

UNIVERSIDAD NACIONAL DE GENERAL SAN MARTIN  
COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA  
INSTITUTO DE TECNOLOGÍA  
“Prof. Jorge A. Sabato”

Aleación Zr-2.5%Nb para la potencial fabricación de  
implantes permanentes. Evaluación electroquímica y de  
biocompatibilidad <sup>(\*)</sup>

Autora: Ing. M. Belén Galíndez Cuzzo

Directores

Dra. Silvia Farina  
Dr. Daniel G. Olmedo

<sup>(\*)</sup> Tesis para optar al título de *Magister en Ciencia y Tecnología de Materiales*

República Argentina

2017

## RESUMEN

Se estudió la aleación Zr-2.5%Nb para utilizarla como potencial material implantable para la fabricación de dispositivos oseointegrables de uso biomédico. Con el objetivo de evaluar las propiedades anticorrosivas y optimizar la oseointegración, se anodizaron probetas en solución de ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) durante 60 minutos a potenciales de 30V, 60V, 90V y 120V. Se caracterizaron los colores de los óxidos obtenidos para los diferentes potenciales aplicados. Se estudió mediante microscopia electrónica de barrido (MEB) la morfología del film anódico crecido en las probetas anodizadas como así también se evaluaron sus componentes químicos por espectroscopia dispersiva de energía (EDS). Se evaluó mediante diversos parámetros de rugosidad, la superficie de las probetas anodizadas a diferentes potenciales respecto de las probetas sin anodizar.

Con el objetivo de evaluar la resistencia a la corrosión, se realizaron ensayos en solución simulada de fluido biológico (SBF), reproduciendo las condiciones del medioambiente al que estarán sometidos los implantes durante su vida útil. Previamente a estos ensayos, las muestras fueron inmersas en SBF durante períodos de 24 horas y 30 días, para estudiar el efecto del tiempo de inmersión en SBF. Se trazaron curvas de polarización anódica en solución SBF de las muestras anodizadas a diferentes potenciales como de muestras sin anodizar. Luego del trazado de las curvas se procedió a estudiar las morfologías superficiales mediante MEB y al estudio de los compuestos químicos mediante EDS.

Para evaluar la respuesta biológica en relación con la capacidad de oseointegración de las variables en estudio, se utilizó el modelo experimental *in vivo* del laminar Implant Test. Se implantaron en las tibias de las ratas muestras anodizadas (30V, 60V, 90V y 120V) y sin anodizar (0V), siendo éste el patrón de control. Luego de 30 días de implantación, se practicó la eutanasia de los animales, las tibias fueron resecadas e incluidas en resina acrílica. Se obtuvieron cortes por desgaste coloreados con azul de toluidina al 1%. Posteriormente se realizó el estudio histológico e histomorfométrico, determinándose el grado de oseointegración y el volumen de tejido óseo neoformado en relación a las muestras implantadas.

Se mostró que el anodizado de la aleación Zr-2.5%Nb mejora la resistencia a la corrosión, como así también su capacidad de oseointegración.

El mayor porcentaje de oseointegración ocurrió en muestras a 30V y 120V, pero al evaluar en conjunto el mejor comportamiento biológico, las muestras anodizadas a 120V fueron las que presentaron el menor volumen óseo peri-implante, resultando tener un mayor porcentaje de oseointegración las muestras anodizadas a 30V respecto del resto de probetas.

El éxito clínico de un implante requiere la óptima combinación entre un adecuado volumen óseo peri-implante y una apropiada oseointegración. Es por ello que de todos los potenciales evaluados, el anodizado de 30V resultó ser el óptimo desde el punto de vista biológico presentando un porcentaje de oseointegración del 30% superior al Zr-2.5%Nb sin anodizar, que fue del 12%, y al resto de los potenciales; y un volumen óseo peri-implante de  $30.000 \mu\text{m}^2$  similar al control,  $38.000 \mu\text{m}^2$ .

De esta forma se pudo evidenciar la factibilidad del uso de la aleación de Zr-2.5%Nb como potencial material de implante, a través del estudio *in vitro* en soluciones simuladas de fluido biológico y el estudio *in vivo* mediante prácticas experimentales en animales.

**Palabras clave:** Zr-2.5%Nb, implantes, anodizado, corrosión, oseointegración.

## ABSTRACT

Zr-2.5% Nb was studied to be used as a potential implantable material for the manufacture of osseointegrating biomedical devices. In order to improve osseointegration and to increase its anticorrosive properties, probes were anodized in H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> solution for 60 minutes at different potentials (30V, 60V, 90V and 120V). Different colors of anodized samples were obtained at different potentials. The morphology and the chemical composition of the anodic films were studied by scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectrometry (EDS). The surface of the anodized test specimens was evaluated through different roughness parameters.

In order to evaluate the corrosion resistance of the material obtained, electrochemical tests were performed in simulated biological fluid (SBF) solutions, reproducing the environmental conditions to which the implants will be subjected during their useful life. Prior to these tests, the samples were immersed in SBF for periods of 24 hours and 30 days, to study the effect of immersion time in SBF. Anodic polarization curves were recorded after the different time periods in SBF solution for specimens that had been anodized at different potentials as well as for those that had not undergone the anodizing process (control specimens). After the electrochemical tests, the morphology and chemical composition of the surfaces were studied by SEM/EDS analysis.

*In vivo* studies were performed with the aim at evaluating the osseointegration capacity. Anodized samples were implanted at the studied voltages 30V, 60V, 90V and 120V, as well as 0V, being this the control pattern. This study was performed in Wistar rats using the laminar test experimental model. After 30 days of implantation, the degree of osseointegration and the new bone volume around the implanted samples were determined.

It was found that the anodization of Zr-2.5% Nb improves its resistance to corrosion, as well as its osseointegration capacity, measured through the percentage of osseointegration.

The highest percentage of osseointegration occurred in samples anodized at 30V and 120V, but samples anodized at 120V showed the lowest peri-implant bone volume.

The clinical success of an implant requires the optimum combination between an adequate peri-implant bone volume and an appropriate osseointegration, characteristics that were found only on samples anodized to 30V potential. Therefore, 30V is the ideal anodizing potential from the biological point of view, presenting a percentage of osseointegration of 30%, higher than those obtained in non-anodized Zr-2.5%Nb and in anodized specimens at the other anodizing potentials; and a peri-implant bone volume of 30,000  $\mu\text{m}^2$ , similar to the control specimen which was of 38,000  $\mu\text{m}^2$ .

In this way, the feasibility of using the Zr-2.5% Nb alloy as potential implant material was demonstrated through *in vitro* study in simulated biological fluid solutions and *in vivo* studies using an experimental animal model.

**Key words:** Zr-2.5%Nb, implants, anodized, corrosion, osseointegration.

### **PRESENTACIONES A CONGRESOS**

Aleación de circonio-niobio (Zr-2.5Nb) anodizada para implantes biomédicos. Evaluación electroquímica y de biocompatibilidad. Galíndez Cuozzo MB, Farina S, Renou SJ, Olmedo DG. XLIX Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Odontológica. División Argentina de la Internacional Association for Dental Research. Mar del Plata, Buenos Aires. 10-12 de noviembre 2016.

Evaluación electroquímica y de biocompatibilidad de la aleación Zr-2,5Nb para la fabricación de implantes permanentes

S. Farina, B. Galíndez Cuozzo, S. Renou y D. Olmedo

17º Congreso Internacional de Metalurgia y Materiales SAM-CONAMET 2017, Copiapó, Chile, Octubre 2017 (aceptado para su presentación oral).

### **PROYECTOS CIENTÍFICOS-TECNOLÓGICOS EN LOS QUE PARTICIPÓ ESTE TRABAJO DE TESIS**

Proyecto de la Gerencia de Materiales (CNEA) GMAT 2016: TRATAMIENTOS SUPERFICIALES SOBRE ACEROS Y ALEACIONES BASE TITANIO Y CIRCONIO PARA LA POTENCIAL FABRICACIÓN DE IMPLANTES. EVALUACION ELECTROQUIMICA Y DE BIOCOPATIBILIDAD.

Universidad de Buenos Aires - UBACyT 00032BA y UBACyT 00332BA.

CONICET: PIP 11220130100091.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a todos aquellos que estuvieron durante esta etapa de mi vida:

- A Dios y María Auxiliadora
- A mi familia, que a pesar de la distancia, están presente en todo momento de mi día y son el empuje, las ganas, el esfuerzo y la alegría.
- A mis compañeros y amigos de Maestría, por el apoyo, las risas y los momentos compartidos, fueron la mayor recompensa en esta etapa.
- A mis amigos de Tucumán y los “Biomédicos en Buenos Aires”.
- A Silvia Farina, por su compromiso y ayuda
- A Daniel Olmedo, por su conocimiento y por brindármelo
- A Sandra Renou, por su ayuda desinteresada en más de una oportunidad

## **INDICE**

### **CAPITULO I: INTRODUCCION**

1.1	Biomateriales	9
1.1.1	Definición	9
1.1.2	Clasificación de biomateriales según su respuesta al contacto con el tejido orgánico	10
1.1.3	Clasificación de los biomateriales según su naturaleza	11
1.1.4	Aplicaciones más frecuentes de los biomateriales	11
	Ortopedia	15
	Aplicaciones cardiovasculares	16
	Oftalmología	16
	Odontología	17
1.1.5	Biocompatibilidad	18
1.1.6	Factores influyentes en la biocompatibilidad	18
1.2	Biometales	19
1.2.1	Circonio	21
1.2.2	Niobio	24
1.2.3	Aleación Zr-2.5%Nb	25
1.3	Respuesta del cuerpo a los implantes	27
1.4	Generalidades del tejido óseo	28
1.4.1	Naturaleza del proceso de oseointegración	31
1.5	Técnicas de modificación superficial	31
1.6	Corrosión	32
1.6.1	Clasificación de los procesos de corrosión	32
1.7	Corrosión y superficie de biomateriales metálicos	33
1.8	Antecedentes del presente trabajo	35
1.9	Objetivos del presente trabajo	36
1.10	Bibliografía	38

### **CAPITULO II: MATERIALES Y METODOS**

2.1	Introducción	43
2.2	Preparación de las muestras	43
2.2.1	Modificación superficial: anodizado	44
2.2.2	Caracterización superficial	45
2.3	Ensayos <i>in vitro</i>	48
2.4	Ensayos <i>in vivo</i>	49
2.4.1	Animales de experimentación	49
2.4.2	Características del implante	49
2.4.3	Procedimiento quirúrgico	50
2.4.4	Procedimiento histológico	53
2.4.5	Análisis histomorfométrico	55

2.5	Bibliografía	56
-----	--------------	----

### **CAPITULO III: ANODIZADO Y ESTRUCTURA SUPERFICIAL**

3.1	Introducción	57
3.2	Resultados y discusión	59
3.2.1	Anodizado	59
3.2.1.1	Micrografías en microscopio electrónico de barrido	59
3.2.1.2	Análisis químico	65
3.2.1.3	Rugosidad	68
3.2.2	Anodizado de muestras extras	73
3.3	Conclusiones	74
3.4	Bibliografía	76

### **CAPITULO IV: EVALUACION ELECTROQUIMICA DEL ZR-2.5%NB ANODIZADO**

4.1	Introducción	78
4.2	Resultados y discusión	80
4.2.1	Probetas inmersas en solución simulada de fluido biológico durante 24 horas	80
4.2.1.1	Medición del potencial de corrosión (Ecorr)	80
4.2.1.2	Trazado de curvas de polarización	81
4.2.1.3	Observación de muestra en MEB	85
4.2.2	Probetas inmersas en solución SBF durante 30 días	91
4.2.2.1	Medición del potencial de corrosión (Ecorr)	91
4.2.2.2	Trazado de curvas de polarización	92
4.2.2.3	Observación de muestras en MEB	98
4.2.3	Efecto del tiempo de inmersión previo en solución SBF	103
4.3	Conclusiones	108
4.4	Bibliografía	109

### **CAPITULO V: COMPORTAMIENTO *IN VIVO***

5.1	Introducción	111
5.2	Resultados y discusión	111
5.2.1	Estudio histológico	111
5.2.2	Análisis histomorfométrico	113
5.3	Conclusiones	120
5.4	Bibliografía	121

### **CAPITULO VI: CONCLUSIONES FINALES** 123

**Capítulo I: INTRODUCCIÓN**

**1.1 - Biomateriales**

**1.1.1-Definición**

Se define como biomaterial a cualquier sustancia o combinación de sustancias de origen natural o artificial que puede ser usada durante cierto tiempo como un todo o como parte de un sistema que permite tratar, aumentar o reemplazar algún tejido, órgano o función del cuerpo humano [1].

Los biomateriales son empleados en distintos contextos y cada uno de ellos asociado a algún tipo de aplicación particular:

- a) Para reemplazo de partes dañadas, enfermas o faltantes, por ejemplo: máquina para diálisis renal, reemplazo de la articulación coxofemoral (cadera), implantes y prótesis dentales, etc.
  
- b) Para asistir en cicatrizaciones y curaciones: suturas quirúrgicas, placas y tornillos para fijación de fracturas óseas, etc.
  
- c) Para mejorar funciones: marcapasos cardíaco, lentes de contacto, etc.
  
- d) En correcciones estéticas: modificación de labios, pechos, barbilla, etc.
  
- e) Como ayuda para diagnósticos y tratamientos: catéteres, electrodos específicos, drenajes, etc.

La razón primaria del empleo de biomateriales es que reemplazan físicamente a un tejido blando o duro que ha sido dañado o destruido a través de un proceso patológico (enfermedad) o accidental. Aunque los tejidos y las estructuras del cuerpo humano llevan a cabo correctamente su función durante un largo período de tiempo, pueden sufrir una amplia variedad de procesos de degradación que incluyen fracturas, infecciones, cáncer, etc., y que

causan desfiguraciones y/o pérdidas de la función. Bajo tales circunstancias, puede ser posible remover el tejido dañado y reemplazarlo o corregirlo por medio de un adecuado biomaterial.

### **1.1.2 - Clasificación de biomateriales según su respuesta al contacto con tejido orgánico**

Todos los materiales producen algún tipo de respuesta al estar en contacto con los tejidos orgánicos. De acuerdo a esta respuesta, se pueden clasificar a los biomateriales como [2]:

#### **Tóxico**

Se denominan biomateriales tóxicos a aquellos que generan que el tejido circundante muera. Es obviamente importante que ningún material implantado provoque una respuesta tal que mate a las células de los tejidos circundantes o bien que libere químicos que causen un daño sistémico de los tejidos.

#### **No-tóxico y biológicamente inactivo**

Cuando el biomaterial es no tóxico y biológicamente inactivo se puede decir que es inerte. La mayoría de los materiales inertes deben esta propiedad al hecho de que al colocar el implante en contacto con el cuerpo humano, se forma una cápsula de tejido fibroso no adherente de espesor variable alrededor del material de implante [3]. La cápsula de tejido fibroso es un mecanismo de protección que aísla al implante del tejido circundante. Los metales, cerámicos y la mayoría de los polímeros biocompatibles se pueden clasificar como casi inertes. En las aleaciones de titanio, alúmina o circonio la capa fibrosa que se forma es usualmente muy delgada, mientras que en materiales más reactivos, como las aleaciones Co-Cr o el acero inoxidable se forman capas de mayor espesor. Esto es consecuencia de la reactividad superficial, a mayor reactividad, más tiempo le toma a la capa fibrosa lograr un equilibrio químico entre la superficie del implante y el tejido circundante. El espesor de la capa fibrosa también depende del movimiento interfacial y éste a su vez de qué tan anclado se encuentre el implante. Si el movimiento interfacial tejido-implante es minimizado, la respuesta fagocítica será transitoria y el espesor de la capa será más delgada, si por el contrario, hay movimiento interfacial, se forma una cápsula completa con espesores de hasta cientos de micrómetros. Mientras mayor sea el espesor de la cápsula fibrosa es más probable que a largo

plazo el implante se afloje, lo que puede producir fractura del hueso en la región adyacente al implante [4].

### **No-tóxico y biológicamente activo**

Cuando el material es no tóxico y biológicamente activo, se dice que es bioactivo. Un material bioactivo exhibe una reactividad química controlada que cambia con el tiempo y sufre reacciones químicas en la superficie que favorecen algún proceso biológico. Por ejemplo, se forma un enlace interfacial entre el tejido y el implante que previene el movimiento entre los dos materiales. El enlace interfacial formado imita el tipo de interface que se forma cuando los tejidos se auto-reparan o regeneran de forma natural. Entre los materiales bioactivos se encuentran los vidrios cerámicos Bioglass®, sílica meso-porosa y los fosfatos de calcio.

### **Biodegradable**

Un material biodegradable es no tóxico y se disuelve al colocarlo en el medio biológico. La composición del material debe ser tal que pueda ser disuelto químicamente por los fluidos fisiológicos, o bien consumido por los macrófagos. Estos materiales se diseñan para degradarse gradualmente en el tiempo y ser reemplazados por tejidos naturales. Se utilizan para inducir la regeneración del tejido en lugar de sustituir a un órgano, las velocidades de reabsorción deben calcularse e igualarse a las velocidades de regeneración del tejido. Los ejemplos incluyen polímeros y aleaciones de magnesio.

### **1.1.3 - Clasificación de los biomateriales según su naturaleza**

#### **Biomateriales metálicos**

En la década de 1920, Reiner Erdle y Charles Orange, quienes unieron sus conocimientos de médico dentista y metalurgista, respectivamente, desarrollaron la aleación Vitallium, que fue el primer biomaterial metálico aleado con características mecánicas de biocompatibilidad y de resistencia a la corrosión, aceptables para aplicaciones en prótesis quirúrgicas. Esta aleación de cobalto (Co30Cr5Mo), fue el punto de partida para una serie de investigaciones multidisciplinarias en el desarrollo de nuevas aplicaciones ortopédicas, como clavos, tornillos y fijadores de huesos fracturados, además de varios tipos de implantes de reemplazo articular, como cadera, rodilla, hombro, codo, entre otras.

Posteriormente, en la década de 1930 se desarrolla el acero inoxidable grado quirúrgico 316LQ, que es un acero con bajo contenido de carbono, 18 por ciento de cromo, 8 por ciento de níquel, y 2 por ciento de molibdeno.

Otras aleaciones que han tomado gran importancia en aplicaciones aeronáuticas y aeroespaciales, así como en aplicaciones médicas para implantes quirúrgicos, son las de base titanio, especialmente la aleación Ti6Al4V, la cual presenta ventajas en peso, propiedades mecánicas y de resistencia a la corrosión con respecto a las aleaciones base cobalto y acero inoxidable. Sin embargo, tiene una resistencia baja al desgaste, así como un alto costo. Esta aleación ha sido modificada, intercambiando el Vanadio por el Niobio, lo cual ha dejado una notable mejora en el índice de biocompatibilidad.

Por otra parte, con el objeto de incrementar la resistencia al desgaste, se ha implementado el uso de recubrimientos duros en cabezas femorales, aplicados mediante técnicas de deposición física en fase vapor (PVD), además de utilizar materiales cerámicos como alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) o circonia ( $\text{ZrO}_2$ ).

### **Biomateriales poliméricos**

Existe una gran variedad de polímeros biocompatibles: los polímeros naturales, como la celulosa, glucosalina y polímeros sintéticos, como, por ejemplo, polietileno de ultra alto peso molecular (UHMWPE), PVC, nylon, silicona, etcétera. El desarrollo de los biopolímeros en las aplicaciones incluye prótesis faciales, partes de prótesis de oído, aplicaciones dentales, marcapasos, riñones, hígado y pulmones.

Películas delgadas y capas de PVC se utilizan en bolsas de almacenamiento y empaquetamiento quirúrgico de sangre y otras soluciones, partes de esófago, segmentos de arterias, suturas biodegradables, partes de implantes articulares en dedos, acetábulo de cadera y rodilla, entre otros.

### **Biomateriales cerámicos**

Los biocerámicos son compuestos químicos complejos que contienen elementos metálicos y no metálicos. Debido a sus enlaces iónicos y covalentes, son generalmente duros y frágiles. Además de tener un alto punto de fusión y una baja conductividad térmica y eléctrica,

los cerámicos se consideran resistentes al desgaste. Los principales biocerámicos son alúmina, circonia, hidroxiapatita, porcelanas, vidrios bioactivos, etcétera. Sus principales aplicaciones están en el sistema óseo, con todo tipo de implantes y recubrimientos en prótesis articulares; también se utilizan en aplicaciones dentales, en válvulas artificiales, cirugía de la espina dorsal y reparaciones craneales.

**1.1.4- Aplicaciones más frecuentes de los biomateriales**

La red conceptual mostrada en la figura 1.1 nos muestra el camino que hay entre un biomaterial y sus aplicaciones.

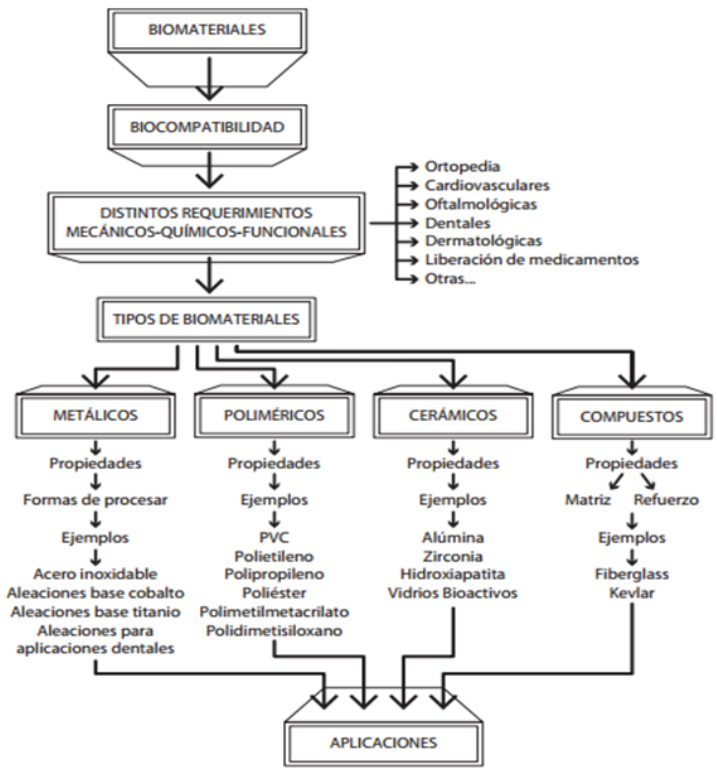


Figura 1.1: Red conceptual que resume el camino que hay entre un biomaterial y sus aplicaciones [5].

La figura 1.2 muestra algunos ejemplos de biomateriales en algunas de las diferentes áreas de la medicina.

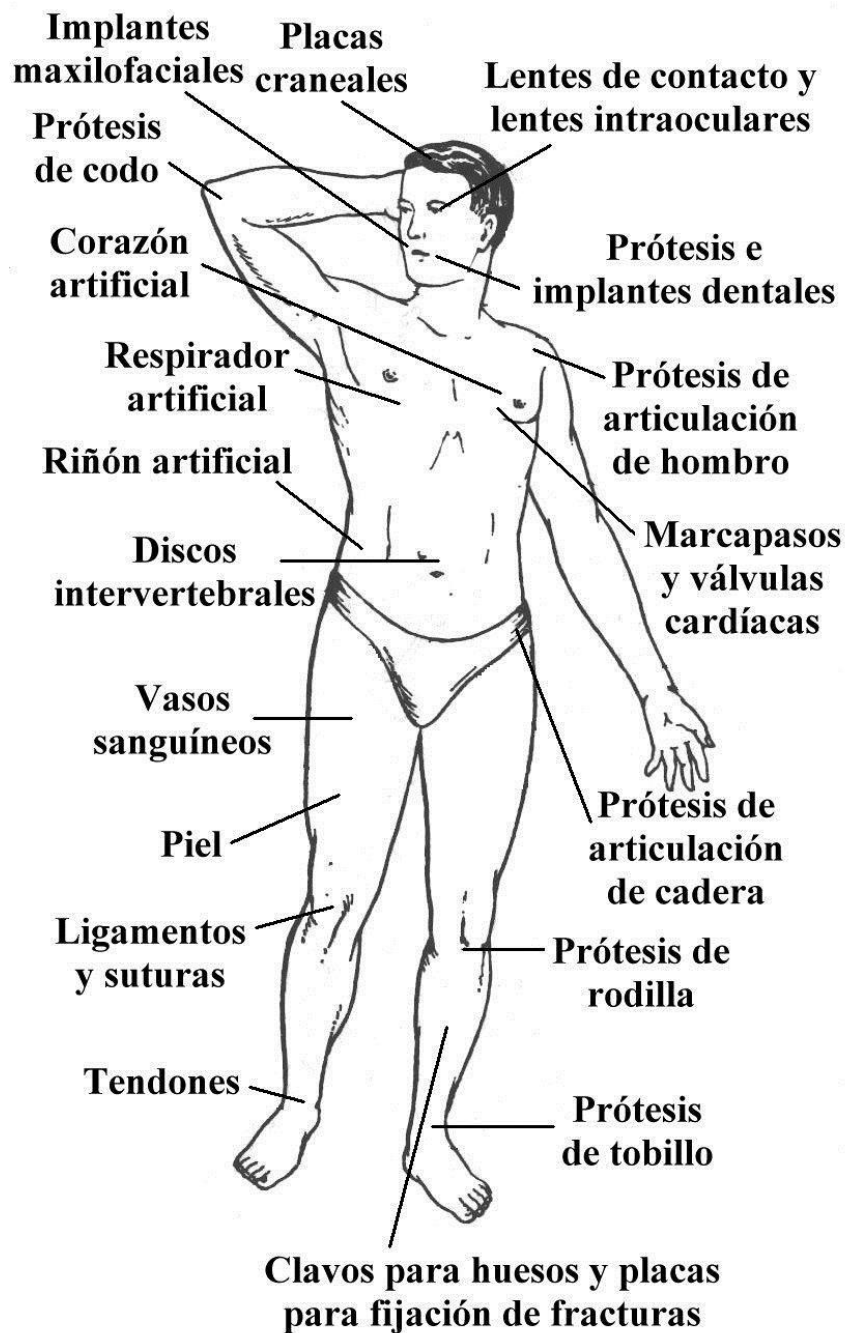


Figura 1.2: Aplicación de biomateriales en la reparación o reemplazo de diversas partes del cuerpo humano [1].

Un biomaterial debe permanecer intacto por un largo periodo y no fallar hasta la muerte de la persona. Este requerimiento demanda un periodo de servicio mínimo de entre 15 y 20 años para pacientes ancianos y más de 20 años para pacientes jóvenes [6].

Los implantes ortopédicos son generalmente montados sobre el sistema esquelético del cuerpo humano para la curación, la corrección de deformidades o la restauración de pérdidas funcionales de partes originales del cuerpo [7].

Los usos más frecuentes de los biomateriales se encuentran en el campo de la ortopedia, la cirugía cardiovascular, la oftalmología, la odontología, la cicatrización y reparación de heridas y fracturas y en sistemas de distribución de medicamentos en el organismo.

### 1.1.4.1 - Ortopedia

Una de las más prominentes áreas de los biomateriales es su aplicación en implantes ortopédicos. Existen enfermedades que afectan la estructura de las articulaciones de cadera, rodilla, hombro, codo, etc., que originan dolor y eventualmente inmovilidad. Con el advenimiento de la anestesia, antisépticos y antibióticos ha sido posible el reemplazo total de dichas articulaciones (figura 1.3) y la recuperación de los pacientes, tanto en lo concerniente a la pérdida del dolor como de la movilidad de la articulación.

Las articulaciones artificiales de cadera son fabricadas en titanio, acero inoxidable, aleaciones cobalto-cromo, cerámicas, materiales compuestos y polietileno de ultra alto peso molecular.



Figura 1.3: Esquema de prótesis total de cadera cementada [5].

### 1.1.4.2 - Aplicaciones cardiovasculares

En el sistema cardiovascular, es decir, el corazón y los conductos que permiten circular a la sangre por todo el cuerpo, pueden generarse problemas con las válvulas del corazón y las arterias; problemas que pueden subsanarse con el adecuado empleo de biomateriales. Al igual que con los implantes ortopédicos, para esta aplicación se emplea una gran cantidad de biomateriales metálicos, cerámicos y poliméricos.

También es frecuente que las arterias –en particular las coronarias– se obstruyan por la presencia de depósito de grasas (arteriosclerosis), en cuyo caso, tales sectores pueden reemplazarse con arterias artificiales o ensanchar su diámetro con un dispositivo denominado stent (figura 1.4), que suele estar fabricado de una aleación titanio-níquel.



Figura 1.4: Stent utilizado para ensanchar el diámetro de vasos sanguíneos [5].

A su vez, para aquellas enfermedades que implican una modificación en el ritmo cardíaco, la medicina ha dado la respuesta a este problema por medio de los marcapasos. Estos, son fabricados con una amplia variedad de materiales plásticos y con contactos eléctricos metálicos.

### 1.1.4.3 - Oftalmología

Los tejidos oculares pueden sufrir diversas enfermedades que conducen a una reducción de la visión y, eventualmente, a la ceguera.

Para resolver dichos problemas, se utilizan las lentes intraoculares (figura 1.5) que se fabrican en polimetilmetacrilato, elastómeros de silicona u otros.



Figura 1.5: Lente de contacto intraocular de silicona con asas de poliamida [5].

### 1.1.4.4 - Odontología

En la cavidad bucal, tanto los dientes como los tejidos que los sostienen pueden deteriorarse a causa de enfermedades bacterianas o simplemente como consecuencia del paso del tiempo.

Los biomateriales permiten a través del empleo de prótesis dentales, fabricadas con diversos cerámicos, polímeros y aleaciones metálicas o por el uso de implantes dentales fabricados con titanio y de aparatos de ortodoncia construidos con acero inoxidable, restablecer adecuadamente la función masticatoria ya sea a través de reparaciones o del reemplazo total de las piezas dentarias perdidas (figura 1.6).



Figura 1.6: Prótesis dentales no permanentes fabricadas con metal y polímero [5].

### **1.1.5-Biocompatibilidad**

Cualquier biomaterial, para poder ser implantado, debe cumplir unos requisitos generales que se engloban en el concepto de biocompatibilidad, en el que se considera la tolerancia de dicho material, su bioestabilidad tanto a corto como a largo plazo, o el mantenimiento de sus propiedades y estructura químico-física en el entorno biológico durante el tiempo que permanezca en el organismo.

Para determinar la biocompatibilidad de un nuevo o potencial biomaterial se deben realizar inicialmente ensayos que orienten sobre su comportamiento en entornos que simulan al fisiológico (en solución simulada de fluido biológico). Una de las herramientas básicas utilizadas en los estudios de biocompatibilidad son los cultivos celulares, que permiten determinar cómo responden las células a la presencia de diferentes materiales, evaluando cómo se produce la adhesión celular, extensión, crecimiento en presencia del material, o determinando las actividades enzimáticas y metabólicas que pueden alterarse por la presencia del material objeto de estudio. Aquellos biomateriales que superan los ensayos *in vitro* mostrando una buena biocompatibilidad pasan a ser probados en los ensayos *in vivo*, que consisten en la implantación del potencial biomaterial en animales de experimentación [8]; éstos son estudios previos a la utilización clínica de los mismos. En ellos se determina la respuesta de un organismo a la implantación de un biomaterial; se analiza el tipo de células presentes en el implante y en las proximidades del mismo, si se ha producido inflamación o se ha desarrollado un proceso de rechazo. Además del tipo de animal que se seleccione, se debe considerar el tejido donde se realiza la implantación, el tiempo de implantación (requiriéndose a veces años para dar por finalizado un estudio de biocompatibilidad) y seleccionar aquellos modelos de estudio cuyos resultados se puedan extrapolar al hombre. Los tipos de implantación que se pueden realizar son sub-cutánea, intramuscular, intravascular y ósea.

