



**UNIVERSIDAD  
DE ANTIOQUIA**

**SCAFFOLDS DE VIDRIO BIOACTIVO 43S2,5  
FABRICADOS MEDIANTE MOLDEO POR COMPRESIÓN  
Y LIXIVIACIÓN DE NaCl**

Autor  
Cristian Danilo Álvarez Rico

Universidad de Antioquia  
Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería de  
Materiales  
Medellín, Colombia  
2021





*Scaffolds* de vidrio bioactivo 43S2,5 fabricados mediante moldeo por compresión y lixiviación de NaCl

**Cristian Danilo Álvarez Rico**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:  
**Ingeniero de Materiales**

Asesores:

María Esperanza López Gómez Ph. D.

Óscar Iván Rojas Giraldo M. Sc.

Línea de Investigación:

Biomateriales Compuestos de Matriz Cerámica

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación en Materiales y Recubrimientos Cerámicos (GIMACYR)

Universidad De Antioquia  
Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería de Materiales  
Medellín, Colombia  
2021

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco de todo corazón a la doctora Esperanza López por aceptar coordinar y dirigir este proyecto de investigación, así como por su orientación y apoyo durante todo el desarrollo de este. De igual forma, agradezco inmensamente al M. Sc. Óscar Rojas por acceder a asesorarme durante el planteamiento, realización y culminación de este proyecto, por su permanente disposición y deseo en que todo se desarrollara de una manera clara y concisa; agradezco también su incansable guía, enseñanza y dirección, sin la cual no hubiera sido posible realizar este trabajo. Agradezco al grupo de investigación GIMACYR y a todos sus integrantes por haberme permitido trabajar junto a ellos, en especial a los magister en ingeniería de materiales Hamilton Copete y Daniel Zuluaga por compartir parte de su conocimiento en el área y en el manejo de softwares.

Por último, pero no menos importante, agradezco a mi familia por siempre haberme apoyado incondicionalmente en los mejores y peores momentos de mi carrera y hasta el cumplimiento de esta etapa.



## RESUMEN

El presente trabajo busca determinar condiciones adecuadas para la elaboración de *scaffolds* de vidrio bioactivo 43S2,5 mediante el proceso de moldeo por compresión, sinterización y lixiviación de sal (NaCl, marca Merck), a partir de los requisitos mínimos establecidos desde la literatura para no impactar significativamente el comportamiento bioactivo del vidrio base. Inicialmente, el vidrio bioactivo utilizado para la elaboración de los *scaffolds* fue sintetizado mediante la fusión de una mezcla de óxidos. Posteriormente, la frita obtenida al templar los óxidos fundidos fue sometida a un proceso de conminución en un molino de zirconia y, después, las partículas de vidrio fueron clasificadas mediante tamizado en los rangos entre 53–75  $\mu\text{m}$  y menor a 25  $\mu\text{m}$ . Estos polvos fueron posteriormente mezclados con partículas de NaCl que actuaban como agente porogénico y se encontraban en un tamaño entre 100–500  $\mu\text{m}$  y 300–500  $\mu\text{m}$ . La condición de mezcla más favorable para la obtención de *scaffolds* con adecuada estabilidad dimensional en verde fue para aquella realizada con el tamaño de partícula de 43S2,5 menor a 25  $\mu\text{m}$  y de NaCl entre 100–500  $\mu\text{m}$  en un porcentaje en peso del 50 (% p/p). El método de fabricación de moldeo por compresión y lixiviación del NaCl, sumado a la morfología laminar del vidrio bioactivo permitió obtener *scaffolds* con una adecuada porosidad exterior e interior interconectada debido al apilamiento y empaquetamiento que sufrían las partículas de vidrio, lo que favoreció su unión durante el tratamiento térmico. La fase de Combeite y de Buchwaldite, resultantes del proceso de sinterización, son comúnmente encontradas en materiales bioactivos con buena respuesta biológica al contacto con fluidos fisiológicos lo que da indicios de la viabilidad de la aplicación de estos *scaffolds* de vidrio 43S2,5 en ensayos *in vitro* con el fin de comprobar su comportamiento y propiedades biológicas.

**Palabras clave:** Vidrio bioactivo, agente porogénico, *scaffolds*, lixiviación de partículas, sinterización.

## TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN.....	4
LISTA DE FIGURAS .....	6
LISTA DE TABLAS.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
1 MARCO TEÓRICO.....	10
1.1 BIOMATERIALES.....	10
1.1.1 Vidrios bioactivos .....	12
1.2 <i>SCAFFOLDS</i> .....	16
2 OBJETIVOS .....	20
2.1 OBJETIVO GENERAL .....	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	21
3.1 SÍNTESIS DEL VIDRIO BIOACTIVO .....	22
3.2 MOLIENDA Y CLASIFICACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA.....	22
3.3 PARÁMETROS DE FABRICACIÓN DE LOS <i>SCAFFOLDS</i> .....	23
3.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS <i>SCAFFOLDS</i> .....	25
4 RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	26
4.1 SÍNTESIS DEL VIDRIO BIOACTIVO .....	26
4.2 MOLIENDA Y CLASIFICACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA.....	28
4.3 PARÁMETROS PARA LA FABRICACIÓN DE LOS <i>SCAFFOLDS</i> .....	29
4.3.1 Influencia del tamaño de partícula y el porcentaje en peso del NaCl .....	29
4.3.2 Influencia del tamaño de partícula del 43S2,5 .....	30
4.3.3 Influencia de la presión y tiempo de sostenimiento .....	32
4.3.4 Influencia de la temperatura de sinterización.....	33
4.4 FABRICACIÓN DE LOS <i>SCAFFOLDS</i> FINALES.....	35
5 CONCLUSIONES .....	38
6 RECOMENDACIONES.....	39
7 BIBLIOGRAFÍA .....	40

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema general de la metodología experimental desarrollada.....	21
<b>Figura 2.</b> Curva de calentamiento y temple para la producción del vidrio bioactivo .....	22
<b>Figura 3.</b> Montaje de prensado para la fabricación de los <i>scaffolds</i> . a) Matriz de acero inoxidable; b) Prensa hidráulica.....	24
<b>Figura 4.</b> Frita obtenida del proceso de fusión de óxidos y temple en agua. a) Frita después del temple; b) Frita removida del crisol de platino .....	26
<b>Figura 5.</b> Comportamiento bioactivo según el sistema ternario de SiO <sub>2</sub> -CaO-Na <sub>2</sub> O con 6 % p/p de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , de vidrios y algunas vitrocerámicas bioactivas [23], [92] .....	27
<b>Figura 6.</b> Espectro DRX del vidrio bioactivo 43S2,5 .....	28
<b>Figura 7.</b> Imágenes SEM del vidrio 43S2,5 molido y clasificado entre las mallas – 200 +270 (a) 100X y b) 250X) y la malla –500 y el Fondo (c) 1000X).....	29
<b>Figura 8.</b> Imágenes SEM de la porosidad interconectada en los <i>scaffolds</i> a a) 35X y b) 300X ...	30
<b>Figura 9.</b> Imágenes SEM a 100X de <i>scaffolds</i> sinterizados a 796 °C (70 % T <sub>m</sub> ) con un tamaño de partícula a) entre 53–75 μm y b) < 25 μm .....	31
<b>Figura 10.</b> Imágenes SEM a 1000X de <i>scaffolds</i> sinterizados a 796 °C (70 % T <sub>m</sub> ) con un tamaño de partícula a) entre 53–75 μm y b) < 25 μm.....	32
<b>Figura 11.</b> Zonas en donde se aprecia el fenómeno de apilamiento entre las partículas.....	33
<b>Figura 12.</b> Imágenes SEM de los <i>scaffolds</i> elaborados con un rango de tamaño de partícula < 25 μm y sinterizados a a) 796 °C (70 % de T <sub>m</sub> ), b) 853 °C (75 % de T <sub>m</sub> ), c) 910 °C (80 % de T <sub>m</sub> ).....	33
<b>Figura 13.</b> Difractogramas de los <i>scaffolds</i> de vidrio 43S2,5 sinterizados a diferentes temperaturas .....	34
<b>Figura 14.</b> <i>Scaffolds</i> de dimensiones adecuadas para: a) ensayos de compresión y b) ensayos <i>in vitro</i> .....	35
<b>Figura 15.</b> Rampa de sinterización de las probetas para posibles ensayos de compresión e <i>in vitro</i> .....	36
<b>Figura 16.</b> Imágenes SEM de los <i>scaffolds</i> antes del proceso de lixiviación del agente porogénico .....	36
<b>Figura 17.</b> Imágenes SEM de los <i>scaffolds</i> después del proceso de lixiviación del agente porogénico .....	37
<b>Figura 18.</b> Microporosidad formada entre las partículas de vidrio 43S2,5.....	37

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Granulometría del 43S2,5 y el NaCl, y porcentaje en peso del NaCl.....	23
<b>Tabla 2.</b> Condiciones de prensado.....	23
<b>Tabla 3.</b> Temperaturas de sinterización.....	24
<b>Tabla 4.</b> Composición química del vidrio sintetizado.....	26
<b>Tabla 5.</b> Condiciones de molienda del vidrio 43S2,5.....	28
<b>Tabla 6.</b> Eficiencia del proceso de molienda de los polvos de vidrio 43S2,5.....	28
<b>Tabla 7.</b> Dimensiones y contracciones de las probetas según el tamaño de partícula del 43S2,5	31



## INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, los estudios realizados sobre vidrios bioactivos se han llevado a cabo principalmente en el sistema  $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$ , donde la composición química del 45S5 Bioglass<sup>®</sup>, desde su descubrimiento en el año 1969 por Larry Hench [1], ha sido la más prometedora por sus interesantes y destacables propiedades biológicas. Dichas propiedades son dadas gracias a la formación de una capa de hidroxiapatita (HA) e hidroxiapatita carbonatada (HAC) sobre su superficie cuando está en contacto con fluidos corporales *in vivo* o *in vitro*, proporcionando así propiedades como la osteoinducción, la osteogénesis, la osteoconducción, la osteointegración y la angiogénesis al estar en contacto con tejidos óseos duros y blandos [2]–[7]. Dada la gran versatilidad con la que es posible variar la composición química así como la geometría y el área superficial (morfología) de los vidrios bioactivos, se han realizado diferentes estudios para modificar su velocidad de reacción de intercambio iónico al estar en contacto con fluidos fisiológicos y promover una mayor cinética de formación de HA y/o HAC sobre la superficie de éste tal que su respuesta biológica sea más elevada [8].

Los vidrios bioactivos son comúnmente sintetizados mediante la fusión de óxidos, de hidróxidos, de carbonatos y/o metales de alta pureza. Basados en el sistema  $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$  se han desarrollado diferentes vidrios bioactivos con similares características bioactivas al 45S5 Bioglass<sup>®</sup>. M. Monsalve [9] en su investigación doctoral, dirigida por el grupo de investigación GIPIMME, desarrolló un vidrio bioactivo del sistema  $31\text{SiO}_2\text{-11P}_2\text{O}_5\text{-(58-X)CaO-XMgO}$  (% mol), en el cual el contenido de MgO fue variado en 0, 2, 7, 16 y 32 % mol. Dicha adición al vidrio bioactivo se realizó dado que: a) el óxido de magnesio está presente en los tejidos óseos del cuerpo humano tales como el hueso, el esmalte y la dentina respectivamente en 0,72, 0,44 y 1,23 % en peso [10], y se ha asociado con la mineralización e indirectamente con el metabolismo mineral del tejido óseo; y b) otros autores como Oliveira [11], Massera [12] y Dietrich [13] han reportado que la adición de magnesio a los vidrios ayuda a la formación de una capa rica en Ca-P después de la inmersión en una solución de SBF que también ayuda a la ventana de sinterización ( $T_x\text{-}T_g$ ), minimiza la cristalización y aumenta la solubilidad de la red de sílice. Además, el sistema con adiciones del 2 % molar de MgO evidencia una biocompatibilidad mejorada y velocidades de reabsorción mayores a la reportada por Larry L. Hench para el 45S5 Bioglass<sup>®</sup> [10].

Sin embargo, el gran abanico de composiciones disponibles y el excelente comportamiento biológico de los vidrios bioactivos ha sido opacado debido a sus limitadas propiedades mecánicas intrínsecas, que condicionan su uso en aplicaciones de nula o baja demanda mecánica o como revestimiento sobre un sustrato encargado de la resistencia mecánica [14], [15]. Es por ello, que la ingeniería de tejidos ha estado empeñada en estimular la capacidad de regeneración de tejido a través del diseño de *scaffolds* (andamios) que, además de presentar una elevada porosidad que promueva la adhesión y proliferación de células osteoblásticas, tengan la capacidad de soportar cargas mecánicas. Los criterios específicos para la elaboración de un *scaffold* en la ingeniería de tejido óseo, se resumen en [16], [17]: a) propiedades biológicas como la biocompatibilidad y biodegradabilidad del material; b) facilidad del material para ser moldeado en piezas cuya morfología presente una elevada porosidad con un tamaño de poro entre 100–500  $\mu\text{m}$  que permita la proliferación y colonización de células óseas que propicien la osteoconductividad; y c) propiedades mecánicas suficientes que brinden un adecuado soporte y transmisión de cargas

durante el remplazo o reparación del tejido óseo afectado. Aunque los vidrios bioactivos presentan bajas propiedades mecánicas, se han planteado como biomateriales prometedores para la fabricación de *scaffolds* en la ingeniería de tejidos debido a sus elevadas propiedades biológicas intrínsecas y su fácil conformabilidad [18].

Por tal motivo, este estudio buscó comprender la influencia de las condiciones de fabricación de *scaffolds* de vidrio bioactivo 43S2,5, cuya composición en peso es 42,6 % SiO<sub>2</sub>, 26,7 % Na<sub>2</sub>O, 19,4 % CaO, 9,9 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 1,5 % MgO, y la influencia de las condiciones de sinterización (tiempo/temperatura) en la estabilidad mecánica y en los cambios en el ordenamiento atómico (cambios en la cristalinidad). Para lograr los objetivos, inicialmente se prepararon mezclas de polvos de 43S2,5 y sal (NaCl, marca Merck), que actúa como agente porogénico, controlando tanto el tamaño de partícula como la cantidad volumétrica del NaCl para asegurar el tamaño y la distribución de la porosidad en los *scaffolds*, los cuales se fabricaron mediante moldeo por compresión uniaxial variando la presión y el tiempo de sostenimiento en el proceso; y posteriormente, se llevaron a un tratamiento térmico de sinterización a diferentes temperaturas.



# 1 MARCO TEÓRICO

## 1.1 BIOMATERIALES

El uso de biomateriales se ha posicionado en la ingeniería ortopédica como una alternativa interesante para el remplazo, la reparación y/o la regeneración de tejidos óseos dañados o enfermos por traumatismos, enfermedades óseas degenerativas, deficiencias funcionales por envejecimiento, entre otros [6], [19], [20]. El especial interés por éstas sustancias o combinación de sustancias de origen natural o sintético, diseñadas para su implantación como un todo o parte de un sistema de tejido vivo, está dado porque no provocan dolor, inflamación o rechazo [21], [22].

Las reacciones interfaciales y los mecanismos de unión entre un implante fabricado a partir de biomateriales y un tejido son clasificados según el tipo de fijación implante-tejido: 1) Casi inerte cuando existe una fijación morfológica por medio de acoplamiento mecánico; 2) Poroso, en el cual la fijación biológica es el resultado del crecimiento de tejido óseo en los poros; 3) Bioactivo cuando se forma una capa biocompatible (generalmente de apatita) entre el implante y el tejido que garantiza una unión biomecánicamente estable; y 4) Reabsorbible cuando es progresivamente sustituido por nuevo tejido [23]. Con el fin de aumentar la biocompatibilidad de los implantes, y como alternativa a los metales típicamente empleados desde hace años en la industria ortopédica, los biocerámicos han mostrado una amplia versatilidad para su uso en diferentes aplicaciones, pues de acuerdo con sus características físico-químicas pueden ser adaptados, según la aplicación biomédica, para brindar cualquiera de los comportamientos anteriormente descritos [22].

Los biocerámicos son una gran clase de cerámicos especialmente diseñados para la reparación y reconstrucción de partes del cuerpo enfermas o dañadas. Las formas actuales de aplicación en el uso clínico incluyen: piezas sólidas (utilizadas, por ejemplo, en la reconstrucción de los huesecillos del oído medio o como componentes de carga de las prótesis articulares), polvos y gránulos para relleno de huesos, revestimientos de prótesis articulares metálicas, formulaciones inyectables (cemento óseo) y *scaffolds* porosos [24]. Las propiedades más significativas que les permiten este tipo de aplicaciones es que son: no tóxicos, no inflamatorios, no alérgicos, biocompatibles, biofuncionales y no cancerígenos para su vida útil en el huésped.

Desde finales del siglo XX, la investigación en biomateriales dejó de centrarse en el desarrollo de materiales biocompatibles de respuesta biológicamente inerte para ahondar sus esfuerzos en aquellos biomateriales bioactivos, que combinados con la estructura morfológica, generan *in vivo* un ambiente propicio para la promoción y el efectivo crecimiento de tejido óseo extracelular que promueva una reparación y recuperación más efectiva del tejido enfermo, dañado o faltante [6].

El interés en esos biomateriales está dado porque su composición química y su estructura atómica al contacto con fluidos fisiológicos (simulados o naturales) y/o tejidos vivos propician una serie de reacciones de intercambios químicos que resultan generalmente en el crecimiento de fases de excelente respuesta biológica que, en consecuencia, favorecen la biocompatibilidad y/o la unión estable del implante con los tejidos óseos [25].

