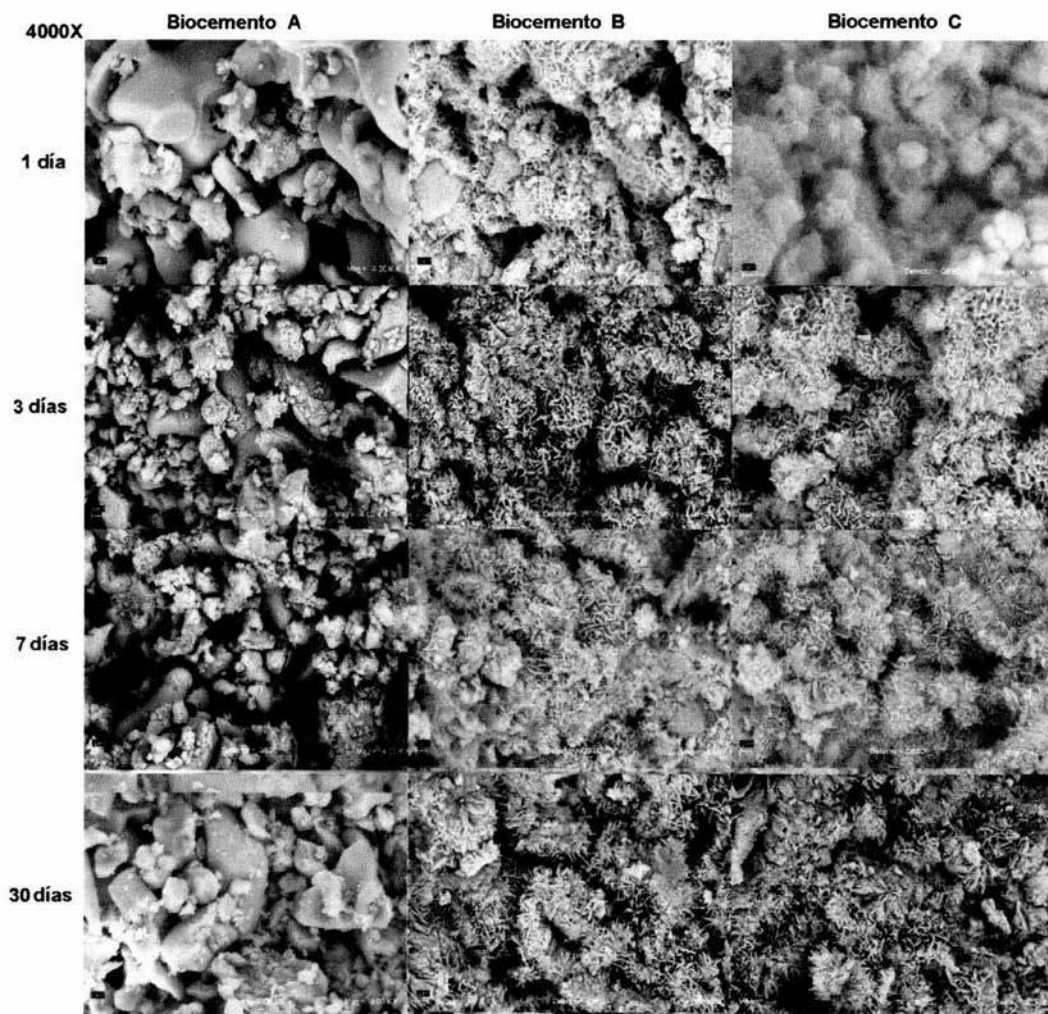


Figura 41. Imágenes de MEB a 4000X por electrones retrodispersados, a) por columna: mismo cemento a distintos tiempos y b) por fila: mismo tiempo distinto cemento.