### **1.1.6 - Factores influyentes en la biocompatibilidad**

Los principales factores que influyen en la biocompatibilidad de un material son los siguientes:

- Factores químicos y electroquímicos: La composición del material determina en gran medida su potencial toxicidad. Por ejemplo, los polímeros pueden ser tóxicos por sí mismos o por la acción de sus productos de degradación. En el caso de los metales, la corrosión puede provocar la presencia de iones metálicos producto de la disolución del biomaterial y estos iones pueden resultar dañinos para el organismo.

- Factores superficiales: La superficie de un material puede tener características hidrofílicas o hidrofóbicas, lo que condiciona la aptitud de las proteínas para la adsorción y, secundariamente, su tolerancia. En general, los materiales de superficie hidrófila son mejor tolerados.

- Factores mecánicos: Las interacciones en la interfaz entre el tejido y el biomaterial condicionan la respuesta tisular. Es el caso de los implantes intraóseos en que se puede producir la formación de tejido fibroso mediado por fuerzas de tracción o de cizallamiento, o de tejido óseo, por interacción de compresión.

- Factores geométricos: La respuesta a un mismo material depende de la granulometría, geometría y cantidad de éste, de tal manera que la reacción es distinta si la formulación es compacta o particulada. En general, el implante en forma de partículas genera una respuesta cuantitativamente mejor.

### **1.2-Biometales**

Los materiales metálicos presentan buenas propiedades mecánicas (resistencia, tenacidad, dureza, elasticidad, etc.) respecto a otros materiales como cerámicos y polímeros. Esto hace que sean los materiales más adecuados para aplicaciones estructurales, como pueden ser prótesis articulares, placas de osteosíntesis, tornillos de fijación, implantes dentales, entre otras aplicaciones.

Los materiales metálicos implantables, deben presentar una buena resistencia a la corrosión, ya que si se produce la oxidación del metal por el ambiente hostil del cuerpo humano, además de que el implante se debilita, se produce una liberación de productos de corrosión a los tejidos circundantes que producen efectos no deseables [9].

Para que un metal llegue a ser biomaterial es necesario que cumpla otros requisitos específicos, tales como:

- Biocompatibilidad: biológicamente aceptable (aceptado por el organismo sin provocar rechazo), no tóxico, inerte o químicamente estable.
- Biofuncionalidad: buenas propiedades mecánicas (flexibilidad, dureza, resistencia a la fatiga, etc.), densidad y pesos adecuados, diseño adecuado y adaptabilidad.
- Bioactividad: integración con moléculas biológicas, regeneración del tejido, capacidad de responder a señales provenientes del medio induciendo una respuesta específica del tejido biológico circundante.

Los materiales metálicos más utilizados en la actualidad para la fabricación de implantes son los aceros inoxidables, las aleaciones cobalto-cromo y el titanio puro o aleado con otros metales. En la tabla 1.1 se muestran los diferentes metales o aleaciones más usados en la industria biomédica.

## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Metal o aleación	Características
Acero inoxidable 316LVM	Esta aleación proviene de la modificación de la aleación 316L, se caracteriza por ser totalmente reciclable por su alta resistencia a la corrosión y propiedades higiénicas; posee una adecuada relación resistencia mecánica-peso. Además combina la biocompatibilidad y biofuncionalidad a bajos costos.
Titanio CP	Su composición es superior al 99% de Ti y empezó a ser utilizado en la fijación de fracturas óseas a mediados de la década de los 50. Para implantes quirúrgicos el sector médico lo utiliza en grados 1,2,3 y 4, pero por su mayor resistencia y buena ductilidad, habitualmente emplea el titanio CP grado 4.
Ti6Al4V ELI	Es la más utilizada entre todas las aleaciones de titanio, para fabricar prótesis que requieran una permanencia larga o definitiva. Es un biomaterial muy liviano, con alta tenacidad y buen comportamiento a temperaturas elevadas, igualmente posee una perfecta resistencia a la corrosión, al producir una fina capa superficial de óxido que lo protege e impermeabiliza.
CoCrMo	Esta aleación de moldeo fue la primera utilizada en prótesis de cadera, posee buena resistencia a la corrosión y al desgaste, hoy es empleada en piezas coladas y su campo de aplicación se observa en las restauraciones totales o parciales de cadera o rodilla.
CoNiCrMo	Tienen una alta resistencia mecánica, siendo utilizada en vástagos de cadera, rodilla, hombro y mano. Su resistencia a la corrosión y la fatiga es elevada. Contiene aproximadamente un 35% de cobalto y níquel en peso. Para trabajarla mecánicamente sólo se puede utilizar el proceso de forja en caliente.
Nitinol	Aleación de igual número de átomos de níquel y titanio, conocida como uno de los nuevos materiales con memoria de forma, debe sus propiedades a una transición de fase entre una estructura de austenita (dúctil y maleable) y otra de martensita (frágil y dura).
TAN (Ti6Al7Ni)	Es una aleación relativamente nueva en la fijación de fracturas; sus propiedades mecánicas son muy similares a la de Ti6Al4V, pero en este caso el vanadio es sustituido por el níquel.

Tabla 1.1: Biomateriales metálicos más empleados [10].

### **1.2.1-Circonio**

El nombre del metal, circonio (figura 1.7), proviene del término árabe “zargon” (de color dorado), que a su vez proviene de las palabras persas “zar” (oro) y “gun” (color).

El circonio es un elemento químico de número atómico 40 y peso atómico 91,224 g/mol. Situado en el grupo 4 de la tabla periódica de los elementos. Su símbolo es Zr. El nombre de circonio se toma del mineral circón.



Figura 1.7: Mineral de circonio [11].

Es un metal de transición, brillante, de color blanco grisáceo, duro, resistente a la corrosión, de apariencia similar al acero. Los minerales más importantes en los que se encuentra son el circón ( $ZrSiO_4$ ) y la badeleyita ( $ZrO_2$ ), aunque debido al gran parecido entre el circonio y el hafnio (no hay otros elementos que se parezcan tanto entre sí) realmente estos minerales son mezclas de los dos; los procesos geológicos no han sido capaces de separarlos. Sus estados de oxidación más comunes son +2, +3 y +4.

El circonio presenta una alta resistencia a la corrosión por álcalis, ácidos, agua salada y otros agentes. La razón de su buena resistencia a la corrosión radica en el hecho de que el metal no es reactivo a la temperatura ambiente, porque se forma una capa de óxido nativo muy fina en la superficie. La capa hace que el metal esté pasivado y permanece con brillo al aire prácticamente en forma indefinida.

La tabla 1.2 muestra las principales características y propiedades del circonio puro.

Zirconio	
<b>Símbolo químico</b>	Zr
<b>Número atómico</b>	40
<b>Grupo</b>	4
<b>Periodo</b>	5
<b>Aspecto</b>	blanco grisáceo
<b>Bloque</b>	d
<b>Densidad</b>	6511 kg/m <sup>3</sup>
<b>Masa atómica</b>	91,224 u
<b>Radio medio</b>	155 pm
<b>Radio atómico</b>	206
<b>Radio covalente</b>	148 pm
<b>Configuración electrónica</b>	[Kr]4d <sup>2</sup> 5s <sup>2</sup>
<b>Electrones por capa</b>	2, 8, 18, 10, 2
<b>Estados de oxidación</b>	4
<b>Óxido</b>	anfótero
<b>Estructura cristalina</b>	hexagonal
<b>Estado</b>	sólido
<b>Punto de fusión</b>	2128 K
<b>Punto de ebullición</b>	4682 K
<b>Calor de fusión</b>	16,9 kJ/mol
<b>Presión de vapor</b>	0,00168 Pa a 2125 K
<b>Electronegatividad</b>	1,33
<b>Calor específico</b>	0,27 J/(K·kg)
<b>Conductividad eléctrica</b>	2,36·10 <sup>6</sup> S/m
<b>Conductividad térmica</b>	22,7 W/(K·m)

Tabla 1.2: Características del circonio [11].

Las aleaciones de base Zr son utilizadas en la fabricación de materiales estructurales y de vainas para los elementos combustibles de los reactores nucleares. Esto es debido fundamentalmente a su baja sección eficaz de absorción de neutrones, a su buena resistencia a la corrosión y a sus propiedades mecánicas a la temperatura de funcionamiento de dichos reactores ( $T < 300^{\circ}\text{C}$ ).

Las aleaciones de base Zr usadas más frecuentemente como materiales estructurales del reactor y en las vainas de elementos combustibles son el Zr-2.5%Nb, Zircaloy-2 (Zry-2) y el Zircaloy-4 (Zry-4).

Con respecto a su potencial aplicación como biomaterial, cabe destacar que las pruebas de manejo del circonio realizadas muestran que posee muy baja toxicidad. Generalmente no produce consecuencias el contacto con sus compuestos, aunque algunas personas son alérgicas a ellos. Esa alergia se manifiesta por la aparición de granulomas no malignos. La inhalación de aspersores que contienen ciertos compuestos y polvos metálicos de circonio tiene efectos inflamatorios. El Zr presenta un alto nivel de compatibilidad con la sangre cuando se utiliza en los implantes cardiovasculares y conduce a una mejor resistencia a la corrosión debido a la formación de la capa de óxido estable [12].

A pesar de que las características físicas y químicas del circonio (aceptable resistencia mecánica, buena biocompatibilidad [13] [14] y resistencia a la corrosión) lo postulan como buen candidato para aplicaciones biológicas, como ser implantes quirúrgicos [15] [16]; su comportamiento *in vitro* e *in vivo* no ha sido aun sistemáticamente estudiado [16]. Algunos estudios *in vivo* han demostrado que el circonio y algunas de sus aleaciones tienen la capacidad de promover la oseointegración [17] (incluso en un mayor grado que los implantes de titanio en las interfaz hueso-implante [18]), y que su citotoxicidad es muy baja, en algunos casos menor a la del titanio.

### **1.2.2-Niobio**

Su símbolo químico es Nb, número atómico 41 y su peso atómico 92,906 g/mol. En Estados Unidos este elemento se llamó originalmente columbio. La industria metalúrgica y los metalurgistas aún utilizan este nombre antiguo. La mayor parte del niobio se usa en aceros inoxidable especiales, en aleaciones de alta temperatura y en aleaciones superconductoras como Nb<sub>3</sub>Sn. El niobio también se utiliza en pilas nucleares.

Es inerte a todos los ácidos, menos el fluorhídrico, supuestamente por tener, al igual que el Zr, una delgada película de óxido sobre la superficie muy resistente a la corrosión. El niobio metálico se oxida lentamente en solución alcalina. Reacciona con el oxígeno y los halógenos en caliente para formar los halogenuros y el óxido en estado de oxidación V, con nitrógeno para formar NbN y con carbono para formar NbC, así como con otros elementos como arsénico, antimonio, telurio y selenio.

La tabla 1.3 muestra las principales características y propiedades del niobio.

<b>Niobio</b>	
<b>Símbolo químico</b>	Nb
<b>Número atómico</b>	41
<b>Grupo</b>	5
<b>Periodo</b>	5
<b>Aspecto</b>	gris metálico
<b>Bloque</b>	d
<b>Densidad</b>	8570 kg/m <sup>3</sup>
<b>Masa atómica</b>	92,90638 u
<b>Radio medio</b>	145 pm
<b>Radio atómico</b>	198
<b>Radio covalente</b>	137 pm
<b>Configuración electrónica</b>	[Kr]4d <sup>4</sup> 5s <sup>1</sup>
<b>Electrones por capa</b>	2, 8, 18, 12, 1
<b>Estados de oxidación</b>	5,3
<b>Óxido</b>	levemente ácido
<b>Estructura cristalina</b>	cúbica centrada en el cuerpo
<b>Estado</b>	sólido
<b>Punto de fusión</b>	2750 K
<b>Punto de ebullición</b>	5017 K
<b>Calor de fusión</b>	26,4 kJ/mol
<b>Presión de vapor</b>	0,0755 Pa a 2741 K
<b>Electronegatividad</b>	1,6
<b>Calor específico</b>	265 J/(K·kg)
<b>Conductividad eléctrica</b>	6,93·10 <sup>6</sup> S/m

Tabla 1.3: Características del niobio [11].

### **1.2.3- Aleación Zr-2.5%Nb**

Las aleaciones de Zr-2.5%Nb, fueron desarrolladas inicialmente para aplicaciones de la industria nuclear, a través de reactores de fisión, debido a que, recocidas en una atmósfera que contiene oxígeno a 500°C desarrollan una capa de ZrO<sub>2</sub> relativamente gruesa sobre el sustrato de la aleación. El circonio fue elegido para este propósito ya que proporciona fuerzas mecánicas deseadas y características de procesamiento comunes a otros metales pero con una sección transversal de absorción de neutrones térmicos mucho menor.

Las impurezas, los elementos de aleación, bordes de grano y otros defectos en las aleaciones de circonio pueden tener influencias significativas en las propiedades de la superficie metálica. Las aleaciones con impurezas más usadas incluyen al hierro, niobio, cobalto, vanadio, níquel, estaño y el silicio [19].

Aleaciones de Zr-Nb son usadas para la fabricación de componentes ortopédicos con buena resistencia al desgaste y destinadas principalmente para soportar cargas de compresión. La estructura ofrece la ventaja sobre cualquier componente cerámico tal como la  $\text{Al}_2\text{O}_3$  o  $\text{ZrO}_2$  en reducir los riesgos de fractura catastrófica como resultado de la rápida iniciación y propagación de una fisura en la fase cerámica gracias a que la capa de  $\text{ZrO}_2$  es reforzada por el cuerpo de una aleación de Zr-Nb [20].

El Nb es el principal elemento aleante del Zr, y la microestructura de este último es muy afectada por el contenido de Nb [21]. La resistencia a la tracción y la estabilidad del estado pasivado de aleaciones de Zr-x%Nb aumenta con el contenido de Nb [22]. Yu et al. [23] encontraron que el agregado de Zr y Nb mejora la resistencia a la corrosión en otro tipo de aleaciones, como ser las de titanio (Ti-13%Nb-13%Zr y Ti-35%Zr-10%Nb).

En particular, la aleación de circonio y 2.5% de niobio (Zr-2.5%Nb) proporciona las propiedades de la superficie beneficiosos de una cerámica, mientras que conserva las propiedades beneficiosas del metal subyacente, proporcionando una buena solución para las aplicaciones de implantes médicos.

Superficies de Zr-2.5%Nb anodizadas han sido exitosamente utilizadas en cirugías como material para cabezas de articulaciones en reemplazos totales de rodilla y de cadera, debido a su superior prestación respecto al UHMWPE (polietileno de peso molecular ultra alto) en relación a los tradicionales materiales tales como aleaciones de Co-Cr y el titanio puro o aleado con otros metales [24] [25].

### **1.3- Respuesta del cuerpo a los implantes**

Al introducir un biomaterial dentro del cuerpo humano se desencadena una serie de eventos, los cuales se describen a continuación:

1. Dentro de los primeros nanosegundos de haber sido incorporado el implante, se forma una capa de moléculas de agua alrededor de éste. Dicho evento es altamente influenciado por la superficie del implante (Figuras 1.8a y 1.8b). Esta capa permite la adsorción de proteínas y otras moléculas en la superficie del sustrato [26]. Es importante señalar que el agua interacciona de diferentes maneras dependiendo de la mojabilidad de la superficie, de tal manera que en una superficie hidrofílica las moléculas de agua se disocian y forman una superficie terminada en  $-OH$  o bien se adhieren fuertemente en forma de agua. Mientras que en una superficie hidrofóbica, las moléculas de agua sin disociarse se adhieren débilmente a la superficie.
2. En la segunda etapa, dentro de los 30 segundos a un par de horas luego de la implantación, la superficie del implante se recubre de proteínas de la matriz extracelular. La conformación, orientación y composición de dichas proteínas dependen del tipo de superficie del implante. Al principio estas proteínas provienen de la sangre y de los fluidos del sitio de la herida, posteriormente también provienen de la actividad celular en la región peri-protésica (Figura 1.8c).
3. En la tercera etapa, se produce la interacción celular con el implante a través de la capa de proteínas adsorbidas (Figuras 1.8d y 1.8e). Esta interacción permite la adhesión, migración y diferenciación celular, lo cual ocurre entre unas pocas horas a varios días luego del implante. Esta etapa es regulada altamente por las proteínas de la matriz extracelular, las proteínas del citoesqueleto, por las características químicas, topográficas y la liberación de iones de la superficie del implante. El resultado de esta interacción puede ser la integración del implante (oseointegración) o bien el encapsulamiento de éste en una capa fibrosa.

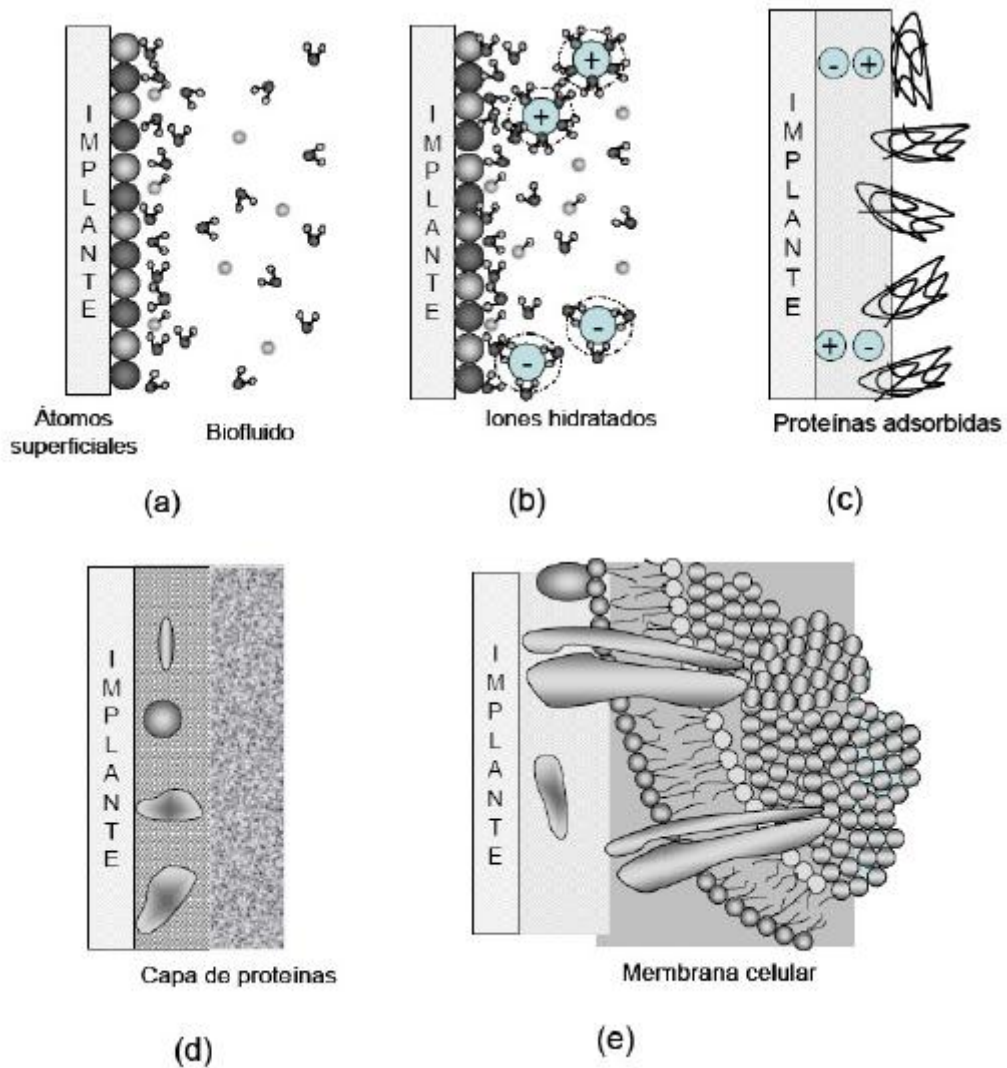


Figura 1.8: Eventos posteriores a la implantación [2].

#### **1.4- Generalidades del tejido óseo**

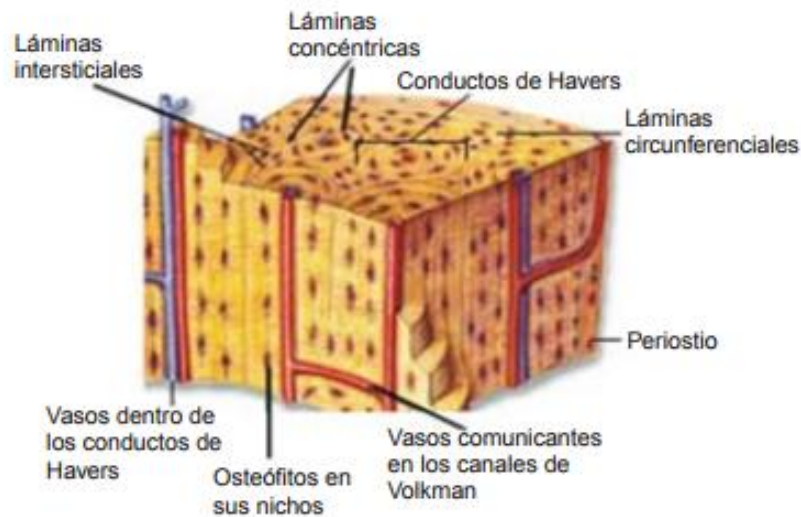
El tejido óseo es un tejido especializado del tejido conectivo, constituyente principal de los huesos en los vertebrados. Está compuesto por células y componentes extra celulares mineralizados que forman la matriz ósea. Se caracteriza por su rigidez y su gran resistencia tanto a la tracción como a la compresión.

La estructura histológica del tejido óseo maduro es igual tanto en el tejido compacto como en el tejido esponjoso y se designa con el nombre de hueso laminar. Durante el desarrollo o durante el proceso reparativo se forma hueso reticular o inmaduro que luego se

reemplazará por hueso laminar. Entre las células del hueso se encuentran las osteoprogenitoras, los osteoblastos, osteocitos y osteoclastos.

Se distinguen dos zonas óseas con características diferentes y sin un límite neto, éstas representan dos formas diferentes de estructuración del tejido óseo: esponjoso y compacto: [27]

Tejido esponjoso, trabecular o areolar: el hueso esponjoso constituye la mayor parte del tejido óseo de los huesos cortos, planos y de forma irregular y de la epífisis de los huesos largos. El hueso esponjoso de los huesos de la pelvis, las costillas, el esternón, las vértebras, el cráneo y los extremos de algunos huesos largos es el único reservorio de médula ósea roja y por lo tanto, de eritropoyesis en los adultos. El hueso esponjoso no contiene verdaderas osteonas. Está formado por laminillas dispuestas en un encaje irregular de finas placas de hueso llamadas trabéculas. Los espacios entre las trabéculas están ocupados por la médula ósea roja productora de células sanguíneas. En el interior de las trabéculas existen osteocitos, situados en lagunas de las que parten conductillos radiales. Los vasos sanguíneos del periostio penetran a través del hueso esponjoso. Los osteocitos de las trabéculas reciben su nutrición directamente de la sangre que circula por las cavidades medulares (figura 1.9).



a)



b)

Figura 1.9: Estructura tejidos: a) compacto, b) esponjoso. [28]

Tejido compacto o denso: se encuentra en la capa externa de los huesos largos formando la diáfisis, en el exterior y en el interior de los huesos planos y en distintas zonas en los huesos cortos, según cada hueso en concreto. Es un tejido duro, denso y frágil. Al observarlo al microscopio destacan estructuras cilíndricas, denominadas osteonas, formadas por capas concéntricas de laminillas óseas, donde se encuentran los osteocitos. En el interior de la osteona hay un canal, el conducto de Havers, por donde circulan vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. Los vasos sanguíneos aportan los nutrientes necesarios a las células de los huesos y conducen las hormonas que controlan el aporte de calcio. También aparecen canales que conectan unos conductos de Havers con otros. Estos conductos se llaman conductos de Volkmann. La unidad estructural del tejido óseo compacto es el Sistema de Havers u osteona. Este tipo de hueso se localiza en la diáfisis de los huesos largos. El Sistema de Havers está constituido por:

- Conducto de Havers: contiene el VAN (vena arteria nervio (paquete vaculonervioso)) que pasa por el agujero nutricio del hueso;
- Laminillas óseas: su número aumenta a medida que crece el hueso;
- Lagunas osteocíticas: dispuestos en forma concéntrica, en cuyo interior se encuentran los osteocitos;
- Canalículos calcóforos: conectan las lagunas osteocíticas con el conducto de Havers. Permiten la nutrición y eliminación de desechos del osteocito (sus prolongaciones viajan a través del canalículo).

### **1.4.1- Naturaleza del proceso de oseointegración**

La oseointegración fue definida como un anclaje del implante en el hueso, capaz de satisfacer las exigencias clínicas de funcionamiento como pilar de prótesis, transmitiendo las fuerzas oclusales directamente al hueso [29].

Branemark introdujo el término oseointegración para describir la modalidad de fijación estable entre el titanio y el tejido óseo. Desde este descubrimiento, la oseointegración se ha convertido en un fenómeno de importancia no solo en la odontología, sino también en las ciencias ortopédicas y de rehabilitación [30]. La oseointegración se definió originalmente como una conexión estructural y funcional directa entre el hueso vivo y la superficie de un implante portador de carga [31]. Se dice ahora, que un implante se considera como osteointegrado cuando no hay movimiento relativo progresivo entre el implante y el hueso con el que está en contacto directo [32].

### **1.5-Técnicas de modificación superficial**

Basados en investigación que demostró la importancia de controlar las propiedades físicas, químicas y topográficas de las superficies de los implantes, en la actualidad se han desarrollado una gran cantidad de técnicas y metodologías de modificación superficial. Dichas técnicas varían desde métodos específicos de limpieza hasta el depósito de una película delgada sobre el material base.

De acuerdo a Kasemo y Gold [4] las modificaciones superficiales propuestas pueden dividirse básicamente en tres clases:

- a) modificaciones topográficas, tales como tamaño y distribución de poros, rugosidad, etc.;
- b) modificación de las propiedades bio-químicas de la superficie; liberación de especies químicas (iones o medicamentos), adsorción de biomoléculas (proteínas o factores de crecimiento), etc., y
- c) modificación de las propiedades micro-mecánicas o viscoelásticas de la superficie.

En el primer caso se busca controlar la topografía, ya que a través de diferentes estudios se ha dilucidado que la topografía, a escala tanto micrométrica como nanométrica, tiene efectos relevantes en el comportamiento celular. Dichos efectos incluyen la adhesión celular, la proliferación, diferenciación, la morfología celular y su orientación espacial, la organización del tejido formado, e incluso la selección celular [33] [34]. En el segundo caso el objetivo es lograr una superficie activa que interactúe fuertemente con el tejido circundante. Finalmente, en el tercer caso se busca aumentar el tiempo de vida de los implantes, mejorando la resistencia al desgaste y a la corrosión, aunque también puede mejorarse la funcionalidad del implante a través de una mejor distribución de los esfuerzos mecánicos [35].

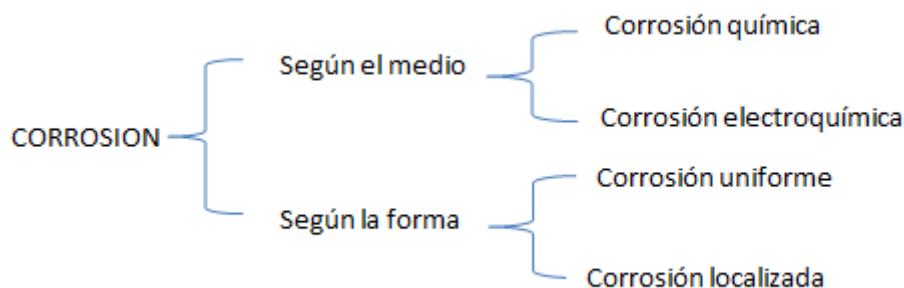
### **1.6 – Corrosión**

La corrosión es uno de los principales procesos que afectan la vida y el servicio de dispositivos ortopédicos fabricados a partir de metales y aleaciones usados como implantes en el cuerpo.

Se denomina corrosión a la degradación de un material como consecuencia de su interacción con el medio que lo rodea.

#### **1.6.1 - Clasificación de los procesos de corrosión**

En términos generales, los procesos de corrosión pueden clasificarse como se muestra en el siguiente esquema:



En particular, en el caso de metales de uso biomédico, interesa la corrosión electroquímica. Se trata de un proceso que se produce en presencia de un medio electrolítico. Bajo determinadas condiciones, un metal se disuelve en un electrolito, liberando iones

metálicos, de manera que existe un transporte simultáneo de electricidad e iones en el sistema.

Si la corrosión es uniforme, la superficie del metal se disuelve en forma homogénea. En cambio, en procesos de corrosión localizada, el ataque corrosivo está limitado a ciertas zonas y es heterogéneo. En este último caso, no existe relación entre la cantidad de material disuelto, que en general es muy poco, y la gravedad del daño causado. Por este motivo, es un tipo de ataque muy dañino. Generalmente tiene su origen en algún tipo de heterogeneidad.

La corrosión por picado es una de las formas más comunes y más peligrosas de cómo se puede presentar la corrosión localizada y da lugar a un daño extenso y la liberación de cantidades significativas de iones metálicos (particularmente asociada a aniones como el cloruro) [36]. Este tipo de corrosión está relacionada con la formación de pequeñas cavidades/agujeros en la superficie del material, protegido por la existencia de una película pasiva delgada y tenaz [7]. En presencia de ciertos iones particularmente agresivos, es que el material sufre un ataque muy intenso en áreas pequeñas, del orden del  $\text{mm}^2$ , en tanto que el resto del material permanece pasivo [37].

### **1.7- Corrosión y superficie de biomateriales metálicos**

La degradación *in situ* de los implantes de aleación metálica es indeseable por dos razones: el proceso de degradación puede disminuir la integridad estructural del implante, y la liberación de productos de degradación puede provocar una reacción biológica adversa en el huésped [38].

Varios estudios han demostrado que algunos componentes metálicos de las aleaciones utilizadas para implantes pueden ser tóxicos y disolverse en los fluidos fisiológicos debido a la corrosión [39] [40]. Cada metal tiene su propia toxicidad intrínseca con las células, pero es la corrosión quien controla la concentración existente. De modo que la biocompatibilidad de aleaciones metálicas está determinada por ambos, la resistencia a la corrosión y la toxicidad de los metales individuales.

La corrosión de los metales en solución acuosa tiene lugar vía mecanismos electroquímicos los cuales son específicos de cada metal [41] [42]. Mientras más noble sea el metal, mayor es su resistencia a la corrosión. Sin embargo, las reacciones que ocurren en la superficie del metal al estar en contacto con el medio específico pueden modificar radicalmente su “nobleza”. Después de la implantación, el metal está rodeado de iones de serum, proteínas y células, los cuales pueden modificar de manera local la resistencia a la corrosión del metal. De hecho, la resistencia del metal medida *in vitro* en medios no fisiológicos, puede ser totalmente diferente de la resistencia medida *in vitro* en medios fisiológicos y aún más diferente de la respuesta *in vivo* [43].