Para aplicaciones orientadas a la ingeniería de tejido óseo, los biomateriales más promisorios son los biocerámicos a base de hidroxapatita (HA), de fosfato de calcio bioactivo, de vidrios bioactivos (BGs, por su nombre en inglés: *Bioactive Glasses*), de vitrocerámicas bioactivas (vidrios bioactivos/cerámica) e incluso de materiales compuestos a base biocerámicas y polímeros biodegradables [6]. De acuerdo con su comportamiento biológico los biocerámicos se han clasificado en materiales bioactivos de clase A y B. Los materiales bioactivos de clase B proporcionan superficies adecuadas para la adhesión y proliferación de las células osteoblásticas, lo que permite un crecimiento del hueso a lo largo de la estructura del implante dada la respuesta extracelular sólo en la interfaz implante/tejido, por lo que han sido denominados biomateriales osteoconductores [26]. Esto además les confiere la capacidad de osteointegrarse, es decir, de generar una unión estable con tejidos blandos y duros. Por su parte, los materiales bioactivos de clase A, además de las características propias de los materiales de clase B, al entrar en contacto con fluidos fisiológicos y/o tejidos óseos evidencian una serie de reacciones de intercambio iónico que estimulan las células mesenquimales a diferenciarse a células osteoblásticas (osteoinducción), así como a las células osteogénicas libres del medio para favorecer la osteoproducción (u osteogénesis: crecimiento de tejido óseo nuevo) en la interfaz del implante [26]. Mientras que la osteoconducción es una respuesta extracelular, la osteoinducción es una respuesta intracelular inducida por la liberación de grandes cantidades de iones de  $\text{Si}^+$  (IV) y  $\text{Ca}^{2+}$  que estimulan la respuesta de los genes para la formación de hueso. Razón por la cual, entre los biomateriales promisorios en la ingeniería de tejidos, se han destacado los vidrios bioactivos de clase A, porque además de las propiedades biológicas más cercanas a los tejidos óseos, promueven la angiogénesis que, en conjunto, favorecen la recuperación efectiva del tejido defectuoso [7], [23].

Se cree que los biomateriales que mejorarán la regeneración de los tejidos deberían tener un mayor control molecular de las reacciones interfaciales que los biomateriales bioactivos de clase A. El control molecular comprende el control de la liberación de los elementos y compuestos químicos que activan los genes importantes para la mitosis y la diferenciación celular [27]. Los biomateriales bioactivos de clase A pueden formar una capa de gel de silicio hidratado y biológicamente activo en sus superficies unos minutos después de la exposición a los fluidos corporales, ya sea *in vivo* o *in vitro* [27].

A pesar de las bondades de estos biomateriales, su aplicación se ha visto limitada debido a sus relativamente bajas propiedades mecánicas, sobre todo en tenacidad a la fractura y la resistencia a esfuerzos mecánicos cíclicos [28]. Por tal motivo, otros materiales de mejor resistencia mecánica (lastimosamente inertes o cuasi-inertes) como los metales, han sido privilegiados para su uso en el remplazo y la reparación de tejidos óseos que soportan alta carga, mientras que los biomateriales bioactivos de reducidas propiedades mecánicas se han usado principalmente como revestimientos de prótesis metálicas para mejorar la biocompatibilidad y la estabilidad biomecánica [29] o como materiales de relleno de defectos óseos. Por ejemplo, los vidrios bioactivos se han usado principalmente como relleno de defectos óseos en odontología [30], [31] o como implante endoscópico para mantener la cresta alveolar por su baja carga mecánica de servicio [23].

La ingeniería de tejidos basada en las características morfológicas de los huesos ha empleado estos biomateriales para la construcción de estructuras porosas. Estos biomateriales conformados en estructuras porosas facilitan una unión interfacial (tejido-implante) a través del crecimiento de tejido al interior de los poros superficiales o de todo el implante generando un tipo de acoplamiento

conocido como fijación biológica; además de la respuesta biológica que el material base pueda inducir gracias a sus propiedades intrínsecas. Una buena fijación biológica es producida gracias al adecuado suministro de sangre a los tejidos huésped, por lo que se requiere que la porosidad de dichas estructuras tenga un diámetro mayor a 100–150  $\mu\text{m}$ , ya que la rugosidad de la superficie proporcionada por los pequeños poros puede mejorar la adhesión y proliferación de células osteoblásticas sobre el sustrato [23], así como el crecimiento vascular que promueve un adecuado suministro de nutrientes a los nuevos tejidos extracelulares formados [23]. Aunque la conformación de estos biomateriales en forma porosa mejora aún más su respuesta biológica, su aplicabilidad en la industria ortopédica requiere identificar la influencia de las condiciones de fabricación sobre la evolución dimensional, las propiedades biológicas y las propiedades mecánicas.

Como ya se ha mencionado, los biomateriales porosos están adquiriendo importancia desde el punto de vista de sus aplicaciones. Por ejemplo, se han desarrollado sustitutos sintéticos de injertos óseos (BGS) en diferentes formas y tamaños de poros utilizando diversas técnicas de fabricación. El creciente mercado de los sustitutos sintéticos de injertos óseos puede reducir eficazmente la necesidad de las aplicaciones de los huesos autólogos o alogénicos que se han utilizado convencionalmente durante los últimos decenios. Lo que es más importante, existe un menor riesgo de transferencia de enfermedades, de rechazo y morbilidad con los materiales sintéticos en comparación con los autoinjertos o aloinjertos [32].

### 1.1.1 Vidrios bioactivos

Los vidrios bioactivos (BGs) son materiales principalmente de estructura atómica amorfa basada en silicatos, fosfatos, boratos o borosilicatos. Los BGs al contacto con fluidos fisiológicos tienen la capacidad de generar intercambios iónicos que propician el crecimiento de capas de composición y estructura cristalina similar al tejido óseo. La formación de estas capas brinda a la vez una elevada biocompatibilidad al implante y favorece la diferenciación de células mesenquimales a células osteoblásticas, así como, la estimulación angiogénica localizada que favorece la migración y proliferación de células endoteliales que conducen a la formación y el crecimiento de vasos sanguíneos [33]. Por lo tanto, estos biomateriales tienen un elevado potencial para restaurar el hueso enfermo o dañado [19].

El primer vidrio bioactivo fue desarrollado en 1969 en la Universidad de Florida por Larry Hench y sus colegas [1]. Ese vidrio bioactivo denominado 45S5 Bioglass<sup>®</sup> fue sintetizado con una composición química molar de 46,1 % en  $\text{SiO}_2$ , 24,4 % en  $\text{Na}_2\text{O}$ , 26,9 % en  $\text{CaO}$  y 2,6 % en  $\text{P}_2\text{O}_5$  [34]. El contenido de  $\text{P}_2\text{O}_5$  junto con el elevado contenido de  $\text{CaO}$  en el vidrio constituyen una composición química cercana al eutéctico ternario del sistema  $\text{SiO}_2$ – $\text{Na}_2\text{O}$ – $\text{CaO}$  fácil de fundir. Este vidrio bioactivo, similar a los tejidos óseos naturales, evidencia una elevada cinética de formación de vínculo interfacial tanto con tejidos óseos duros como con aquellos tejidos óseos blandos [1], [34], [35].

Los primeros implantes basados en el vidrio bioactivo 45S5 Bioglass<sup>®</sup> fueron fabricados para el remplazo del fémur de una rata. Después de 6 semanas, los fuertes enlaces físico-químicos generados entre el implante y los tejidos óseos huésped dificultaron la remoción del implante. Una evaluación cuantitativa de la resistencia al cizallamiento interfacial en modelos de rata y de mono mostró que la resistencia del enlace interfacial entre el Bioglass<sup>®</sup> y el hueso cortical era igual o

mayor que la resistencia del hueso huésped [36]. Dados los hallazgos interesantes en la respuesta biológica, el vidrio bioactivo desarrollado por L. Hench y colegas, propició el uso clínico, desde 1985, como cerámicas masivas bioactivas y como partículas de Bioglass®. Actualmente, dada la capacidad de los vidrios bioactivos para estimular el crecimiento de nuevos huesos, el interés de la industria biomédica y la comunidad científica se ha centrado en el potencial de este biomaterial para su uso en el desarrollo de estructuras óseas artificiales que estimulen los propios mecanismos regenerativos del cuerpo que conduzcan a una restauración efectiva y duradera de tejidos óseos que han perdido su funcionalidad [37].

Los vidrios se sintetizan principalmente a través dos métodos: el *melt quenching* (enfriamiento rápido desde una masa fundida) y el proceso de sol-gel. En el proceso de *melt quenching*, los compuestos para fabricar el vidrio funden a temperaturas normalmente  $> 1300$  °C y, luego, la masa fundida se enfría rápidamente para conservar la estructura atómica desordenada de esta y obtener el vidrio [35]. Por su parte, el proceso sol-gel utiliza precursores inorgánicos u orgánicos, que se someten a diferentes procesos de hidrólisis y condensación, seguidos de tratamientos térmicos de secado y estabilización térmica. Este proceso permite la obtención del vidrio en forma de micropartículas mesoporosas, nanopartículas, fibras y revestimientos. La ventaja del método de fusión-temple respecto al sol-gel es atribuido a su simplicidad y su alta tasa de rendimiento, así como la obtención de materiales densos y de mejores propiedades mecánicas [38].

En términos de flexibilidad de composición, los vidrios tienen grandes ventajas sobre las sustancias cristalinas. Mientras que las fases cristalinas poseen una estequiometría bien definida y constante, los vidrios pueden ser sintetizados en una gama virtualmente ilimitada de composiciones, que pueden ser diseñadas para satisfacer una necesidad específica [39]. Además, las propiedades físico-químicas, mecánicas y biológicas del vidrio pueden ajustarse mediante “dopaje”, es decir, añadiendo pequeñas cantidades de otros óxidos a la composición química del vidrio durante el proceso de síntesis. Esta característica es de gran importancia en el vidrio bioactivo, puesto que puede conferirle propiedades especiales, por ejemplo, de acción terapéutica gracias a la liberación de iones que estimulen la diferenciación celular (osteoinducción), o que actúen como agentes antimicrobianos o neuroprotectores [40].

Entre las numerosas posibilidades de catalogar los vidrios, se pueden clasificar según su sistema de composición químico-atómica. Por lo general, esto toma en consideración el o los óxidos formadores de la red atómica del vidrio. Los vidrios a base de silicato, fosfato y borato son los más destacados entre los que contienen un solo óxido formador de red. Por su parte, sistemas más complejos son formados con dos o más óxidos formadores de red; entre estos los más destacados son los vidrios bioactivos a base de borosilicato o borofosfato [41]. Estas clasificaciones son válidas tanto para los vidrios convencionales y los vidrios bioactivos, cuya principal diferencia está asociada a los contenidos de cationes modificadores que provocan cambios en la conectividad de la red vítrea (NC) modificando la durabilidad química y la cinética de intercambio iónico al entrar en contacto con fluidos de alta carga iónica, como los fluidos fisiológicos *in vitro* (simulados) o *in vivo*.

Si bien, los vidrios en general pueden llegar a presentar una estructura compleja cuando son conformados por varios óxidos formadores de red, la base de la estructura atómica está basada en las interacciones atómicas de los óxidos modificadores principales como se explica a continuación:

- a. **Vidrios de silicato:** la unidad básica de construcción de los vidrios de silicato es el tetraedro de  $\text{SiO}_4$  que puede conectarse a un máximo de otros cuatro tetraedros mediante enlaces covalentes ( $\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$ ) a través de sus esquinas [42]. La adición de modificadores de red a la composición del vidrio da lugar a la interrupción de la continuidad de la red vítrea debido a la ruptura de algunos de los enlaces  $\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$ , que provoca la formación de grupos de oxígeno no enlazados (en inglés: *Non-Bridging oxygen*: NBO) con cationes formadores de red, dando lugar a una disminución del número de oxígenos enlazados (en inglés: *Bridging oxygen*: BO), en consecuencia, una reducción de la conectividad de la red (NC) [43]. Una menor conectividad de la red vítrea conduce a un aumento en la movilidad de los cationes modificadores (ej:  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^+$ ) y una disminución de la durabilidad química del vidrio, en consecuencia, aumenta a la vez la cinética de intercambio iónico para la formación de la capa de apatita y la de degradación del vidrio; propiedades que deben ser controladas según la aplicación para la que esté destinado el vidrio bioactivo.
- b. **Vidrios de fosfato:** los vidrios de fosfato consisten en una red inorgánica de fosfatos de unidades tetraédricas  $\text{PO}_4^{3-}$  conectadas a un máximo de tres unidades tetraédricas de fosfato a través de enlaces covalentes  $\equiv\text{P}-\text{O}-\text{P}\equiv$  [44]. La estructura del  $\text{P}^+$  conserva su coordinación cuádruple a lo largo de toda la gama de composición, desde el  $\text{P}_2\text{O}_5$  puro hasta los ortofosfatos totalmente saturados de óxidos alcalinos [45]. Estructuralmente, el efecto de la incorporación de óxidos modificadores a la red atómica en los vidrios de fosfato es similar al efecto en los vidrios de silicato, es decir, se rompen los enlaces  $\text{P}-\text{O}-\text{P}$  formando átomos de NBO. Cuando estos vidrios contienen más modificadores que el fosfato, a menudo se denominan vidrios invertidos, y las propiedades del vidrio están dominadas por los enlaces iónicos entre el NBO y los cationes modificadores, en lugar de los enlaces  $\text{P}-\text{O}-\text{P}$  covalentes.
- c. **Vidrios de borato:** el  $\text{B}_2\text{O}_3$  es uno de los óxidos formadores de vidrio más importantes debido a su mayor intensidad de campo, menor tamaño de los cationes, pequeño calor de fusión y naturaleza trivalente del catión de boro. Se ha utilizado en numerosos sistemas de vidrio para obtener propiedades específicas, por ejemplo, en los espectros infrarrojos de los vidrios de borato de plomo dopados con zinc [46]. En los vidrios de borato se pueden incorporar grandes cantidades de óxidos modificadores de red, lo que los convierte en materiales de matriz interesantes para diversas aplicaciones [47].

El  $\text{B}_2\text{O}_3$  vítreo está formado por grupos trigonales  $\text{B}\emptyset_3$  (con un  $\emptyset$  correspondiente a los átomos BO) agrupados predominantemente en anillos de boroxol de seis miembros. La adición de óxidos modificadores del tipo  $\text{M}_2\text{O}$  (M: catión) a la estructura basada en  $\text{B}_2\text{O}_3$  da lugar a la transformación de los trigonales neutros de  $\text{B}\emptyset_3$  en tetraédricos  $(\text{B}\emptyset_4)^-$  cargados negativamente, que se equilibran con la carga del catión modificador M. Por lo tanto, a diferencia del vidrio de fosfato o de silicato, la adición inicial de cationes modificadores a  $\text{B}_2\text{O}_3$  aumenta el NC. Para adiciones mayores de óxido modificador, las unidades de borato tetraédrico se convierten de nuevo en grupos de borato trigonales, aumentando el número de NBO y disminuyendo el NC [48].

El cambio no lineal en NC con contenido de modificador en los vidrios de borato explica la dependencia composicional de las propiedades del vidrio. Este fenómeno se denomina comúnmente la anomalía del boro [47].

Además de la clasificación por sistema composicional, los BGs de acuerdo a sus propiedades físico-químico-mecánicas y biológicas pueden clasificarse según la aplicación clínica para la cual han sido diseñados [24]. A continuación, se examinan algunas de las aplicaciones más importantes en las que han sido usados los BGs:

- a. **Sustituto de injerto óseo:** cuando se pierde hueso debido a una infección, proceso de enfermedad o trauma, el hueso puede ser reemplazado con un injerto de hueso. Clínicamente, los BGs han sido usado por más de una década como injerto de hueso sintético. Por ejemplo, en ortopedia y en cirugías maxilofaciales se han empleado vidrios bioactivos basados en la composición química desarrollada por L. Hench, a los cuales le han atribuido respectivamente el nombre comercial de Novabone® y PerioGlass® [49].
- b. **Regeneración ósea:** la regeneración ósea es otra aplicación clínica importante y los BGs no poseen tantas limitaciones de tamaño y forma como un injerto óseo autógeno, que es un injerto óseo obtenido del mismo individuo y que favorece la vascularización y la osteointegración con el hueso circundante, minimizando el riesgo de infección, de rotura y de rechazo. N. L. de Macedo et al. [50] utilizaron dos composiciones diferentes de BG para estudiar la formación de hueso en las tibias de ratas, y se informó de que ambas composiciones de BG promovían la formación de hueso. Se ha informado anteriormente que los BGs pueden promover una importante regeneración ósea *in vitro* ya que tienen efectos osteoestimuladores.

Uno de los avances en la investigación de los BGs es el control de su tasa de degradación con la manipulación de su composición. Como se mencionó anteriormente, los BGs a base de borato son muy útiles en la regeneración ósea debido a la variación de las tasas de degradación controladas junto con la facilidad de su fabricación. La flexibilidad de la composición y la fácil manipulación de la composición del vidrio pueden aprovecharse como una fuente de diferentes elementos como el cobre, el flúor o el boro que pueden favorecer el crecimiento óseo [19].

- c. **Sistema de dispensación de iones y/o medicamentos:** los investigadores siempre han buscado un sistema innovador de administración de drogas para tener un control superior de la medicación con una acción prolongada. Asumiendo que un determinado medicamento o molécula llegará a un sitio específico sin ninguna reacción secundaria y realizará la reacción deseada, el sistema de administración de medicamentos pasa a convertirse en algo sumamente importante para los investigadores.