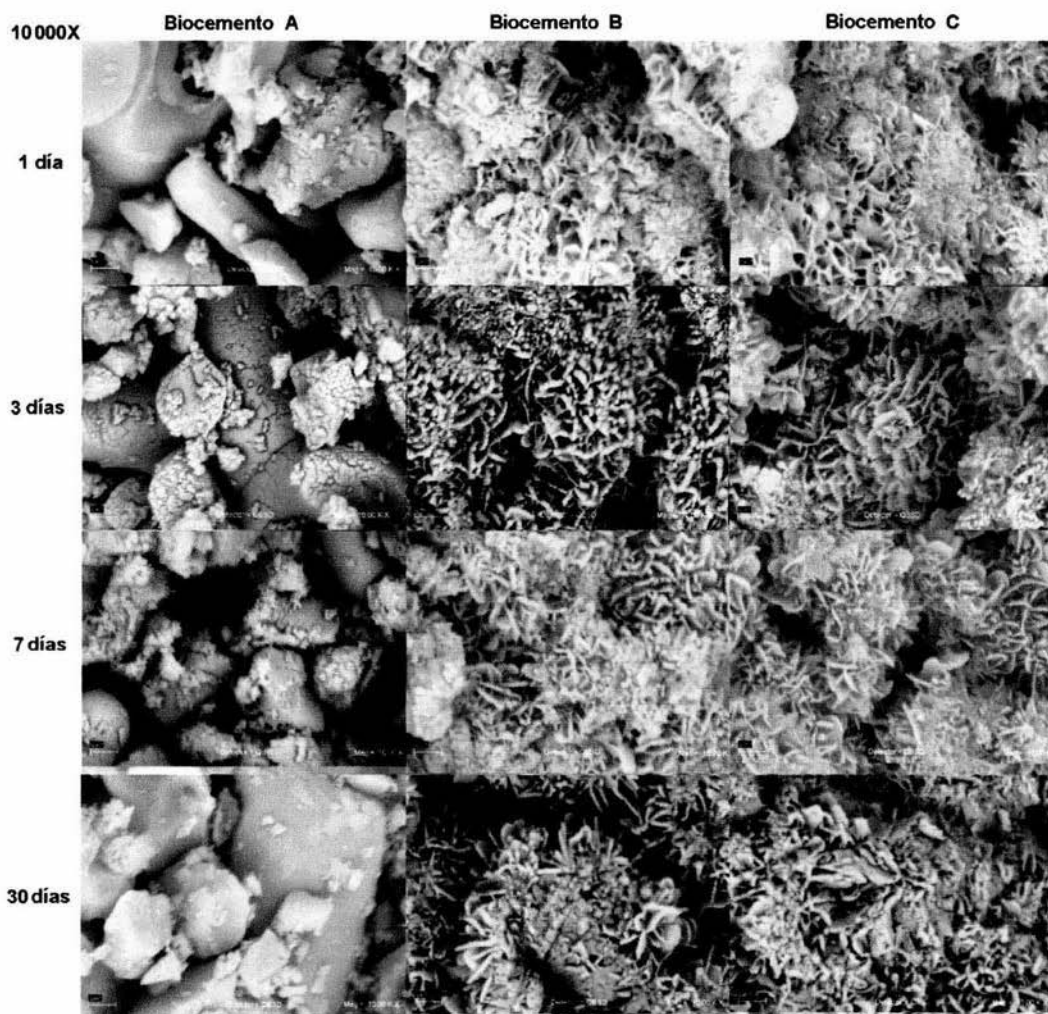


Figura 42. Imágenes de MEB a 10000X por electrones retrodispersados, a) por columna: mismo cemento a distintos tiempos y b) por fila: mismo tiempo distinto cemento.

Para los biocementos B y C a un día de reacción se observa en la Figura 41 que en algunos casos la morfología de placas entrecruzadas presenta un centro liso. Por otro lado, para los mismos cementos a tiempos mayores a 1 día la morfología ya no tiene centros lisos y no presenta cambios notables, lo que coincide con los resultados de la evolución química del cemento. Sin embargo, para tiempos de 3 y 7 días de acuerdo a la evolución química aún existen trazas de reactivo, por lo tanto si se pudiera observar el centro de la estructura en forma de placas cristalinas se observaría la forma lisa correspondiente al  $\alpha$ -TCP.

La Figura 42 confirma lo dicho para el biocemento A, ya que se observa con claridad que no presenta ningún grado de reacción aún a los tiempos más largos de análisis y por ello sus bajas propiedades mecánicas.

Los acercamientos a 10000X de la estructura de placas entrecruzadas para los cementos B y C muestran que no hay diferencias de mecanismo de reacción entre estos biocementos ya que la morfología de las estructuras es la misma. Se confirma también que el óxido de zirconio agregado es un material inerte en el sistema.

Se observa que una vez formada la estructura de placas entrecruzadas no presenta cambios exteriores con el tiempo, sin embargo internamente a tiempos menores a 7 días el  $\alpha$ -TCP continúa reaccionando.

Para poder observar la evolución de la estructura en forma de placas se requiere de la observación de muestras a tiempos menores a un día.

#### 4.6.3 Evolución del entorno

La reacción de conversión de  $\alpha$ -TCP a HA tiene un efecto sobre el sistema que la rodea, es por ello que en la Figura 43 se presenta la variación del pH de una solución de fluido fisiológico a temperatura del cuerpo humano con el tiempo de reacción de cada biocemento.