Después de la implantación se han detectado altas concentraciones de iones metálicos incluso en órganos distantes del implantado debido al hecho de que las células fagocíticas circundan a las partículas metálicas y de óxidos metálicos en el torrente sanguíneo [44] [45] [46].

Hay una gran variedad de factores que afectan la corrosión del metal, desde factores superficiales del implante, como porosidad, hasta características mismas de la distribución de cargas en el implante o la estructura, composición y espesor de la capa pasiva del metal, la cual a su vez dependerá del procesamiento del metal y de sus propiedades superficiales. Se requiere una profunda comprensión de estos factores y sus interacciones para comprender por qué y cómo se corroen los materiales [38].

La resistencia a la corrosión de los metales y sus aleaciones está principalmente determinada por el proceso de pasivación de la superficie. La pasivación es la formación de una capa de óxido metálico compacta que protege al metal y cuyas propiedades y estructura varían de acuerdo al metal y son complejas.

La degradación del material y de sus propiedades es provocada por la reacción química o electroquímica entre dicho material y su entorno. En condiciones normales, los fluidos extracelulares del cuerpo humano, que constituyen un medio agresivo, se pueden considerar como una disolución acuosa de oxígeno y diversas sales (tales como NaCl, MgCl<sub>2</sub>, KCl), glucosa, etc., con un pH=7,4 (condiciones de casi neutralidad) aproximadamente. Se trata, por tanto, de un medio electrolítico que contiene iones cloruro, lo que facilita que puedan producirse

fenómenos electroquímicos de corrosión. Esto limita la pasividad del metal de manera local y en consecuencia la corrosión localizada ocurre de manera rápida [1].

Una manera de evitar la corrosión de los biomateriales metálicos es el formar una capa pasiva o bien recubrir el metal con una capa protectora biocompatible, las cuales serían diferentes según la aplicación específica. Ejemplo de esto, es el **anodizado**; método simple y económico de modificación superficial. Durante el anodizado se incorporan en la capa de óxido aniones electrolíticos y esta incorporación parece ser más efectiva cuando el proceso se lleva a cabo en medios ácidos que en medios alcalinos. Los iones incorporados podrían afectar la estructura de la capa anódica, la cinética de crecimiento del proceso, y también su comportamiento dieléctrico y la densidad de defectos en la superficie [47].

### **1.8- Antecedentes del presente trabajo**

En trabajos anteriores al presente [47] [48] se analizaron muestras de Zr como potencial biomaterial para implantes permanentes, realizándose tratamientos de anodizado, a potenciales entre 0V y 120V. Se caracterizaron morfológicamente los óxidos formados mediante microscopía electrónica de barrido y cristalográficamente mediante microscopía Raman.

A fin de evaluar la resistencia a la corrosión del Zr anodizado en medios similares al organismo humano, se realizaron ensayos electroquímicos en solución simulada de fluido biológico (SBF). Se midió el potencial de corrosión en función del tiempo y se trazaron curvas de polarización en dicho medio simulado.

Se encontró que el proceso de anodizado de Zr mejora su resistencia a la corrosión. Los resultados obtenidos en el trabajo mostraron que 30V era un valor crítico de potencial de anodizado, ya que muestras anodizadas a potenciales mayores permanecían pasivas en solución SBF, mientras que muestras anodizadas a potenciales menores sufrían corrosión localizada por picado.

Posteriormente al estudio *in vitro*, en trabajos anteriores [48], se realizaron ensayos *in vivo* de muestras anodizadas mediante implantes en ratas Wistar con el fin de evaluar la biocompatibilidad de la aleación en cuestión y estudiar posteriormente la oseointegración. Se

evaluó el comportamiento de los materiales anodizados a 30V y 120V y los resultados se compararon con el comportamiento del material sin anodizar. Se pudo concluir que el proceso de anodizado, además de mejorar la resistencia a la corrosión, incrementa la capacidad de oseointegración, que fue medida a través del porcentaje de oseointegración (OI) y del volumen óseo peri-implante. De los potenciales que se evaluaron en el trabajo precedente se concluyó que 30V era el potencial que producía mayor OI, aunque era crítico desde el punto de vista de la resistencia a la corrosión. Por otra parte, la utilización de potenciales de anodizado más altos para mejorar la resistencia a la corrosión parecían no ser adecuado para mejorar la OI.

### **1.9 – Objetivos del presente trabajo**

Con el fin de ampliar la cantidad y el tipo de materiales que se pueden usar como implantes, son necesarios, el desarrollo y estudio de nuevas aleaciones que presenten excelente biocompatibilidad, suficiente resistencia mecánica y buena resistencia a la corrosión.

Muchos estudios han demostrado que los materiales con menor módulo de elasticidad pueden simular de mejor manera un fémur natural. Por lo tanto, existe un interés en aleaciones de éstas características con el fin de obtener una nueva generación de materiales para implantes.

Aunque la aleación de Ti-6Al-4V sigue siendo la más usada debido a sus excelentes propiedades, elementos no tóxicos tales como el Nb, Ta, Mo, Sn y Zr están siendo considerados. En particular, la combinación de Zr y Nb podría resultar interesante para desarrollar una estructura que presente una alta resistencia a la corrosión, y continúe teniendo las buenas propiedades mecánicas necesarias para los implantes.

Por todo lo expuesto, en el presente trabajo se propone evaluar la factibilidad de uso de una aleación de Zr y Nb (Zr-2.5%Nb) como potencial material de implante. Existen algunos estudios al respecto [49] [50] [51]; sin embargo, no se ha encontrado un estudio sistemático que evalúe no sólo el comportamiento *in vitro* del material, sino también su respuesta *in vivo*.

Teniendo en cuenta la experiencia previa en circonio, en el presente trabajo se propone evaluar el comportamiento tanto *in vitro* como *in vivo* de la aleación Zr-2.5%Nb

tratada superficialmente mediante un proceso de anodizado en un rango de potenciales de anodizado entre 30V y 120V.

Una vez obtenidos los recubrimientos por anodizado, se evaluará el comportamiento electroquímico de la aleación en solución simulada de medio biológico, mediante el trazado de curvas de polarización, comparándose los resultados con los obtenidos con el material sin anodizar.

El comportamiento *in vivo* se evaluará mediante la colocación de implantes en ratas Wistar con el fin de evaluar histológica e histomorfométricamente la respuesta de los tejidos periimplantarios ante los diferentes tratamientos superficiales realizados a diferentes potenciales de anodizado y su comparación con el material sin anodizar. Como parámetros histomorfométricos se evaluarán el porcentaje de oseointegración y el volumen óseo periimplante.

Los resultados del presente trabajo serán comparados con los obtenidos en trabajos previos [47] [48] sobre circonio anodizado a diferentes potenciales.

### **1.10- Bibliografía**

- [1] G.S. Duffo, Biomateriales. Una mejor calidad de vida, Eudeba, Buenos Aires, Argentina, 2010.
- [2] S.E. Rodil, Modificación superficial de biomateriales metálicos, Rev. Latinoam. Metal. Y Mater. 29 (2009) 67–83.
- [3] B.D. Ratner, Reducing capsular thickness and enhancing angiogenesis around implant drug release systems, J. Control. Release. 78 (2002) 211–218.
- [4] B. Kasemo, J. Gold, Implant surfaces and interface processes., Adv. Dent. Res. 13 (1999) 8–20.
- [5] G. Duffo, Materiales y materias primas. Biomateriales, Minist. Educ. Encuentro, Educ. (2011) 43. doi:789. C1229ACE.
- [6] G. Manivasagam, D. Dhinasekaran, A. Rajamanickam, Biomedical Implants: Corrosion and its Prevention - A Review, Recent Patents Corros. Sci. 2 (2010) 40–54.
- [7] U. Kamachi Mudali, T. Sridhar, R. Baldev, Corrosion of bio implants, Sadhana. 28 (2003) 601–637.
- [8] A.I. Pearce, R.G. Richards, S. Milz, E. Schneider, S.G. Pearce, Animal models for implant biomaterial research in bone: a review., Eur. Cell. Mater. 13 (2007) 1–10.
- [9] J.C. Wataha, Biocompatibility of dental casting alloys: A review, J. Prosthet. Dent. 83 (2000) 223–234.
- [10] E.M. Gaviria, Biometales, Mercado Potencial para el Sector Metalmecánico, Met. Actual. (2012) 22–28. <http://www.metalactual.com/>.
- [11] Elementos - de la tabla periódica y sus propiedades, (n.d.).  
<http://elementos.org.es/zirconio>.

- [12] J.A. Davidson, Zirconium oxide and nitride coated prosthesis for reduced microfretting, United States Patent. N° 5.152.794. (1990).
- [13] E. Eisenbarth, D. Velten, M. Müller, R. Thull, J. Breme, Biocompatibility of  $\beta$ -stabilizing elements of titanium alloys, *Biomaterials*. 25 (2004) 5705–5713.
- [14] A. Yamamoto, R. Honma, M. Sumita, Cytotoxicity evaluation of 43 metal salts using murine fibroblasts and osteoblastic cells, *J. Biomed. Mater. Res.* 39 (1998) 331–340.
- [15] P. Thomsen, C. Larsson, L.E. Ericson, L. Sennerby, J. Lausmaa, B. Kasemo, Structure of the interface between rabbit cortical bone and implants of gold, zirconium and titanium, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 8 (1997) 653–665.
- [16] K.M. Sherepo, I.A. Red'ko, Use of Zirconium-Based and Zirconium-Coated Implants in Traumatology and Orthopedics, *Biomed. Eng. (NY)*. 38 (2004) 77–79.
- [17] O.B. Kulakov, A.A. Doktorov, S. V D'iakova, I.I. Denisov-Nikol'skiĭ, K.A. Grötz, Experimental study of osseointegration of zirconium and titanium dental implants., *Morfol. Saint Petersburg, Russ.* 127 (2005) 52–5.
- [18] M.B. Guglielmotti, S. Renou, R.L. Cabrini, A histomorphometric study of tissue interface by laminar implant test in rats., *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*. 14 (1999) 565–570.
- [19] N. Stojilovic, E.T. Bender, R.D. Ramsier, Surface chemistry of zirconium, *Prog. Surf. Sci.* 78 (2005) 101–184.
- [20] R.M. Pilliar, *Metallic Biomaterials*, in: *Biomed. Mater.*, Springer US, Chapel Hill, USA, 2009: pp. 41–81.
- [21] R. Tewari, D. Srivastava, J.K. Chakravarty, Microstructural evolution in zirconium based alloys, *J. Nucl. Mater.* 383 (2008) 153–171.
- [22] G. Totea, D. Ionita, I. Demetrescu, M.M. Mitache, In vitro hemocompatibility and corrosion behavior of new Zr-binary alloys in whole human blood, *Cent. Eur. J. Chem.* 12 (2014) 796–803.

- [23] S.Y. Yu, J.R. Scully, Corrosion and Passivity of Ti-13% Nb-13% Zr in Comparison to Other Biomedical Implant Alloys, *Corros.* 53 (1997) 965–976.
- [24] L.W. Hobbs, V.B. Rosen, S.P. Mangin, M. Treska, G. Hunter, Oxidation Microstructures and Interfaces in the Oxidized Zirconium Knee, *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* 2 (2005) 221–246.
- [25] J.K.L. Lee, K. Maruthainar, N. Wardle, F. Haddad, G.W. Blunn, Increased force simulator wear testing of a zirconium oxide total knee arthroplasty, *Knee.* 16 (2009) 269–274.
- [26] G. Peuster, M. Wohlsein, P. Brüggemann, M. Ehlerding, M. Seidler, K. Fink, C. Brauer, H. Fischer, A. Hausdorf, A novel approach to temporary stenting: degradable cardiovascular stents produced from corrodible metal-results 6-18 months after implantation into New Zealand white rabbits., *Heart.* 86 (2001) 563–9.
- [27] TIPOS DE TEJIDO ÓSEO, *Encicl. Tareas.* (2015).  
<http://www.encyclopediadetareas.net/2016/07/tipos-de-tejido-oseo.html>
- [28] Estructura del Tejido Óseo, Pontif. Univ. Católica Valparaíso. (n.d.).  
<http://www.anatomiahumana.ucv.cl/kine1/top2.html>.
- [29] E. Guercio, E. Dinatale, Consideraciones estructurales y biológicas en la oseointegración, *Acta Odontol. Venez.* 47 (2009).
- [30] R. Brånemark, P.-I. Brånemark, B. Rydevik, R.R. Myers, Osseointegration in skeletal reconstruction and rehabilitation: A review, *J. Rehabil. Res. Dev.* (2001).
- [31] P.I. Brånemark, B.O. Hansson, R. Adell, U. Breine, J. Lindström, O. Hallén, A. Ohman, Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period., *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Suppl.* 16 (1977) 1–132.
- [32] P.I. Brånemark, Osseointegration and its experimental background., *J. Prosthet. Dent.* 50 (1983) 399–410.
- [33] N.D. Gallant, J.L. Charest, W.P. King, A.J. García, Micro- and Nano-Patterned Substrates

- to Manipulate Cell Adhesion, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 7 (2007) 803–807.
- [34] A.-S. Andersson, F. Bäckhed, A. von Euler, A. Richter-Dahlfors, D. Sutherland, B. Kasemo, Nanoscale features influence epithelial cell morphology and cytokine production, *Biomaterials.* 24 (2003) 3427–3436.
- [35] M. Teresa Raimondi, R. Pietrabissa, The in-vivo wear performance of prosthetic femoral heads with titanium nitride coating, *Biomaterials.* 21 (2000) 907–913.
- [36] C. Liu, R.M. Burstein, G. T.Souto, S.P. Vines, Origins of pitting corrosion, *Corros. Eng. Sci. Technol.* 39 (2004) 25–30.
- [37] J.R. Galvele, G.F. Duffó, *Degradación de materiales I : corrosión*, Jorge Baudino Ediciones, Buenos Aires, Argentina, 2006.
- [38] J. Jacobs, J. Gilbert, R. Urban, Current concepts review. Corrosion of metal orthopaedic implants., *J. Bone Joint Surg. Am.* 80 (1998) 1554.
- [39] D.J. Wever, A.G. Veldhuizen, M.M. Sanders, J.M. Schakenraad, J.R. van Horn, Cytotoxic, allergic and genotoxic activity of a nickel-titanium alloy, *Biomaterials.* 18 (1997) 1115–1120.
- [40] J.C. Wataha, P.E. Lockwood, A. Schedle, Effect of silver, copper, mercury, and nickel ions on cellular proliferation during extended, low-dose exposures, *J. Biomed. Mater. Res.* 52 (2000) 360–364.
- [41] S. Virtanen, Biodegradable Mg and Mg alloys: Corrosion and biocompatibility, *Mater. Sci. Eng. B.* 176 (2011) 1600–1608.
- [42] Gerardo D. Lopez, Biodeterioro y corrosion de implantes y protesis metalicas, *Organo La Soc. Argentina Investig. Clínica.* (1993) 260–274.
- [43] S. Virtanen, I. Milošev, E. Gomez-Barrena, R. Trebše, J. Salo, Y.T. Konttinen, Special modes of corrosion under physiological and simulated physiological conditions, *Acta Biomater.* 4 (2008) 468–476.

- [44] Y. Otawara, M.M. Endo, K. Ogasawara, Y. Kubo, A. Ogawa, K. Watanabe, Reliability of cobalt–chromium alloy aneurysm clips after long-term implantations in patients with cerebral aneurysms, *J. Neurosurg.* 105 (2006) 713–716.
- [45] D.G. Olmedo, D.R. Tasat, M.B. Guglielmotti, R.L. Cabrini, Effect of titanium dioxide on the oxidative metabolism of alveolar macrophages: An experimental study in rats, *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* 73A (2005) 142–149.
- [46] S. Merritt, K., Brown, Distribution of Cobalt Chromium Wear and Corrosion Products: *Clinical Orthopaedics and Related Research, Clin. Orthop. Relat. Res.* (1994) S233-43.
- [47] A. Gomez Sanchez, Evaluación in vitro e in vivo de la factibilidad del empleo de circonio como material para la fabricación de implantes oseointegrables, Tesis Doctoral. Instituto Sabato.Universidad Nacional de San Martín-CNEA, 2011.
- [48] N. Carrizo, Evaluación del comportamiento del circonio anodizado para la fabricación de implantes permanentes., Tesis de Maestría. Instituto Sabato.Universidad Nacional de San Martín. CNEA, 2014.
- [49] N.T.C. Oliveira, S.R. Biaggio, R.C. Rocha-Filho, N. Bocchi, Studies on the stability of anodic oxides on zirconium biocompatible alloys, *J. Braz. Chem. Soc.* 13 (2002) 463–468.
- [50] F.Y. Zhou, B.L. Wang, K.J. Qiu, W.J. Lin, L. Li, Y.B. Wang, F.L. Nie, Y.F. Zheng, Microstructure, corrosion behavior and cytotoxicity of Zr–Nb alloys for biomedical application, *Mater. Sci. Eng. C.* 32 (2012) 851–857.
- [51] N.T.C. Oliveira, S.R. Biaggio, R.C. Rocha-Filho, N. Bocchi, Electrochemical studies on zirconium and its biocompatible alloys Ti-50Zr at.% and Zr-2.5Nb wt.% in simulated physiologic media, *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* 74A (2005) 397–407.

**Capítulo II: MATERIALES Y MÉTODOS**

**2.1- Introducción**

El presente trabajo se realizó en tres etapas, a saber:

- En la primera etapa se realizó el anodizado de muestras de Zr-2.5%Nb a diferentes potenciales: 30V, 60V, 90V y 120V. Se estudiaron y caracterizaron química y físicamente las superficies de las probetas.
- La segunda etapa consistió en la realización de los ensayos electroquímicos a fin de evaluar la susceptibilidad a la corrosión de materiales anodizados. Muestras anodizadas a diferentes potenciales y muestras sin anodizar fueron sumergidas en solución fisiológica simulada (SBF), durante períodos de 24 horas y 30 días a 37°C. Posteriormente se caracterizaron las superficies de las probetas química y físicamente y se evaluó el comportamiento electroquímico a través del trazado de curvas de polarización.
- Con el fin de evaluar la biocompatibilidad, en la tercera etapa del proyecto se llevaron a cabo los ensayos *in vivo* en ratas Wistar. Se utilizó el modelo experimental del Implante Laminar [1] implantándose en las tibias de las ratas muestras anodizadas a distintos potenciales y sin anodizar.

**2.2- Preparación de las muestras**

Se utilizó una aleación de Zr-2.5%Nb, se partió de chapas de aproximadamente 1 mm de espesor, que fueron sometidas al tratamiento de laminado, para obtener espesores más finos (0,5mm). El contenido de las principales impurezas de la aleación utilizada se detalla en la tabla 2.1 [2].

Elemento	Medida
niobio	2,4-2,8 %peso
oxígeno	900-1300 ppm en peso
hidrógeno	≤20 ppm en peso
hierro	≤1500 ppm en peso
carbono	≤270 ppm en peso
cromo	≤200 ppm en peso
tantalio	≤200 ppm en peso
circonio y otras impurezas permitidas	Balance

Tabla 2.1: Contenido de principales impurezas del Zr-2.5%Nb.

Se utilizaron láminas de dimensiones 2 x 1 x 0,05 cm, figura 2.1, en las que se pasó, a través de un orificio, un alambre de cobre como contacto eléctrico. El contacto eléctrico se aisló de manera conveniente para que no estuviese en contacto con la solución del electrolito. En la figura 2.1 se indican las dimensiones de la probeta.

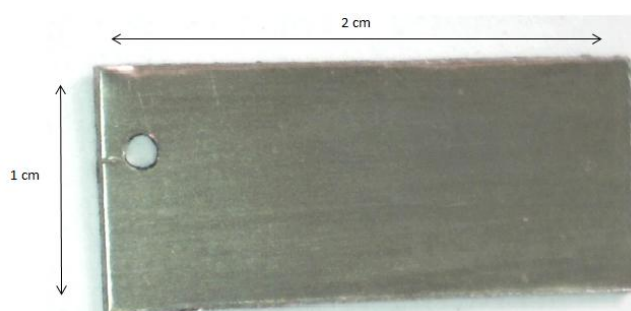


Figura 2.1: Dimensiones de probeta.

### **2.2.1- Modificación superficial: anodizado**

Para el anodizado de las probetas se utilizó una celda de dos electrodos, utilizando una malla de acero inoxidable como contraelectrodo (figura 2.2).

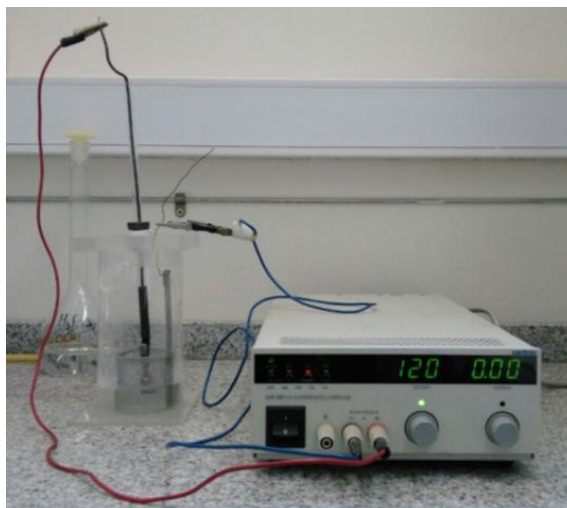


Figura 2.2: Celda de dos electrodos y fuente de tensión constante.

Se anodizaron las láminas a potenciales diferentes: 30V, 60V, 90V y 120V respecto del electrodo auxiliar, durante 60 minutos, en solución 1 mol/L de  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . El anodizado en ácido fosfórico resulta interesante porque durante la formación de la película se pueden incorporar a la superficie por absorción o incorporación a la estructura del óxido especies de importancia biológica, como son los iones fosfato. El grupo  $-\text{PO}_4\text{H}_2$  ha sido considerado uno de los más potentes nucleantes para compuestos ricos en Ca-P (precursores de la hidroxiapatita) durante la inmersión en SBF. La película de óxido anódico formada en este electrolito permitiría aumentar la resistencia a la corrosión al mismo tiempo que la compatibilidad con el medio tisular [3].

La solución de anodizado se obtuvo por dilución de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  concentrado p.a. en agua deionizada obtenida de un equipo Millipore. Para el proceso de anodizado se utilizó una fuente de tensión constante marca Xantrex XHR 300-3.5.

Antes y después de cada tratamiento, las muestras fueron limpiadas con acetona, secadas con aire caliente y guardadas en recipientes herméticos.

### **2.2.2- Caracterización superficial**

Las técnicas con las que se estudiaron las superficies de las muestras luego de los diferentes tratamientos fueron las siguientes:

- Microscopía Electrónica de Barrido

La morfología superficial de todas las muestras fue examinada con microscopía electrónica de barrido (MEB) (FEI QUANTA 200). Se tomaron de manera sistemática imágenes de las muestras a ciertos grados de magnificación para poder evaluar de manera comparativa la morfología de las mismas.

- Espectroscopía dispersiva en energía

Se realizó un análisis químico elemental cualitativo mediante espectroscopía de dispersión de rayos X (EDS). Se determinó el espectro de las superficies. Se realizó un mapeo de algunas zonas de las muestras, para analizar la distribución de ciertos elementos.

- Rugosimetría

Se evaluó la rugosidad superficial mediante el uso de parámetros de amplitud, los cuales resultan importantes para caracterizar las topografías superficiales. Estos parámetros, que son usados para medir las desviaciones verticales de la superficie, son: *altura promedio (Ra)*, *rugosidad cuadrada media (Rq)* y *altura máxima pico-valle (Rt)* [4]. A continuación, se detallan brevemente los parámetros utilizados:

a- *Altura promedio Ra*: conocido también como línea promedio, es el parámetro más usado universalmente para un control general de calidad. Se define como el promedio de los valores absolutos de las desviaciones tomando como referencia una línea media en la longitud de medición; su definición matemática es:

$$R_a = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |y_i|$$

Se puede observar el parámetro en la figura 2.3. Es un parámetro fácil de medir y da una buena información general de las variaciones de altura.

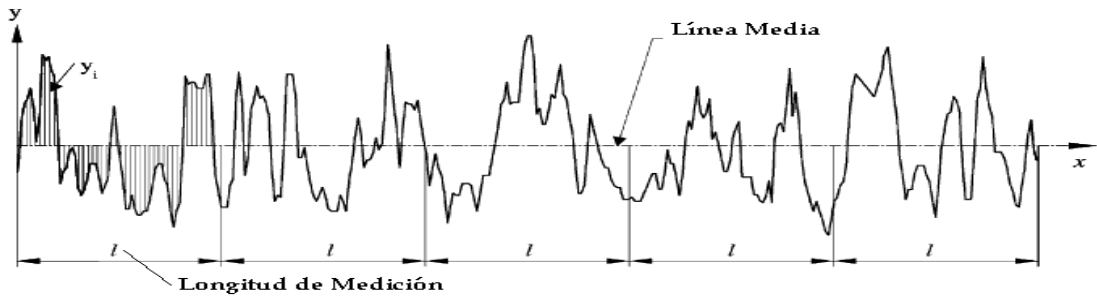


Figura 2.3: Definición del parámetro Ra.

b- *Rugosidad cuadrada media Rq*: Representa la desviación estándar de la distribución de alturas de la superficie, por lo que es considerado un parámetro importante para describir la rugosidad superficial a través de métodos estadísticos. Este parámetro es más sensible que Ra para valores muy alejados de la línea media.

$$R_q = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i^2}$$

c- *Altura máxima pico-valle Rt*: este parámetro indica la altura entre el pico más alto y el valle más profundo en la longitud de medida (figura 2.4).

$$R_t = R_{t3}$$

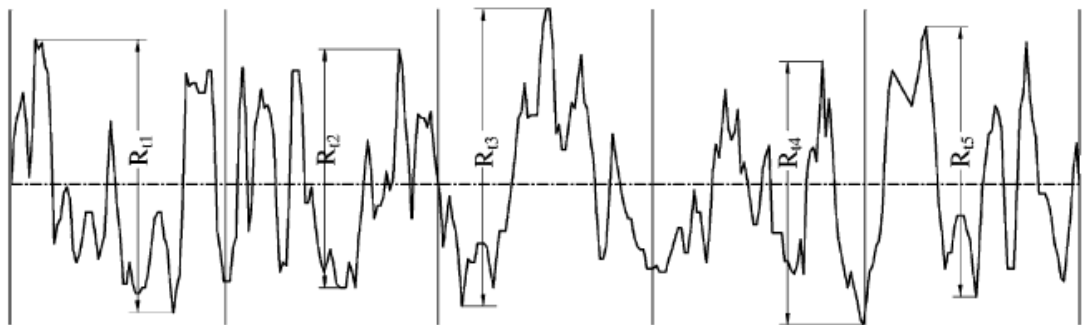


Figura 2.4: Definición del parámetro Rt.

Para realizar las mediciones de rugosidad se utilizó un rugosímetro marca Taylor Precision - Surtronic 25 (con precisión del 2% del valor medido y resolución de 0,01 μm). Los parámetros fueron medidos en ocho direcciones diferentes sobre las probetas (figura 2.5).

Como longitud de medición se utilizó  $L=0,4\text{cm}$ . Posteriormente a esto, se realizó un análisis estadístico ANOVA para poder comparar la rugosidad de las diferentes superficies anodizadas.

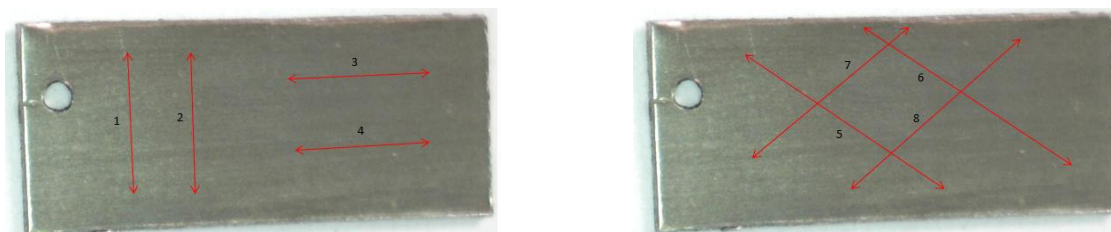


Figura 2.5: Direcciones de medición de rugosidad sobre una probeta.

### **2.3- Ensayos in vitro**

Los ensayos *in vitro* fueron llevados a cabo mediante curvas de polarización anódicas, sumergiendo las probetas en solución simulada de fluido biológico (SBF). La composición para 1 litro de solución se describe en la tabla 2.2 [5]. Los reactivos utilizados fueron de calidad p.a. y el agua deionizada. La preparación de la solución se llevó a cabo de acuerdo al procedimiento indicado en la Norma 23317:2007 [6]. Se reguló el pH de la solución con pH-metro marca Altronix entre 7,35 y 7,25 mediante el agregado controlado de HCl.

Compuesto	Cantidad (gr/l)
NaCl	8,053
KCl	0,224
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,368
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,305
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,1026
NaHCO <sub>3</sub>	0,353
Tris(hidroximetil)aminometano	6,057

Tabla 2.2: Composición de la solución SBF.

Se sumergieron las muestras anodizadas a los diferentes potenciales y sin anodizar, en solución SBF, y se incubaron en estufa a 37°C durante 24 horas y 30 días.

Los ensayos fueron realizados en una celda de tres electrodos: el contraelectrodo de platino, el electrodo de referencia de calomel saturado y las probetas de la aleación de Zr-

2.5%Nb como electrodo de trabajo. Los ensayos fueron realizados en solución SBF, recubriendo parte de la muestra con resina epoxi, exponiendo a la solución una determinada área de la probeta ( $A=1\text{cm}^2$ ).

Previamente al trazado de las curvas de polarización, se midió el potencial de corrosión ( $E_{\text{corr}}$ ) durante 1 hora, hasta estabilizar el valor del mismo. Se evaluó el comportamiento anódico de muestras anodizadas a diferentes potenciales y sin anodizar, que habían sido previamente inmersas en solución SBF durante 24 horas y 30 días. Las curvas de polarización se trazaron por duplicado, y en algunos casos por triplicado. Los ensayos se realizaron con un potenciostato marca GAMRY CMS-100. Se utilizó una velocidad de barrido de  $0,2\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , partiendo desde el potencial de corrosión hasta  $1,4\text{V}$  respecto del electrodo de referencia o hasta que la densidad de corriente alcanzara el valor de  $0,010\text{ A}\cdot\text{cm}^{-2}$ .

### **2.4 – Ensayos *in vivo***

#### **2.4.1 – Animales de experimentación**

Los ensayos *in vivo* se llevaron a cabo siguiendo el modelo experimental descrito por Cabrini y Col. [1]. Se utilizaron 40 ratas Wistar macho con peso corporal de  $110\pm 10$  gramos (figura 2.6). Se siguieron las directivas de los Institutos Nacionales de Salud (NIH, USA) para el uso y cuidado de animales de laboratorio [7] y los lineamientos de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires (Res (CD) 352/02 y Res (CD) 694/02).



Figura 2.6: Ratas Wistar utilizadas en los ensayos *in vivo*.

### **2.4.2 – Características del implante**

Se utilizaron láminas de 1 x 5 x 0,1 mm, de Zr-2.5%Nb, anodizadas en H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 30V, 60V, 90V y 120V (figura 2.7).