En los últimos años, los vidrios bioactivos tienen flexibilidad en la modificación química que permite introducir en su matriz vítrea diferentes clases y concentraciones de iones, así como adaptar la cinética de degradación o de liberación de iones para una acción terapéutica específica [51]. Así mismo, la modificación morfológica para conformar los vidrios en nano y microestructuras porosas, junto a la versatilidad en la cinética de degradación, ha posibilitado el almacenamiento y la liberación controlada de medicamentos que requieren un suministro preciso y continuo para lograr las acciones terapéuticas deseadas [52].

- d. **Scaffolds a base de vidrios bioactivos:** en la últimas dos décadas, la ingeniería de tejidos se ha desarrollado ampliamente como un enfoque para la reparación y regeneración de manera más efectiva de los tejidos y los órganos perdidos o dañados, a través de la configuración de *scaffolds* (estructuras porosas) [53]. Estas estructuras tienen la capacidad de dirigir la formación de nuevos tejidos a través de la estructura porosa interconectada, así como el transporte de nutrientes para garantizar la viabilidad del nuevo tejido formado.

En este campo, los BGs han despertado un amplio interés pues, además de la facilidad para configurarse como estructuras porosas, sufren reacciones específicas al contacto con fluidos fisiológicos que conducen a la formación de hidroxiapatita, fluorapatitas y/o hidroxiapatita carbonatada en su superficie, las cuales favorecen un ambiente favorable para el crecimiento de nuevo tejido óseo y la formación de enlaces entre el implante y los tejidos óseos circundantes de elevada estabilidad mecano-biológica [54]. Así mismo, los iones liberados desde estos vidrios tienen la capacidad de activar los genes osteogénicos [55] y estimular la angiogénesis [56].

## 1.2 SCAFFOLDS

En el campo de la ingeniería tisular, es una necesidad la regeneración y reparación de defectos óseos de gran tamaño en zonas cuya función principal es el soporte de cargas considerables. Por tal motivo, desarrollar implantes porosos (*scaffolds*) biocompatibles que emulen la morfología, la porosidad, la bioactividad y la resistencia mecánica de los tejidos óseos es indispensable para optimizar la recuperación y la integración con el tejido óseo circundante [57], [58].

Los *scaffolds* son generalmente estructuras tridimensionales altamente porosas, con un controlado tamaño e interconectividad de los poros [6], [59]. La ingeniería de tejidos óseos requiere una arquitectura con la suficiente porosidad, así como tamaño e interconectividad adecuada entre los poros, tal que propicien un entorno para la proliferación celular, la vascularización, el flujo de nutrientes y la eliminación de materiales de desecho, a la vez que puedan soportar los esfuerzos mecánicos externos [60], [61], pero si los poros son extremadamente grandes, la consecuencia es un deterioro de la vascularización puesto que a las células endoteliales se les dificulta cerrar poros más grandes que el diámetro de una célula [62].

Las diferentes investigaciones en esta área han encontrado que el crecimiento de tejido óseo es favorecido en *scaffolds* cuya porosidad interconectada este compuesta por poros con un diámetro mayor a 100  $\mu\text{m}$  y una porosidad abierta igual o mayor al 50 %. Los diseños de *scaffolds* altamente porosos poseen una gran superficie, lo que favorece la adhesión y el crecimiento de las células. La porosidad que oscila entre el 40 % y el 90 % en diversos materiales, favorece la osteointegración con la superficie del implante y promueve la adhesión del mismo [63]. Además, una superficie porosa mejora el entrelazamiento mecánico entre el andamiaje y el tejido anfitrión [64]. El tamaño medio de los poros de un andamiaje controla la adhesión de las células, la migración, el acceso a al oxígeno, así como la eliminación de residuos [65]. Estas características en la porosidad permiten guiar la formación del nuevo tejido óseo, así como promover el transporte de nutrientes a través de su matriz de poros interconectados. Adicionalmente, si los *scaffolds* son fabricados con un biomaterial bioactivo, estos pueden promover aún más el crecimiento óseo y la reproducción celular natural [58].

Por otra parte, se ha reportado que la distribución de los poros y la geometría de los poros influyen fuertemente en la capacidad de las células para proliferar, así como en la tasa de degradación del *scaffold* que a su vez depende de la composición del biomaterial bioactivo. Por tal motivo, un equilibrio entre la cinética de degradación regidas a través de las características de la porosidad en el *scaffold* y la composición debe ser controladas tal que el implante *in vivo* se degrade a una cinética compatible al proceso de formación y maduración del nuevo tejido óseo [66].

Teniendo en cuenta lo anterior, los materiales que no se degradan en el cuerpo tienen un uso limitado como materiales de injertos óseos [67]. Así mismo, tienen un uso limitado aquellos materiales cuyos productos de degradación son tóxicos y provocan reacciones inflamatorias [68]. En consecuencia, las propiedades físicas y químicas apropiadas de la superficie del *scaffold* son un requisito inherente para promover la proliferación, adhesión y maduración de las células óseas que conduzcan a la formación y cristalización de un nuevo tejido óseo [69].

El diseño ideal de un *scaffold* consiste en equilibrar la necesidad de una gran porosidad interconectada (por las razones expuestas anteriormente) para promover el crecimiento de tejido, el transporte de nutrientes, y la angiogénesis; al mismo tiempo que se controla la velocidad de reabsorción (biodegradación) y las propiedades mecánicas requeridas en los implantes sintéticos. Estas últimas dependen principalmente de la composición química y la estructura atómica de los materiales [75],[81]. El acoplar todos estos aspectos genera dificultades en el diseño de los *scaffolds* con adecuadas propiedades mecano-biológicas. La principal dificultad está asociada en mantener las propiedades mecánicas con el aumento de la porosidad, ya que su aumento provoca un detrimento en la respuesta mecánica del *scaffold*.

La porosidad de los *scaffolds* ha sido controlada empleando algunos métodos entre los que se encuentra la combinación de las técnicas de plantillas de lixiviación y liofilización. El tamaño de los poros se ha controlado mediante el ajuste en la separación de la plantilla de lixiviación, los cambios de temperatura y variando la densidad o la viscosidad de la concentración de la solución polimérica durante el proceso de liofilización [71]. Así mismo, el método de procesamiento de espuma y fusión de CO<sub>2</sub> supercrítico que ha permitido modificar los tamaños de los poros mediante la variación del peso molecular del polímero usado [72].

Otros métodos empleados en la fabricación de *scaffolds* porosos son los métodos por prototipado rápido (impresión 3D), la precipitación por inmersión, la lixiviación por congelación, la lixiviación con sal y la sinterización por láser [73]. El prototipo rápido, generalmente conocido como fabricación de forma libre sólida (SFF, por sus siglas en inglés) o fabricación aditiva (AM, por sus siglas en inglés), es un grupo de procesos de fabricación avanzados en los que los objetos pueden construirse capa por capa de forma aditiva directamente a partir de datos informáticos como el diseño asistido por ordenador, la tomografía computarizada y la imagen de resonancia magnética. Si bien el prototipado rápido tiene amplias ventajas para incorporar técnicas avanzadas para producir modelos complejos y piezas personalizadas, se requiere de un material polimérico líquido, biodegradable, fotopolimerizable y biocompatible [74].

La técnica de precipitación por inmersión, también conocida como método de inversión de fase, consiste en el vertido de una solución de polímero sobre un soporte inerte hasta lograr el espesor deseado, seguido de la inmersión del soporte con la película polimérica en un baño de precipitación

lleno de un no disolvente (como agua). El contacto/intercambio entre el disolvente y el no disolvente hace que rápidamente precipite una película de polímero con una estructura asimétrica, en donde pueden tener lugar varios tipos de transición de fase o estructural. Si el no disolvente utilizado es un fluido supercrítico, esto añade varias ventajas al proceso. Una de las ventajas más importantes del uso del dióxido de carbono es el hecho de que simplemente ajustando las condiciones del proceso, es decir, la presión y la temperatura, se puede adaptar la estructura final del producto [75]. Además, cuando se utiliza el dióxido de carbono como no disolvente se evita un paso de secado posterior y la estructura porosa obtenida es un producto seco libre de cualquier disolvente residual.

Por su parte, el método por lixiviación de sales desde los andamios, fabricados generalmente por prensado, se describió por primera vez en 1993 y 1994 para demostrar que los polímeros biodegradables podían procesarse en diversas espumas de células porosas utilizando cloruro de sodio molido como agente porogénico [76], [77]. Comúnmente los *scaffolds* de biocerámicos son preparados por prensado de partículas o polvos con un agente porogénico que mediante calentamiento hasta la temperatura de sinterización provoca, por un lado, la difusión de material de la superficie de cada partícula con las de su alrededor formando cuellos de sinterización que provocan la unión entre ellas, al tiempo que induce la eliminación del agente porogénico durante el mismo proceso o en uno posterior, lo que permite formar una red interconectada de poros [19]. Originalmente como una técnica para producir membranas de una sola capa, el método de fundición y lixiviación de partículas se desarrolló aún más para obtener construcciones tridimensionales más complejas y laminadas para su uso como portadores de células. Entre las medidas más recientes en el desarrollo de esos portadores figura la introducción de fibras de refuerzo y de guía de tejidos en andamios de polímeros para mejorar la regeneración de los tejidos [76].

La zirconia estabilizada ha sido el material principalmente usado para la fabricación de *scaffolds* debido a sus propiedades mecánicas. Sin embargo, presenta una baja respuesta biológica que no cumple con las características de respuesta biológica que si presentan los biomateriales bioactivos.

Entre los biomateriales bioactivos, los vidrios bioactivos a pesar de que cuenta con limitadas propiedades mecánicas en cuanto a resistencia mecánica y tenacidad a la fractura, sus deseables propiedades biológicas cuando están en contacto con fluidos fisiológicos y tejidos óseos vivos han motivado a la ingeniería de tejidos y la ingeniería de ortopédica a proponerlo para su uso como material en la fabricación de *scaffolds* [58]. Esto ha estado motivado por la efectiva y duradera reparación ósea que los vidrios pueden brindar, si sus limitaciones mecánicas son superadas, como diferentes investigadores han intentado resolver.

Estudios han revelado que la elevada capacidad intrínseca de los vidrios bioactivos para promover el restablecimiento óseo aumenta significativamente cuando son conformados en estructuras porosas (*scaffolds*) [57]. Esto es dado porque la cinética en la respuesta biológica, que depende del área de intercambio iónico, aumenta al conformarse en forma porosa y, por lo tanto, la cinética de formación de la o las apatitas responsables de las propiedades biológicas interesantes de estos biomateriales incrementa. Por tal motivo, la respuesta biológica de estos biomateriales puede ser mejorada al controlar la estructura porosa a través de adecuar la morfología, la cantidad y la distribución de poros. Este hecho sumado a la facilidad con la que es posible modificar la composición química de los vidrios, han suscitado un interés aún mayor por la posibilidad de

diseñar *scaffolds* a base de vidrio bioactivo con cinéticas de degradación y de interacción entre implante/tejido variables según las necesidades requeridas en la aplicación biomédica [78]–[81].

Desafortunadamente, la limitante en el uso de *scaffolds* de vidrio bioactivo para la reparación de defectos en los huesos portadores de carga ha sido su baja resistencia mecánica, en particular, su baja tenacidad a la fractura [82]. Trabajos recientes han demostrado que, optimizando la composición, el procesamiento y las condiciones de sinterización, se pueden crear *scaffolds* de vidrio bioactivo con arquitecturas de poros prediseñadas y con una resistencia comparable a la de los huesos trabeculares y corticales humanos [83]. Así mismo, se ha buscado incorporar a las arquitecturas porosas otros biomateriales que, aunque inertes como la zirconia, puedan mejorar las propiedades mecánicas. Por ejemplo, Y. Zhu et. al. [84] evidenció que la adición de zirconio (Zr) en *scaffolds* de vidrio bioactivo mejoró la resistencia a la compresión y mantuvo la capacidad de formación de apatita. Por su parte, C. Shuai et. al. [85] indicó que los *scaffolds* de vidrio bioactivo/forsterita reforzados con *whiskers* de óxido de zinc tipo T-ZnOw mejoraron la adhesión y propagación de las células MG-63 y que tienen gran potencial para aplicaciones de carga.



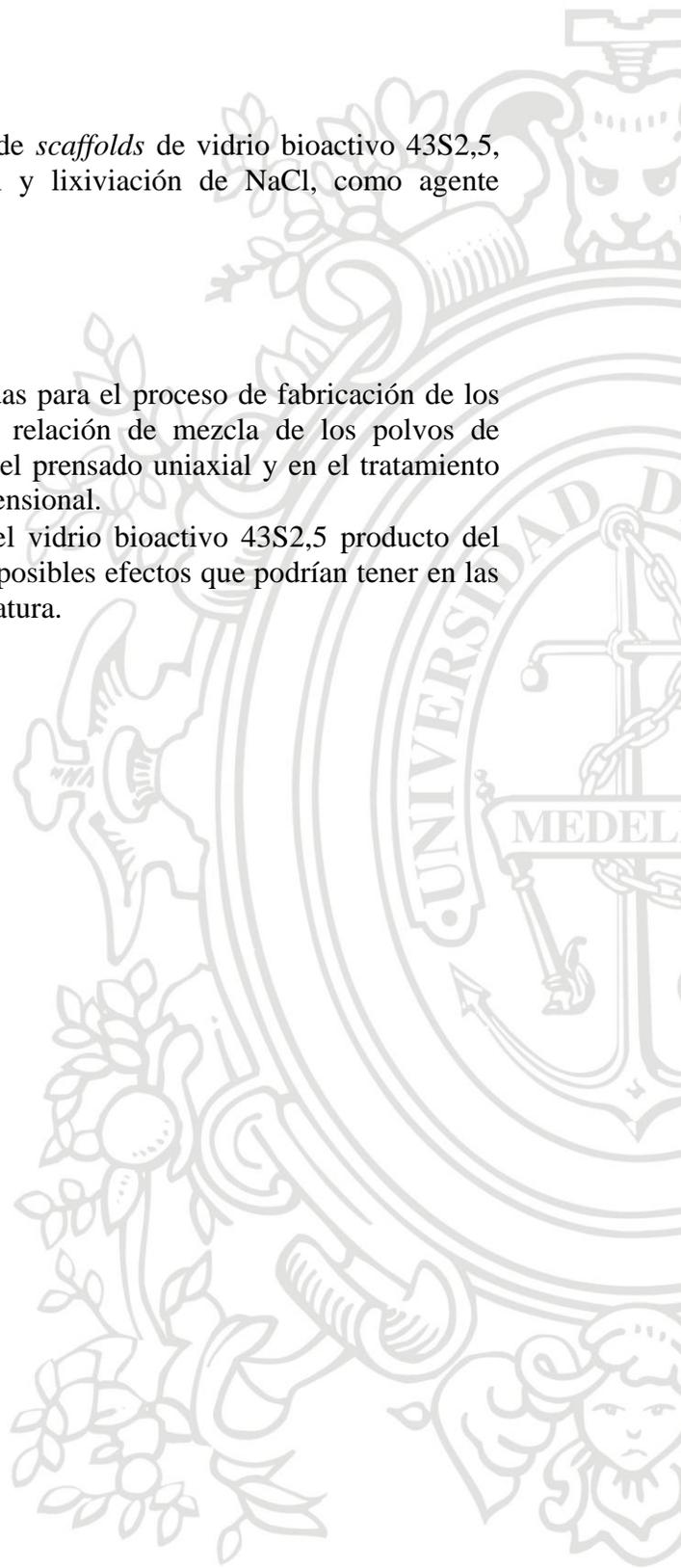
## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la influencia de los parámetros de fabricación de *scaffolds* de vidrio bioactivo 43S2,5, elaborados mediante moldeo por compresión uniaxial y lixiviación de NaCl, como agente porogénico, sobre las propiedades físico-químicas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar y analizar las condiciones más apropiadas para el proceso de fabricación de los *scaffolds* de vidrio bioactivo 43S2,5, tanto en la relación de mezcla de los polvos de 43S2,5:NaCl y en su tamaño de partícula como en el prensado uniaxial y en el tratamiento térmico, que permitan una adecuada estabilidad dimensional.
- Identificar los cambios en la estructura atómica del vidrio bioactivo 43S2,5 producto del tratamiento térmico de los *scaffolds*, y enunciar los posibles efectos que podrían tener en las propiedades biológicas según lo reportado en la literatura.



### 3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

La Figura 1 presenta un resumen general del desarrollo metodológico utilizado durante el presente proyecto. Inicialmente, se realizó la síntesis del vidrio bioactivo 43S2,5. Una vez obtenida la frita, se realizó una conminución de este material hasta adecuarlo a las distribuciones de tamaño deseadas. Posteriormente, las mezclas de polvo de 43S2,5 con NaCl se emplearon en la fabricación de *scaffolds* mediante moldeado por compresión uniaxial. Finalmente, los *scaffolds* fueron sinterizados y caracterizados para evaluar la influencia de los tratamientos térmicos en la microestructura y la cristalinidad del vidrio bioactivo.