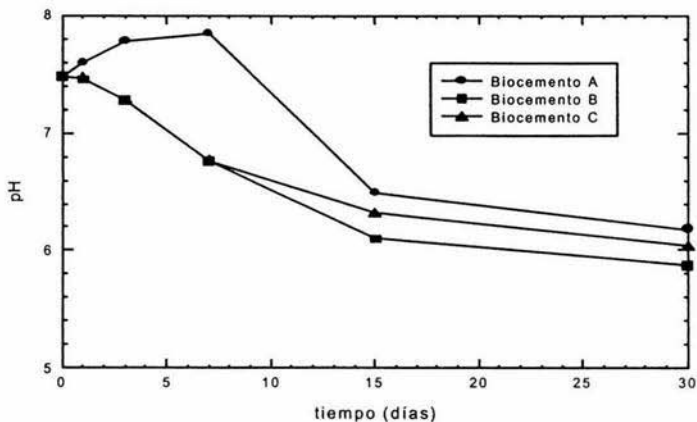


Figura 43. Variación del pH con el tiempo de la solución de fluido fisiológico huésped de cada biocemento.

La influencia del biocemento A sobre el medio fisiológico es diferente a la observada para los biocementos B y C. Mientras que la tendencia del biocemento A es de incrementar el valor de pH a 7.84 durante los primeros 7 días de reacción los cementos B y C disminuyen el pH a 6.76 en el mismo periodo de tiempo.

Posterior a los 7 días de reacción el cambio en pH de la solución que contiene al cemento A es drástico y en sentido decreciente, sin embargo los cementos B y C continúan con la tendencia de disminuir el valor del pH.

Después de 15 días de reacción la tendencia de los tres biocementos es la misma con una rapidez de decremento lenta en comparación con tiempos menores. En general los tres cementos óseos bajan el pH de la solución a un valor promedio de 6 en un periodo de tiempo de 30 días. Por tanto el cambio total de pH en un periodo de 30 días es de 1.4 unidades en sentido de incrementar la acidez de la solución. Se esperaría que en un sistema vivo la disminución del pH fuera menor debido a la constante renovación y circulación de fluidos a la que está sujeto el entorno.



Como se dijo en el capítulo dos, una de las propiedades más importantes que debe de cumplir un biocemento es la cohesión. El cemento óseo A fabricado en el laboratorio siguiendo los datos de la hoja técnica reportada por Merck y bajo el procedimiento experimental descrito en este trabajo no cumple con el requisito de cohesión haciendo ineficaz su aplicación en medicina.

En cambio, el biocemento B posee un excelente tiempo de cohesión permitiendo al médico poner en contacto la pasta moldeada con fluidos fisiológicos desde el primer minuto de su preparación sin el riesgo de que el biocemento deje la zona donde haya sido colocado.

Además, el biocemento B no libera calor durante su fraguado, evitando la necrosis de los tejidos que lo rodean. En cuanto a su manipulación es tan fácil de inyectar como otros cementos existentes en el mercado.

Los tiempos de fraguado determinados siguiendo la metodología descrita, hacen inviable la aplicación médica de los tres cementos analizados. Existe la posibilidad de que el método de Gillmore para determinar tiempos de fraguado de cementos para construcción requiera de modificaciones en lo que se refiere a cargas aplicadas para realizar la indentación debido a la poca cantidad de biocemento empleado en la realización del ensayo, lo cual podría dar como resultado tiempos de fraguado del orden de minutos. Otra posibilidad es que factores ambientales como la temperatura y la humedad, las cuales no fueron controladas durante la experimentación, hayan afectado el proceso de fraguado de los biocementos.

Queda abierta la determinación de la metodología para obtener los tiempos de fraguado de los cementos óseos, considerando las posibilidades descritas en el párrafo anterior.

En cuanto a la resistencia mecánica del biocemento se refiere, el cemento óseo B se asemeja en resistencia a la compresión y al módulo de elasticidad del hueso natural lo cual es un indicador de la buena compatibilidad mecánica que presenta el material.

Comparando los cementos óseos B y C la única diferencia considerable es que la adición de un 9 % de óxido de zirconio al biocemento B incrementa la fuerza de adhesión entre un implante metálico de acero inoxidable y hueso liofilizado. Queda abierta la determinación del efecto de la adición de otras proporciones de óxido de zirconio al biocemento B sobre la fuerza de adhesión. El óxido de zirconio permite la posible aplicación del cemento C como medio de anclaje de prótesis y clavos en cirugía ortopédica.