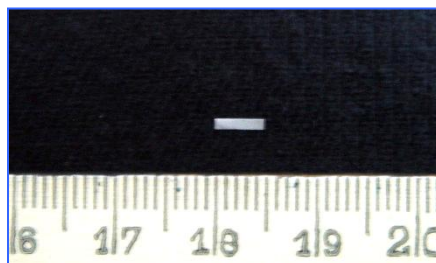


Figura 2.7: Dimensiones de muestras utilizadas en los ensayos.

Se implantaron 4 grupos de 10 ratas cada uno. Cada grupo corresponde a un valor de los potenciales estudiados. En la tabla 2.3 se detallan los grupos con sus respectivos voltajes.

Grupo	Voltaje de anodizado [V]
I	30
II	60
III	90
IV	120

Tabla 2.3: Grupos con sus correspondientes voltajes.

### **2.4.3 – Procedimiento quirúrgico**

Las cirugías se realizaron en el Laboratorio para el Estudio de Biomateriales de la Cátedra de Anatomía patológica, de la Facultad de Odontología, UBA.

Los animales fueron anestesiados intraperitonealmente con una solución de 8 mg de clorhidrato de ketamina (Kelatar® Parke-Davis, USA) y 1,28 mg de xylacina (Rompun® Bayer, germany) cada 100 g de peso corporal. Se utilizó instrumental para diéresis y sutura previamente esterilizado en autoclave. Las tibias de las ratas fueron rasuradas en la zona de la cresta tibial con rasuradora eléctrica, realizándose luego, una incisión de 1cm a nivel de la misma con hoja de bisturí Bard-Parker número 15 (figura 2.8).

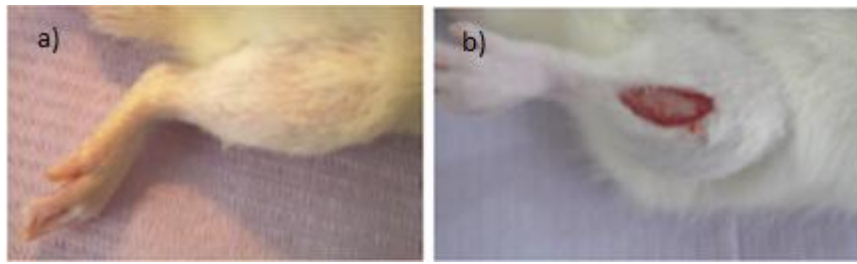


Figura 2.8: a) Tibia rasurada; b) Incisión a lo largo de la cresta tibial [8]

El periostio y los músculos fueron disecados exponiéndose la superficie ósea del sector proximal de la diáfisis tibial (figura 2.9a). Posteriormente se realizó una perforación de aproximadamente 1 mm de diámetro con una fresa redonda, por rotación manual, para prevenir sobre calentamiento del tejido óseo y posterior necrosis (figura 2.9b).

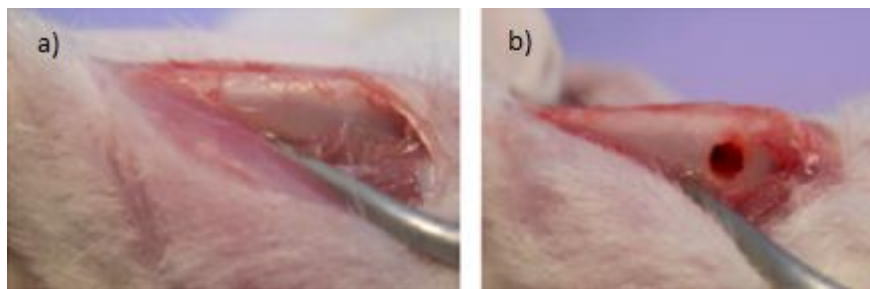


Figura 2.9: a) Cara lateral exterior de la tibia; b) Perforación.

En la tibia derecha del animal, se implantó en la médula ósea hematopoyética, un implante laminar de Zr-2.5%Nb anodizado, siguiendo el eje mayor de la misma (figura 2.10a). A su vez, en la tibia izquierda se introdujo un implante laminar de Zr-2.5%Nb sin anodizar (grupo control). Se realizó la sutura de piel, con hilo de algodón, a puntos separados (figura 2.10b). No se administró antibioticoterapia.

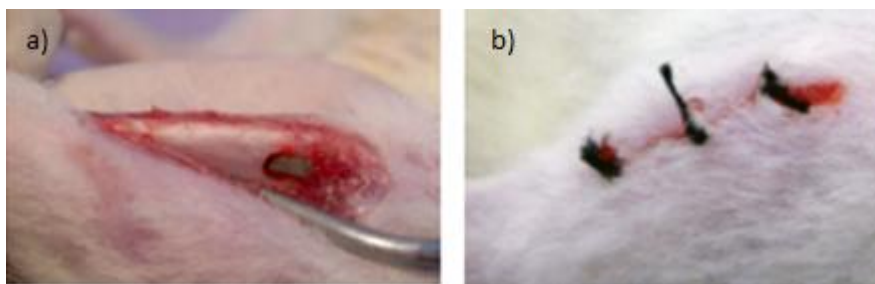


Figura 2.10: a) El implante es introducido; b) Sutura de piel.

Luego de 30 días post-implantación, se practicó la eutanasia de los animales por sobredosis de Clorhidrato de Ketamina en combinación con Clorhidrato de xilazina 2% por vía intraperitoneal. Las tibias con implantes se resecaron, se disecaron los tejidos blandos, las muestras se fijaron en solución de formol buffer al 10% y se radiografiaron con un equipo odontológico convencional y películas periapicales (Kodak) a una distancia foco objeto de 20 cm.

En la figura 2.11 se puede observar una radiografía de una tibia en posición frontal y transversal.

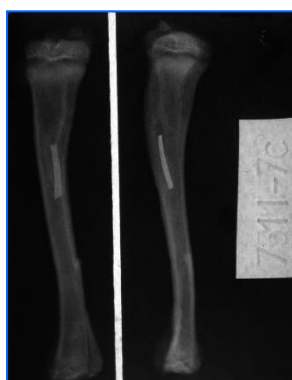


Figura 2.11: Radiografías de tibia, vistas frontal y transversal. Obsérvese el implante en el compartimento medular de la tibia.

En la figura 2.12 se puede observar el implante en la médula ósea hematopoyética con capacidad osteogénica.

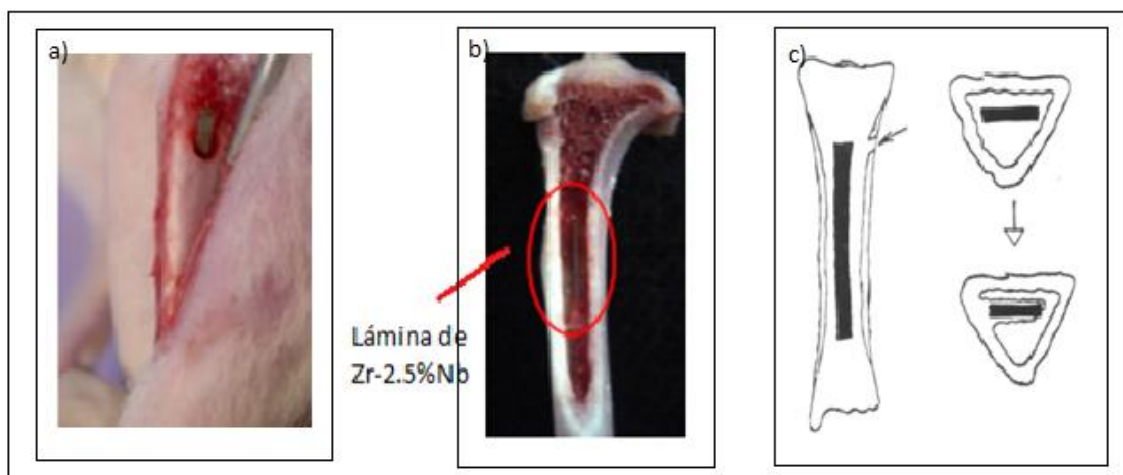


Figura 2.12: a) Implante laminar introduciéndose en la tibia de la rata, b) macroscopía donde se observa el implante laminar de Zr-2.5Nb en el interior de la tibia luego que se ha resecado la cresta tibial, c) esquema donde se muestra la posición del implante laminar en corte longitudinal y transversal.

#### **2.4.4 – Procesamiento histológico**

Las tibias, luego de ser resecadas y radiografiadas, fueron procesadas para su posterior inclusión en metacrilato de metilo (figura 2.13).



Figura 2.13: Tibia incluida en metacrilato de metilo.

Se realizaron cortes perpendiculares al eje mayor del implante utilizando un micrótopo Sistema EXAKT 300CP con banda diamantada (figura 2.14 a y b).

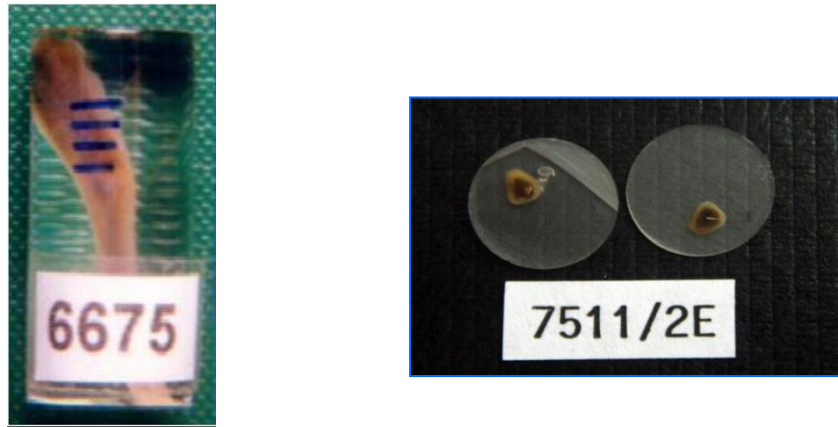


Figura 2.14: a) Zonas donde se obtendrán cortes perpendiculares al eje mayor de la tibia; b) Muestras histológicas de aproximadamente 500  $\mu\text{m}$  de espesor, luego de los cortes transversales al eje mayor de la tibia (en el interior del macrocorte se observa el implante).

Obtenidos los macrocortes, se adelgazaron utilizando una pulidora para óptica y luego se finalizaron manualmente con lijas al agua de diferente granulometría (#320, #400 y #600). Se obtuvieron cortes histológicos de aproximadamente 70 micrómetros de espesor lo que permite la posterior observación microscópica. Los cortes histológicos fueron coloreados con la coloración de Azul de Toluidina – borato de sodio 1%, y fijados con molibdato de amonio al 5%. El montaje se realizó con glicerina para el posterior análisis microscópico mediante microscopía óptica (figura 2.15).

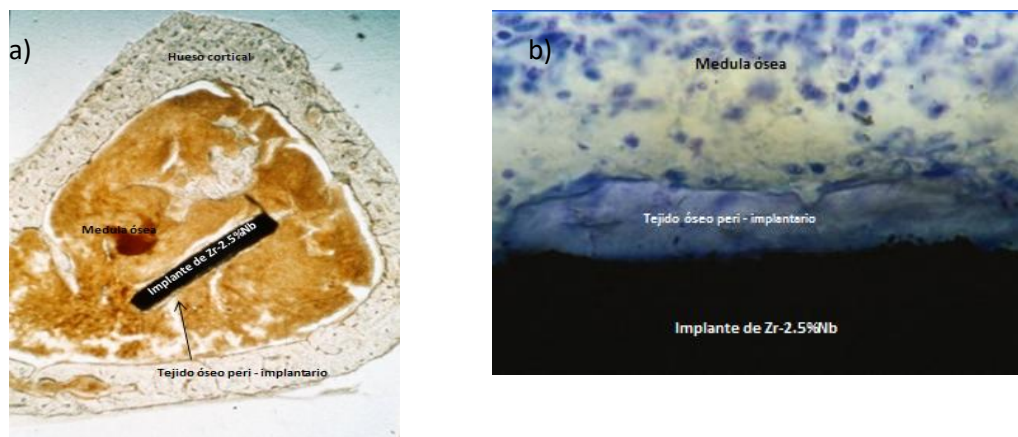


Figura 2.15: a) Corte histológico incluido en metacrilato de metilo y sin colorear donde se observa el implante laminar (negro), el tejido óseo peri-implantario, la médula ósea hematopoyética y parte de la cortical de la tibia. b) Corte histológico magnificado y coloreado con Azul de Toluidina 1% donde se aprecia el tejido óseo en contacto con el implante (oseointegración).

#### **2.4.5 – Análisis histomorfométrico**

Las determinaciones histomorfométricas fueron realizadas sobre imágenes fotográficas obtenidas con un fotomicroscopio (Akioskop 2 MOP, K. Zeiss). La evaluación de los parámetros histomorfométricos se realizó con un software ad-hoc (ImageTool. Versión 3.0 Final.)

Los parámetros histomorfométricos evaluados a los 30 días post – implante fueron:

1. Porcentaje de contacto tejido óseo-implante (oseointegración)
2. Volumen de tejido óseo peri- implante.

Para medir el porcentaje de oseointegración, se tomó como 100% el perímetro del implante, y se consideró como tejido óseo oseointegrado a aquel que se encontraba en contacto directo con el implante. Para la determinación del volumen de tejido óseo peri-implante se estimó la cantidad de tejido óseo que rodeaba al implante.

La determinación de los parámetros histomorfométricos se llevó a cabo mediante la utilización de una herramienta del software ImageTool Versión 3.0 Final.

La significancia estadística, entre medias de grupos, fue establecida por el test t de Student, considerándose significativo un valor de  $p < 0,05$ .

**2.5 – Bibliografía**

- [1] R.L. Cabrini, M.B. Guglielmotti, J.C. Almagro, Histomorphometry of initial bone healing around zirconium implants in rats., *Implant Dent.* 2 (1993) 264–7.
- [2] R. Holt, P. Zhao, Micro-texture of extruded Zr-2.5Nb tubes, *J. Nucl. Mater.* (2004).
- [3] A. Gomez Sanchez, Evaluación in vitro e in vivo de la factibilidad del empleo de circonio como material para la fabricación de implantes oseointegrables, Tesis Doctoral. Instituto Sabato.Universidad Nacional de San Martín-CNEA, 2011.
- [4] E.S. Gadelmawla, M.M. Koura, T.M.A. Maksoud, I.M. Elewa, H.H. Soliman, Roughness parameters, *J. Mater. Process. Technol.* 123 (2002) 133–145.
- [5] T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials.* 27 (2006) 2907–2915.
- [6] ISO 23317:2014, Implants for surgery — In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials, (2014).
- [7] Committee for the Update of the Guide for the care and use of laboratory Animals. 8 edition., *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.*, USA, 2011.
- [8] S. Renou, M.B. Guglielmotti, R. Cabrini, Radiación e implantes metálicos. Modelo experimental, Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Odontología, 2006.

**Capítulo III: ANODIZADO Y ESTRUCTURA SUPERFICIAL**

**3.1 – Introducción**

Cuando quedan expuestos al medio ambiente, la mayoría de los metales sufre el proceso denominado “corrosión”. Este puede tener distintos grados de severidad, pero independientemente de ellos, la superficie del metal se transforma cambiando su aspecto y sobre todo sus propiedades mecánicas.

El control de las propiedades químicas, físicas y topográficas de las superficies de implantes es de gran importancia. Las técnicas y métodos utilizados son variados, entre ellos el anodizado, que es frecuentemente usado en materiales implantables.

El anodizado es un proceso electroquímico en el cual se forma una fina película de óxido (película anódica) sobre el metal o aleación controlada por el potencial aplicado, y que sirve para protegerlos del medio ambiente, a la vez que sirve para decorarlos. Esta película anódica está firmemente adherida al metal. Así, el proceso de anodizado consiste en obtener de manera artificial películas de óxido de mucho mayor espesor y con mejores características de protección que las capas naturales. La película superficial de óxido en general logra uniones fuertes y adherencia con el sustrato metálico subyacente [1] [2].

En el caso del circonio, el óxido que se forma luego del proceso de anodizado sobre el metal, se encuentra generalmente bajo esfuerzos de compresión, debido a que éste ocupa un mayor volumen que el del metal original [3]. El espesor del film de óxido “nativo” varía de acuerdo a varios autores entre 2 y 5 nm [1]. Por otra parte, el espesor de la capa de óxido anódico puede ser controlado variando los parámetros de procesamiento, tales como la densidad de corriente aplicada, el potencial de anodizado o el electrolito. Artificialmente se pueden obtener películas en las que el espesor sea de 25 a 30  $\mu\text{m}$  en el tratamiento de protección o decoración y de casi 100  $\mu\text{m}$  en el procedimiento de endurecimiento superficial (anodizado duro). En general, el espesor del óxido aumenta al aumentar el potencial de anodizado.

El fenómeno de interferencia es la causa de la diferente coloración que presentan las películas anódicas crecidas a distintos potenciales de anodizado [4] (figura 3.1).

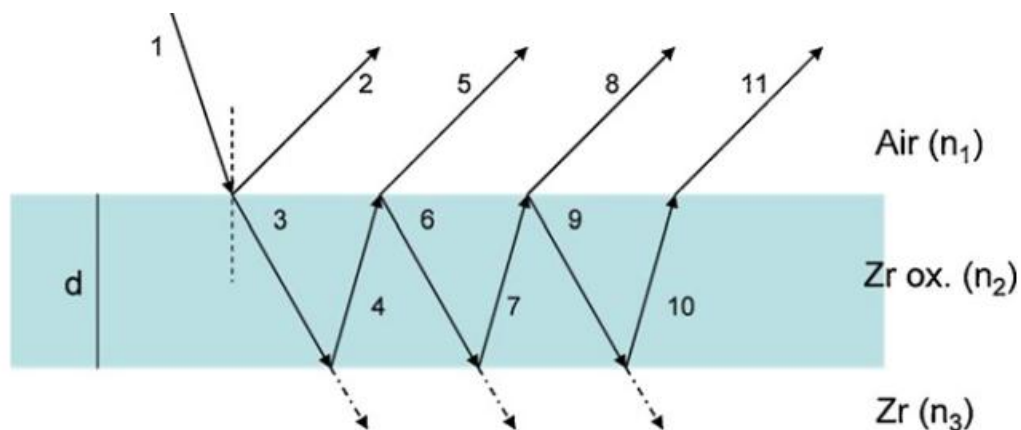


Figura 3.1: Esquema describiendo la teoría de interferencia de haces múltiples;  $d$ : espesor del film;  $n_1, n_2$  y  $n_3$ : índices de refracción del aire, película de óxido y sustrato metálico respectivamente [5].

Aunque los colores del óxido anódico están principalmente relacionados con el espesor de los films ( $d$ ), existen muchos factores que influyen el color resultante observado en cada condición de anodizado, los principales son: rugosidad del sustrato, el espesor no-uniforme de la película a lo largo de toda la muestra, la estequiometría de la superficie del óxido, defectos o impurezas presentes, etc. [4]. Por estas razones, los colores reportados por diferentes autores son variables, incluso cuando se trabaja con el mismo potencial de anodizado y se obtiene el mismo espesor de película.

La variación de colores es particularmente notoria cuando se utilizan diferentes electrolitos o cuando varía la concentración del mismo electrolito. Sin embargo, cuando las condiciones iniciales son mantenidas, los colores de la película de óxido pueden ser utilizados para una rápida identificación del espesor resultante asociado a un potencial de anodizado determinado [6].

### 3.2 – Resultados y discusión

#### 3.2.1 – Anodizado

Se anodizaron probetas de Zr-2.5%Nb en solución de  $H_3PO_4$  a cuatro potenciales distintos: 30V, 60V, 90V y 120V. Para cada potencial de anodizado se obtuvieron colores característicos y altamente reproducibles (figura 3.2). Asignar un color específico para cada muestra resulta engorroso, ya que son colores tornasolados y dependen del ángulo de incidencia de la luz. Sin embargo, como se puede observar en la figura 3.2, se pueden ver colores homogéneos y únicos para los distintos potenciales de anodizado.

Antes del proceso de anodizado, las muestras de circonio presentaban un color gris plateado con la brillantez característica de los metales, mientras que luego de anodizadas presentaron un marcado decrecimiento del brillo, que lleva a una apariencia como a “cerámico”. Para potenciales de 30V y 60V los colores que presentan las probetas varían en la gama de los verdosos, mientras que para potenciales de 90V y 120V la gama se encuentra alrededor de los grises azulados.

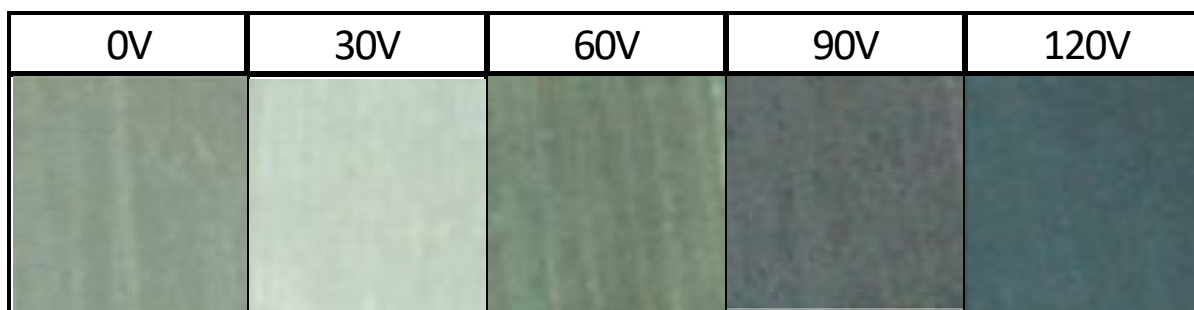


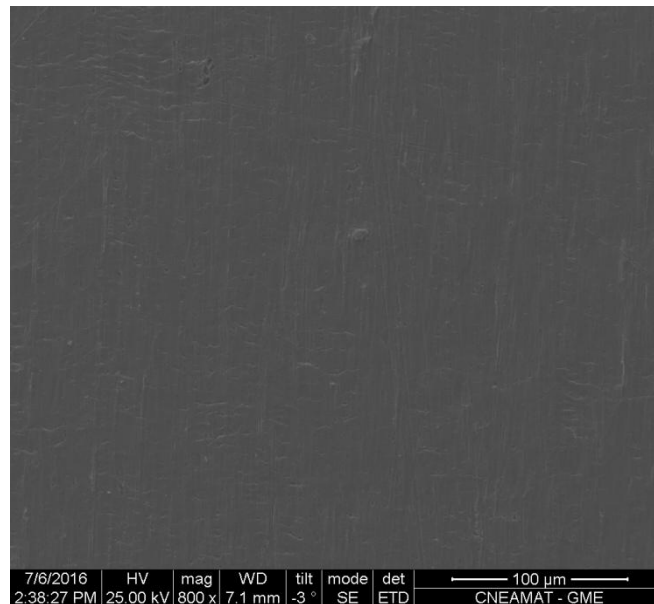
Figura 3.2: Colores de las muestras anodizadas a diferentes potenciales.

#### 3.2.1.1 – Micrografías mediante microscopía electrónica de barrido.

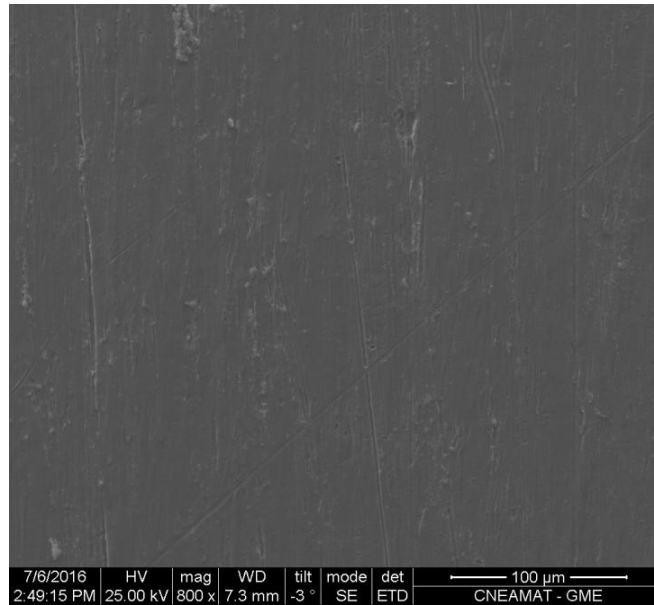
Para realizar el estudio de la topografía superficial de las muestras, previo a la observación en microscopio electrónico, se metalizaron las probetas para poder observar con mayor definición en MEB de alto vacío.

La figura 3.3 muestra micrografías MEB correspondientes a las muestras de Zr-2.5%Nb. En la figura 3.3a se observa una muestra no anodizada, mientras que las figuras 3.3 b-e son de muestras anodizadas a potenciales crecientes (30V, 60V, 90V y 120V).

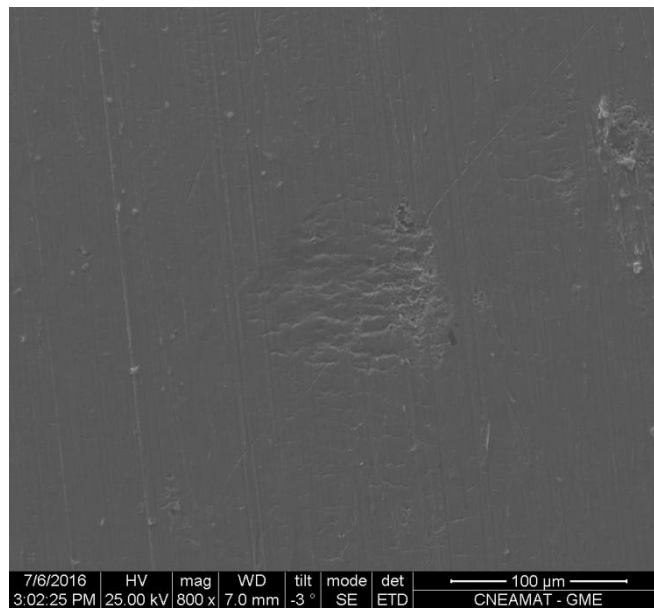
A medida que se modificó el potencial de anodizado, se pudo observar que la superficie cambiaba. Esta morfología se ilustra en las figuras 3.3 b-e. En todas las micrografías correspondientes a muestras anodizadas se encontraron elevaciones (señalado mediante una flecha en la figura 3.4) distribuidas de manera desigual que, a priori, se piensa que pueden deberse a que al aumentar el potencial de anodizado, aumentan los defectos y tensiones internas en la capa de óxido anódico.



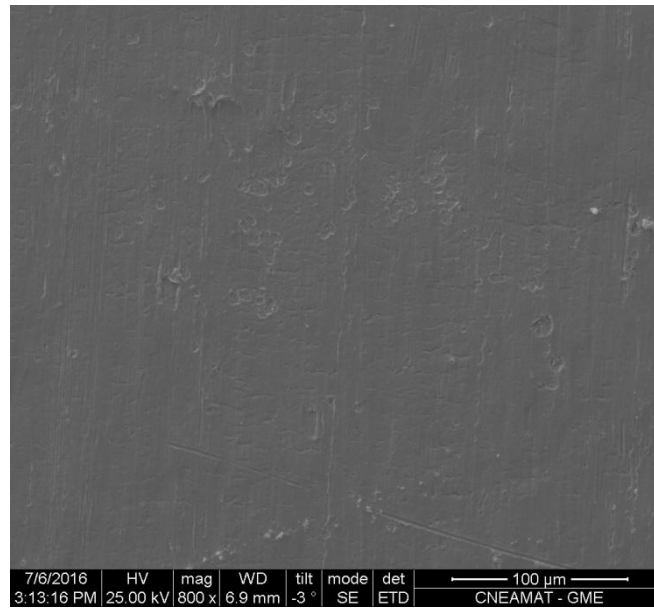
a) Muestra no anodizada



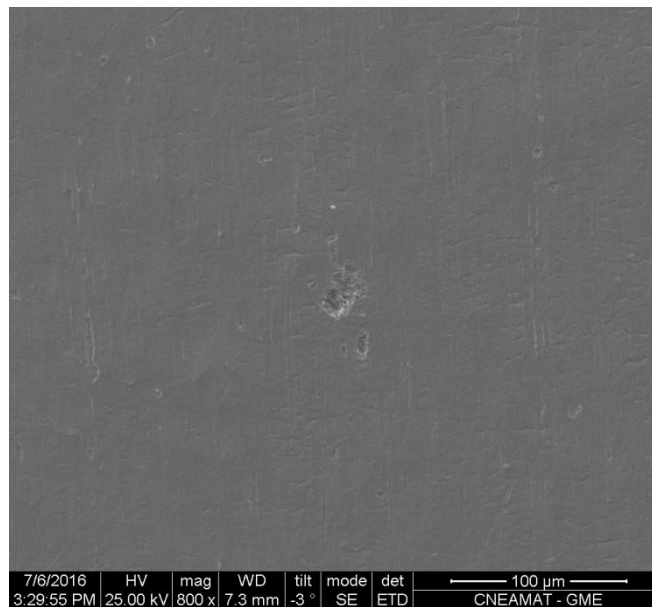
b) 30V



c) 60V



d) 90V



e) 120V

Figura 3.3: Micrografías de la superficie de probetas: a) sin anodizar; b) anodizadas a 30V; c) anodizadas a 60V; d) anodizadas a 90V; y e) anodizadas a 120V.

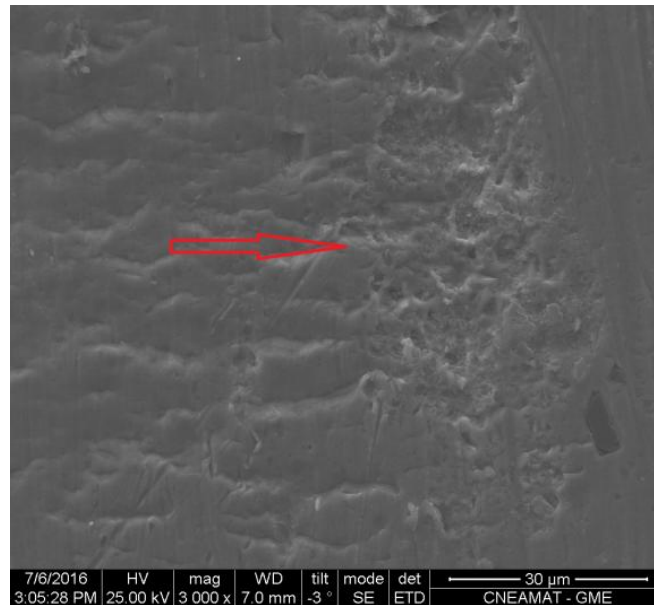


Figura 3.4: Superficie con "elevaciones". Muestra anodizada a 60V.

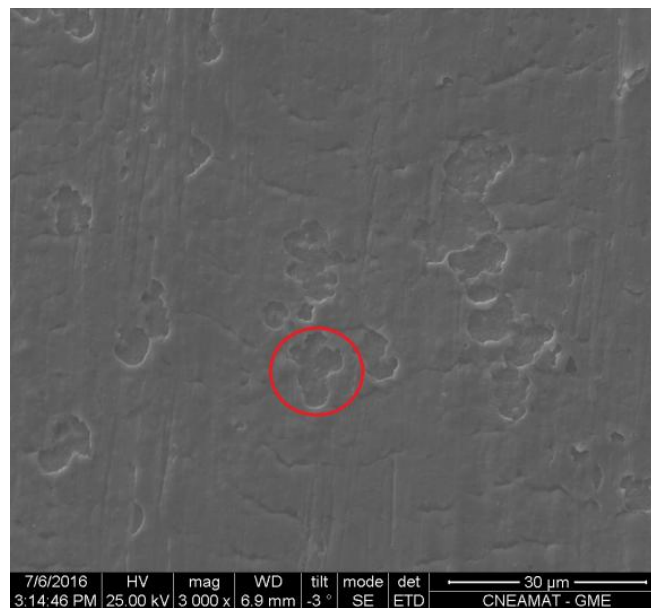


Figura 3.5: Imperfecciones en forma de "cráteres". Muestra anodizada a 90V.