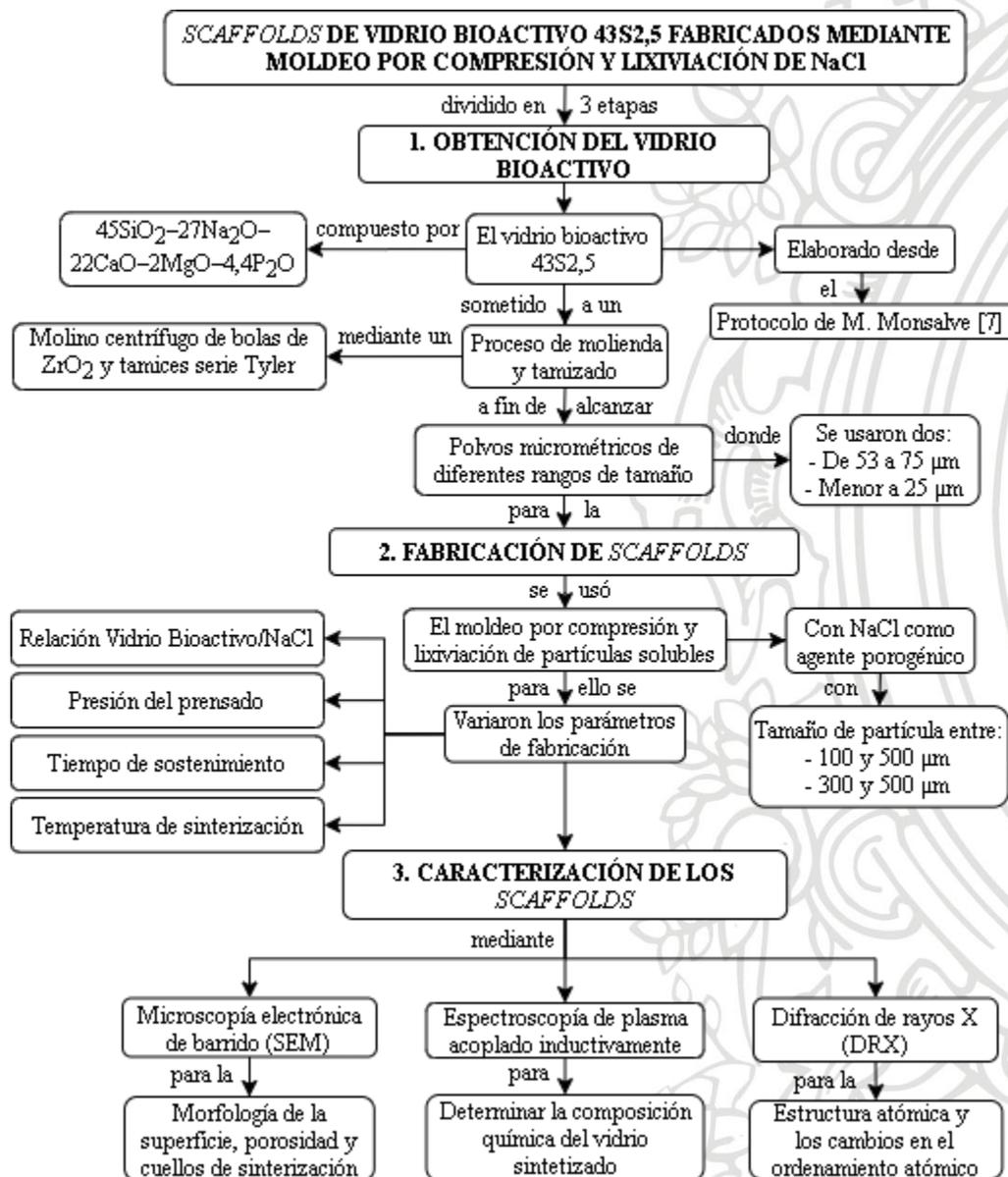


Figura 1. Esquema general de la metodología experimental desarrollada

### 3.1 SÍNTESIS DEL VIDRIO BIOACTIVO

La síntesis del vidrio bioactivo 43S2,5 se basó en el protocolo reportado por M. Monsalve [9]. Para la obtención de dicha composición, se realizó una mezcla de los siguientes óxidos:  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$  y  $\text{MgO}$ , cuyos porcentajes en peso en la mezcla inicial fueron de 42,5, 26,9, 19,5, 9,7 y 1,4 (% p/p), respectivamente. Para lograr una mejor homogenización, los polvos fueron mezclados con etanol al 99,9 %, marca Merck, para así obtener una suspensión al 20 % en partículas. Posteriormente, la suspensión fue homogenizada mediante agitación mecánica continua durante una hora. Una vez homogenizada la suspensión se realizó un secado en una estufa durante 14 horas a una temperatura de 110 °C. Finalmente, los polvos secos y aglomerados de la mezcla de óxidos fueron macerados en un mortero de porcelana hasta obtener un material particulado fino y garantizar a la vez una mejor distribución composicional durante el proceso de síntesis mediante fusión.

Los polvos obtenidos se adicionaron en un crisol de platino, el cual se llevó a un horno de alta temperatura cuya rampa de calentamiento alcanzó 1500 °C de temperatura máxima en, aproximadamente, 6 horas y se sostuvo allí durante 3 horas más. Una vez finalizado el ciclo de síntesis por fusión de 9 horas, se realizó un temple en agua (ver Figura 2) para obtener una fritada de estructura vítrea característica de los vidrios.

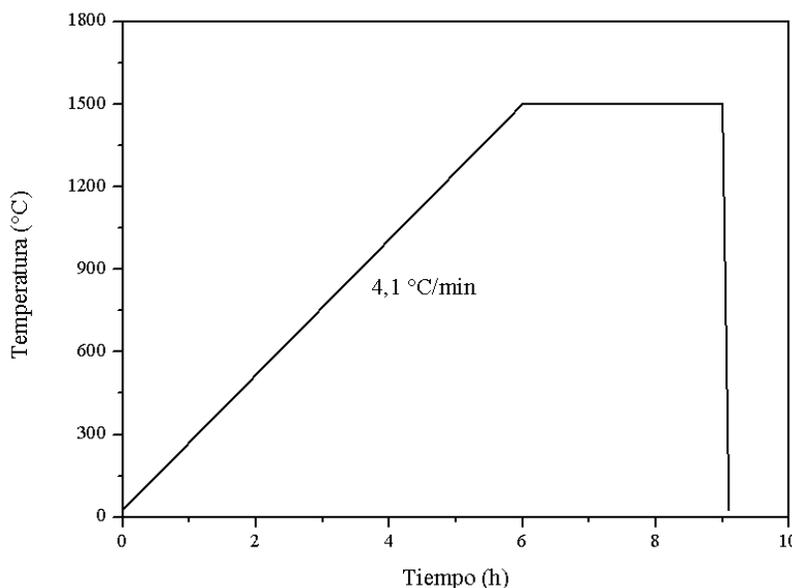


Figura 2. Curva de calentamiento y temple para la producción del vidrio bioactivo

### 3.2 MOLIENDA Y CLASIFICACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA

Para utilizar el vidrio bioactivo en la aplicación propuesta en esta tesis y en aquellas empleadas por el grupo de investigación GIMACYR, la fritada obtenida en el temple fue sometida a un proceso de conminución. Inicialmente, la fritada fue macerada y molida respectivamente con la ayuda de un mortero de porcelana y, posteriormente, con un molino centrífugo de zirconia marca Retsch, tipo S 1000, para conseguirlos tamaños de partícula deseados. Finalmente, las partículas de vidrio

bioactivo fueron clasificadas mediante tamices de la serie Tyler en los rangos de tamaño de partícula dados por las mallas N° -200 +270 (53–75  $\mu\text{m}$ ) y -500 +Fondo (< 25  $\mu\text{m}$ ) para su uso en la fabricación de los *scaffolds*, mientras que los otros rangos de tamaño de partícula fueron usados en otras aplicaciones del grupo de investigación.

Los tamaños de partícula clasificados fueron mezclados con cloruro de sodio (NaCl, marca Merck), utilizado como agente porogénico. El agente porogénico fue macerado y clasificado en los tamaños dados por las mallas de la serie Tyler -35 +140 (100–500  $\mu\text{m}$ ) y -50 +140 (300–500  $\mu\text{m}$ ).

### 3.3 PARÁMETROS DE FABRICACIÓN DE LOS SCAFFOLDS

Existen diferentes técnicas para la fabricación de *scaffolds* según el tipo de aplicación. El método de fabricación de *scaffolds* basado en el moldeo por compresión y lixiviación de partículas solubles (NaCl), usado para este trabajo de grado, permite controlar el tamaño y el volumen de la porosidad de manera efectiva mediante la granulometría y la cantidad de agente porogénico utilizado. Por su parte para revelar la porosidad, el agente porogénico puede ser fácilmente eliminado con casi nulos residuos de contaminación en comparación a otros métodos, siempre que la porosidad remanente tenga una adecuada interconectividad [86]–[88].

Se realizaron diferentes ensayos variando el tamaño de partícula y la relación en peso vidrio bioactivo/agente porogénico, así como las condiciones de prensado (carga y tiempo) para adecuar las condiciones de fabricación de los *scaffolds*. Los rangos de tamaño de partícula empleados tanto para el vidrio bioactivo 43S2,5 como para el agente porogénico de NaCl son reportados en la Tabla 1. Por su parte, las relaciones en peso de vidrio bioactivo/agente porogénico (NaCl) evaluadas fueron de 1,22 y 1,0 (o respectivamente de 45 y 55 % p/p en función del agente porogénico, como se presenta en la Tabla 1). Así mismo, se evaluaron diferentes presiones y tiempos de sostenimiento de prensado (ver Tabla 2) hasta obtener la mejor condición de conformación de los *scaffolds* según la mayor resistencia en verde.

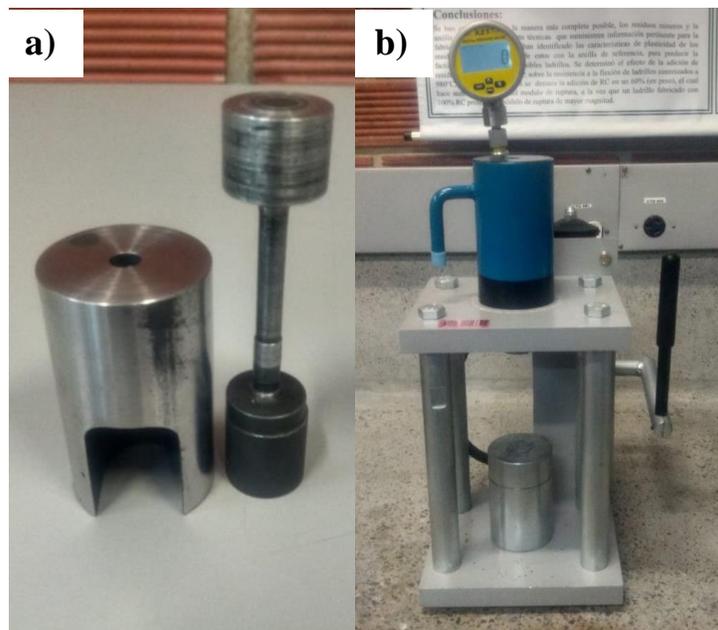
**Tabla 1.** Granulometría del 43S2,5 y el NaCl, y porcentaje en peso del NaCl

43S2,5 ( $\mu\text{m}$ )	NaCl ( $\mu\text{m}$ )	NaCl (% p/p)
53 – 75	100 – 500	45
	300 – 500	
< 25	100 – 500	50
	300 – 500	

**Tabla 2.** Condiciones de prensado

Presión (MPa)	Sostenimiento (s)	
60		
80	30	60
100		
125		

Las diferentes mezclas de polvos de 43S2,5 y NaCl establecidas en la Tabla 1, fueron inicialmente humedecidas con alcohol isopropílico al 99,9 %, el cual promueve un mejor flujo de ordenamiento de la mezcla durante el prensado (mejor compactación) además de actuar como aglutinante líquido que, al rodear las partículas de vidrio bioactivo y la sal, generan una cohesión producto de las fuerzas intermoleculares superficiales e internas de la fina capa de líquido formada [89], [90]. Luego, a partir de dichas mezclas, se moldearon los *scaffolds* empleando un molde templado de acero inoxidable 420, cuyo diámetro interno es de 6,35 mm (ver Figura 3a). El prensado uniaxial se realizó empleando una prensa hidráulica, como la observada en la Figura 3b.



**Figura 3.** Montaje de prensado para la fabricación de los *scaffolds*.  
a) Matriz de acero inoxidable; b) Prensa hidráulica

La dimensión longitudinal de los *scaffolds* se varió en función de la relación del contenido de vidrio bioactivo/NaCl. Inicialmente, las cantidades máxicas de las mezclas se calcularon a partir de la densidad de los materiales (2,5 y 2,16 g/cm<sup>3</sup> respectivamente para el vidrio y la sal) y, posteriormente, se realizó un ajuste de las cantidades de acuerdo con la compactación lograda durante el prensado. Las longitudes buscadas para las probetas fueron de 16 y 4 mm de longitud para aquellas que serían destinadas para su potencial uso en ensayos de compresión e *in vitro*, respectivamente.

Una vez fabricados los *scaffolds*, se sometieron a un tratamiento térmico de sinterización, en un horno marca Linderberg/BlueM, modelo BF51731C. Se emplearon cuatro temperaturas de sinterización determinadas a partir de porcentajes entre el 60 y el 80 % de la temperatura de fusión ( $T_m$ ) del vidrio bioactivo, la cual corresponde a 1137 °C identificada mediante DSC (*differential scanning calorimetry*). Dichas temperaturas y porcentajes reportados en la Tabla 3, se eligieron de la relación entre la temperatura de sinterización y la  $T_m$  de polvos cerámicos [54], [91].

**Tabla 3.** Temperaturas de sinterización

Temp. Sinterización (°C)	% $T_m$
739	65
796	70
853	75
910	80

Una vez moldeados y sinterizados los *scaffolds*, estos fueron sometidos a un proceso de solubilización del NaCl en cuatro ciclos de agua desionizada a 90 °C durante 30 min cada uno, con

agitación constante a 500 RPM sobre una plancha de calentamiento marca DAIHAN Scientific, modelo MSH-20D. Se eligió dicha cantidad de ciclos buscando eliminar la sal de la arquitectura porosa, pues al realizar el cambio de agua se propicia una mayor solubilización debido al nuevo equilibrio de solubilidad que tiende a darse entre el líquido y la sal, cuyos iones de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{Cl}^-$  pasan a estar en solución. Por último, se realizó un secado completo de los *scaffolds* en una estufa a 100 °C por 30 min. Adicionalmente, tanto antes como después de la sinterización se midieron las dimensiones (longitud y diámetro) de las probetas para determinar el porcentaje de contracción por el tratamiento térmico.

### 3.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS SCAFFOLDS

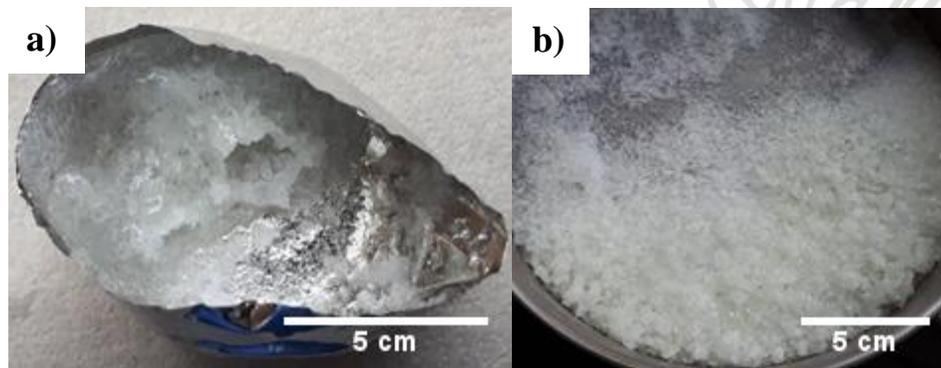
La composición química y la estructura atómica del vidrio sintetizado fueron analizadas con la ayuda, respectivamente, de la Espectroscopía de plasma acoplado inductivamente (ICP, por sus siglas en inglés: *Inductively coupled plasma*) mediante un espectrómetro de emisión óptica OPTIMA 8300 PerkinElmer (Waltham, Estados Unidos) y, la Difracción de rayos X (DRX) utilizando un equipo marca Bruker D8 Advanced. El barrido se realizó en un rango de 2Theta entre 10 y 90° con un tamaño de paso de 0,026° y utilizando un ánodo de cobalto ( $\text{CoK}\alpha$ ,  $\lambda = 1,79 \text{ \AA}$ ). La morfología de la superficie, la porosidad y la formación de cuellos de sinterización entre las partículas de vidrio bioactivo en los *scaffolds* fabricados, se determinó mediante Microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés: *Scanning electron microscopy*), modelo JSM-IT300 (JEOL, Tokyo, Japón). De este modo, se pudo determinar la mejor condición de consolidación de prensado y tratamiento térmico de sinterización.

Por último, mediante el software PANalytical X'Pert HighScore Plus se identificaron y analizaron los cambios en el ordenamiento atómico del material (transformaciones cristalinas), producidas por el tratamiento de sinterización de los *scaffolds*.

## 4 RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 4.1 SÍNTESIS DEL VIDRIO BIOACTIVO

El temple, después de la fusión de la mezcla de óxidos de  $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-MgO}$ , dio como resultado una frita (ver Figura 4a) que posee un característico color blanco traslúcido producto de la mezcla de óxidos utilizada para su fabricación. Se aprovechó la fragilidad de este material para fracturarlo y removerlo del crisol de platino, obteniendo el material de tamaño heterogéneo observado en la Figura 4b. El material recuperado poseía partículas que iban desde un par de centímetros hasta unos pocos milímetros, por lo que su tamaño fue homogenizado mediante el proceso de molienda y clasificación por tamizado para su respectivo uso en la fabricación de *scaffolds*.