Por último los biocementos B y C obtienen sus mejores propiedades de resistencia a los 7 días de iniciada la reacción de fraguado, tiempo adecuado para que un paciente que haya sido intervenido y se le haya aplicado el biocemento guarde reposo. Asimismo la reacción de fraguado de estos biocementos no cambia drásticamente el pH del entorno, además se espera que *in vivo* el cambio de pH sea aún menor debido a que un sistema vivo es un sistema dinámico.

## Capítulo 5

### Conclusiones

1. Los procesos de síntesis del alfa fosfato tricálcico y de la hidroxiapatita por medio de reacción en estado sólido y vía húmeda respectivamente son eficientes, al igual que la técnica de preparación de la fase sólida de los biocementos.
2. Las pastas formadas por los biocementos B y C presentan mejores propiedades que la pasta del biocemento A y son adecuadas para su aplicación médica. La adición de partículas de óxido de zirconio al cemento óseo B no modifica a las propiedades de la pasta cementante.
3. Bajo la metodología experimental realizada, el biocemento A no presenta las propiedades descritas por su fabricante, lo que sugiere que: 1) la composición real del biocemento A es diferente a la reportada o 2) el procedimiento experimental seguido por el fabricante es considerablemente diferente al propuesto en este trabajo.
4. Los cementos analizados alcanzan sus mejores propiedades mecánicas en 7 días. Mecánicamente, los cementos óseos B y C son adecuados para la sustitución de hueso humano, a diferencia del biocemento A que bajo la metodología seguida no cumple con los requisitos necesarios.
5. La determinación de la fuerza de adhesión de los biocementos es dependiente de factores aleatorios y del acabado superficial de los elementos a unir.
6. La adición de óxido de zirconio al biocemento B en un 9 % en peso aumenta considerablemente la fuerza de adhesión del cemento debido a que se forma un bioconcreto.

7. El mejor acabado superficial para fijar piezas metálicas con los biocementos analizados es el moleteado.
8. La evolución de la reacción, el mecanismo de reacción y la estructura del biocemento B no se ven afectados por la adición de partículas de óxido de zirconio.
9. El cambio del pH en el sistema que hospeda a los biocementos óseos es de 1.4 unidades en 30 días en sentido de acidificación, lo cual no presenta reacciones adversas en la reacción de fraguado.
10. A reserva del tiempo de fraguado, el uso del biocemento B como biocerámica para la sustitución de hueso en lesiones es viable. Si se requieren mejores propiedades de adhesión del biocemento se agrega 9% en peso de óxido de zirconio a la fase sólida del cemento B.

## Bibliografía

- [1] **XXX Asamblea Mundial de la Salud** Ginebra: Organización Mundial de la Salud 1977.
- [2] **Boletín de Información Estadística** Nos. 18. Vols. II, Daños a la salud 1998-2001, México, SSA. 1999-2002.
- [3] A. Coughlan, A. Miller **Manual de Reparación y Tratamiento de Fracturas en Pequeños Animales** Ediciones S, España 1999, pp. 11-23.
- [4] J. Alcalde “Soluciones para los males óseos” **Muy Interesante** 8 (2003): 5-20.
- [5] William D. Callister Jr. **Materials Science and Engineering an Introduction** Wiley and sons, U.S.A. 2003.
- [6] Joon B. Park, Joseph D. Bronzino **Biomaterials Principles and Applications** CRC Press, U.S.A. 2003.
- [7] M.A. Barbosa **Biomaterials Degradation Fundamental Aspects and Related Clinical Phenomena** North-Holland, Netherlands 1991.
- [8] Y.W. Mai, S.H. Teoh **Comprehensive Structural Integrity** vol. 9 Bioengineering, Elsevier, U.K. 2003.
- [9] Joon Bu Park **Biomaterials Science and Engineering** Plenum Press, U.S.A. 1990.
- [10] F.C.M. Driessens, J.A. Planell, F.J. Gil “Calcium Phosphate Bone Cements” **Encyclopedic HandBook of Biomaterial end Bioengineering** Part B Application, vol. 2, Marcell Dekker, U.S.A. 1995: 855-877.
- [11] E.M. Ooms, J.G.C. Wolke, J.P.C.M. van der Waerden, J.A. Jansen “Use of Injectable Calcium-Phosphate Cement for the Fixation of Titanium Implants: an Experimental Study in Goats” **J Biomed Mater Res (Appl Biomater)** 66B (2003): 447-456.
- [12] I. Khairoun, M.G. Boltong, F.C.M. Driessens, J.A. Planell “Effect of Calcium Carbonate on Clinical Compliance of Apatitic Calcium Phosphate Bone Cement” **J Biomed Mater Res (Appl Biomater)** 38 (1997): 356-360.
- [13] M.P. Ginebra, F.C.M. Driessens, J.A. Planell “Effect of the Particle Size on the Micro and Nanostructural Features of Calcium Phosphate Cement: a Kinetic Analysis” **Biomaterials** 25 (2004): 3453-3462.
- [14] I. Khairoun, M.G. Boltong, F.C.M. Driessens, J.A. Planell “Some Factors Controlling the Injectability of Calcium Phosphate Bone Cement” **Journal of Materials Science: Materials in Medicine** 9(1998): 425-428.