Carrizo et al. [7] estudiaron la morfología del film anódico crecido sobre Zr-2.5%Nb luego de un proceso de anodizado a través de microscopía electrónica y observaron que el

óxido que crecía sobre el sustrato formaba grupos o “islas” y a medida que se aumentaba el potencial de anodizado, estos grupos de óxidos aparecían con mayor tamaño y en mayor número.

Gomez Sanchez et al. [8] estudiaron al Zr puro anodizado a potenciales entre 3V y 30V en solución 1 mol/L de  $H_3PO_4$ . Mediante la evaluación cualitativa a través de EDS, concluyeron que las zonas más claras que se presentaban en las micrografías MEB correspondían a sitios de crecimiento de óxido. Así también, compararon las zonas claras y oscuras de las micrografías, y observaron un aumento localizado del contenido de oxígeno en las zonas claras y la presencia de islas correspondientes al óxido superficial.

En otro trabajo [9], en donde se estudió al circonio sin anodizar y anodizado a potenciales de 30V y 60V en soluciones de  $H_3PO_4$  con y sin fluoruro, se observó mediante micrografías MEB la presencia de discontinuidades y porosidades sobre el óxido formado sobre la superficie del material, presentando una superficie más lisa aquellas muestras anodizadas en solución de ácido fosfórico con fluoruro.

El crecimiento no homogéneo de películas de óxido anódico fue estudiado por Cox [10] también en otros metales válvula y aleaciones como el Zr y el Zircaloy-4 en diferentes soluciones electrolíticas, tanto a potencial como a densidad de corriente constantes. En estas investigaciones se determinó que en electrolitos que contienen iones nitrato, cromato, dicromato y fosfato, se obtienen películas porosas y se defendió la teoría de que la incorporación de aniones provenientes del electrolito pareciera ser la causa principal de la aparición de porosidad en el film, dado que los aniones deberían afectar el transporte local de oxígeno hacia el interior de la película.

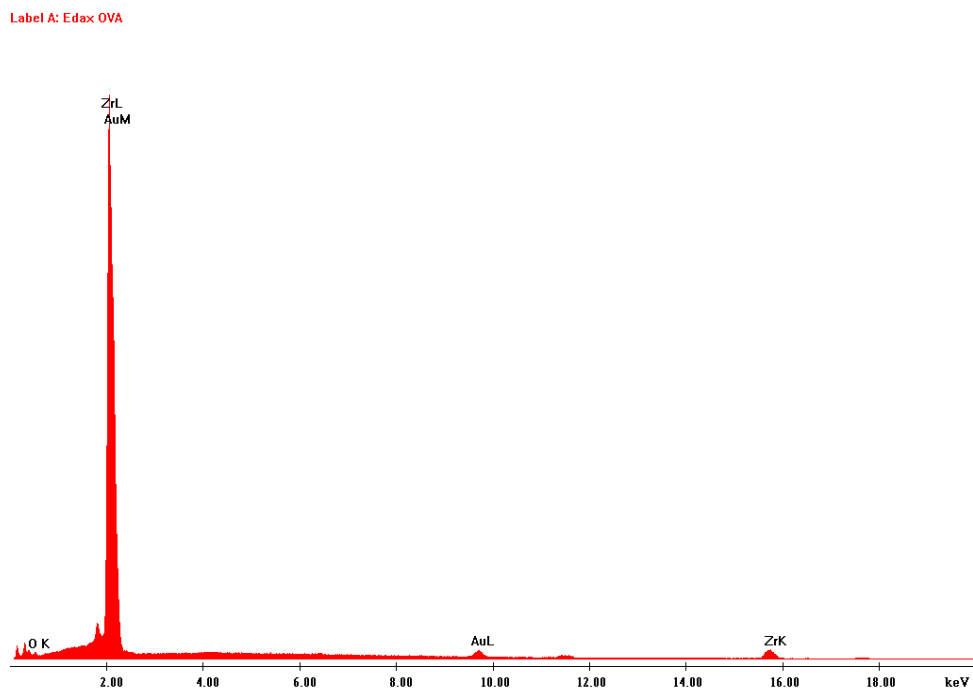
En contraste, en las aleaciones de Zr-2.5%Nb estudiadas en el presente trabajo, no se observaron zonas de crecimiento de óxidos. La presencia de imperfecciones y elevaciones de la capa de óxido anódico, no pudo relacionarse con el potencial de anodizado.

3.2.1.2 – Análisis químico

Mediante EDS se determinaron los elementos presentes en la superficie de las muestras de Zr-2.5%Nb no anodizadas y anodizadas a los diferentes potenciales de estudio (30V, 60V, 90V y 120V). Los resultados se observan en la figura 3.6.

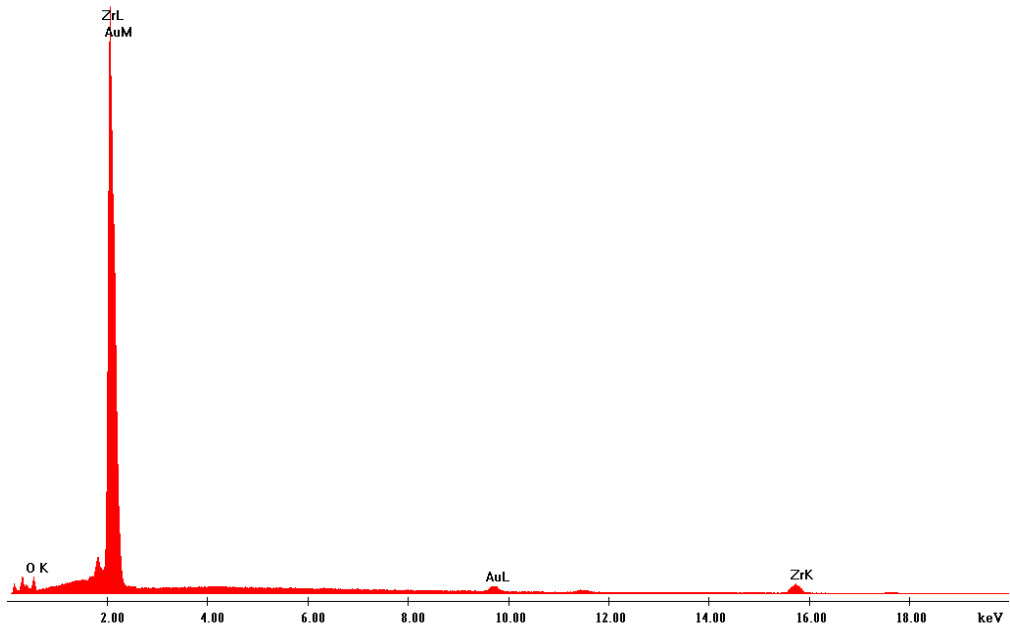
El espectro EDS correspondiente a las probetas de Zr-2.5%Nb no anodizadas, muestra la presencia de circonio y oxígeno, presentándose este último en cantidades muy pequeñas, difíciles de estimar cuantitativamente (figura 3.4 a) dado que se confunde con la línea de base del espectro.

En las muestras anodizadas a los diferentes potenciales también se observa la presencia de circonio y oxígeno. En estos casos la señal de oxígeno es mayor al caso de las probetas no anodizadas y se incrementa con el aumento del potencial de anodizado (figura 3.4 b, c, d y e). Este hecho pone de manifiesto que al aumentar el potencial de anodizado aumenta el espesor del óxido anódico.



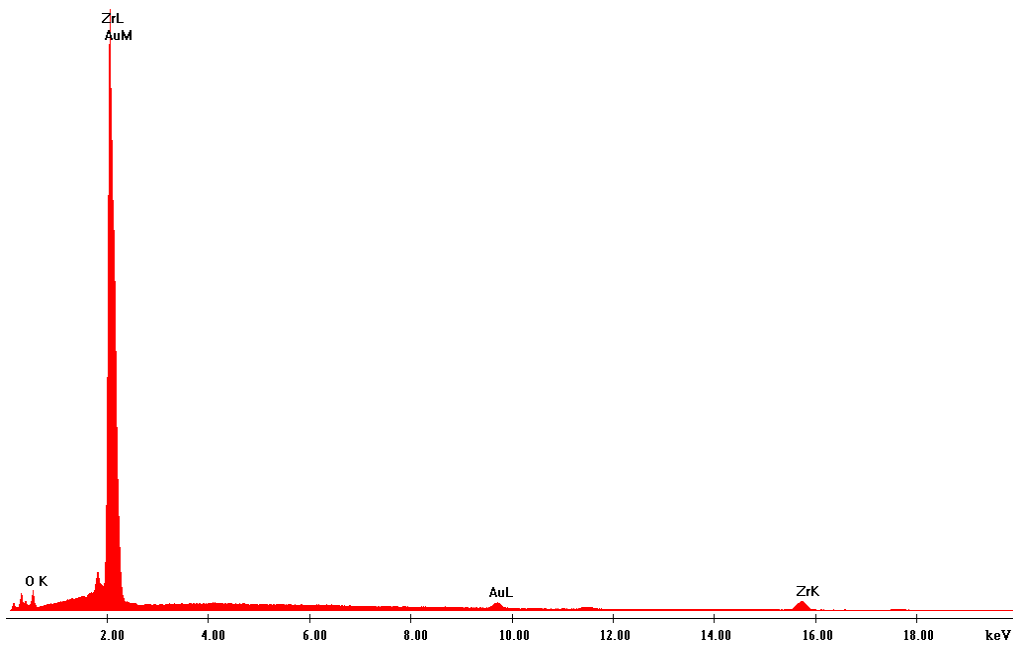
a)

Label A: Edax 30VA



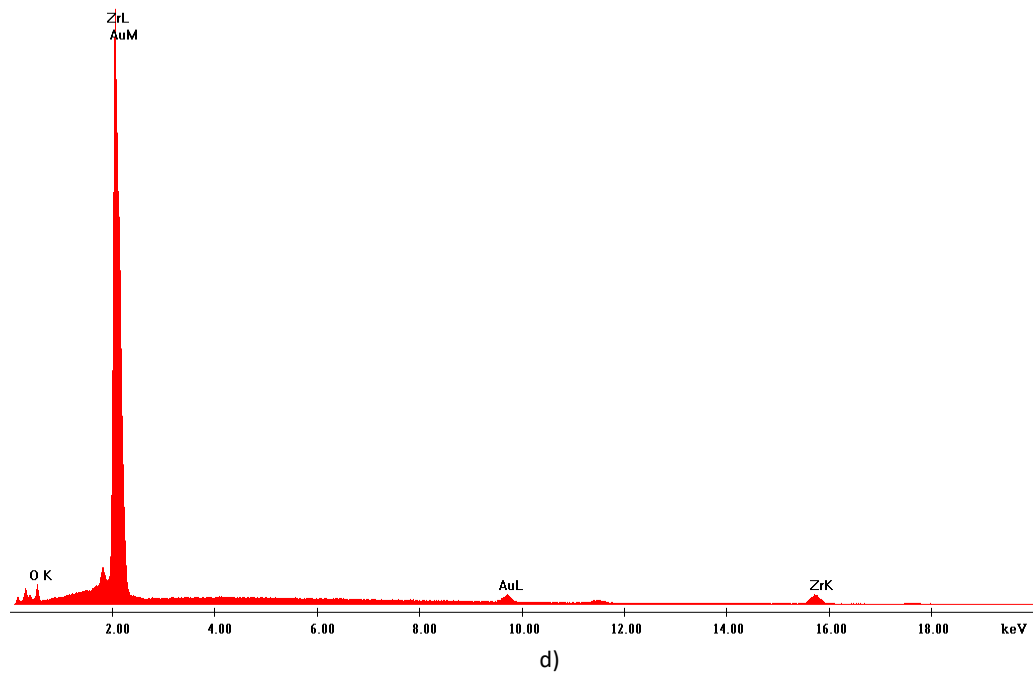
b)

Label A: Edax 60VA



c)

Label A: Edax 90VA



Label A: Edax 120VA

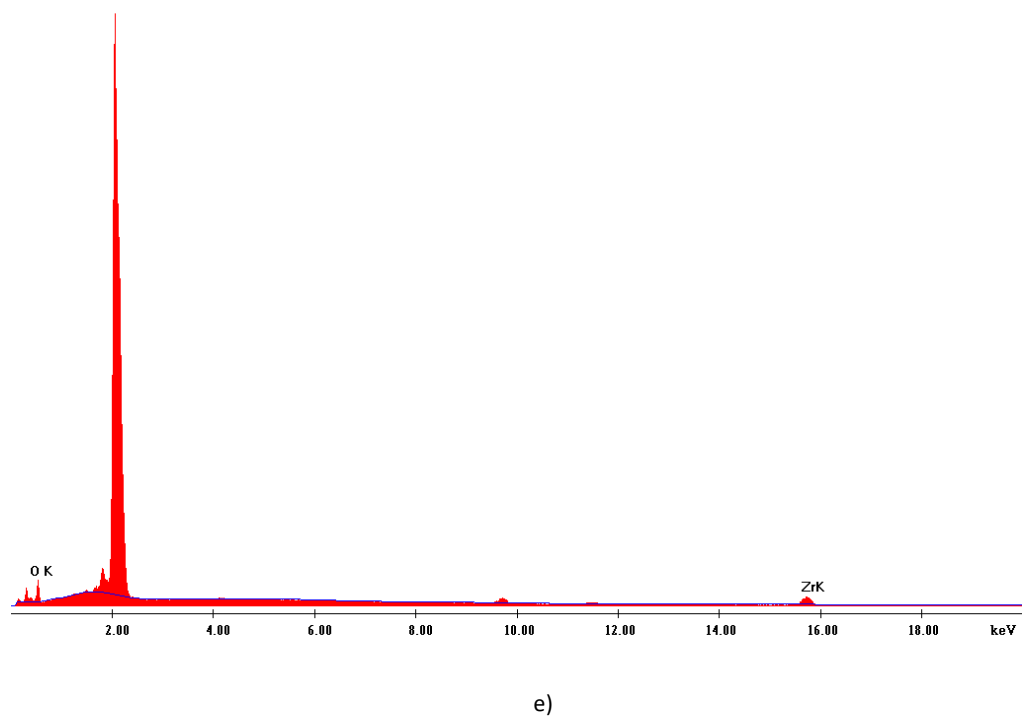
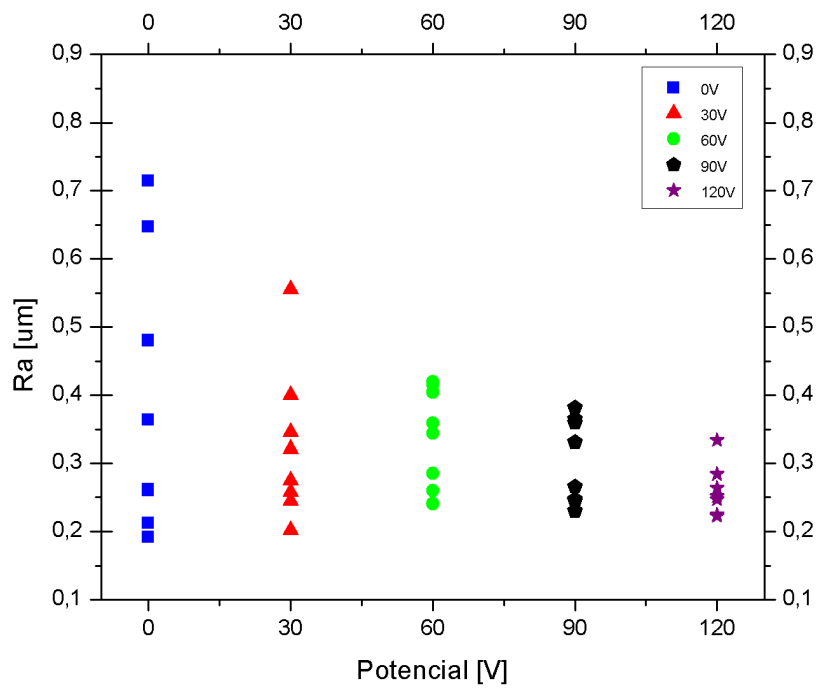


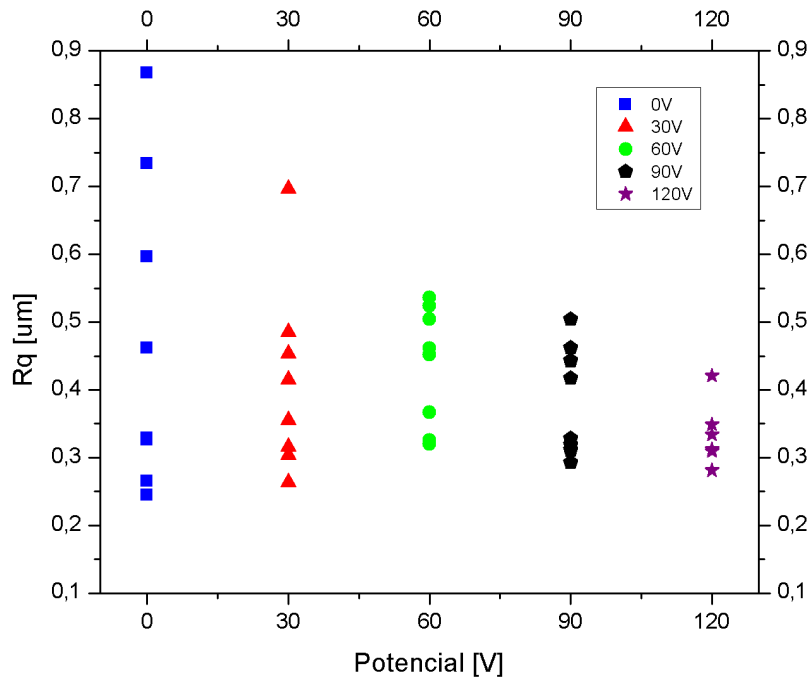
Figura 3.6: Espectros EDS para muestras: a) sin anodizar; b) anodizada a 30V; c) anodizada a 60V; d) anodizada a 90V e) anodizada a 120V.

3.2.1.3 – Rugosidad

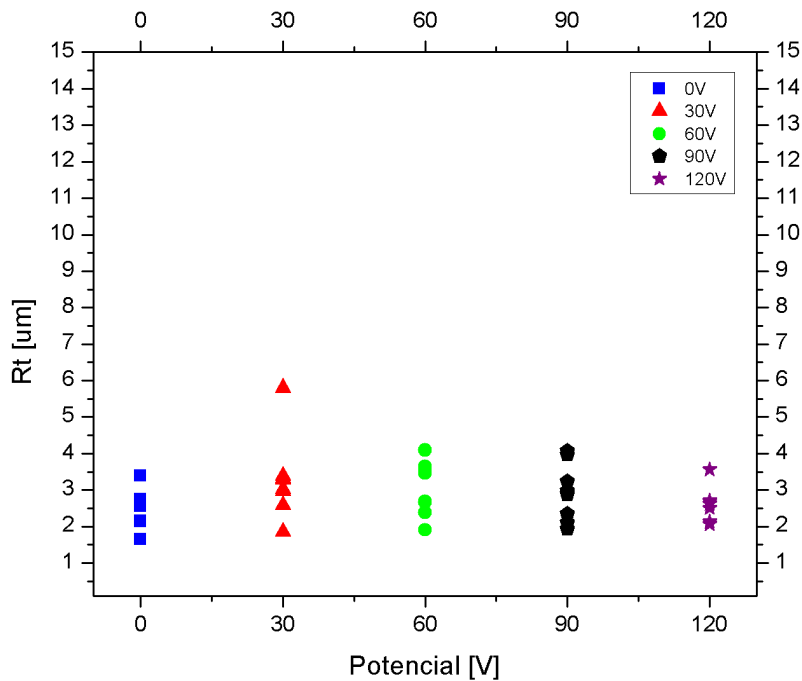
En la figura 3.7 se pueden observar los parámetros obtenidos mediante estudios de rugosidad de la superficie de las probetas anodizadas a diferentes potenciales y sin anodizar. Se caracterizaron los parámetros de rugosidad Ra, Rq y Rt (definidos en la sección 2.4 del capítulo 2) en función de los diferentes potenciales de anodizado: 0V (muestra no anodizada,) 30V, 60V, 90V y 120V.



a) Parámetro Ra



b) Parámetro Rq

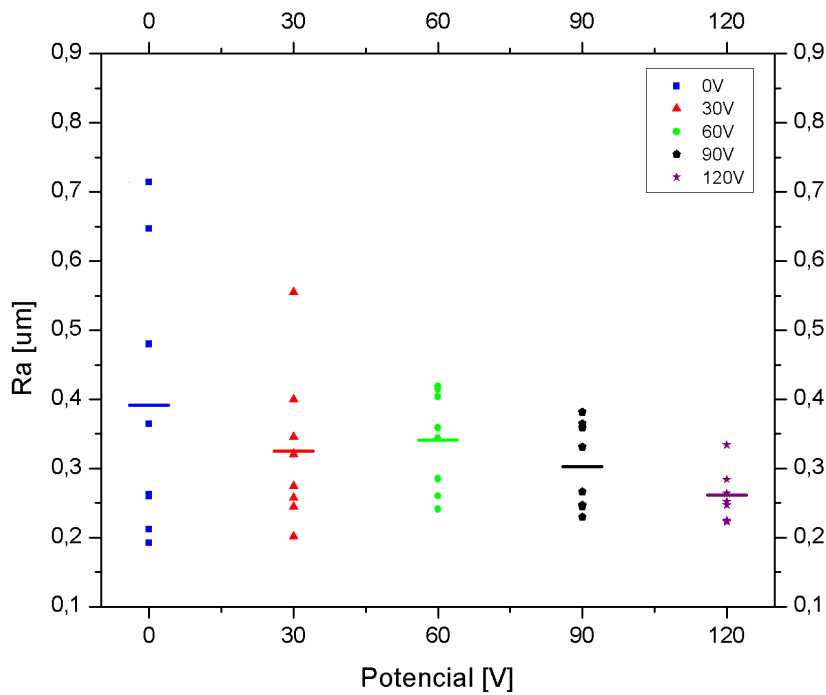


c) Parámetro Rt

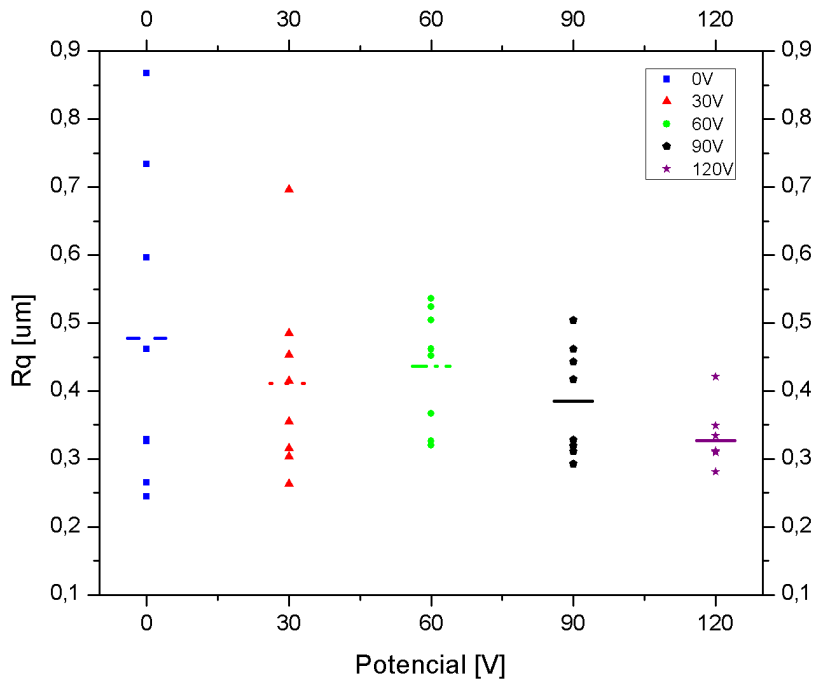
Figura 3.7: Medidas de rugosidad de Zr-2.5%Nb en muestras anodizadas y sin anodizar: a) parámetro Ra, b) parámetro Rq c) parámetro Rt.

Se realizó un estudio estadístico ANOVA, con el software Origin, con el fin de determinar si existían diferencias significativas entre las poblaciones de datos. Se encontró que ninguno de los tres parámetros Ra, Rt y Rq presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras anodizadas a diferentes potenciales y las muestras sin anodizar.

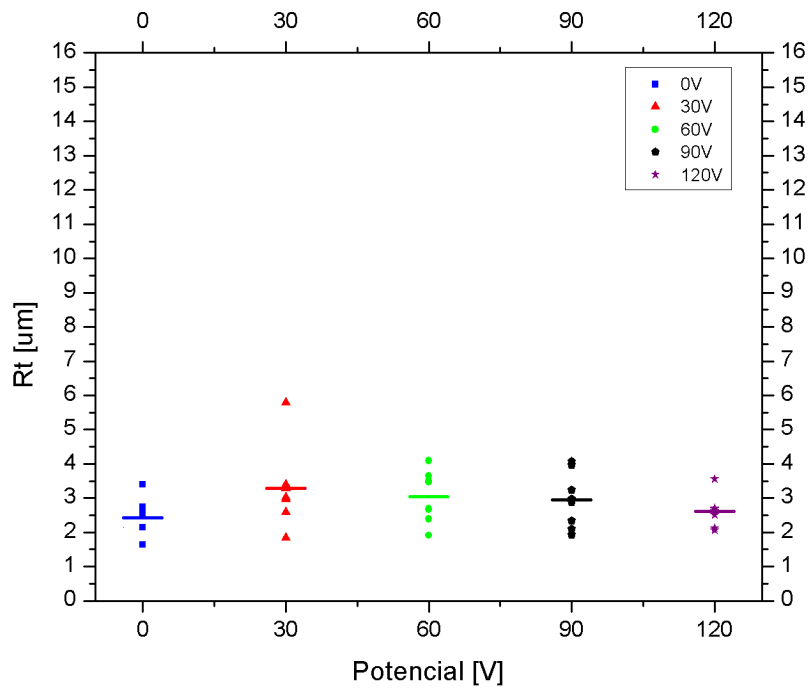
En la figura 3.8 se muestran los valores promedio de los parámetros y la distribución de datos alrededor de este valor, para cada condición de anodizado.



a) Valor promedio del parámetro Ra



b) Valor promedio del parámetro Rq



c) Valor promedio parámetro Rt

Figura 3.8: valores promedios de parámetros de rugosidad, con su respectiva dispersión: a) parámetro Ra, b) parámetro Rq, c) parámetro Rt.

Se pudo observar que los valores promedios de Ra varían entre 0,25 y 0,4  $\mu\text{m}$ . El mayor valor de Ra se obtiene para el material sin anodizar, y el menor valor para el material anodizado a 120V. Sin embargo, todos los valores promedios obtenidos son similares entre sí. El valor promedio del parámetro Rq se encuentra entre 0,3 y 0,5  $\mu\text{m}$ , repitiéndose las condiciones de potencial tanto para el mayor como para el menor valor de este parámetro. Aquí también los valores promedios son muy similares entre sí. Por último, el parámetro Rt, se mantiene siempre alrededor de los mismos valores promedios, aunque el rango resulta ser mayor, entre 2,5 y 5  $\mu\text{m}$ .

En el trabajo de Gómez Sánchez [8], se estudió la rugosidad del circonio mediante un microscopio de fuerza atómica AFM, a potenciales entre 3V y 30V. Los valores de Ra y Rq medidos para 30V fueron aproximadamente 0,16 y 0,21  $\mu\text{m}$  respectivamente. Carrizo [7] midió rugosidad del circonio mediante un rugosímetro a potenciales entre 0V y 120V, obteniendo valores de Ra y Rq similares a Gómez Sánchez, 0,11 y 0,15  $\mu\text{m}$  respectivamente. Los valores de Ra, Rq y Rt para un potencial de 120V fueron de 0,12; 0,13 y 0,55  $\mu\text{m}$  respectivamente, resultando ser, al igual que para potenciales intermedios, bastante menores que los obtenidos en el presente trabajo.

En el estudio realizado por Gómez Sánchez et al. [8] se concluyó que la rugosidad crecía continuamente con el incremento del potencial de anodizado en el rango de potenciales estudiados. En otro trabajo [11], donde se estudió al circonio en su condición natural (0V) y anodizado entre 3V y 30V en solución de  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , los parámetros de rugosidad estudiados Ra y Rq medidos a través de imágenes de AFM resultaron incrementarse de manera exponencial con el potencial de anodizado. A diferencia de esto, en el presente trabajo no se encontró relación entre los parámetros de rugosidad y el potencial de anodizado.

En la figura 3.9 se puede observar la comparación entre los promedios de los tres parámetros de rugosidad Ra, Rq y Rt para las muestras que fueron sometidas al tratamiento de anodizado a diferentes potenciales y para las muestras que no fueron anodizadas. Resulta consistente el hecho que en nuestro caso la rugosidad no aumente con el potencial de anodizado ya que no vemos las “islas” de óxido que se observaban en trabajos anteriores [7][8]. Si bien, en nuestras micrografías MEB se presentan algunas “elevaciones” y “cráteres”, éstas parecen ser imperfecciones menores frente a las que se veían ellos. Esta teoría y los

valores de rugosidad bastante menores obtenidos en este trabajo comparados con los de Gómez Sánchez [8] y Carrizo [7] respaldan el hecho de que el material original utilizado en este trabajo, fueron láminas de Zr-2.5%Nb que sufrieron deformación por el proceso de laminado, otorgándole la suficiente rugosidad inicial al material como para que el proceso de anodizado tenga sólo un leve efecto en la rugosidad de la superficie de las probetas.

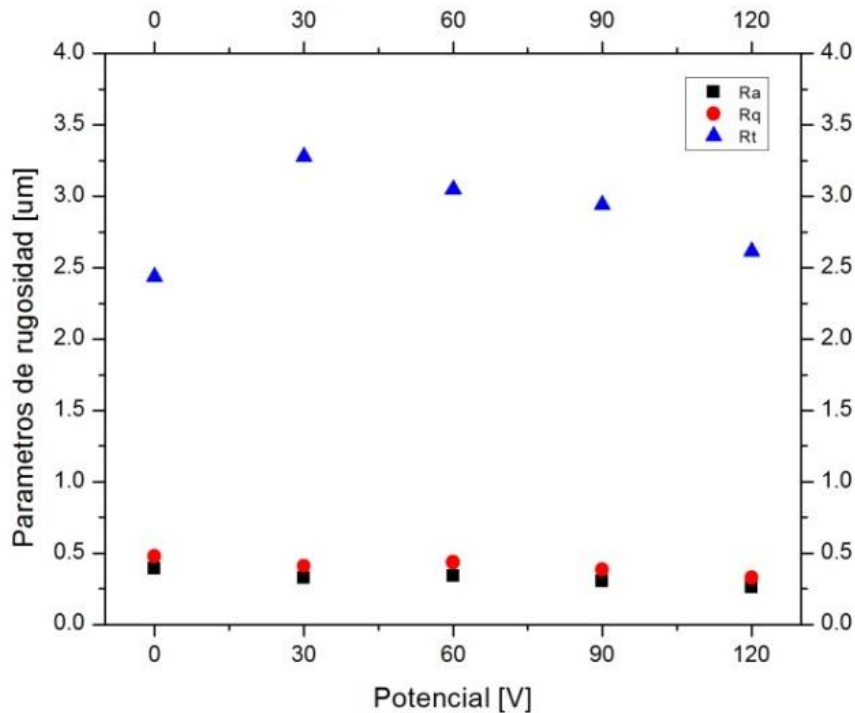


Figura 3.9: Comparación de promedios de parámetros de rugosidad para diferentes potenciales.