**Figura 4.** Frita obtenida del proceso de fusión de óxidos y temple en agua.  
a) Frita después del temple; b) Frita removida del crisol de platino

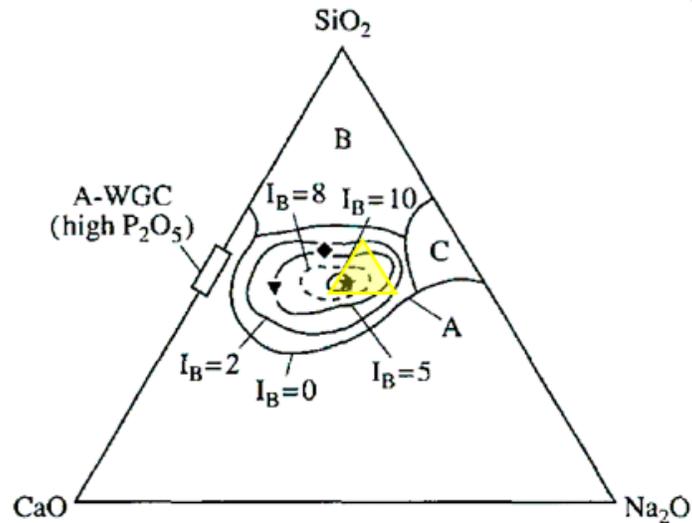
Un análisis químico mediante ICP permitió determinar la composición química másica elemental de la frita, constituida por iones de silicio, de sodio, de calcio, de fósforo y de magnesio. Estos resultados permitieron estimar la composición química en porcentaje en peso (% p/p) de los óxidos del vidrio, que fue de 42,6  $\text{SiO}_2$ -26,7  $\text{Na}_2\text{O}$ -19,4  $\text{CaO}$ -9,9  $\text{P}_2\text{O}_5$ -1,5  $\text{MgO}$ , cuya relación molar Ca/P fue de 2,5 calculada a partir de los porcentajes molares ([% molar]) mostrados en la Tabla 4. Es por ello que, según la codificación de Larry L. Hench [92], al vidrio sintetizado en este trabajo se le denominó 43S2,5, por su porcentaje en peso de  $\text{SiO}_2$  y la relación molar Ca/P.

**Tabla 4.** Composición química del vidrio sintetizado

Elemental (% p/p)					Estimada en óxidos (% p/p)					Ca/P (molar)
[% molar]					[% molar]					
Si <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>+</sup>	P <sup>+</sup>	Mg <sup>+</sup>	SiO <sub>2</sub>	Na <sub>2</sub> O	CaO	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	MgO	
33,9	33,7	23,6	7,3	1,5	42,6	26,7	19,4	9,9	1,5	2,5
[33,9]	[41,2]	[16,6]	[6,6]	[1,7]	[44,5]	[27,0]	[21,8]	[4,4]	[2,3]	

De los múltiples estudios realizados para con los vidrios bioactivos, según el diagrama ternario de  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O}$  con 6 % p/p de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , la composición del vidrio 43S2,5 está dentro de la región A y muy cerca a la composición química de la región S (ver triangulo amarillo: Figura 5), lo que indica que la composición química de este vidrio podría evidenciar un eventual comportamiento

bioactivo que conduce a la unión con tejido duro y blando bajo condiciones *in vivo* [23], [92]. Adicionalmente, el contenido de 1,5 % p/p de MgO en la composición del vidrio podría favorecer la biocompatibilidad y la reabsorción *in vitro* según lo reportado por M. Monsalve en su tesis doctoral [9].



**Vitrocerámica A-W con alto contenido de  $P_2O_5$**

**Región A** (unión ósea) que incluye la región S (unión a tejido blando) y la región E [(★) 45S5 Bioglass®, (▼) Ceravital® y (◆) 55S4,3 Bioglass®].

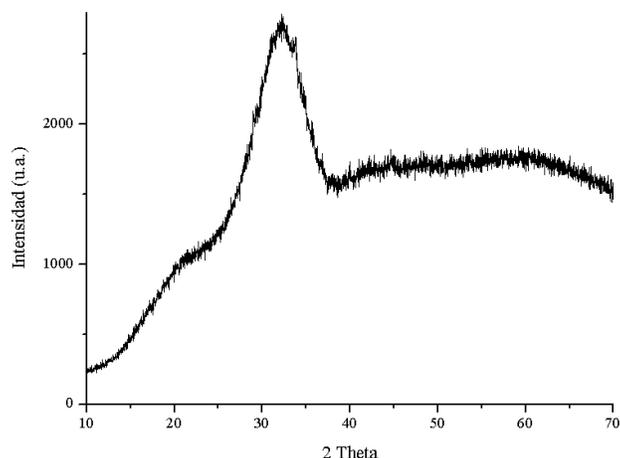
**Región B** (no adherente) de reactividad baja.

**Región C** (no adherente) de reactividad demasiado elevada.

**Región D** (no adherente) con nula formación de vidrio por fusión.

**Figura 5.** Comportamiento bioactivo según el sistema ternario de  $SiO_2$ - $CaO$ - $Na_2O$  con 6 % p/p de  $P_2O_5$ , de vidrios y algunas vitrocerámicas bioactivas [23], [92]

Por su parte, la Figura 6 muestra el difractograma de rayos X realizado al vidrio 43S2,5. Esta respuesta de difracción es típica de un material amorfo en el que no se evidencian los picos esbeltos característicos de los materiales cristalinos o semi-cristalinos, lo que indica la ausencia de orden de largo alcance, lo cual es debido al choque térmico por temple que evitó el reordenamiento de su microestructura atómica. Sin embargo, los vidrios bioactivos a base de silicatos, cuyo contenido de fase vítrea se aproxima al 100 %, se han caracterizado por presentar bandas de difracción entre  $25^\circ < 2\theta < 40^\circ$  y/o  $37^\circ < 2\theta < 55^\circ$  relativas a una tendencia al ordenamiento cristalino de muy corto alcance [93]–[96]; que en el vidrio 43S2,5 se evidenció entre  $25^\circ < 2\theta < 40^\circ$ .



**Figura 6.** Espectro DRX del vidrio bioactivo 43S2,5

## 4.2 MOLIENDA Y CLASIFICACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA

El proceso de conminución del vidrio 43S2,5 sintetizado fue estandarizado, con el fin de obtener mayores eficiencias durante su clasificación por tamizado. De modo que se varió la cantidad de ciclos, el tiempo de duración, la velocidad de centrifugado (% respecto a la velocidad total del equipo) y la masa de material por ciclo de molienda. Después de cada ciclo, se llevó a cabo una clasificación por tamaños de partícula para evitar la disminución excesiva del tamaño de partícula debido a la fragilidad del material. Las condiciones que permitieron una mayor eficiencia de clasificación son mostradas en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Condiciones de molienda del vidrio 43S2,5

Parámetro	Valor
Ciclos	3
Duración del ciclo	2 min
Velocidad de centrifugado	70 %
Cantidad de 43S2,5	50 g

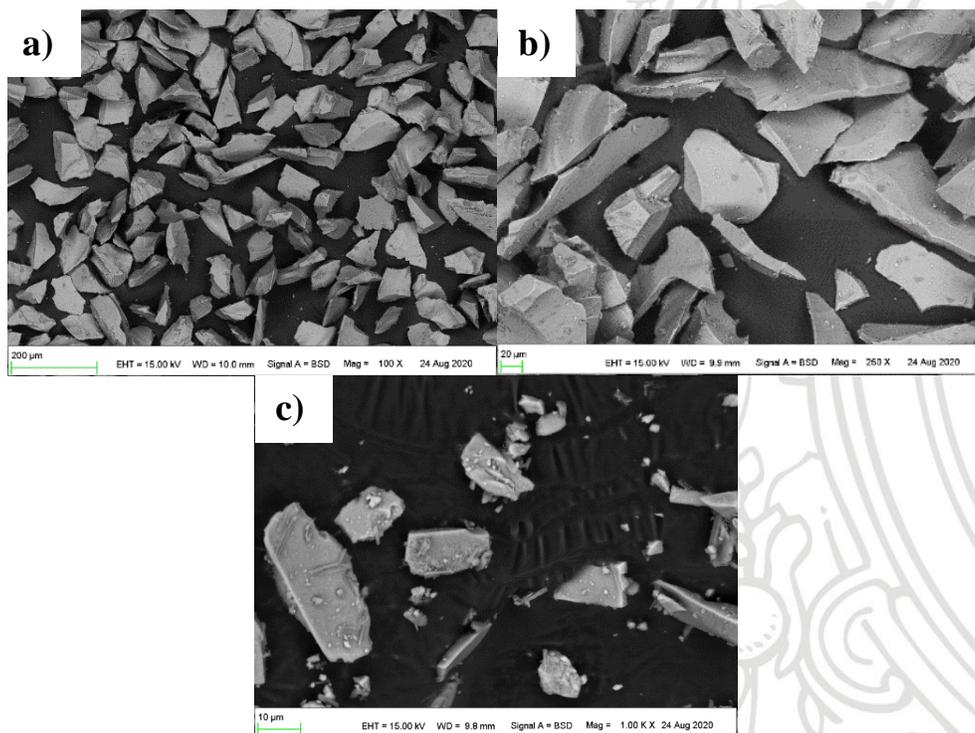
La eficiencia en la clasificación por tamaño después del proceso de molienda del vidrio bioactivo es presentada en la Tabla 6. Bajo las condiciones de molienda se logró obtener una eficiencia similar para todos los rangos de tamaño de partícula clasificados usando la serie Tyler, donde (–) es pasante y (+) es el material retenido en la malla.

**Tabla 6.** Eficiencia del proceso de molienda de los polvos de vidrio 43S2,5

N° Malla Tyler	Tamaño retenido (µm)	Eficiencia (%)
–120 +140	100 – 125	22 ± 1,83
–140 +200	75 – 100	25 ± 1,97
–200 +270	53 – 75	20 ± 0,75
–500 +Fondo	< 25	19 ± 0,98

El rango que mayor eficiencia presentó fue el comprendido entre las mallas  $-140 +200$  ( $75-100 \mu\text{m}$ ) con un 25 % y, el de menor eficiencia (19 %) fue logrado entre  $-500 +\text{Fondo}$ , con un tamaño de partícula menor a  $25 \mu\text{m}$ . Aunque según lo establecido en la metodología, este fue uno de los tamaños escogidos para la fabricación de los *scaffolds*, se debía garantizar que las condiciones de molienda permitieran obtener la cantidad de materia prima suficiente para desarrollar cada una de las aplicaciones que tendría el vidrio bioactivo dentro del grupo de investigación GIMACYR.

La Figura 7 muestra las imágenes SEM superficiales de las partículas de vidrio 43S2,5 en los rangos de tamaño usados en esta investigación. Se puede apreciar una morfología de partícula irregular, con una elevada tendencia a la formación de láminas con bordes puntiagudos y una presencia casi nula de partículas esféricas producto de la fractura frágil generalmente típica en los materiales con elevado contenido de fase vítrea [86]. Así mismo, se puede observar que el rango del tamaño de partícula de la Figura 7c evidencia una distribución más amplia en tamaño, que puede promover un mejor empaquetamiento del material en la fabricación de los *scaffolds*. Mientras que, un tamaño muy similar y más grande puede limitar el empaquetamiento.



**Figura 7.** Imágenes SEM del vidrio 43S2,5 molido y clasificado entre las mallas  $-200 +270$  (a) 100X y (b) 250X y la malla  $-500$  y el Fondo (c) 1000X

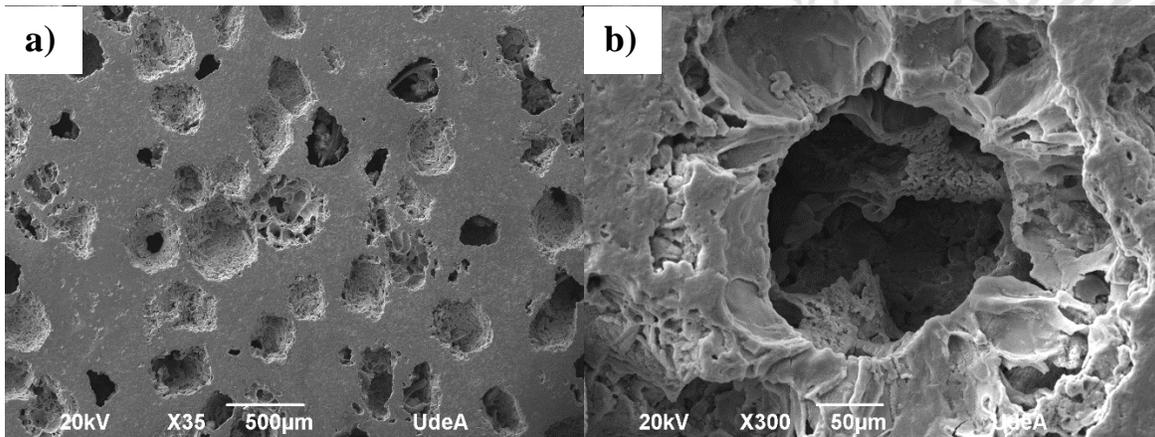
### 4.3 PARÁMETROS PARA LA FABRICACIÓN DE LOS SCAFFOLDS

#### 4.3.1 Influencia del tamaño de partícula y el porcentaje en peso del NaCl

El cloruro de sodio utilizado como agente porogénico poseía dos rangos de tamaño de partícula, entre  $100-500 \mu\text{m}$  y entre  $300-500 \mu\text{m}$ , escogidos debido a que podrían proporcionar un tamaño

de poro ideal para el anclaje celular. El NaCl adicionado durante la elaboración de los *scaffolds* y posteriormente eliminado por lixiviación fue el encargado de producir la porosidad tanto interna como externa (ver Figura 8), mientras que el porcentaje adicionado fue el causante de la respectiva red de interconexión entre los poros.

La sal clasificada entre 300–500  $\mu\text{m}$ , por su gran tamaño de grano, dificultó la conformación de los *scaffolds* en el proceso de prensado, disminuyendo su estabilidad dimensional. Al ampliar el rango e incluir partículas más pequeñas (entre 100–500  $\mu\text{m}$ ) se mejoró la distribución de las partículas del 43S2,5 alrededor del NaCl, permitiendo que aumentara la estabilidad estructural en verde y favoreciendo la formación de cuellos de sinterización entre las partículas de vidrio bioactivo durante el tratamiento térmico.



**Figura 8.** Imágenes SEM de la porosidad interconectada en los *scaffolds* a a) 35X y b) 300X

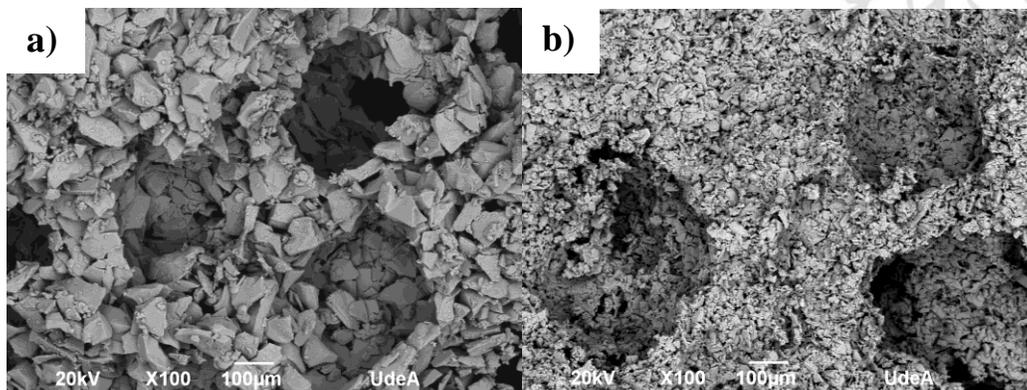
En la Figura 8b se puede evidenciar la porosidad interconectada que se logró a través del proceso lixiviación del agente porogénico. Dicha matriz de poros interconectados en un *scaffold* es fundamental para guiar la formación de nuevo tejido y el transporte de nutrientes a través de ella cuando se expone a condiciones *in vitro* o *in vivo*.

En la fabricación de los *scaffolds* de vidrio 43S2,5 los porcentajes en peso de NaCl utilizados fueron de 45 y 50. Con base en los resultados experimentales no era mucha la diferencia que se obtenía al hacer uso de uno u otro porcentaje en peso del agente porogénico. Cuando se usaba el 45 % p/p en combinación con el tamaño de partícula de NaCl entre 300–500  $\mu\text{m}$  se presentaron dificultades de conformado de las probetas. Por tal motivo, se decidió continuar la investigación con el NaCl clasificado entre 100–500  $\mu\text{m}$  al 50 % p/p respecto al vidrio; parámetros que se ajustaban más a los valores mínimos requeridos desde la literatura [63].

#### 4.3.2 Influencia del tamaño de partícula del 43S2,5

En la Figura 9 se presentan las imágenes SEM de los *scaffolds* fabricados y sinterizados a 796  $^{\circ}\text{C}$  (70 % de  $T_m$ ) a partir de los rangos de tamaños de partícula del 43S2,5: entre 53–75  $\mu\text{m}$  y menor a 25  $\mu\text{m}$ . La principal diferencia apreciable entre las imágenes de la Figura 9 se atribuye al grado de compactación que se logra en verde con cada rango de tamaño de partícula. En los *scaffolds* fabricados con el rango de partícula entre 53–75  $\mu\text{m}$  (ver Figura 9a) se observa, además de la porosidad remanente, producto de disolver el agente porogénico (NaCl), una porosidad por

falta de empaquetamiento entre las partículas de vidrio. Razón por lo cual, la manipulación de los *scaffolds* en verde requirió de un mayor cuidado. En consecuencia, durante la sinterización, se crearon puntos de nucleación de grietas por la tendencia a sufrir una sinterización en una dirección preferencial, lo que provocó mayores contracciones en algunas zonas del *scaffold*. Esas grietas podrían propiciar la falla catastrófica de la estructura a la menor carga mecánica, por lo que su uso en ensayos de compresión no sería adecuado. Por el contrario, el tamaño de partícula menor a 25  $\mu\text{m}$  (ver Figura 9b) proporcionó una más elevada compactación y una mejor definición geométrica de los poros generados por el NaCl, promoviendo así una mejor distribución de los esfuerzos mecánicos y, en consecuencia, la disminución en la aparición de grietas.