- [15] A. Quinto Hernández **Cerámicas Obtenidas de Compuestos de Calcio y  $ZrO_2$  para Futuras Aplicaciones Médicas** Tesis maestría UNAM-México (2001).
- [16] G.R. Choppin, B. Jaffe, L. Summerlin, L. Jackson **Química** Publicaciones cultural S.A., México 1977.
- [17] ASTM B214-99 “Standard Test Method for Sieve Analysis of Metal Powders” vol. 02.05. U.S.A.: 27-30.
- [18] I. Khairoun, F.C.M. Driessens, M.G. Boltong, J.A. Planell, R. Wenz “Addition of Cohesion Promoters to Calcium Phosphate Cements” **Biomaterials** 20 (1999): 393-398.
- [19] ASTM C191-99 “Standard Test Method for Time of Setting OF hydraulic Cement by Vicat Needle” vol. 04.01. U.S.A.: 179-181.
- [20] ASTM C266-99 “Standard Test Method for Time of Setting of Hydraulic-Cement Paste by Gillmore Needles” vol. 04.01. U.S.A.: 211-213.
- [21] ASTM E9-89a “Standard Test Methods of Compression Testing of Metallic Materials at Room Temperature” vol. 03.01. U.S.A.: 169-176.
- [22] P. Ducheyne, T. Kokubo, C.A. van Blitterswijk **Bone-Bonding Biomaterials** Reed Healthcare Communication, Netherlands 1993.
- [23] M.L. Roemhildt, T.D. Mcgee, S.D. Wagner “Novel Calcium Phosphate Composite Bone Cement: Strength and Bonding Properties” **Journal of Materials Science: Materials in Medicine** 14 (2003): 137-141.
- [24] H. Yamamoto, S. Niwa, M. Hori, T. Hottori, K. Sawai, S. Aoki, M. Hirano, H. Takeuchi “Mechanical Strength of Calcium Phosphate Cement In Vivo and In Vitro” **Biomaterials** 19 (1998): 1587-1591.
- [25] E. Fernandez, F.J. Gil, M.P. Ginebra, F.C.M. Driessens, J.A. Planell “Calcium Phosphate Bone Cement for Clinical Applications Part II: Precipitate Formation During Setting Reactions” **Journal of Materials Science: Materials in Medicine** 10 (1999): 177-183.
- [26] E. Fernandez, F.J. Gil, M.P. Ginebra, F.C.M. Driessens, J.A. Hanell “Calcium Phosphate Bone Cement for Clinical Applications Part I: Solution Chemistry” **Journal of Materials Science: Materials in Medicine** 10 (1999): 169-176.
- [27] O. Levenspiel **Chemical Reaction Engineering** Wiley, U.S.A.1999.

[28] E. Fernandez, F.J. Gil, S.M. Best, M.P. Ginebra, F.C.M. Driessens, J.A. Planell "Improvement of the Mechanical Properties of New Calcium Phosphate Bone Cement in the  $\text{CaHPO}_4$ - $\alpha$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  System: Compressive Strength and Microstructural Development" **J Biomed Mater Res (Appl Biomater)** 41 (1998): 560-567.

[29] Takao Yamamuro, Larry L. Hench, June Wilson **Handbook of Bioactive Ceramics** vol. II Calcium Phosphate and Hydroxyapatite Ceramics, CRC Press, U.S.A. 1990: 6-8.

[30] G. W. Ewing **Instrumental Methods of Chemical Analysis** Mc Graw Hill, Singapore 1993.

[31] Reed Hill **Physical Metallurgy Principles** PWS Publishing company, U.S.A. 1994.

[32] Calcibon<sup>®</sup>, [www.biometmerck.com](http://www.biometmerck.com), Biomet Merck Biomaterials 2003.