### 3.2.2 – Anodizado de muestras extras

Con el fin de comparar las morfologías de las muestras de Zr-2.5%Nb anodizadas a altos potenciales en el presente trabajo, con las obtenidas en trabajos anteriores sobre Zr puro anodizado a potenciales menores, se procedió a anodizar muestras de Zr-2.5%Nb a 6V y 18V. El objetivo era determinar si al bajar el potencial de anodizado se veía el crecimiento incipiente del óxido en forma de “islas”, como reportan otros autores [7][8].

En la figura 3.10 se puede observar la morfología de las muestras anodizadas a 6V (figura 3.10 a) y a 18V (figura 3.10 b). Puede notarse la presencia de elevaciones de la

superficie, como así también de fisuras e imperfecciones en forma de cráteres en la capa de óxido. En general, el aspecto de la superficie anodizada a potenciales bajos es similar al de las superficies anodizadas a mayores potenciales (30V, 60V, 90V y 120V), a diferencia de lo encontrado por Gomez Sanchez et. al [8] , que al estudiar al circonio con potenciales de anodizado entre 0V y 30V, observaron que la morfología superficial se modificaba, presentándose crecimiento no homogéneo de películas anódicas de circonio, mostrándose una estructura de “islas” de óxidos.

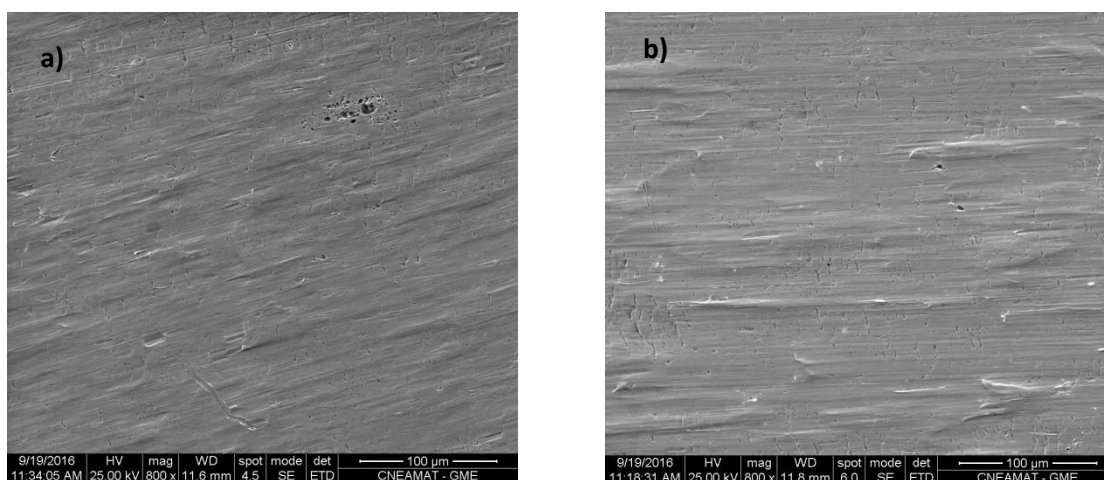


Figura 3.10: Micrografías de muestras anodizadas a potenciales de: a) 6V y b) 18V.

### **3.3 - Conclusiones**

A partir de la caracterización superficial que se realizó en este capítulo se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- El óxido crecido anódicamente posee un color característico de acuerdo con el potencial al que fue anodizado el material.
- El óxido se deposita de manera bastante uniforme sobre la superficie, observándose algunas pequeñas fisuras, que podrían deberse a la existencia de tensiones internas generadas durante el anodizado.

- La rugosidad del material es independiente del potencial de anodizado. Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas de los parámetros de rugosidad entre el material sin anodizar y el material anodizado.
- El estudio de muestras de Zr-2.5%Nb a bajos potenciales (6V y 18V) demostraron que la morfología superficial es similar a las muestras anodizadas a mayores potenciales (30V, 60V, 90V y 120V), presentándose una superficie con ciertas elevaciones e imperfecciones de óxido.

**3.4 - Bibliografía**

- [1] S. Preusser, U. Stimming, K. Wippermann, An optical and electrochemical investigation of ZrO<sub>2</sub> thin films (from NM to MM thickness), *Electrochim. Acta.* 39 (1994) 1273–1280.
- [2] E.M. Patriito, R.M. Torresi, E.P.M. Leiva, V.A. Macagno, Potentiodynamic and AC Impedance Investigation of Anodic Zirconium Oxide Films, *J. Electrochem. Soc.* 137 (1990) 524.
- [3] G.A. McRae, M. a. Maguire, Electrochemical Impedance of Anodic Oxide Films on Zr-2.5 Nb, *J. Electrochem. Soc.* 149 (2002) B123.
- [4] J.-L. Delplancke, M. Degrez, A. Fontana, R. Winand, Self-colour anodizing of titanium, *Surf. Technol.* 16 (1982) 153–162.
- [5] A.G. Sanchez, W. Schreiner, G. Duffó, S. Ceré, Surface characterization of anodized zirconium for biomedical applications, *Appl. Surf. Sci.* 257 (2011) 6397–6405.
- [6] Y.T. Sul, C.B. Johansson, Y. Jeong, T. Albrektsson, The electrochemical oxide growth behaviour on titanium in acid and alkaline electrolytes., *Med. Eng. Phys.* 23 (2001) 329–46.
- [7] N. Carrizo, Evaluación del comportamiento del circonio anodizado para la fabricación de implantes permanentes., Tesis de Maestría. Instituto Sabato. Universidad Nacional de San Martín. CNEA, 2014.
- [8] A. Gomez Sanchez, Evaluación in vitro e in vivo de la factibilidad del empleo de circonio como material para la fabricación de implantes oseointegrables, Tesis Doctoral. Instituto Sabato. Universidad Nacional de San Martín-CNEA, 2011.
- [9] D.E. Romonti, A. V. Gomez Sanchez, I. Milošev, I. Demetrescu, S. Ceré, Effect of anodization on the surface characteristics and electrochemical behaviour of zirconium in artificial saliva, *Mater. Sci. Eng. C.* 62 (2016) 458–466.
- [10] B. Cox, Factors Affecting the Growth of Porous Anodic Oxide Films on Zirconium, *J.*

Electrochem. Soc. 117 (1970) 654.

- [11] A. Gomez Sanchez, W. Schreiner, M. Rodriguez, G. Duffó, S. Ceré, Electrochemical behaviour of anodic zirconium oxide films in phosphoric acid, Elsevier Ed. Syst. Corros. Sci. (2010).

**Capítulo IV: EVALUACIÓN ELECTROQUÍMICA DEL Zr-2.5%Nb ANODIZADO**

**4.1 – Introducción**

Una de las muchas propiedades que se busca en un biomaterial metálico es que sea inerte en el medio de trabajo, sin embargo, no es usual que suceda así. El cuerpo humano, por tratarse de un medio acuoso, promueve el desarrollo de fenómenos corrosivos en los implantes metálicos. Valero C *et al.* [1] afirman que los fluidos corporales son altamente hostiles a los metales, por lo cual, el uso de aleaciones metálicas como bioimplantes está limitado por la agresividad del medio fisiológico.

La naturaleza del ambiente fisiológico es extremadamente hostil a todos los materiales extraños y por consiguiente a los efectos del medioambiente sobre implantes metálicos y al de los implantes sobre el tejido huésped. La concentración de iones cloruro en el suero sanguíneo y en el fluido intersticial es de 113 y 117 mEq/L, respectivamente, que es una alta concentración salina y provee un ambiente seriamente corrosivo para los materiales metálicos [2]. La capa acuosa en el sitio del implante contendrá naturalmente numerosas especies iónicas hidratadas ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , etc.). Es probable que el tipo y concentración de iones en solución cambien luego de un período de tiempo, mientras que las células que rodean al implante reaccionan o se adaptan a la presencia de un material extraño. Otros iones presentes en el fluido humano son el  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  y aniones de ácidos orgánicos. Otros componentes más complejos presentes en cantidades pequeñas son los fosfolípidos, colesterol, grasas naturales, proteínas, glucosa y aminoácidos [3]. Se trata por lo tanto de un medio electrolítico que, entre otros, contiene iones cloruro, lo que facilita que puedan producirse fenómenos electroquímicos de corrosión dado que ésta es una de las especies iónicas más agresivas para la gran mayoría de los metales. En adición a esto, la concentración de oxígeno disuelto en el suero sanguíneo es un cuarto de la concentración en sangre venosa y 1/8-1/4 de ella en espacios intracelulares, lo cual acelera la corrosión de materiales metálicos. Los cambios en el pH de los fluidos corporales son generalmente pequeños debido a que estos fluidos son soluciones buffer y el pH usualmente permanece entre 7,0 y 7,35 [4]. Sin embargo, el pH del tejido duro en el cual un material es implantado disminuye aproximadamente a 5,2 luego del implante y luego se recupera a 7,4 en dos semanas. Este cambio en el pH lleva a la inflamación alrededor del implante, produciendo especies altamente reactivas de oxígeno.

Estas especies oxidantes (por ejemplo  $H_2O_2$ ) interactuarán con la superficie del implante. Las células también pueden influenciar la corrosión de materiales metálicos. Los materiales metálicos por sí mismos, no presentan ninguna toxicidad, pero algunos iones de metales disueltos, productos de corrosión y partículas de desgaste pueden mostrar toxicidad cuando están combinadas con biomoléculas y células. A su vez, en los lugares donde se produce corrosión, el medio se vuelve ácido debido a la presencia de ciertos productos de corrosión, favoreciendo aún más dicho proceso.

El grado de degradación de la superficie del implante, depende particularmente del tratamiento superficial empleado. Es por este hecho, que el estudio de los mecanismos de corrosión asociados con los diferentes tratamientos superficiales es de gran importancia. Reclaru *et al.* [5] explican en su trabajo, que los estudios electroquímicos son una herramienta fundamental para predecir la predisposición a la corrosión de diferentes metales. Hryniewicz *et al.* [6] aseguran que las técnicas electroquímicas como el uso de curvas de polarización son empleadas con frecuencia en la caracterización de materiales biocompatibles, usando como electrolito soluciones biológicas simuladas. Estas técnicas permiten conocer la interacción de la superficie del implante con el medio circundante.

En el presente capítulo, se estudiarán los resultados obtenidos luego del trazado de las curvas de polarización anódicas del Zr-2.5%Nb anodizado y sin anodizar en solución simulada de fluido biológico (SBF). Las curvas fueron trazadas luego de sumergir las muestras en solución SBF durante 24 horas y 30 días a  $37^\circ C$ , y se compararán los resultados obtenidos.

**4.2 – Resultados y Discusión**

**4.2.1 – Probetas inmersas en solución SBF durante 24 horas**

**4.2.1.1 – Medición del potencial de corrosión**

A continuación se muestran los resultados de los ensayos electroquímicos realizados en muestras que estuvieron inmersas en solución SBF a 37°C durante 24 hs. Previamente al trazado de las curvas de polarización, se dejó estabilizar el potencial de corrosión ( $E_{corr}$ ) durante 1 hora. El  $E_{corr}$  revela la tendencia a la corrosión del material y queda determinado por el potencial al cual las densidades de corriente anódicas y catódicas se igualan. En la figura 4.1 se puede observar la evolución del  $E_{corr}$  en función del tiempo para Zr-2.5%Nb sin anodizar (0V) y anodizado a 30V, 60V, 90V y 120V. Las mediciones se realizaron por duplicado. Los valores del  $E_{corr}$  varían levemente con el paso del tiempo y alcanzan un valor relativamente estable luego de la hora de inmersión en solución SBF. En la mayoría de los casos el  $E_{corr}$  aumenta con el tiempo, lo que es indicativo de que la superficie de los metales está siendo espontáneamente pasivada dentro de la solución.

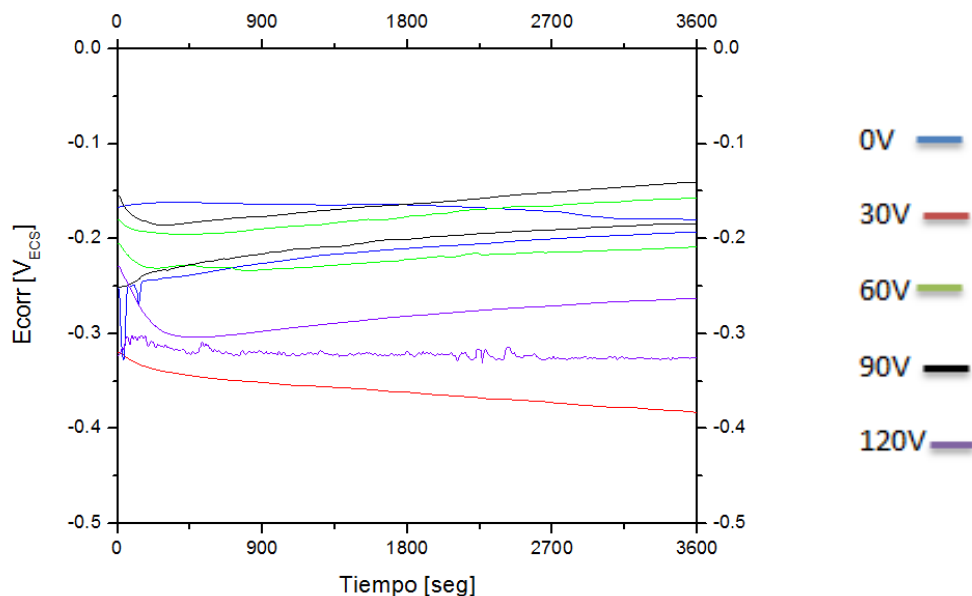


Figura 4.1: Potencial de corrosión ( $E_{corr}$ ) vs. tiempo. Muestras inmersas durante 24 horas en solución SBF.

En la figura 4.2 se representa el  $E_{corr}$  medido a la hora de iniciado el ensayo en función del potencial de anodizado. No se ha encontrado una clara correlación entre el  $E_{corr}$  y la

magnitud del potencial de anodizado. Quienes presentan el  $E_{corr}$  menos noble son las probetas anodizadas a 30V y el  $E_{corr}$  más noble se puede observar en las muestras anodizadas a 60V y 90V.

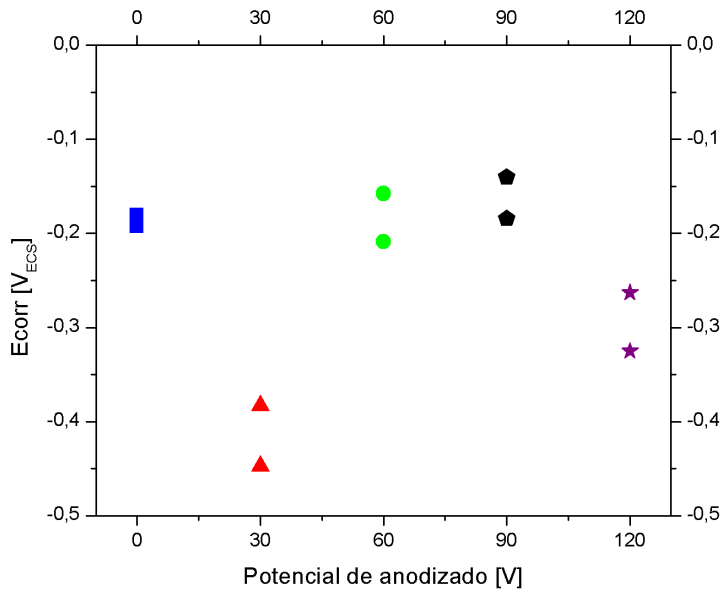


Figura 4.2: Potencial de corrosión ( $E_{corr}$ ) vs potencial de anodizado. Muestras inmersas en solución SBF durante 24 horas.

#### 4.2.1.2 – Trazado de curvas de polarización

Una vez estabilizado el  $E_{corr}$ , se procedió a trazar las curvas de polarización anódica del Zr-2.5%Nb inmerso previamente durante 24 horas en solución SBF. Para cada uno de los potenciales de anodizado se realizaron curvas de polarización por duplicado como mínimo. Los resultados fueron repetitivos para todos los potenciales de anodizado, a excepción de las muestras no anodizadas.

En la figura 4.3 se pueden observar las curvas de polarización anódica de una muestra no anodizada. En las probetas de Zr-2.5%Nb no anodizadas, se puede observar que existe una zona donde las densidades de corriente aumentan gradualmente con el potencial aplicado pero son bajas ( $10^{-8}$ - $5 \times 10^{-7}$  A/cm<sup>2</sup>). Al continuar el incremento del potencial aplicado la densidad de corriente aumenta abruptamente a un potencial denominado potencial de

ruptura (Erup). Al revertir el sentido de barrido del potencial, las densidades de corriente permanecen altas (mayores a las del barrido original), poniendo de manifiesto que se ha roto la pasividad del metal. El Erup estuvo comprendido entre  $400\text{mV}_{\text{ECS}}$  y  $660\text{mV}_{\text{ECS}}$ .

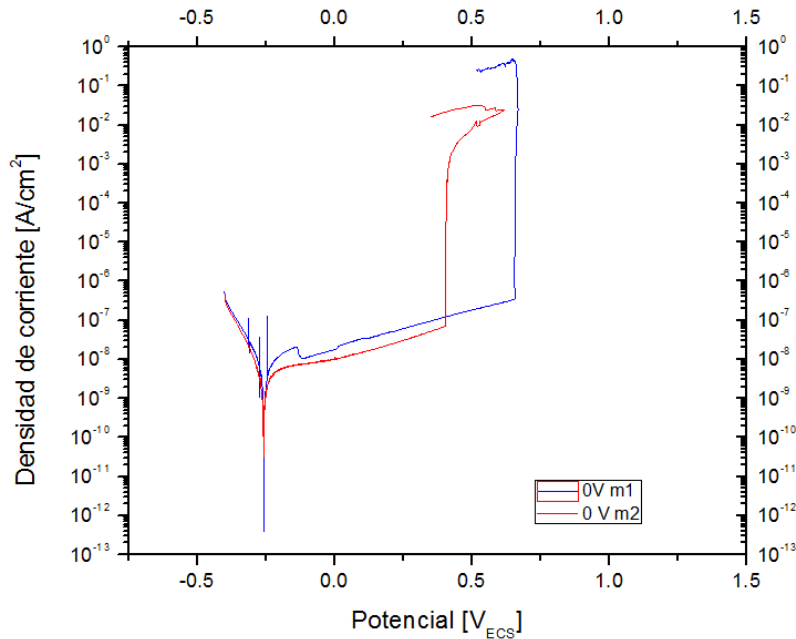


Figura 4.3: Curvas de polarización de muestras no anodizadas.

En la figura 4.4 se observan las curvas de polarización de las muestras anodizadas a 30V. Se puede observar una amplia región donde la densidad de corriente es baja ( $10^{-9}$ - $10^{-7}$  A/cm<sup>2</sup>) y crece ligeramente con el potencial aplicado, indicando el estado de pasividad de las superficies anodizadas. Las muestras anodizadas a 30V exhiben menores densidades de corriente pasivas comparadas con las muestras que no fueron sometidas al proceso de anodizado. A diferencia del caso anterior no se observa un Erup. Al invertir el sentido de barrido del potencial, las densidades de corriente son bajas, aún menores que en el barrido de ida, indicando que no se ha roto la pasividad del sistema.

La figura 4.5 muestra las curvas de polarización de muestras anodizadas a 60V. En este caso también se puede apreciar que la densidad de corriente crece de manera gradual con el potencial aplicado, manteniéndose en valores bajos (entre  $10^{-10}$  y  $5 \times 10^{-8}$  A/cm<sup>2</sup>), lo que asegura la existencia de un film pasivo que protege a la superficie del material. Las densidades de corriente pasivas en este caso son aún menores que en las muestras anodizadas a 30V. Tampoco se detectó la existencia de un Erup.

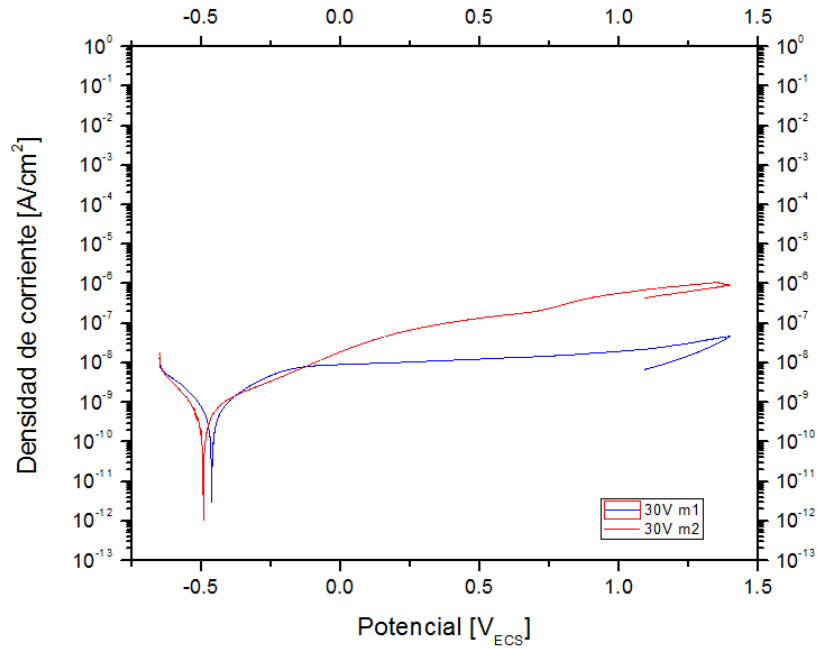


Figura 4.4: Curvas de polarización de muestras anodizadas a 30V.

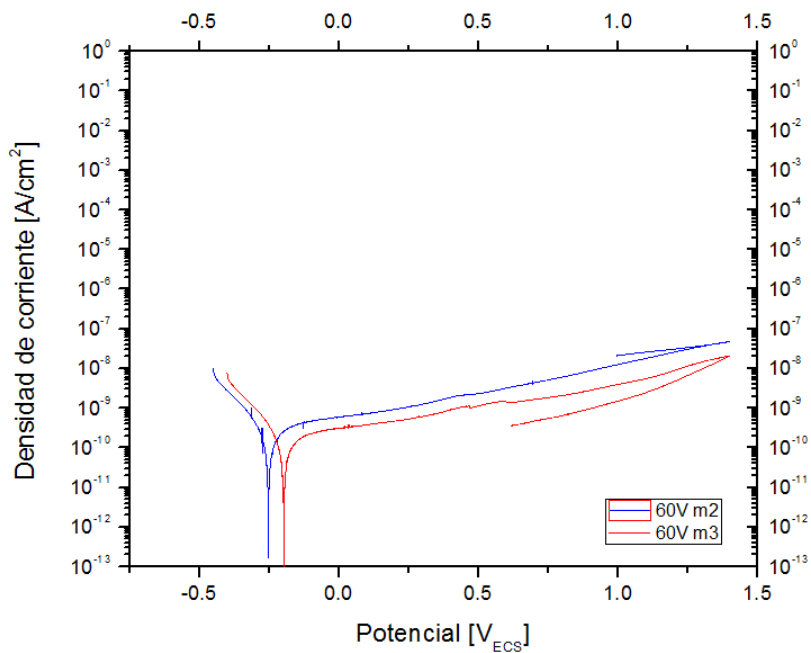


Figura 4.5: Curvas de polarización de muestras anodizadas a 60V.

En la figura 4.6 se muestran las curvas de polarización de muestras anodizadas a 90V. Los valores de densidad de corriente que se alcanzan están comprendidos entre  $10^{-10}$  y  $2 \times 10^{-8}$  A/cm<sup>2</sup>. Nuevamente se observa que las densidades de corriente en los barridos de regreso son iguales o menores a las densidades de corriente en los barridos de ida, lo que pone de manifiesto que no hay ruptura de la pasividad.

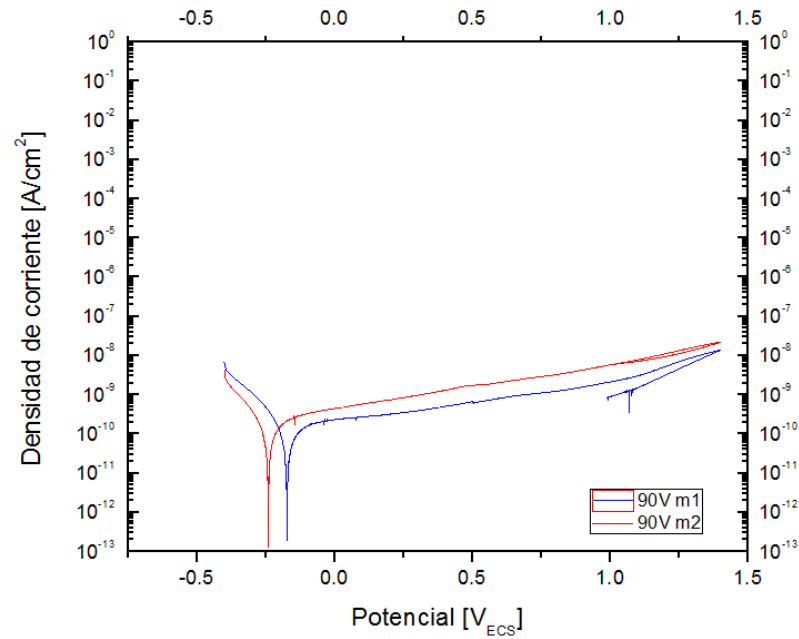


Figura 4.6: Curvas de polarización de muestras anodizadas a 90V.

La figura 4.7 representa las curvas de polarización de dos muestras anodizadas a 120V. Como se ha visto para los anteriores potenciales de anodizado, se observa un extenso *plateau* en la densidad de corriente que refleja la presencia de un film pasivo que protege la superficie del material. Las densidades de corrientes alcanzadas son del orden de  $10^{-10}$ - $10^{-8}$  A/cm<sup>2</sup>. La pasividad se mantiene en todo el rango de potenciales barrido.

Para cualquier valor de potencial de anodizado, la susceptibilidad a la corrosión de las probetas en la solución SBF disminuye considerablemente en comparación con la muestra sin anodizar. El caso más favorable ocurre para las probetas anodizadas a 90V y 120V, debido a que su densidad de corriente pasiva es dos órdenes de magnitud menor a la de la muestra sin anodizar.

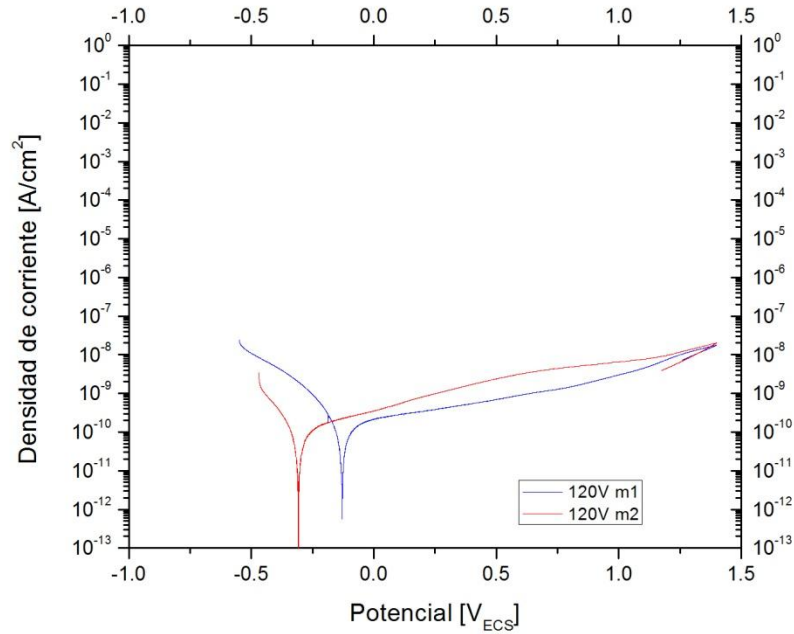


Figura 4.7: Curvas de polarización de muestras anodizadas a 120V.

#### 4.2.1.3 – Observación de muestras en microscopio electrónico de barrido.

En la figura 4.8 se muestran las micrografías MEB de las probetas inmersas en solución SBF durante 24 horas, luego del trazado de las curvas de polarización.

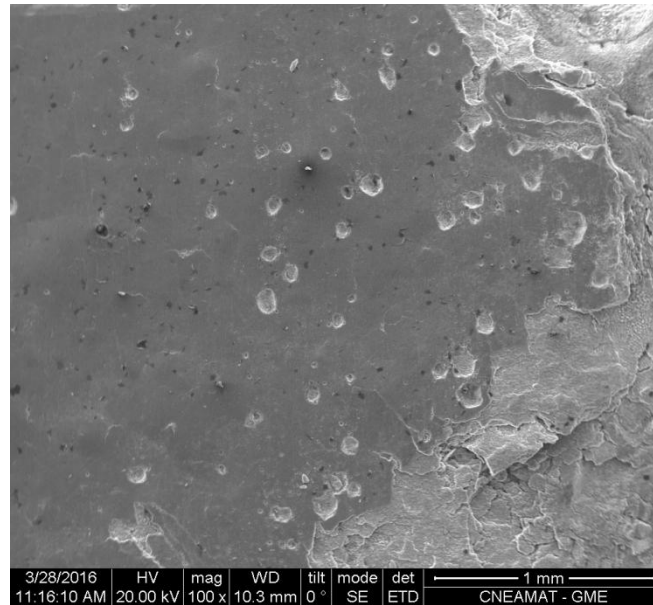
Las probetas anodizadas a los diferentes potenciales (30V, 60V, 90V y 120V) no muestran ninguna evidencia de corrosión o picado. Sólo la muestra no anodizada exhibe el fenómeno de corrosión por picado en la superficie.

El propósito de los ensayos de inmersión es doble. Por un lado, evaluar la resistencia a la corrosión de los materiales luego de periodos variables (24 horas y 30 días) de inmersión en una solución potencialmente dañina (SBF). Por otro lado, el propósito es analizar la capacidad de formación de apatita, que consiste en evaluar si sobre la superficie del metal en contacto con la solución SBF hay precipitación de compuestos de Ca-P en un determinado período de inmersión [7].