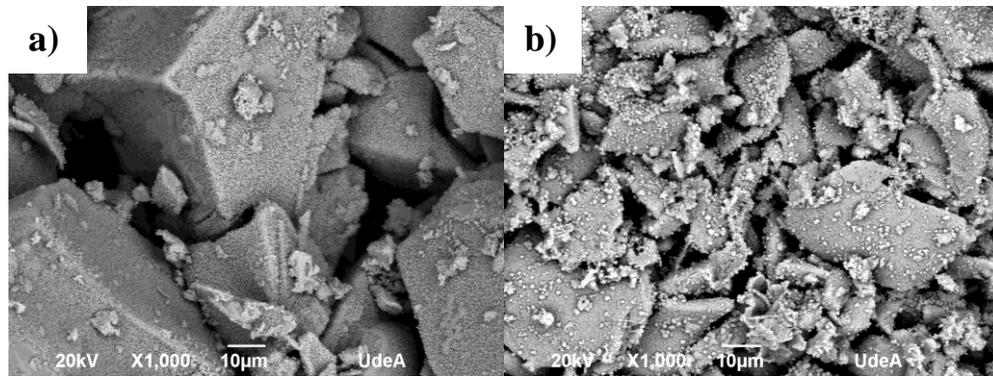
**Figura 9.** Imágenes SEM a 100X de *scaffolds* sinterizados a 796 °C (70 %  $T_m$ ) con un tamaño de partícula a) entre 53–75  $\mu\text{m}$  y b) < 25  $\mu\text{m}$

La contracción por sinterización de los *scaffolds* respecto al rango de tamaño de partícula del vidrio 43S2,5 se evaluó midiendo las dimensiones de las probetas, tanto antes como después del tratamiento térmico a 769 °C. En la Tabla 7 se evidencian los valores promedios de longitud y diámetro inicial y final. De los resultados del porcentaje de contracción de las probetas (contenidos también en la Tabla 7) se puede concluir que el vidrio bioactivo con un tamaño de partícula menor a 25  $\mu\text{m}$ , presenta una contracción longitudinal, diametral y volumétrica respectivamente de 14,1, 11,7 y 31,8 % más elevada en comparación a los *scaffolds* de vidrio 43S2,5 clasificado en el rango entre 53–75  $\mu\text{m}$ , cuya contracción fue 9,4, 6,3 y 20,4 %, respectivamente.

**Tabla 7.** Dimensiones y contracciones de las probetas según el tamaño de partícula del 43S2,5

Tamaño de partícula	Longitud inicial (mm)	Diametro inicial (mm)	Longitud final (mm)	Diametro final (mm)	Contracción Longitudinal	Contracción Diametral	Contracción Volumétrica
53 – 75 $\mu\text{m}$	14,9 ± 3,25	6,4	13,5 ± 2,85	6,0 ± 0,06	9,4 ± 0,67 %	6,3 ± 0,94 %	20,4 ± 1,01 %
< 25 $\mu\text{m}$	15,9 ± 0,22		13,7 ± 0,48	5,7 ± 0,05	14,1 ± 1,83 %	11,7 ± 0,78 %	31,8 ± 2,65 %

Los *scaffolds* elaborados con un rango de tamaño de partícula de vidrio menor a 25  $\mu\text{m}$  (ver Figura 10b) evidencian un mejor empaquetamiento y distribución de las partículas que aquellos elaborados con un rango de tamaño entre 53–75  $\mu\text{m}$  (Figura 10a). El mejor empaquetamiento favorece el contacto e intercambio de calor y masa entre las partículas que conforman los *scaffolds*, los cuales bajo adecuadas condiciones de sinterización promueven una estructura más compacta que se traduce en una mayor contracción por sinterización, como se observó en los resultados presentados en la Tabla 7.



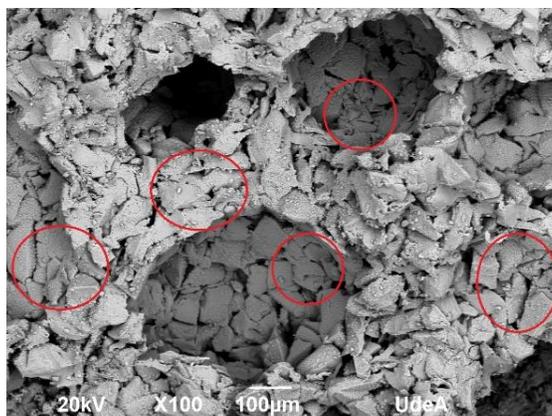
**Figura 10.** Imágenes SEM a 1000X de *scaffolds* sinterizados a 796 °C (70 %  $T_m$ ) con un tamaño de partícula a) entre 53–75  $\mu\text{m}$  y b) < 25  $\mu\text{m}$

### 4.3.3 Influencia de la presión y tiempo de sostenimiento

El método de fabricación de moldeo por compresión permitió obtener probetas de *scaffolds* de manera continua una vez se ajustaron las condiciones del proceso. Las pruebas realizadas con un tiempo de sostenimiento de 30 s arrojaron probetas que no presentaban cohesión entre las partículas, lo que generaba pérdidas considerables de material a cualquiera de las presiones ensayadas (60, 80, 100 y 125 MPa). Por el contrario, los tiempos más prolongados (> 75 s) de sostenimiento en la presión, durante la elaboración de los *scaffolds*, conducían a la fisuración e, incluso, la delaminación de las piezas. En cuanto al tiempo de sostenimiento de 60 s, este permitió elaborar *scaffolds* de mejor estabilidad mecánica que aquellos realizados con un sostenimiento 30 s, puesto que se propiciaba un tiempo adecuado para el empaquetamiento de las partículas, sin conducir a esfuerzos localizados que promovieran la formación de defectos en las piezas.

Por su parte, los ensayos con las presiones más altas, de 100 y 125 MPa, generaron gradientes de compactación a lo largo de la probeta. La elevada presión provocaba cerca al pistón un elevado empaquetamiento por una concentración localizada de la carga, mientras que el extremo opuesto era excesivamente frágil por una inadecuada transferencia de la carga para su respectivo empaquetamiento. Por el contrario, la presión de 60 MPa no promovió la estabilidad mecánica y dimensional necesaria en las probetas en verde, incluso con tiempos prolongados de sostenimiento. Finalmente, la presión de 80 MPa con sostenimiento de 60 s permitió conformar *scaffolds* con un empaquetamiento homogéneo a lo largo de la pieza, con una adecuada estabilidad mecánica y dimensional de las piezas en verde y, en consecuencia, de las probetas sinterizadas.

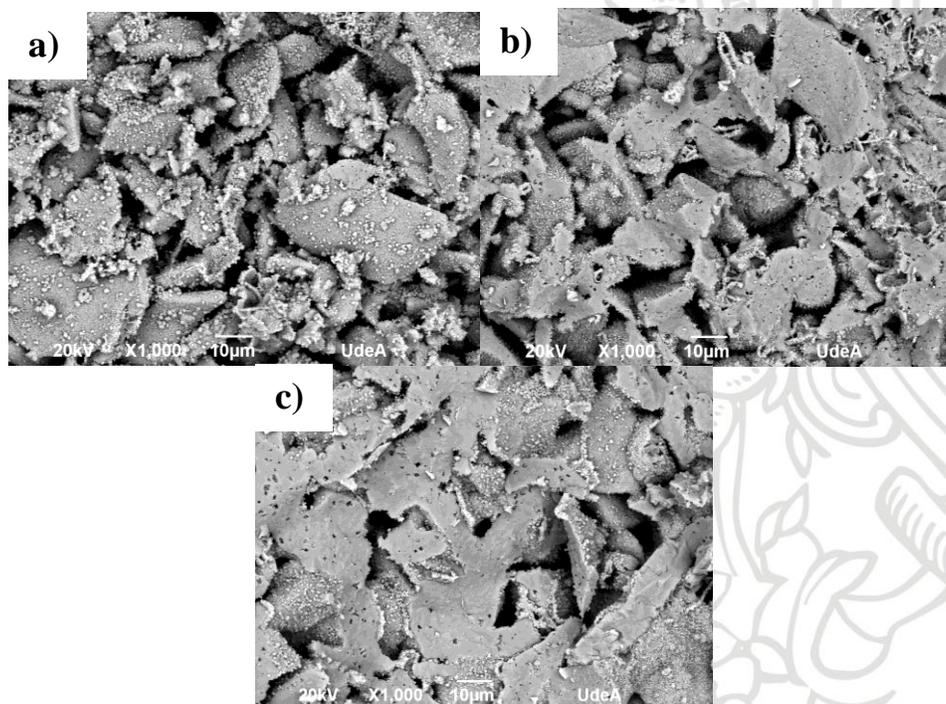
La tendencia a fracturarse de la frita del 43S2,5 durante la molienda, en partículas en forma de láminas permitió que, durante el proceso de fabricación de los *scaffolds* por prensado uniaxial, se apilaran unas sobre las otras, como se logra apreciar en algunas zonas de la Figura 11. El elevado contacto superficial que se produjo con el apilamiento de las partículas benefició el proceso de sinterización y, por consiguiente, la estabilidad mecánica de los *scaffolds*.



**Figura 11.** Zonas en donde se aprecia el fenómeno de apilamiento entre las partículas

#### 4.3.4 Influencia de la temperatura de sinterización

La sinterización de la pieza en verde fabricada por prensado permite que las partículas de vidrio 43S2,5, por acción de la temperatura, disminuyan su viscosidad a la vez que se propicia una mayor movilidad de los átomos que favorecen la difusión de materia provocando, además de la densificación de la pieza, una estrecha unión entre la superficie de las partículas inmediatamente próximas entre sí, resultando en una mayor resistencia mecánica del *scaffold*. Como se puede observar en la Figura 12, el efecto de la sinterización de las piezas basadas en las partículas de 43S2,5 se hace más evidente a medida que aumenta la temperatura máxima del tratamiento térmico a la que se sometieron las piezas en verde para obtener los *scaffolds*.

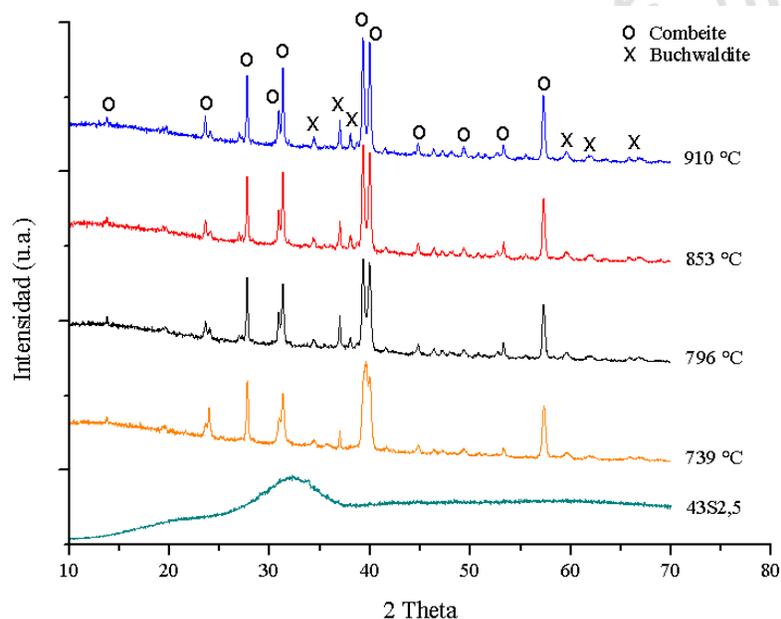


**Figura 12.** Imágenes SEM de los *scaffolds* elaborados con un rango de tamaño de partícula  $< 25 \mu\text{m}$  y sinterizados a a)  $796 \text{ }^\circ\text{C}$  (70 % de  $T_m$ ), b)  $853 \text{ }^\circ\text{C}$  (75 % de  $T_m$ ), c)  $910 \text{ }^\circ\text{C}$  (80 % de  $T_m$ )

La temperatura de 739 °C, correspondiente al 65 % de  $T_m$ , no generó ningún tipo de unión significativa entre las partículas del vidrio para el tamaño más grande de probeta fabricado (~ 16 mm). Por consiguiente, al momento de solubilizar el NaCl en estos *scaffolds*, se produjo un desmoronamiento completo de las probetas que imposibilitó la caracterización por microscopía electrónica de barrido (SEM).

El incremento de la temperatura máxima del tratamiento térmico de sinterización provocó una mejora en la formación de los cuellos de sinterización que le brindaban una mayor estabilidad mecánica a las piezas producidas (ver Figura 12). Sin embargo, al contrastar el grado de sinterización, la temperatura máxima de sinterización de 910 °C (Figura 12c), como resultado de un excesivo flujo viscoso de las partículas, produjo una densificación elevada que afecta el área de intercambio iónico con los fluidos fisiológicos *in vitro* o *in vivo*. Esto podría eventualmente conducir a una disminución en la cinética de nucleación y crecimiento de HA y/o HAC, causando una menor respuesta bioactiva comparada con aquellas piezas con una mayor área de intercambio iónico. Adicionalmente, durante la sinterización a esta temperatura, el flujo viscoso generó una deformación estructural de los *scaffolds* lo que seguramente alteró la porosidad interna interconectada y las características dimensionales buscadas desde el diseño inicial de los *scaffolds*. Por tales motivos, se encontró que la temperatura de 796 °C (70% de  $T_m$ ) fue la condición que presentó los mejores resultados en comparación a las demás.

Por otra parte, se analizó mediante difracción de rayos X (DRX) la influencia de las temperaturas de sinterización establecidas en la Tabla 3 con relación a la cristalización de nuevas fases desde la fase vítrea del polvo de 43S2,5. Este análisis fue llevado a cabo para tratar de predecir el eventual comportamiento biológico de los *scaffolds* cuando están en contacto con fluidos fisiológicos, pues como es bien sabido la estructura vítrea es, en parte, la responsable de las excelentes propiedades biológicas del material. Dicha estructura puede ser alterada por un tratamiento térmico que conlleve a la cristalización de fases que pueden presentar una adecuada respuesta biológica o, por el contrario, promover una respuesta citotóxica [92].



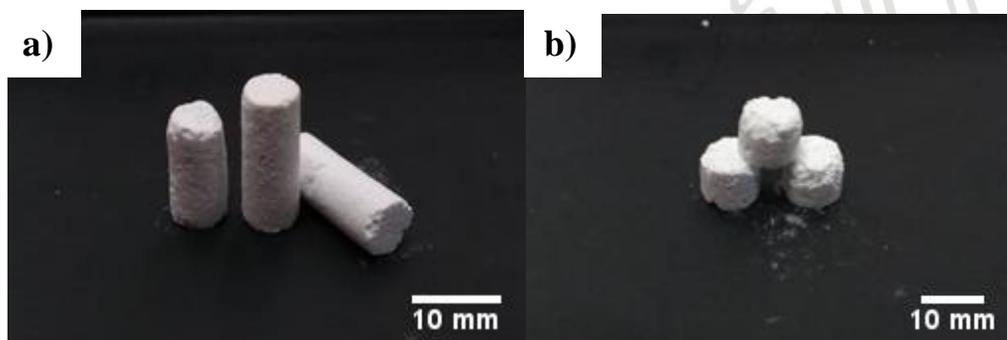
**Figura 13.** Difractogramas de los *scaffolds* de vidrio 43S2,5 sinterizados a diferentes temperaturas

En general, los difractogramas de los *scaffolds* del vidrio 43S2,5 (completamente amorfo) elaborados bajo diferentes condiciones de sinterización (ver Figura 13 ) evidencian una importante cristalización. Evidentemente, se nota una pequeña diferencia en la intensidad en los picos de algunas de las fases cristalizadas a medida que aumenta la temperatura de sinterización; sin embargo, cristalizan básicamente las mismas fases bajo todas las condiciones de sinterización. En el vidrio 43S2,5, conformado como *scaffold* durante la sinterización, cristalizan las fases de Combeite ( $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ ) y de Buchwaldite ( $\text{NaCaPO}_4$ ). La Combeite es una fase altamente bioactiva que, según investigaciones, ha cristalizado en conjunto con la HA [97], y la Buchwaldite ha demostrado que aumenta aún más la bioactividad de materiales bioactivos (ej: Biosilicate®) [98].

#### 4.4 FABRICACIÓN DE LOS SCAFFOLDS FINALES

El análisis de los resultados realizado anteriormente permitió establecer las condiciones más adecuadas para la elaboración de los *scaffolds*. Los *scaffolds* en este trabajo fueron finalmente elaborados a partir de una mezcla de vidrio de composición molar  $44,5\text{SiO}_2-27\text{Na}_2\text{O}-21,8\text{CaO}-4,4\text{P}_2\text{O}_5-2,3\text{MgO}$  (43S2,5: 43 % p/p en  $\text{SiO}_2$  y relación molar de 2,5 Ca/P), con un rango de tamaño de partícula menor a  $25\ \mu\text{m}$  y, aproximadamente, un 50 % p/p de NaCl como agente porogénico, con un tamaño de partícula entre  $100-500\ \mu\text{m}$ . El prensado uniaxial de las piezas en verde se realizó bajo una presión de 80 MPa con un sostenimiento de  $\sim 1$  min.

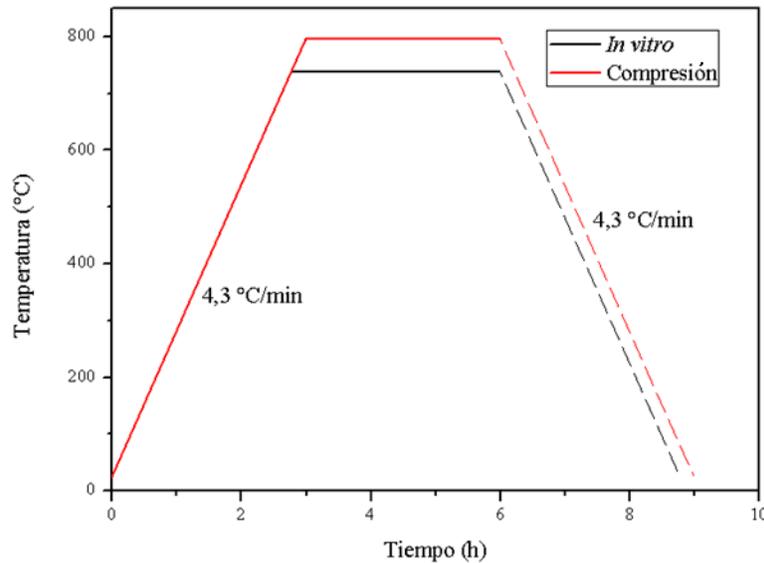
Bajo las anteriores condiciones se fabricaron dos tipos de probetas o *scaffolds* destinadas para su posible uso en ensayos de compresión e *in vitro*, tal como se pueden observar respectivamente en la Figura 14a y Figura 14b. La longitud final promedio de los *scaffolds* fue de 13,5 mm para las probetas fabricadas para un ensayo de compresión, según la norma ASTM C1326, y de 5,2 mm para las probetas fabricadas para un ensayo *in vitro* en SBF. Estas últimas se hicieron de menor tamaño para que requirieran menor solución fisiológica.



**Figura 14.** *Scaffolds* de dimensiones adecuadas para: a) ensayos de compresión y b) ensayos *in vitro*

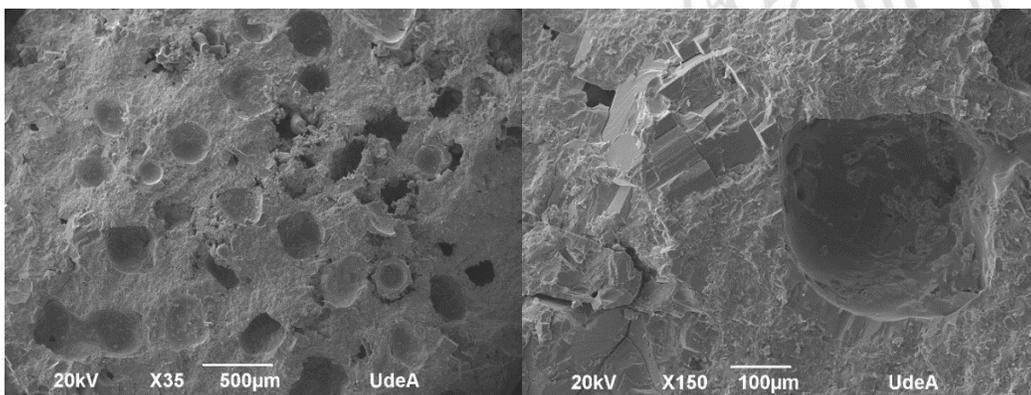
Aunque las condiciones de sinterización de las probetas se habían generalmente definido en las secciones anteriores, de acuerdo con las dimensiones de las probetas en verde se realizó un reajuste en las condiciones del tratamiento térmico. Las probetas destinadas para pruebas mecánicas fueron sometidas a una temperatura de  $796\ ^\circ\text{C}$  (correspondiente al 70 % de la temperatura de fusión), mientras que las de ensayo *in vitro* se sinterizaron a  $739\ ^\circ\text{C}$  (al 65 % de  $T_m$ ), a una velocidad de calentamiento de  $4,3\ ^\circ\text{C}/\text{min}$  (ver Figura 15) con un sostenimiento de 3 horas, con el fin de garantizar la mejor estabilidad mecánica de las probetas y la menor fusión posible del agente

porogénico ( $T_m$  del NaCl es  $\sim 801$  °C). Si bien anteriormente se había mencionado que la temperatura de 739 °C no había generado sinterización entre las partículas de vidrio bioactivo, ese análisis correspondía a las probetas de  $\sim 16$  mm. En el caso de las probetas de  $\sim 6$  mm de longitud, al ser de menor tamaño, se alcanza un mejor flujo viscoso bajo las condiciones de sinterización que permitió obtener una adecuada estabilidad estructural del *scaffold*.



**Figura 15.** Rampa de sinterización de las probetas para posibles ensayos de compresión e *in vitro*

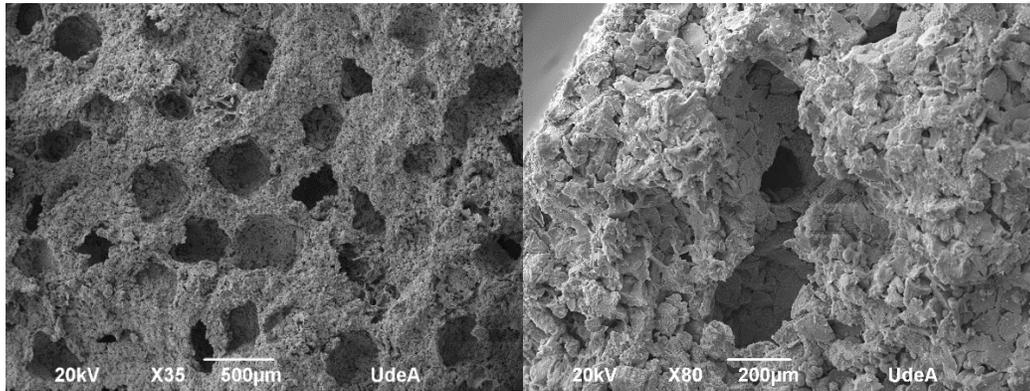
En la Figura 16 se observa la superficie de los *scaffolds* antes de la lixiviación del agente porogénico (NaCl). El tratamiento térmico de sinterización de los *scaffolds* generó que el NaCl se fundiera casi por completo formando un recubrimiento sobre la superficie de la estructura porosa. Sin embargo, durante el proceso, las partículas de vidrio lograron, antes de la fusión del NaCl, formar cuellos de sinterización que alcanzaron a copiar la morfología de las partículas del agente porogénico.



**Figura 16.** Imágenes SEM de los *scaffolds* antes del proceso de lixiviación del agente porogénico

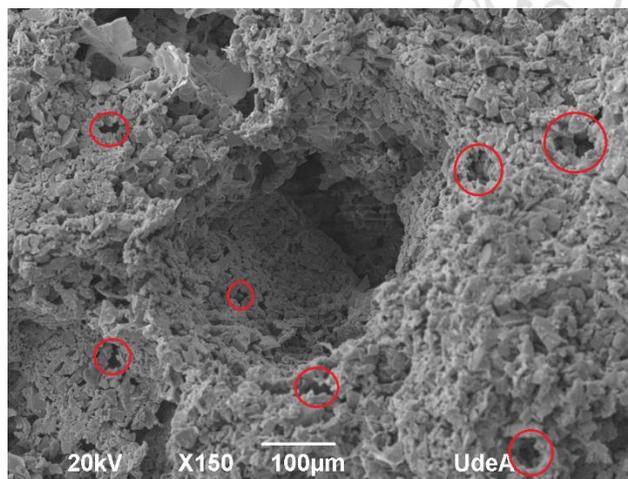
Por su parte, el proceso de solubilización de la sal que involucró cuatro ciclos permitió remover completamente el agente porogénico, lo que permitió revelar la porosidad remanente tanto de la superficie como del interior de los poros (ver Figura 17). El agente porogénico permitió a la vez promover la porosidad de acuerdo con la morfología de sus partículas y, gracias a su moderada

fusión ayudó a crear canales de interconexión entre la porosidad interna del *scaffold* que, en una eventual aplicación *in vitro*, sirven como guías para la revascularización y/o el crecimiento de nuevo tejido óseo [92].



**Figura 17.** Imágenes SEM de los *scaffolds* después del proceso de lixiviación del agente porogénico

Además de las concavidades de mayor tamaño, producto del agente porogénico, se encontraron microporos entre la red de partículas del *scaffold* con un diámetro promedio de 32,71 µm (ver Figura 18), los cuales son adecuados para el crecimiento y regeneración de tejidos, además de que promueve la osteoinducción a partir de la promoción inicial de la condrogénesis (proceso por el cual se desarrolla cartílago), seguido de la invasión vascular que conduce a la osteogénesis [61].



**Figura 18.** Microporosidad formada entre las partículas de vidrio 43S2,5

## 5 CONCLUSIONES

El método de fusión de una mezcla de óxidos y su posterior temple permitió elaborar el vidrio 43S2,5, cuya composición química en porcentaje en peso es 42,6 SiO<sub>2</sub>–26,7 Na<sub>2</sub>O–19,4 CaO–9,9 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>–1,5 MgO. Este sistema es muy similar al desarrollado por Hench para el 45S5 Bioglass<sup>®</sup>, cuyas características biológicas han sido muy apetecidas en la industria biomédica. Sin embargo, las adiciones de MgO en el vidrio buscaron compensar la disminución del contenido de fósforo que podrían resultar en una disminución de la cinética de formación de la capa de apatita.

El vidrio 43S2,5 con un rango de tamaño de partícula menor a 25 μm evidenció una mejor distribución de las partículas alrededor del agente porogénico y favoreció el empaquetamiento y apilamiento de las partículas, lo que permitió obtener probetas en verde dimensionalmente más estables y *scaffolds* mejor conformados debido a una mayor formación de cuellos de sinterización durante el tratamiento térmico.

El NaCl, en su rol de agente porogénico, presentó mejores resultados con el tamaño de partícula que iba de 100 a 500 μm, el cual, según la literatura, se ajusta a los requisitos mínimos que permiten el crecimiento de tejido sobre los *scaffolds*. Así mismo, este tamaño favoreció la distribución del vidrio alrededor de las partículas de sal facilitando la formación de la red interconectada de poros. Por su parte, el agente porogénico sirvió no sólo en la formación de porosidad residual después de la lixiviación, sino además promovió la formación de canales que interconectaron la porosidad de los *scaffolds* dada la moderada fusión que sufrió durante la sinterización de los *scaffolds*.

El control de las condiciones en el proceso de prensado de los *scaffolds* es una de las etapas claves en la elaboración de estas piezas debido a que definen no sólo la estabilidad de la pieza, sino la característica de la red de poros y microporos, así como las regiones de mayor densidad producto de una mejor sinterización por la mayor área de contacto/interacción entre partículas. En este estudio la presión de 80 MPa con un sostenimiento de 60 s permitió consolidar probetas estables con gran libertad de manipulación en verde y sin exceso de compactación que resultara en la fisuración o delaminación por una concentración localizada de esfuerzos.

Las fases cristalizadas, producto del proceso de sinterización de los *scaffolds*, fueron la Combeite y la Buchwaldite, comúnmente encontradas en biomateriales cerámicos e incluso en algunos polvos cristalinos altamente bioactivos basados en el sistema SiO<sub>2</sub>–CaO–Na<sub>2</sub>O–P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Estas fases durante ensayos *in vitro* en SBF evidencian comportamientos biológicos que favorecen la formación de capas de apatita desde la primera semana de inmersión, como ha indicado la literatura. Razón por la cual, a pesar de que la cristalización del vidrio puede alterar la cinética de la respuesta biológica del material, las condiciones de elaboración y sinterización de los *scaffolds* podrían evidenciar un adecuado comportamiento biológico para eventuales aplicaciones biomédicas.

## 6 RECOMENDACIONES

Con el fin de aumentar la superficie de contacto o intercambio iónico que tendría el *scaffold* con el fluido biológico *in vitro* o *in vivo* se aconsejaría incrementar poco a poco el porcentaje en peso del agente porogénico sin que se vea afectada la estabilidad dimensional y estructural del *scaffold*.

El proceso de sinterización de los *scaffolds* podría realizarse a menor temperatura, pero con un mayor tiempo de sostenimiento y una menor velocidad de calentamiento, lo que asegure una completa y homogénea sinterización de la estructura externa e interna. Adicionalmente, al someter el vidrio bioactivo a una temperatura más baja es posible que se generen menos alteraciones a la estructura atómica del material, conservando así, aún más, su condición amorfa.

Un posible paso por seguir en la investigación de estos *scaffolds* sería la medición de sus propiedades físicas a través una prueba mecánica realizada a las probetas infiltradas en su estructura porosa con nanopartículas de zirconia mediante un mecanismo de infiltración como, por ejemplo, el método de vacío. Para esta situación, los *scaffolds* serían sometidos a una presinterización a baja temperatura para dar estabilidad mecánica a la estructura, luego se realizaría la infiltración de la zirconia nanométrica mediante una suspensión de estas partículas y, posteriormente, se realizaría una nueva sinterización que permita dar una unión más adecuada a las partículas de vidrio y, estas a su vez, se integren a las nanopartículas de zirconia.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

- [1] L. L. Hench, R. J. Splinter, W. C. Allen, y T. K. Greenlee, “Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials”, *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 5, núm. 6, pp. 117–141, nov. 1971.
- [2] S. Lopez-Esteban, E. Saiz, S. Fujino, T. Oku, K. Suganuma, y A. P. Tomsia, “Bioactive glass coatings for orthopedic metallic implants”, *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 23, núm. 15, pp. 2921–2930, ene. 2003.
- [3] D. R. Bloyer, J. M. Gomez-Vega, E. Saiz, J. M. McNaney, R. M. Cannon, y A. P. Tomsia, “Fabrication and characterization of a bioactive glass coating on titanium implant alloys”, *Acta Materialia*, vol. 47, núm. 15, pp. 4221–4224, nov. 1999.
- [4] R. Xin, Y. Leng, J. Chen, y Q. Zhang, “A comparative study of calcium phosphate formation on bioceramics in vitro and in vivo”, *Biomaterials*, vol. 26, núm. 33, pp. 6477–6486, nov. 2005.
- [5] N. Mirhosseini, P. L. Crouse, L. Li, y D. Garrod, “Combined laser/sol-gel synthesis of calcium silicate coating on Ti-6Al-4V substrates for improved cell integration”, *Applied Surface Science*, vol. 253, núm. 19, pp. 7998–8002, jul. 2007.
- [6] L. C. Gerhardt y A. R. Boccaccini, “Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering”, *Materials*, vol. 3, núm. 7, pp. 3867–3910, jul. 2010.
- [7] I. D. Thompson y L. L. Hench, “Mechanical properties of bioactive glasses, glass-ceramics and composites”, *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, vol. 212, núm. 2, pp. 127–136, feb. 1998.
- [8] I. Notingher, A. R. Boccaccini, J. Jones, V. Maquet, y L. L. Hench, “Application of Raman microspectroscopy to the characterisation of bioactive materials”, *Materials Characterization*, vol. 49, núm. 3, pp. 255–260, oct. 2002.
- [9] M. Monsalve, “Síntesis y Deposición de Biovidrios Pertenecientes al Sistema  $31\text{SiO}_2\text{-}11\text{P}_2\text{O}_5\text{-(}58\text{-X)CaO-XMgO}$  sobre Aleaciones de Titanio y Acero AISI 316L mediante Proyección Térmica”, 2014.
- [10] J. Ma, C. Z. Chen, D. G. Wang, Y. Jiao, y J. Z. Shi, “Effect of magnesia on the degradability and bioactivity of sol-gel derived  $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$  system glasses”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 81, núm. 1, pp. 87–95, nov. 2010.
- [11] J. M. Oliveira, R. N. Correia, y M. H. Fernandes, “Effects of Si speciation on the in vitro bioactivity of glasses”, *Biomaterials*, vol. 23, núm. 2, pp. 371–379, ene. 2002.
- [12] J. Massera, L. Hupa, y M. Hupa, “Influence of the partial substitution of CaO with MgO on the thermal properties and in vitro reactivity of the bioactive glass S53P4”, *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 358, núm. 18–19, pp. 2701–2707, sep. 2012.
- [13] L. U. D. E. Rennes y E. Dietrich, “Synthèse et études physico-chimiques de verres bioactifs denses et poreux . Applications en tant que biomatériaux en sites osseux .”, *Sciences-New York*, 2008.
- [14] J. A. Helsen, J. Proost, J. Schrooten, G. Timmermans, E. Brauns, y J. Vanderstraeten, “Glasses and Bioglasses: Synthesis and Coatings”, *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 17, núm. 2–3, pp. 147–152, ene. 1997.
- [15] R. Sergi, D. Bellucci, y V. Cannillo, “A comprehensive review of bioactive glass coatings: State of the art, challenges and future perspectives”, *Coatings*, vol. 10, núm. 8, p. 757, ago. 2020.
- [16] D. W. Huttmacher, “Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage”, *Biomaterials*, vol.