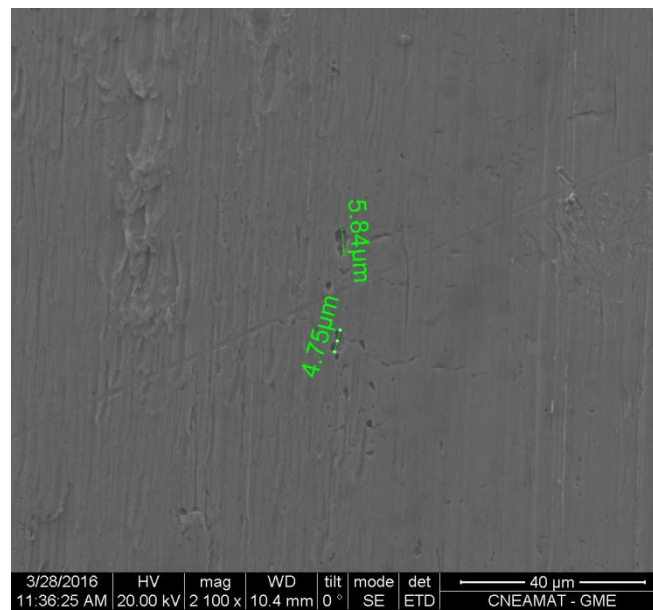
En los trabajos realizados por Uchida et al. [8], se encontró crecimiento de hidroxiapatita (HA) en muestras de circonio tratadas superficialmente con solución alcalina de

NaOH concentrado, e inmersas luego en SBF durante períodos de 4 y 28 días. Sin embargo, no encontraron HA en las muestras sin tratamiento superficial. Estos autores explicaron el fenómeno como el resultado de la hidratación del óxido nativo del metal en contacto con la solución alcalina de NaOH, proponiendo la formación de una capa de hidrogel de circonia, que produce un efecto catalítico para la precipitación de apatita debido a la presencia de grupos Zr-OH. Sandhyarani et al.[9] estudiaron al Zr mediante oxidación por micro arco y hallaron luego de una inmersión en solución SBF durante 14 días la presencia de depósitos esféricos sobre el film de óxido existente en la superficie de todas las muestras tratadas con este proceso, a diferencia de las probetas que no habían sido sometidas al tratamiento superficial. Estudios a través de EDS sugirieron que si bien había existencia de apatita en la superficie de las muestras, esta resultaba deficiente en calcio. Gómez Sánchez [10] observó el crecimiento de compuestos ricos en Ca-P en muestras de circonio anodizadas en ácido fosfórico a 30V luego de 30 días de inmersión en SBF. Los cristales, que eran de forma acicular, fueron estudiados por espectroscopía Raman y se encontró que, además de los picos correspondientes al óxido anódico, aparecen tres bandas compatibles con modos vibracionales de fosfatos en diferentes apatitas. Carrizo et. al [11] observaron que luego de 24 horas de inmersión en solución SBF, en las muestras de circonio anodizadas en ácido fosfórico a 60V aparecían pequeñas esferas, que se suponían podrían ser precursores de compuestos ricos en Ca y P.

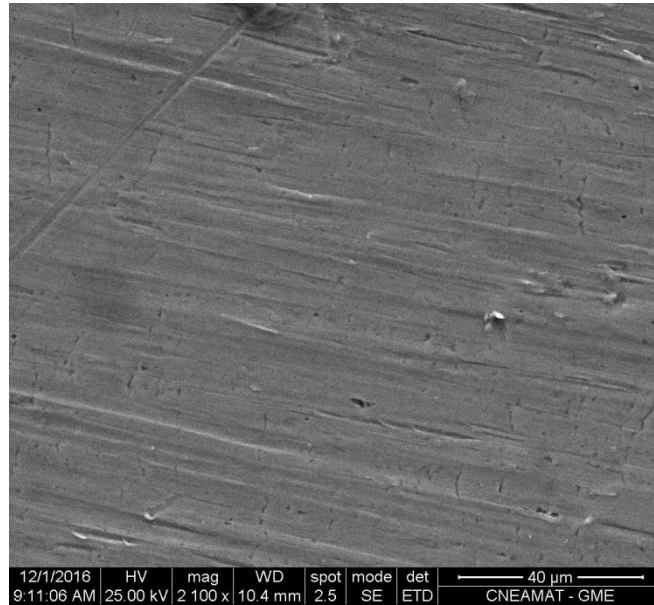
A diferencia de esos resultados, en el presente trabajo, se puede apreciar que la morfología de la superficie de las probetas no cambia significativamente luego de la inmersión en solución SBF. En Zr-2.5% Nb, no se encontró en la superficie morfologías compatibles con compuestos de Ca-P.



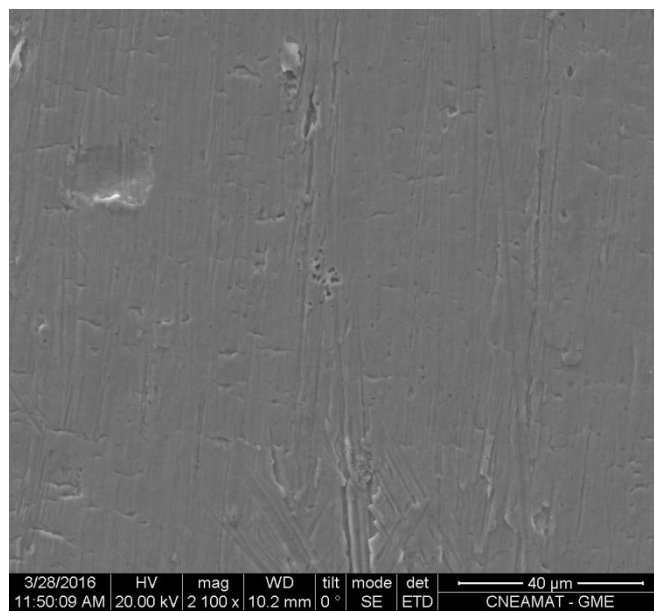
a)



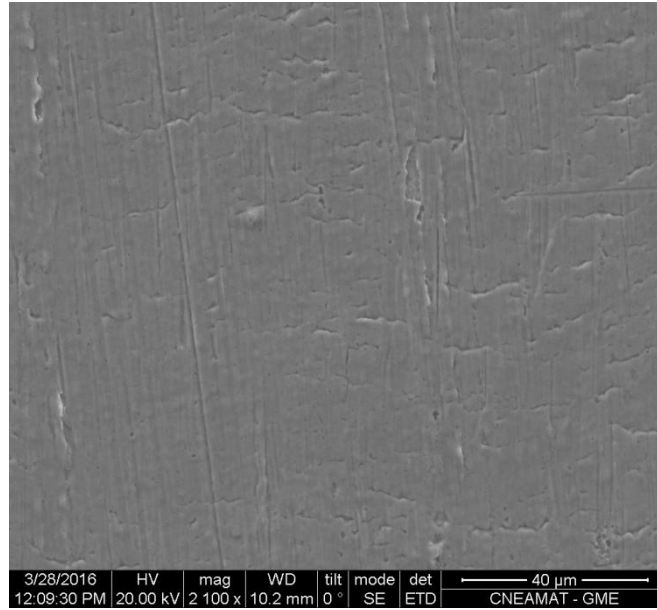
b)



c)



d)



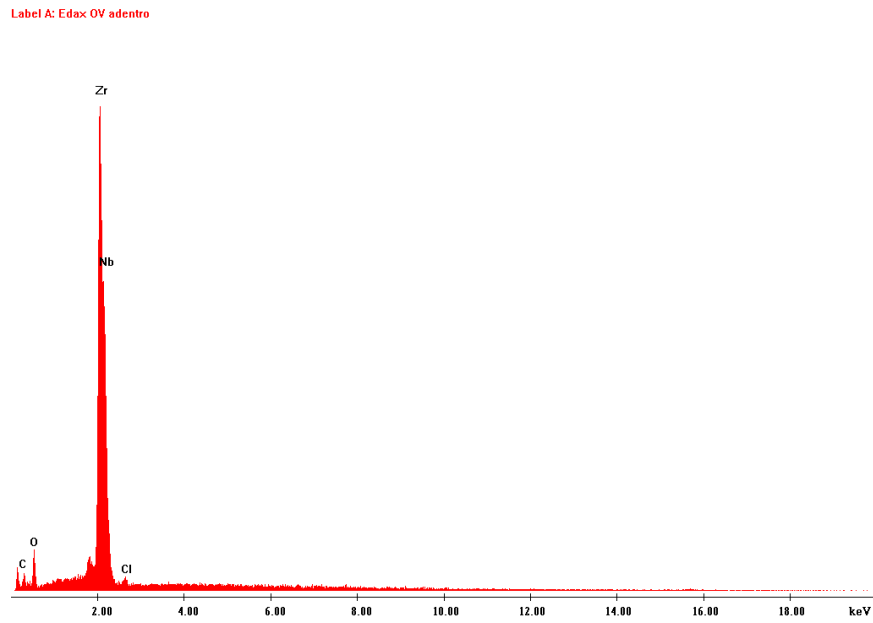
e)

Figura 4.8: Micrografías SEM de muestras inmersas en solución SBF durante 24 horas luego del trazado de las curvas de polarización: a) sin anodizar, 0V; b) anodizado a 30V; c) anodizado a 60V; d) anodizado a 90V; e) anodizado a 120V.

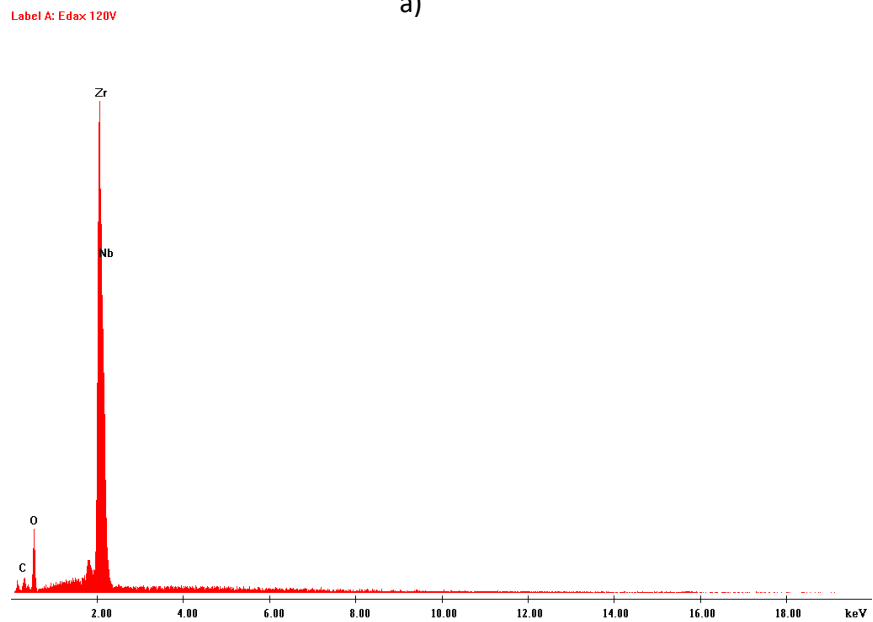
Utilizando espectroscopia dispersiva en energía (EDS), se pudieron observar a través de un mapeo superficial, los elementos principales presentes en las superficies de las probetas en estudio. En la figura 4.9 se puede observar los espectros EDS para una probeta sin anodizar y para otra anodizada a 120V. Los espectros de las muestras anodizadas a distintos potenciales eran muy similares y sólo se muestra de manera representativa el espectro correspondiente a la muestra anodizada a 120V. En todos los casos, se encontró circonio y oxígeno como elementos mayoritarios. En la figura 4.9 se puede apreciar que la cantidad de oxígeno es mayor en la muestra anodizada. La presencia de cloro, sodio y potasio, se deben principalmente a restos de la solución SBF. La existencia de carbono o silicio, en algunas probetas, proviene de impurezas adquiridas durante los procesos de anodizado, secado o transporte de las muestras.

Como previamente se estudió la morfología de las superficies, se realizaron mediante EDS mapeos puntuales, para estudiar la cuantificación de los componentes químicos presentes en la matriz de las probetas, como así también en las zonas de la muestra en donde se observaban fisuras. Se encontró que la cantidad de oxígeno presente en la matriz y la cantidad

presente dentro de las fisuras era similar, con lo que se puede inferir que las fisuras presentes en el material, son sólo superficiales. La película de óxido que creció sobre el material lo hizo de manera continua a lo largo de toda la superficie de la muestra.



a)



b)

Figura 4.9: Espectros EDS de muestras inmersas en SBF durante 24 horas a) probeta no anodizada, b) probeta anodizada a 120V.

**4.2.2 – Probetas inmersas en solución SBF durante 30 días**

**4.2.2-1 – Medición del potencial de corrosión**

Al igual que con las muestras inmersas en solución SBF durante 24 horas, en el caso de las probetas inmersas durante un período de 30 días, el trazado de las curvas de polarización, se realizó luego de obtener un potencial de corrosión  $E_{corr}$  constante.

En la figura 4.10 se representa la evolución del  $E_{corr}$  con el tiempo, en muestras inmersas en solución SBF durante 30 días. Se puede observar, al igual que en las muestras sometidas al baño de inmersión durante 24 horas, un pequeño incremento del  $E_{corr}$  hacia potenciales crecientes, indicando la presencia de una capa pasiva que se va formando en la superficie del material.

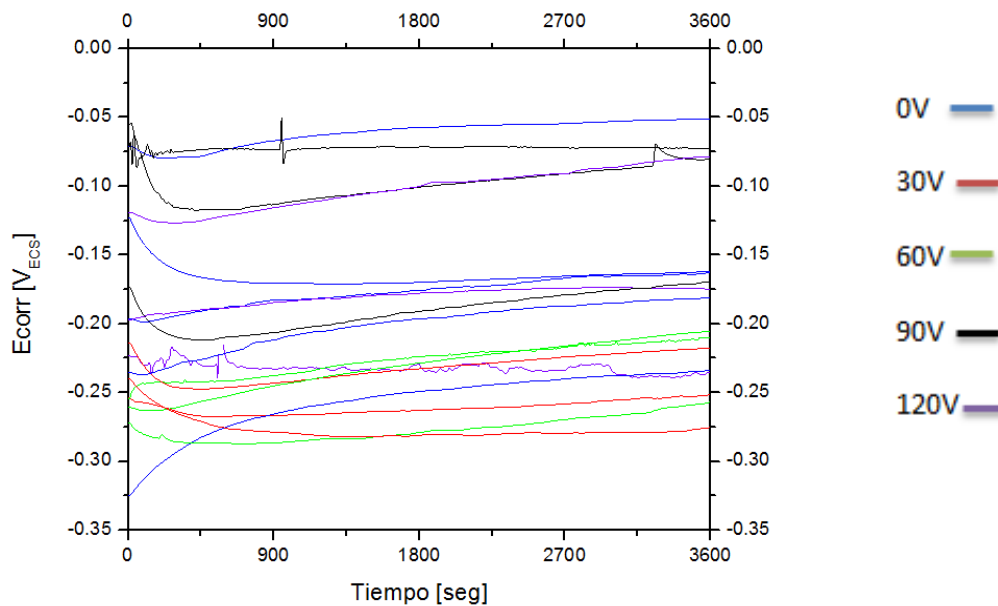


Figura 4.10: Potencial de corrosión ( $E_{corr}$ ) vs. Tiempo. Muestras inmersas en solución SBF durante 30 días.

Se graficó el  $E_{corr}$  versus el potencial de anodizado, y se presenta en la figura 4.11. En este caso, tampoco existe una clara correlación entre el  $E_{corr}$  y el potencial de anodizado. Si bien hay bastante dispersión en los resultados, el  $E_{corr}$  más noble se puede observar en las probetas anodizadas a 90V y 120V.

Los  $E_{corr}$  obtenidos luego de 30 días de inmersión en SBF son similares a los obtenidos luego de 24 horas de inmersión en SBF. En ningún caso se observó una correlación definida entre el  $E_{corr}$  y el potencial de anodizado, sin embargo, los valores de  $E_{corr}$  obtenidos a distintos tiempos de inmersión para los diferentes potenciales de anodizado son parecidos (a excepción de la muestra anodizada a 30V). Este hecho indica que el material sigue siendo noble a pesar del tiempo prolongado de inmersión en SBF.

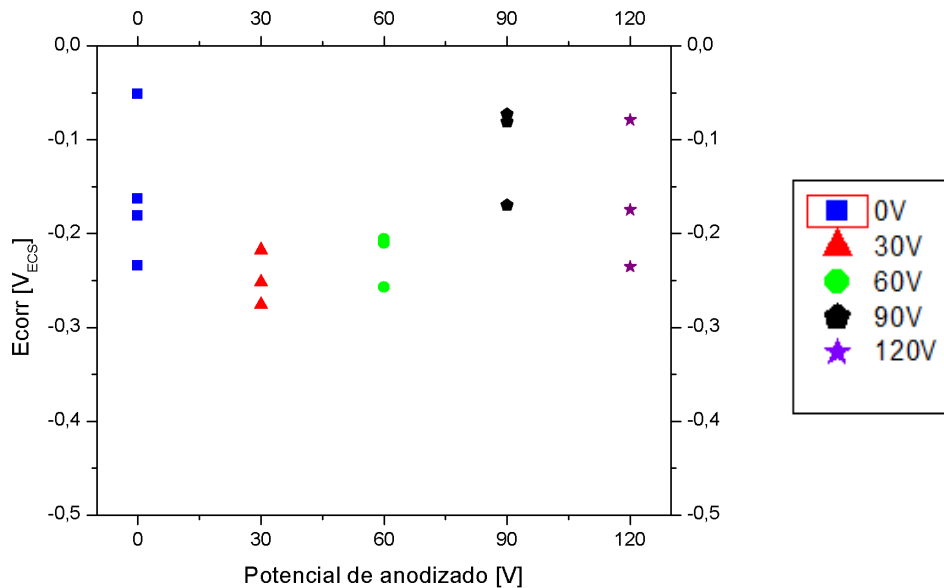


Figura 4.11: Potencial de corrosión ( $E_{corr}$ ) vs potencial de anodizado. Muestras inmersas en solución SBF durante 30 días.

#### 4.2.2.2 – Trazado de curvas de polarización

Luego de lograr estabilizar el  $E_{corr}$  del material base, se realizaron las curvas de polarización anódica del Zr-2.5%Nb, de igual manera que en las muestras anteriores, pero en este caso, luego de que las probetas estuvieran inmersas durante 30 días en solución SBF. Los resultados fueron repetitivos para todos los potenciales de anodizado, a excepción de las muestras blanco.

En la figura 4.12 se presentan las curvas de polarización anódica de probetas que no sufrieron el proceso de anodizado (muestra blanco, 0V), que fueron sumergidas en solución

SBF durante 30 días, previamente al trazado de las curvas. Se puede notar, la falta de reproducibilidad en los resultados. Todos los ejemplares presentaron el fenómeno de ruptura de la capa anódica, que se pone de manifiesto con el aumento brusco de la densidad de corriente al denominado potencial de ruptura. Se ha observado cierta dispersión en los valores del potencial de ruptura (diferencia de 400mV). También existe una gran variabilidad en la densidad de corriente pasiva en las diferentes muestras (entre  $10^{-7}$  A/cm<sup>2</sup> y  $10^{-11}$  A/cm<sup>2</sup>).

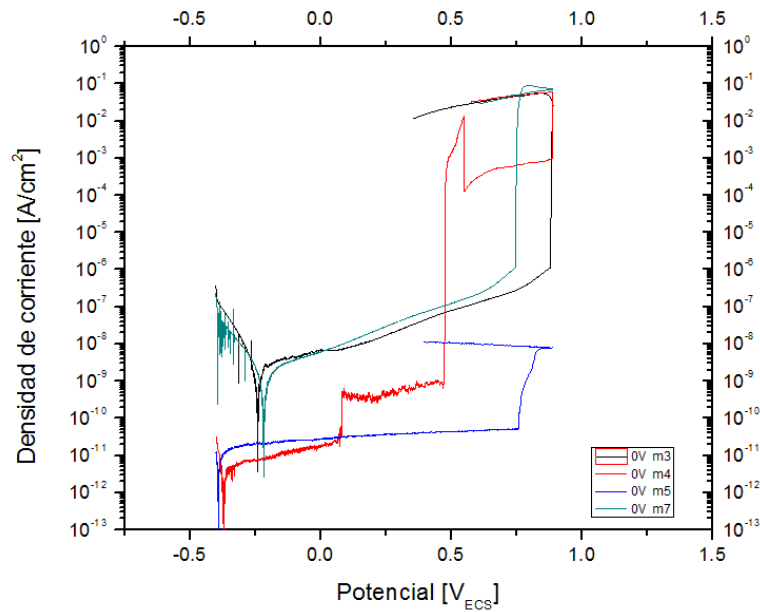


Figura 4.12: Curvas de polarización anódica. Muestras no anodizadas.

La figura 4.13 presenta las curvas de polarización de muestras anodizadas a 30V. Se hicieron 3 repeticiones y resultaron todas similares, ninguna presenta el fenómeno de picado. Las densidades de corriente alcanzadas a este potencial de anodizado son del orden de  $10^{-8}$  y  $10^{-10}$  A/cm<sup>2</sup>, resultando de menor magnitud que las muestras sin anodizar.

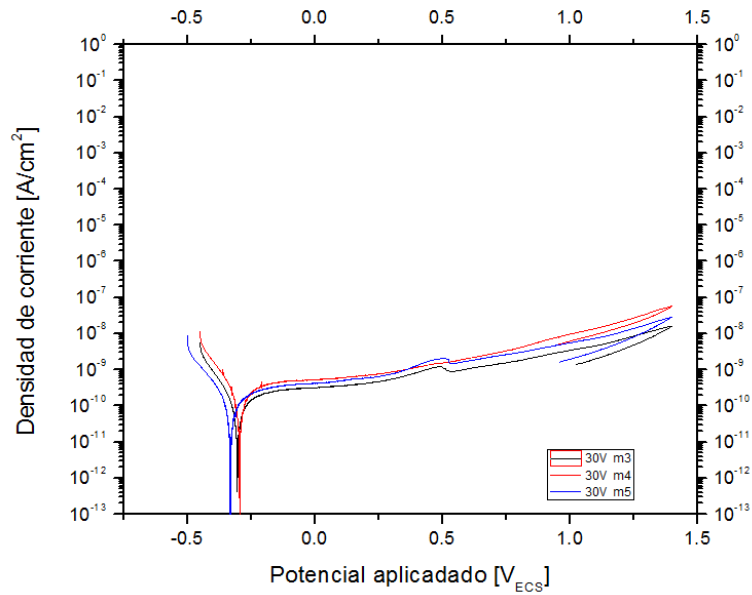


Figura 4.13: Curvas de polarización de muestras anodizadas a 30V.

En la figura 4.14 podemos observar las curvas de polarización de muestras anodizadas a 60V. La densidad de corriente crece de manera gradual con el potencial. La reproducibilidad no es tan buena como en el caso anterior. Se puede observar que dos de las curvas de polarización son muy similares con densidades de corriente pasivas del orden de  $10^{-11}$  A/cm<sup>2</sup>; mientras que una tercera repetición mostró un comportamiento similar pero con densidades de corriente pasiva mayores (entre  $10^{-8}$  y  $10^{-10}$  A/cm<sup>2</sup>).

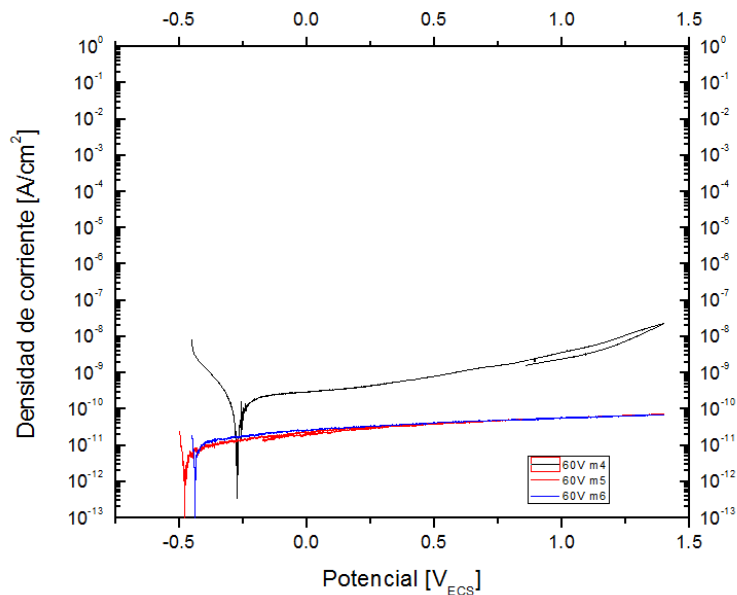


Figura 4.14: Curvas de polarización de muestras anodizada a 60V.

En la figura 4.15, se muestran las curvas de polarización de muestras que fueron anodizadas a 90V. Nuevamente, se puede observar como la densidad de corriente crece con el potencial de manera suave, indicando el estado de pasividad de la superficie de la muestra. Al igual de lo que ocurre con las muestras anodizadas a 60V se observan dos tipos de curvas: dos de las curvas de polarización son muy similares con densidades de corriente pasivas del orden de  $10^{-11}$  A/cm<sup>2</sup>; mientras que una tercera repetición mostró un comportamiento similar pero con densidades de corriente pasiva mayores (entre  $10^{-8}$  y  $10^{-10}$  A/cm<sup>2</sup>). Las densidades de corrientes son bajas, del orden de  $10^{-10}$  y  $10^{-11}$  A/cm<sup>2</sup>.

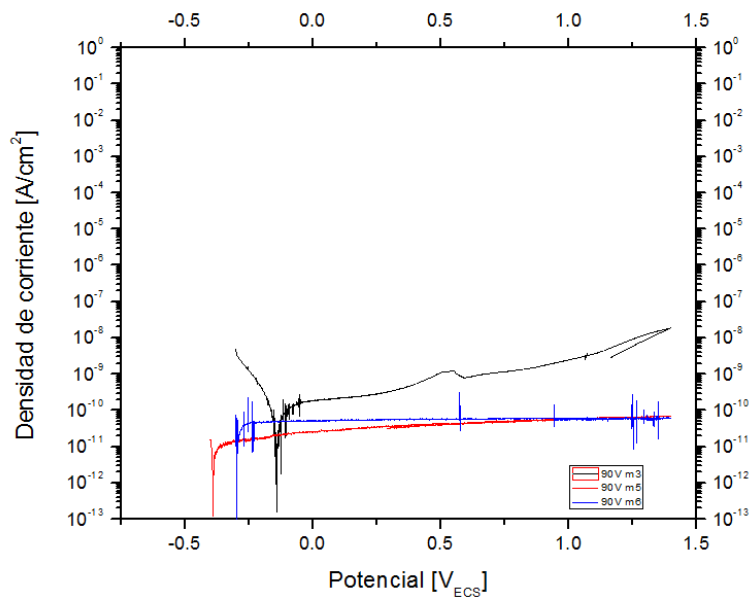


Figura 4.15: Curvas de polarización de muestra anodizada a 90V.

La figura 4.16 muestra las curvas de polarización de probetas anodizadas a 120V. Se observa el mismo comportamiento que en los dos casos anteriores: dos de las curvas de polarización son muy similares con densidades de corriente pasivas del orden de  $10^{-11}$  A/cm<sup>2</sup>; mientras que una tercera repetición mostró un comportamiento similar pero con densidades de corriente pasiva mayores (entre  $10^{-8}$  y  $10^{-10}$  A/cm<sup>2</sup>). En ningún caso se observó el fenómeno de picado ni corrosión generalizada sobre su superficie. Por todo lo expuesto, podemos decir que las capas de óxido formadas durante el proceso de anodizado actúan como protectoras ante la presencia de los iones cloruros propios de la solución SBF, independientemente del valor del potencial de anodizado (en el rango 30V-120V).

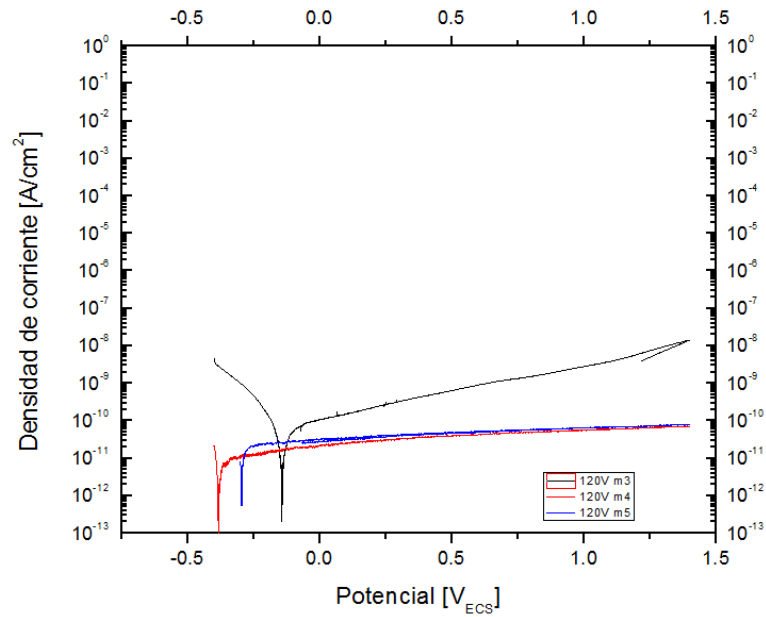


Figura 4.16: Curvas de polarización de probetas anodizadas a 120V.

La susceptibilidad a la corrosión localizada durante la polarización anódica, fue estudiada en trabajos anteriores [12] [13], en diferentes medios de inmersión que simulaban fluido biológico (soluciones de Hank's, soluciones buffer de fosfato y soluciones Ringer). Con el circonio como material de prueba, se encontró que se producía la ruptura de la película pasiva durante la polarización anódica. En dichos trabajos se determinó que el agregado de elementos de aleación tales como el niobio y el titanio aumentaban la resistencia a la corrosión del circonio. Luego de la incubación durante 30 días en solución SBF, se observó un deterioro de la película superficial tanto en circonio anodizado como sin anodizar, evidenciado por el aumento de la densidad de corriente. Sin embargo, luego de este período de tiempo, las muestras anodizadas tenían un potencial de picado considerablemente mayor.

Gómez Sánchez et. al [10] estudiaron el comportamiento electroquímico de muestras de Zr anodizadas a potenciales entre 3V y 30V e inmersas en solución SBF durante 24 horas y 30 días. Encontraron que en solución SBF, las muestras inmersas durante 24 horas presentaban ruptura localizada de la película superficial durante la polarización anódica, lo que daba cuenta de la agresividad del medio rico en cloruros de la solución SBF. Luego de 30 días de inmersión en SBF, los ensayos electroquímicos dieron cuenta de una disminución de la resistencia a la corrosión tanto del circonio sin anodizar como anodizado a 30 V, observándose

un deterioro de la película superficial, que queda en evidencia por el aumento de la densidad de corriente de pasivación.

En otro trabajo [14], en donde se estudiaron al Zr y a la aleación de Zr-2.5%Nb en condiciones no anodizadas y anodizadas a 30V, en solución SBF durante periodos de inmersión de 24 horas y 30 días, se concluyó por medio de curvas de polarización anódica que a pesar de que se produjo la ruptura del film pasivo para todas las condiciones, reveladas por un aumento brusco de la densidad de corriente y posteriormente por la presencia de picaduras mediante microscopia electrónica de barrido, el proceso de anodizado mejoró considerablemente la resistencia a la corrosión (medida a través del Ecorr y la densidad de corriente) manteniéndose este efecto a lo largo del tiempo cuando las muestras son inmersas en solución SBF.