- 21, núm. 24, pp. 2529–2543, dic. 2000.
- [17] F. Baino y C. Vitale-Brovarone, “Three-dimensional glass-derived scaffolds for bone tissue engineering: Current trends and forecasts for the future”, *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, vol. 97 A, núm. 4, pp. 514–535, jun. 2011.
- [18] Q. Z. Chen, I. D. Thompson, y A. R. Boccaccini, “45S5 Bioglass®-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering”, *Biomaterials*, vol. 27, núm. 11, pp. 2414–2425, abr. 2006.
- [19] M. N. Rahaman *et al.*, “Bioactive glass in tissue engineering”, *Acta Biomaterialia*, vol. 7, núm. 6, pp. 2355–2373, jun. 2011.
- [20] W. Li, Y. Ding, R. Rai, J. A. Roether, D. W. Schubert, y A. R. Boccaccini, “Preparation and characterization of PHBV microsphere/45S5 bioactive glass composite scaffolds with vancomycin releasing function”, *Materials Science and Engineering C*, vol. 41, pp. 320–328, 2014.
- [21] G. Binyamin, B. M. Shafi, y C. M. Mery, “Biomaterials: A primer for surgeons”, *Seminars in Pediatric Surgery*, vol. 15, núm. 4, pp. 276–283, nov. 2006.
- [22] S. V. Dorozhkin, “Bioceramics of calcium orthophosphates”, *Biomaterials*, vol. 31, núm. 7, pp. 1465–1485, mar. 2010.
- [23] W. Cao y L. L. Hench, “Bioactive materials”, *Ceramics International*, vol. 22, núm. 6, pp. 493–507, ene. 1996.
- [24] F. Baino, G. Novajra, y C. Vitale-Brovarone, “Bioceramics and scaffolds: A winning combination for tissue engineering”, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 3, p. 202, dic. 2015.
- [25] Z. Imran, “Bioactive Glass: A Material for the Future”, *World Journal of Dentistry*, vol. 3, núm. 2, pp. 199–201, 2012.
- [26] L. L. Hench y J. K. West, *Biological applications of bioactive glasses*, vol. 13. Life chemistry reports, 1996.
- [27] F. Zivic, S. Affatato, M. Trajanovic, M. Schnabelrauch, N. Grujovic, y K. L. Choy, *Biomaterials in clinical practice: Advances in clinical research and medical devices*. Cham: Springer International Publishing, 2017.
- [28] T. Kokubo, H. M. Kim, y M. Kawashita, “Novel bioactive materials with different mechanical properties”, *Biomaterials*, vol. 24, núm. 13, pp. 2161–2175, jun. 2003.
- [29] T. A. D. Cadoux-Hudson *et al.*, “Biochemical changes within a multiple sclerosis plaque in vivo”, *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, vol. 54, núm. 11, pp. 1004–1006, ene. 1991.
- [30] H. E. Skallevoid, D. Rokaya, Z. Khurshid, y M. S. Zafar, “Bioactive glass applications in dentistry”, *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, núm. 23, p. 5960, nov. 2019.
- [31] M. Goldberg *et al.*, “The impact of bioactive molecules to stimulate tooth repair and regeneration as part of restorative dentistry”, *Dental Clinics of North America*, vol. 50, núm. 2, pp. 277–298, abr. 2006.
- [32] V. Campana *et al.*, “Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 25, núm. 10, pp. 2445–2461, oct. 2014.
- [33] S. Ali, I. Farooq, y K. Iqbal, “A review of the effect of various ions on the properties and the clinical applications of novel bioactive glasses in medicine and dentistry”, *Saudi Dental Journal*, vol. 26, núm. 1, pp. 1–5, ene. 2014.
- [34] L. L. Hench, “The story of Bioglass®”, *Journal of Materials Science: Materials in*

- Medicine*, vol. 17, núm. 11, pp. 967–978, nov. 2006.
- [35] H. R. Fernandes, A. Gaddam, A. Rebelo, D. Brazete, G. E. Stan, y J. M. F. Ferreira, “Bioactive glasses and glass-ceramics for healthcare applications in bone regeneration and tissue engineering”, *Materials*, vol. 11, núm. 12, p. 2530, dic. 2018.
- [36] S. Sarin y A. Rekhi, “Bioactive glass: A potential next generation biomaterial”, *SRM Journal of Research in Dental Sciences*, vol. 7, núm. 1, p. 27, 2016.
- [37] J. R. Jones, E. Gentleman, y J. Polak, “Bioactive glass scaffolds for bone regeneration”, *Elements*, vol. 3, núm. 6, pp. 393–399, dic. 2007.
- [38] Z. Khurshid *et al.*, “Novel Techniques of Scaffold Fabrication for Bioactive Glasses”, en *Biomedical, Therapeutic and Clinical Applications of Bioactive Glasses*, G. B. T.-B. Kaur Therapeutic and Clinical Applications of Bioactive Glasses, Ed. Elsevier, 2019, pp. 497–519.
- [39] M. Vallet-Regí, *Bio-Ceramics with Clinical Applications*, vol. 9781118406. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2014.
- [40] J. R. Jones y A. G. Clare, *Bio-Glasses: An Introduction*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2012.
- [41] R. Borges, K. C. Kai, y J. Marchi, “Biocompatible glasses for controlled release technology”, en *Advanced Structured Materials*, vol. 53, J. Marchi, Ed. Cham: Springer International Publishing, 2016, pp. 285–315.
- [42] W. Vogel, “Crystallization of Glasses”, en *Glass Chemistry*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1994, pp. 280–362.
- [43] A. K. Varshneya y J. C. Mauro, *Fundamentals of inorganic glasses*. Elsevier, 2019.
- [44] Y. M. Moustafa y K. El-Egili, “Infrared spectra of sodium phosphate glasses”, *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 240, núm. 1–3, pp. 144–153, oct. 1998.
- [45] R. K. Brow, “Review: the structure of simple phosphate glasses”, *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 263, pp. 1–28, mar. 2000.
- [46] S. G. Motke, S. P. Yawale, y S. S. Yawale, “Infrared spectra of zinc doped lead borate glasses”, *Bulletin of Materials Science*, vol. 25, núm. 1, pp. 75–78, feb. 2002.
- [47] H. Fan, L. del Campo, V. Montouillout, y M. Malki, “Ionic conductivity and boron anomaly in binary lithium borate melts”, *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 543, p. 120160, sep. 2020.
- [48] M. Bengisu, “Borate glasses for scientific and industrial applications: a review”, *Journal of Materials Science*, vol. 51, núm. 5, pp. 2199–2242, mar. 2016.
- [49] A. E. Fetner, M. S. Hartigan, y S. B. Low, “Periodontal repair using PerioGlas in nonhuman primates: clinical and histologic observations.”, *Compendium (Newtown, Pa.)*, vol. 15, núm. 7, pp. 932, 935–8; quiz 939, jul. 1994.
- [50] N. L. de Macedo, F. da S. Matuda, L. G. S. de Macedo, M. B. Gonzales, S. M. Ouchi, y Y. R. Carvalho, “Bone defect regeneration with bioactive glass implantation in rats”, *Journal of Applied Oral Science*, vol. 12, núm. 2, pp. 137–143, jun. 2004.
- [51] BioMin®, “How is BioMin® different from NovaMin®? | BioMin Technologies Limited - Armour for Teeth”. [En línea]. Disponible en: <http://www.biomin.co.uk/science-information/bioactive-glasses/biomintm-vs-novaminr>. [Consultado: 29-sep-2020].
- [52] N. Kamaly, B. Yameen, J. Wu, y O. C. Farokhzad, “Degradable controlled-release polymers and polymeric nanoparticles: Mechanisms of controlling drug release”, *Chemical Reviews*, vol. 116, núm. 4, pp. 2602–2663, feb. 2016.
- [53] R. M. Nerem, “Cellular engineering”, *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 19, núm. 5, pp. 529–545, sep. 1991.

- [54] J. R. Jones, L. M. Ehrenfried, y L. L. Hench, “Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering”, *Biomaterials*, vol. 27, núm. 7, pp. 964–973, mar. 2006.
- [55] I. D. Xynos, A. J. Edgar, L. D. K. Buttery, L. L. Hench, y J. M. Polak, “Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass® 45S5 dissolution”, *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 55, núm. 2, pp. 151–157, may 2001.
- [56] A. A. Gorustovich, J. A. Roether, y A. R. Boccaccini, “Effect of bioactive glasses on angiogenesis: a review of in vitro and in vivo evidences.”, *Tissue engineering. Part B, Reviews*, vol. 16, núm. 2, pp. 199–207, abr. 2010.
- [57] X. Liu, M. N. Rahaman, G. E. Hilmas, y B. S. Bal, “Mechanical properties of bioactive glass (13-93) scaffolds fabricated by robotic deposition for structural bone repair”, *Acta Biomaterialia*, vol. 9, núm. 6, pp. 7025–7034, jun. 2013.
- [58] Q. Fu, E. Saiz, M. N. Rahaman, y A. P. Tomsia, “Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: State of the art and future perspectives”, *Materials Science and Engineering C*, vol. 31, núm. 7, pp. 1245–1256, oct. 2011.
- [59] M. E. Davis, P. C. H. Hsieh, A. J. Grodzinsky, y R. T. Lee, “Custom design of the cardiac microenvironment with biomaterials”, *Circulation Research*, vol. 97, núm. 1, pp. 8–15, jul. 2005.
- [60] S. Limmahakhun, A. Oloyede, K. Sittthiseripratip, Y. Xiao, y C. Yan, “3D-printed cellular structures for bone biomimetic implants”, *Additive Manufacturing*, vol. 15, pp. 93–101, may 2017.
- [61] T. S. Karande, J. L. Ong, y C. M. Agrawal, “Diffusion in musculoskeletal tissue engineering scaffolds: Design issues related to porosity, permeability, architecture, and nutrient mixing”, *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 32, núm. 12, pp. 1728–1743, dic. 2004.
- [62] A. K. Salem *et al.*, “Interactions of 3T3 fibroblasts and endothelial cells with defined pore features”, *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 61, núm. 2, pp. 212–217, ago. 2002.
- [63] V. Karageorgiou y D. Kaplan, “Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis”, *Biomaterials*, vol. 26, núm. 27, pp. 5474–5491, sep. 2005.
- [64] Q. L. Loh y C. Choong, “Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: Role of porosity and pore size”, *Tissue Engineering - Part B: Reviews*, vol. 19, núm. 6, pp. 485–502, dic. 2013.
- [65] S. M. Lien, L. Y. Ko, y T. J. Huang, “Effect of pore size on ECM secretion and cell growth in gelatin scaffold for articular cartilage tissue engineering”, *Acta Biomaterialia*, vol. 5, núm. 2, pp. 670–679, feb. 2009.
- [66] T. B. Wissing, V. Bonito, C. V. C. Bouten, y A. I. P. M. Smits, “Biomaterial-driven in situ cardiovascular tissue engineering—a multi-disciplinary perspective”, *npj Regenerative Medicine*, vol. 2, núm. 1, p. 18, dic. 2017.
- [67] K. J. L. Burg, S. Porter, y J. F. Kellam, “Biomaterial developments for bone tissue engineering”, *Biomaterials*, vol. 21, núm. 23, pp. 2347–2359, dic. 2000.
- [68] A. Saberi, F. Jabbari, P. Zarrintaj, M. R. Saeb, y M. Mozafari, “Electrically conductive materials: Opportunities and challenges in tissue engineering”, *Biomolecules*, vol. 9, núm. 9, p. 448, sep. 2019.
- [69] T. L. Jenkins y D. Little, “Synthetic scaffolds for musculoskeletal tissue engineering: cellular responses to fiber parameters”, *npj Regenerative Medicine*, vol. 4, núm. 1, p. 15, dic. 2019.

- [70] H. Abukawa *et al.*, “The engineering of craniofacial tissues in the laboratory: A review of biomaterials for scaffolds and implant coatings”, *Dental Clinics of North America*, vol. 50, núm. 2, pp. 205–216, abr. 2006.
- [71] M. Mehrasa *et al.*, “Incorporation of mesoporous silica nanoparticles into random electrospun PLGA and PLGA/gelatin nanofibrous scaffolds enhances mechanical and cell proliferation properties”, *Materials Science and Engineering C*, vol. 66, pp. 25–32, sep. 2016.
- [72] K. Kosowska y M. Henczka, “The influence of supercritical foaming conditions on properties of polymer scaffolds for tissue engineering”, *Chemical and Process Engineering - Inzynieria Chemiczna i Procesowa*, vol. 38, núm. 4, pp. 535–541, dic. 2017.
- [73] E. Babaie y S. B. Bhaduri, “Fabrication Aspects of Porous Biomaterials in Orthopedic Applications: A Review”, *ACS Biomaterials Science and Engineering*, vol. 4, núm. 1, pp. 1–39, ene. 2018.
- [74] S. Yang, K. F. Leong, Z. Du, y C. K. Chua, “The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques”, *Tissue Engineering*, vol. 8, núm. 1, pp. 1–11, feb. 2002.
- [75] A. R. C. Duarte, J. F. Mano, y R. L. Reis, “Preparation of starch-based scaffolds for tissue engineering by supercritical immersion precipitation”, *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 49, núm. 2, pp. 279–285, jun. 2009.
- [76] J. Tessmar, T. Holland, y A. Mikos, “SaltLeachingforPolymerScaffolds.pdf”, *Scaffolding in Tissue Engineeirng*. 2006.
- [77] H. R. Ramay y M. Zhang, “Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods”, *Biomaterials*, vol. 24, núm. 19, pp. 3293–3302, ago. 2003.
- [78] I. Izquierdo-Barba y M. Vallet-Regi, “Mesoporous bioactive glasses: Relevance of their porous structure compared to that of classical bioglasses”, *Biomedical Glasses*, vol. 1, núm. 1, pp. 140–150, ene. 2015.
- [79] A. Itälä, J. Koort, H. O. Ylänen, M. Hupa, y H. T. Aro, “Biologic significance of surface microroughing in bone incorporation of porous bioactive glass implants”, *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, vol. 67, núm. 2, pp. 496–503, nov. 2003.
- [80] D. Zhao, N. Moritz, E. Vedel, L. Hupa, y H. T. Aro, “Mechanical verification of soft-tissue attachment on bioactive glasses and titanium implants”, *Acta Biomaterialia*, vol. 4, núm. 4, pp. 1118–1122, jul. 2008.
- [81] R. D. Goodridge, D. J. Wood, C. Ohtsuki, y K. W. Dalgarno, “Biological evaluation of an apatite-mullite glass-ceramic produced via selective laser sintering”, *Acta Biomaterialia*, vol. 3, núm. 2, pp. 221–231, mar. 2007.
- [82] K. Rezwani, Q. Z. Chen, J. J. Blaker, y A. R. Boccaccini, “Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering”, *Biomaterials*, vol. 27, núm. 18, pp. 3413–3431, jun. 2006.
- [83] Q. Fu, E. Saiz, y A. P. Tomsia, “Bioinspired strong and highly porous glass scaffolds”, *Advanced Functional Materials*, vol. 21, núm. 6, pp. 1058–1063, mar. 2011.
- [84] Y. Zhu, Y. Zhang, C. Wu, Y. Fang, J. Yang, y S. Wang, “The effect of zirconium incorporation on the physiochemical and biological properties of mesoporous bioactive glasses scaffolds”, *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 143, núm. 2–3, pp. 311–319, 2011.
- [85] C. Shuai *et al.*, “Mechanisms of tetraneedlelike ZnO whiskers reinforced forsterite/bioglass scaffolds”, *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 636, pp. 341–347,

- jul. 2015.
- [86] A. R. Boccaccini y J. J. Blaker, “Bioactive composite materials for tissue engineering scaffolds”, *Expert Review of Medical Devices*, vol. 2, núm. 3, pp. 303–317, may 2005.
- [87] S. Yang, K. F. Leong, Z. Du, y C. K. Chua, “The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors”, *Tissue Engineering*, vol. 7, núm. 6, pp. 679–689, dic. 2001.
- [88] Q. Hou, D. W. Grijpma, y J. Feijen, “Porous polymeric structures for tissue engineering prepared by a coagulation, compression moulding and salt leaching technique”, *Biomaterials*, vol. 24, núm. 11, pp. 1937–1947, may 2003.
- [89] D. Bellucci, V. Cannillo, y A. Sola, “A New Highly Bioactive Composite for Scaffold Applications: A Feasibility Study”, *Materials*, vol. 4, núm. 2, pp. 339–354, ene. 2011.
- [90] D. Bellucci, V. Cannillo, A. Sola, F. Chiellini, M. Gazzarri, y C. Migone, “Macroporous Bioglass®-derived scaffolds for bone tissue regeneration”, *Ceramics International*, vol. 37, núm. 5, pp. 1575–1585, jul. 2011.
- [91] O. Bretcanu, X. Chatzistavrou, K. Paraskevopoulos, R. Conradt, I. Thompson, y A. R. Boccaccini, “Sintering and crystallisation of 45S5 Bioglass® powder”, *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 29, núm. 16, pp. 3299–3306, 2009.
- [92] L. L. Hench, *An Introduction to Bioceramics*, vol. 19, núm. 23. IMPERIAL COLLEGE PRESS, 2013.
- [93] L. Altomare *et al.*, “Microstructure and in vitro behaviour of 45S5 bioglass coatings deposited by high velocity suspension flame spraying (HVSFS)”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 22, núm. 5, pp. 1303–1319, 2011.
- [94] J. Liu, S. C. F. Rawlinson, R. G. Hill, y F. Fortune, “Strontium-substituted bioactive glasses in vitro osteogenic and antibacterial effects”, *Dental Materials*, vol. 32, núm. 3, pp. 412–422, 2016.
- [95] C. C. Lin, L. C. Huang, y P. Shen, “Na<sub>2</sub>CaSi<sub>2</sub>O<sub>6</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> based bioactive glasses. Part 1: Elasticity and structure”, *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 351, núm. 40–42, pp. 3195–3203, 2005.
- [96] C. Gabbi y A. Cacchioli, “Bioactive glass coating : physicochemical aspects and biological findings”, vol. 16, núm. 7, 1995.
- [97] F. Z. Mezahi, A. Lucas- Girot, H. Oudadesse, y A. Harabi, “Reactivity features of original sol-gel-derived 52S4 glass versus heat treatment temperature”, *Journal of the Australian Ceramic Society*, vol. 54, núm. 4, pp. 609–619, 2018.
- [98] R. L. Siqueira y E. D. Zanotto, “Facile route to obtain a highly bioactive SiO<sub>2</sub>-CaO-Na<sub>2</sub>O-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> crystalline powder”, *Materials Science and Engineering C*, vol. 31, núm. 8, pp. 1791–1799, 2011.