Carrizo et. al [11] estudiaron el comportamiento electroquímico de probetas de Zr anodizadas entre 30V y 120V, sumergidas en solución SBF durante 24 horas y 30 días. Luego de 24 horas de inmersión, ninguna de las muestras anodizadas presentó picado ni corrosión generalizada sobre su superficie, a excepción de la probeta no anodizada que sí presentó ruptura de la capa pasiva. A su vez, después de 30 días de inmersión, se vio que ninguna de las probetas anodizadas presentó picado ni corrosión generalizada. Por otro lado, la muestra sin anodizar, al igual que la probeta sin anodizar incubada 24 horas, también presentó ruptura de la capa pasiva. Al comparar las curvas de polarización obtenidas a diferentes tiempos de inmersión previa, se vio que dichas curvas eran muy similares.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el trabajo de Gómez Sánchez et. al [10], donde se produce la ruptura de la capa pasiva a todos los potenciales, incluido 30V, y los resultados del trabajo de Carrizo et. al [11], se concluyó que 30 V era un potencial crítico para el cual podía o no producirse la ruptura de la capa anódica. Para potenciales de anodizado menores a 30V, se obtuvo picado en todos los casos. Para potenciales de anodizado mayores a 30V no se presentó picado en ningún caso.

En el presente trabajo, el Zr-2.5%Nb inmerso en solución SBF durante dos períodos de tiempo diferentes (24 horas y 30 días), mostraron diferencias que pueden observarse mediante las curvas de polarización anódica. En las muestras inmersas en solución SBF durante 24 horas como así también durante 30 días, a medida que se incrementa el potencial de

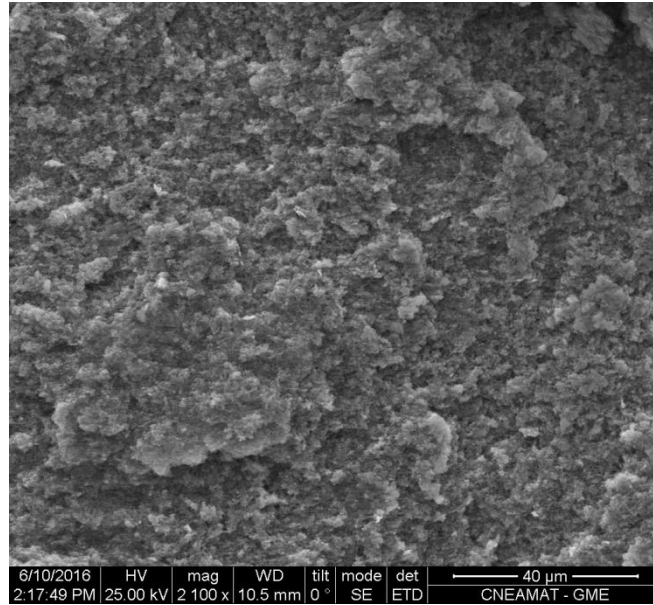
anodizado, se observa un aumento de la resistencia a la corrosión, evidenciándose este hecho mediante la disminución de la densidad de corriente pasiva. La capa anódica permanece recubriendo la superficie a todos los potenciales de anodizado (30V, 60V, 90V y 120V). A diferencia de estas muestras, en las probetas sin anodizar inmersas en SBF durante 24 horas y 30 días, la película superficial presenta una ruptura localizada, poniéndose de manifiesto con el incremento brusco de la densidad de corriente pasiva. Al comparar los diferentes períodos, se puede detectar una mejora con el tiempo de inmersión de la película superficial de las muestras de Zr-2.5%Nb anodizadas a diferentes potenciales, que queda en evidencia por la disminución de la densidad de corriente de pasivación con el tiempo.

#### 4.2.2.3 – Observación de muestras en MEB

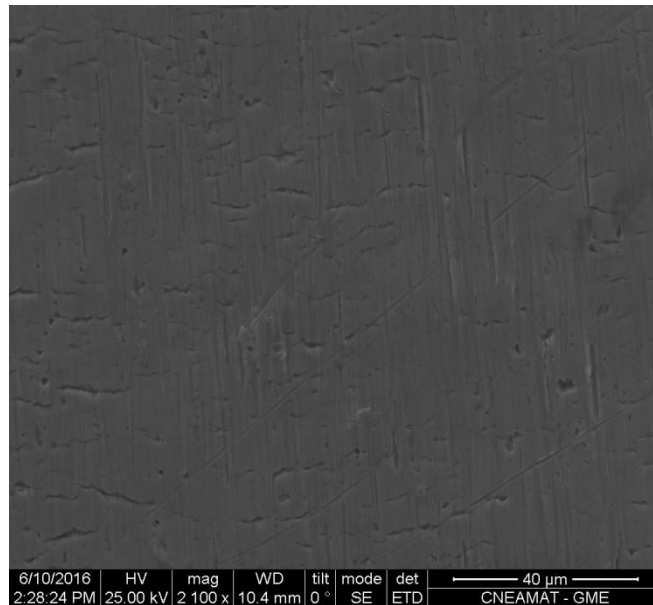
Después de 30 días de incubación de las probetas en solución SBF a 37° C, y el posterior trazado de curvas de polarización, se realizó la observación en MEB de la morfología superficial de las muestras.

Las micrografías de las probetas resultan similares a aquellas que fueron tomadas de muestras que sólo habían sufrido el proceso de anodizado, sin ser sumergidas en solución SBF. Las anodizadas a diferentes potenciales, no presentan el fenómeno de corrosión por picado. A su vez, al igual que para las probetas incubadas durante 24 horas, las muestras no anodizadas si muestran picaduras y corrosión en su superficie.

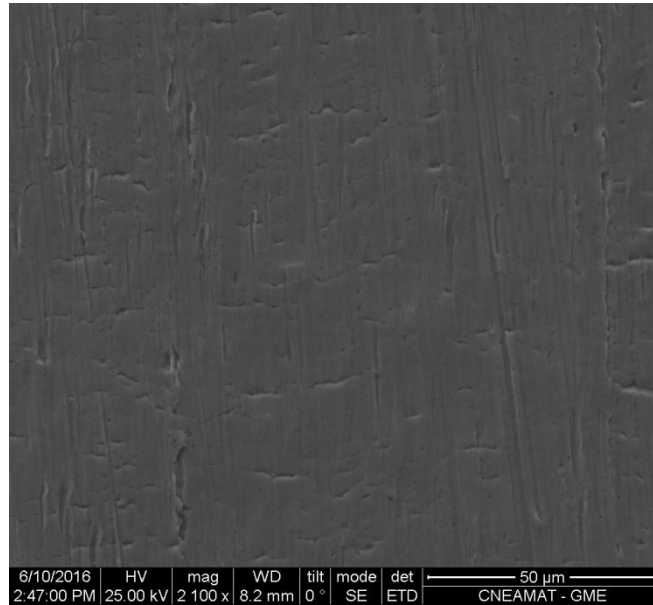
En la figura 4.17 se puede observar muestras no anodizadas y anodizadas a diferentes potenciales, inmersas en solución SBF durante 30 días. En este período de tiempo, al igual que para las probetas incubadas en SBF durante 24 horas, tampoco se hallaron estructuras esferoidales de compuestos de Ca-P característicos de la apatita. A pesar de esto, en estudios anteriores sobre el circonio, se reportó que en probetas de circonio, luego de 30 días de inmersión en SBF, se observaba la presencia de compuestos ricos en Ca-P con modos activos en espectroscopia Raman compatibles con Hidroxiapatita (HA) en la superficie las muestras [10].



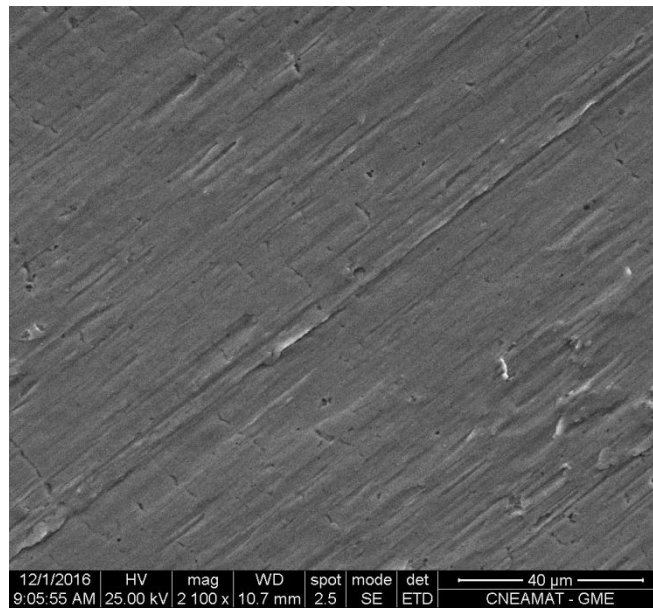
a)



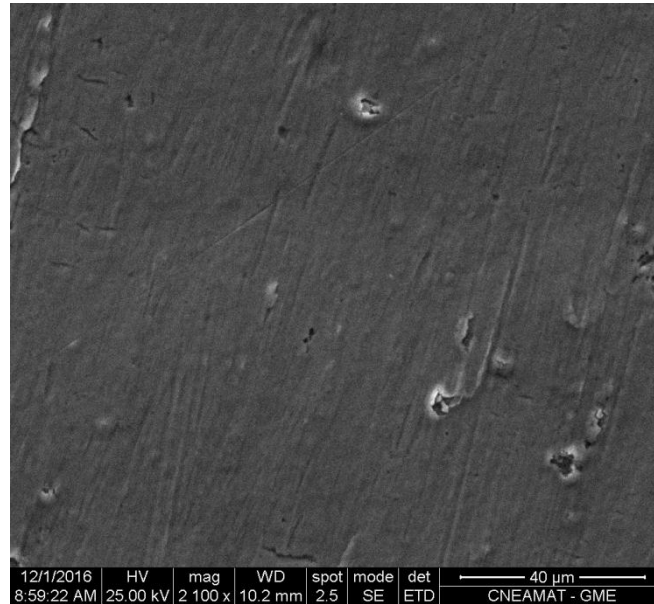
b)



c)



d)



e)

Figura 4.17: Micrografías SEM de muestras incubadas en solución SBF durante 30 días y posterior trazado de curvas de polarización a: a) sin anodizar; b) 30V; c) 60V; d) 90V; e) 120V

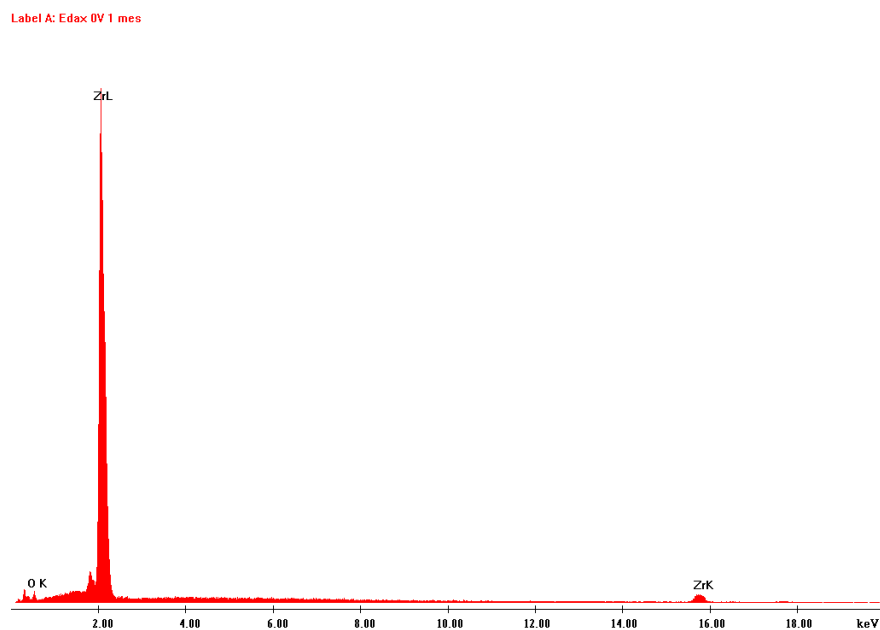
En trabajos anteriores [15] en muestras de Ti, Zr y aleaciones de TiZr que fueron tratadas superficialmente en un medio alcalino y a temperatura elevada, y posteriormente inmersas en solución SBF, se observó la formación de una capa uniforme de apatita con microestructura nanocristalina luego de 2 semanas de inmersión en solución SBF para el metal Ti y después de 3 semanas para el Zr.

Kokubo et al. [16] encontraron que se formaba una fina capa de apatita fuertemente unida al sustrato metálico, en la superficie del titanio y sus aleaciones, que habían sido sujetas a tratamientos en soluciones alcalinas a temperaturas por debajo de los 600°C y luego inmersos en solución SBF.

Si bien, resultaría importante el hallazgo de compuestos de Ca-P, el hecho de que no estén, no indica que el material vaya a presentar pobre oseointegración. En el trabajo de Farina et. al. [14] se afirma que existen algunos materiales que se unen directamente al hueso en un organismo vivo sin la formación de apatita detectada sobre su superficie.

Posterior al estudio mediante MEB de la morfología superficial de las probetas, se realizaron mediciones mediante EDS, con el fin de determinar los elementos químicos presentes en la superficie.

En la figura 4.18, se puede observar el espectro de dos muestras sumergidas en SBF durante 30 días, una sin anodizar y otra anodizada a 120V. Los componentes principales encontrados, fueron el circonio y el oxígeno, siendo mayor, la cantidad de oxígeno en las muestras anodizadas que en aquellas que no habían sufrido el proceso de anodizado. Además, se buscó cuantificar la cantidad de oxígeno que existía en la matriz del material y en las pequeñas fisuras presentes en la superficie. Se observó que la cantidad de oxígeno presente en la matriz del material y en las fisuras eran similares, comprobando nuevamente, que las fisuras sólo eran superficiales y que la capa de óxido creció de manera continua a lo largo de toda la superficie de la muestra.



a)

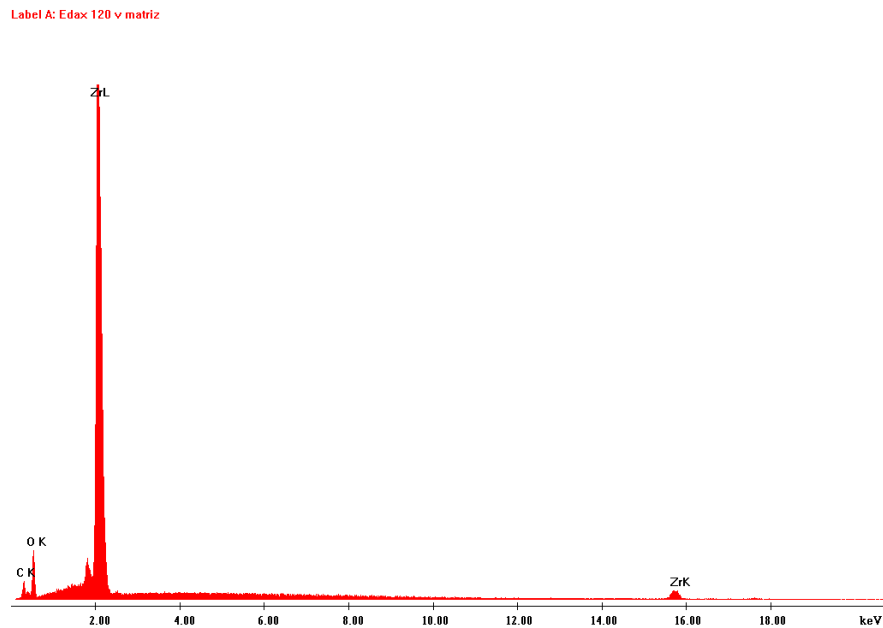
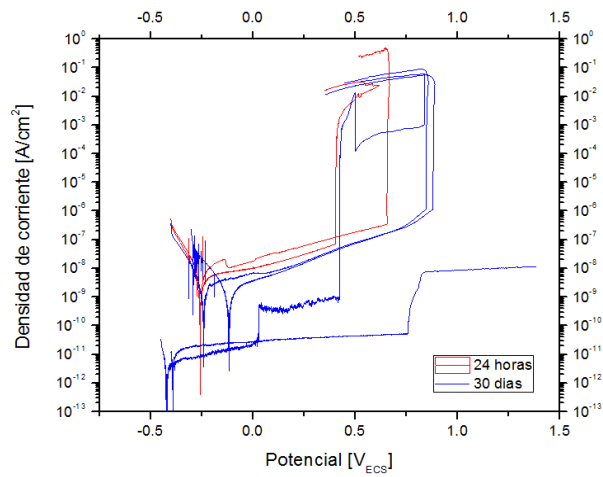


Figura 4.18: Espectros EDS de muestras inmersas en SBF durante 30 días: a) probeta no anodizada, b) probeta anodizada a 120V.

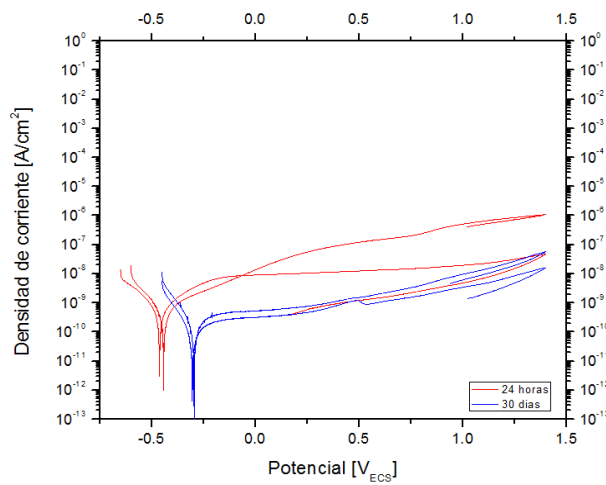
#### **4.2.3 – Efecto del tiempo de inmersión previo en solución SBF**

Con el objetivo de evaluar la evolución de la respuesta electroquímica del Zr-2.5%Nb con el tiempo de inmersión , y con el fin de estudiar si los iones agresivos que contiene la solución SBF se adhieren a la superficie del metal o logran interferir desde el punto de vista electroquímico en la corrosión de las probetas, es que se trabajaron con dos lapsos de tiempo distintos (24 horas y 30 días) y se realizaron curvas de polarización anódica comparativas a los diferentes potenciales de anodizado, como así también para muestras que no fueron anodizadas.

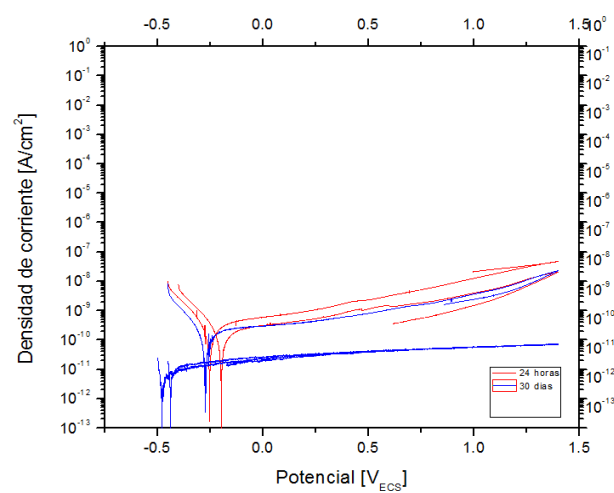
A continuación (figura 4.19), se presentan las curvas comparativas de probetas para los distintos potenciales de anodizado estudiados, en los dos períodos de tiempo.



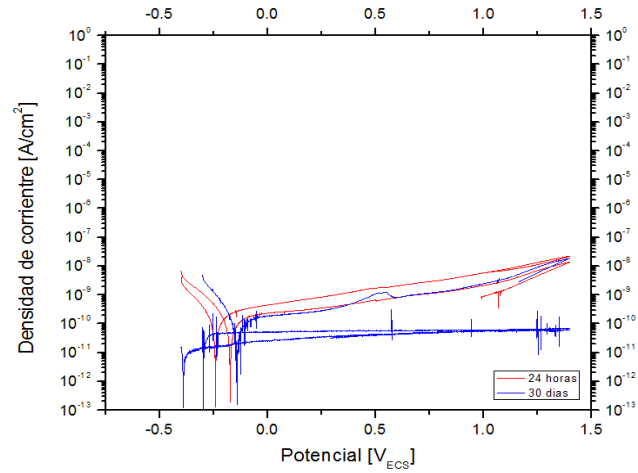
a)



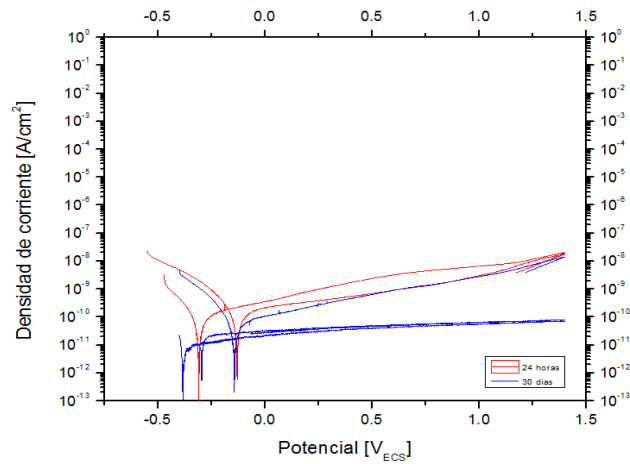
b)



c)



d)



e)

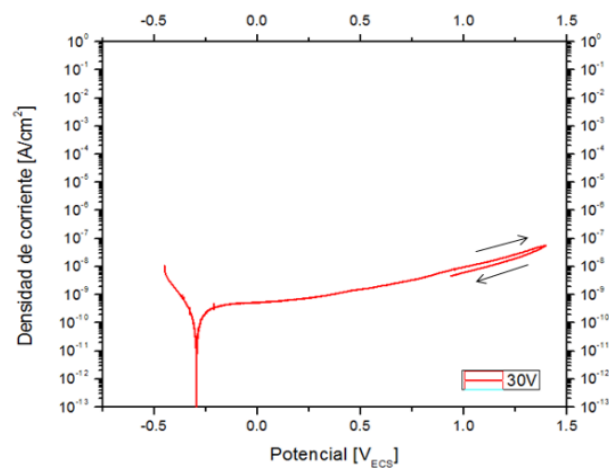
Figura 4.19: Comparaciones entre diferentes períodos de inmersión en SBF para muestras a: a) sin anodizar, b) 30V; c) 60V; d) 90V y e) 120V.

En el caso de las muestras que no tuvieron tratamiento superficial y que estuvieron inmersas en solución SBF durante 24 horas y 30 días, se observa la ruptura de su capa pasiva, perdiendo las propiedades de protección a la liberación iónica al medio. A pesar de esto, se puede ver que al aumentar el tiempo de inmersión en SBF, las densidades de corriente disminuyen, poniendo de manifiesto cómo mejora la resistencia a la corrosión.

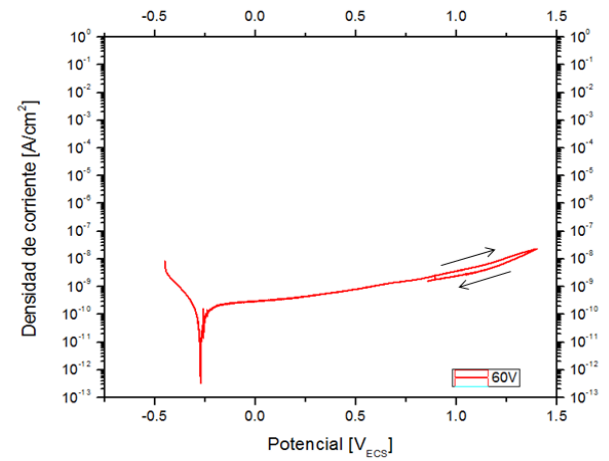
Para aquellas probetas anodizadas a diferentes potenciales, se observa diferencias notorias al cambiar el tiempo de inmersión en solución SBF. Al incrementar el tiempo de inmersión, las densidades de corriente (en su mayoría) disminuyen, mientras otras

permanecen iguales. Lo que indica que la capa pasivante de la superficie de las probetas cumple más efectivamente su rol protector ante los iones agresivos presentes en la solución. Tampoco se observó, en ninguna de las probetas inmersas en diferentes períodos de tiempo, picado sobre su superficie.

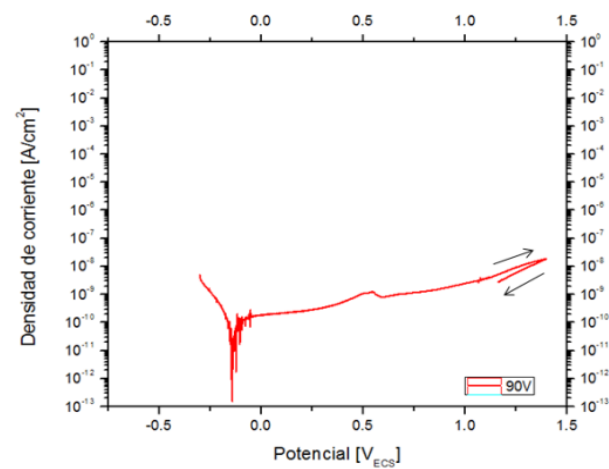
A pesar de la poca reproducibilidad en los resultados (particularmente luego de 30 días de inmersión) es de destacar que las curvas de polarización de las muestras anodizadas a diferentes potenciales en los dos períodos de tiempo estudiados (24 horas y 30 días), presentan histéresis negativa (figura 4.20), lo que implica que el recorrido “de vuelta” del ciclo de polarización ocurre a densidades de corrientes menores que las correspondientes al camino “de ida”. A partir de esto, se concluye que no se ha producido el fenómeno de corrosión por picado en las probetas. Este hecho se ve respaldado, mediante micrografías en microscopio electrónico de barrido, donde se nota la ausencia de picado.



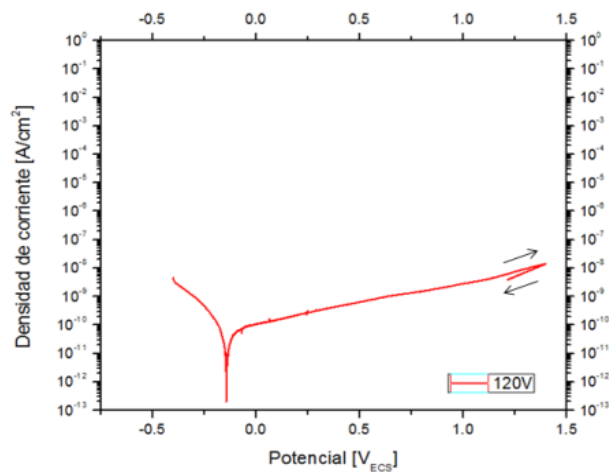
a)



b)



c)



d)

Figura 4.20: Curvas de polarización realizadas en solución simulada de fluido biológico SBF: a) 30V; b) 60V; c) 90V; d) 120V. Se indica con flechas la dirección de barrido de potenciales.

El estudio electroquímico del Zr-2.5%Nb en solución simulada de fluido biológico demostró la buena resistencia a la corrosión del material, incrementándose este efecto con mayor tiempo de incubación en SBF. Las bajas densidades de corriente de pasivación logradas para los diferentes potenciales de anodizado, evidencian la formación de una muy buena película pasiva en solución SBF.

### **4.3 – Conclusiones**

- No se encontró una clara relación entre el potencial de anodizado y el  $E_{corr}$ , si bien las muestras con los  $E_{corr}$  más nobles fueron las de 60V, 90V y 120V.
- Las probetas anodizadas a diferentes potenciales, muestran un comportamiento pasivo en solución SBF. La densidad de corriente disminuye conforme aumenta el potencial de anodizado. La muestra blanco (sin tratamiento de anodizado) fue la que presentó mayor densidad de corriente.
- Las probetas que fueron anodizadas (30V, 60V, 90V y 120V) y posteriormente incubadas durante 24 horas y 30 días en solución SBF, no presentaron picado ni corrosión generalizada. A diferencia de la muestra sin anodizar, en donde la densidad de corriente crece de manera abrupta, mostrando la ruptura de la capa pasiva.
- Se puede observar que las muestras anodizadas e inmersas en solución SBF durante 30 días presentan densidades de corriente menores que aquellas probetas inmersas durante 24 horas, lo que pone de manifiesto, además de la buena resistencia a la corrosión de ambos tipos de muestra, que a mayores períodos de incubación, la resistencia a la corrosión podría ser mejor.

**4.4 - Bibliografía**

- [1] C. Valero Vidal, A. Igual Muñoz, Electrochemical characterisation of biomedical alloys for surgical implants in simulated body fluids, *Corros. Sci.* 50 (2008) 1954–1961.
- [2] T. Hanawa, Evaluation techniques of metallic biomaterials in vitro, *Sci. Technol. Adv. Mater.* 3 (2002) 289–295.
- [3] D. Peckner, I.M. Bernstein, *Handbook of stainless steels*, McGraw-Hill, New York, USA, 1977.
- [4] J. Black, M. Dekker, *Biological performance of materials : fundamentals of biocompatibility*, CRC Taylor & Francis, New York, USA, 1981.
- [5] L. Reclaru, R. Lerf, P.Y. Eschler, A. Blatter, J.M. Meyer, Evaluation of corrosion on plasma sprayed and anodized titanium implants, both with and without bone cement, *Biomaterials.* 24 (2003) 3027–3038.
- [6] T. Hryniewicz, K. Rokosz, M. Filippi, Biomaterial studies on AISI 316L stainless steel after magnetoelectropolishing, *Materials (Basel).* 2 (2009) 129–145.
- [7] A. Gomez Sanchez, J. Ballarre, J.C. Orellano, G. Duffó, S. Ceré, Surface modification of zirconium by anodisation as material for permanent implants: In vitro and in vivo study, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 24 (2013) 161–169.
- [8] M. Uchida, H.M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo, T. Nakamura, Apatite formation on zirconium metal treated with aqueous NaOH, *Biomaterials.* 23 (2002) 313–317.
- [9] M. Sandhyarani, T. Prasada Rao, N. Rameshbabu, Role of electrolyte composition on structural, morphological and in-vitro biological properties of plasma electrolytic oxidation films formed on zirconium, *Appl. Surf. Sci.* 317 (2014) 198–209.
- [10] A. Gomez Sanchez, Evaluación in vitro e in vivo de la factibilidad del empleo de circonio como material para la fabricación de implantes oseointegrables, Tesis Doctoral. Instituto Sabato. Universidad Nacional de San Martín-CNEA, 2011.

- [11] N. Carrizo, Evaluación del comportamiento del circonio anodizado para la fabricación de implantes permanentes., Tesis de Maestría. Instituto Sabato.Universidad Nacional de San Martín. CNEA, 2014.
- [12] I.V. Branzoi, M. Iordoc, M. Codescu, Electrochemical studies on the stability and corrosion resistance of new zirconium-based alloys for biomedical applications, *Surf. Interface Anal.* 40 (2008) 167–173.
- [13] N.T.C. Oliveira, S.R. Biaggio, R.C. Rocha-Filho, N. Bocchi, Electrochemical studies on zirconium and its biocompatible alloys Ti-50Zr at.% and Zr-2.5Nb wt.% in simulated physiologic media, *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* 74A (2005) 397–407.
- [14] S.B. Farina, A. Gomez, S. Ceré, Effect of Surface Modification on the Corrosion Resistance of Zr-2.5Nb as Material for Permanent Implants, *Procedia Mater. Sci.* 8 (2015) 1166–1173.
- [15] X. Chen, A. Nouri, Y. Li, J. Lin, P.D. Hodgson, C. Wen, Effect of surface roughness of Ti, Zr, and TiZr on apatite precipitation from simulated body fluid, *Biotechnol. Bioeng.* 101 (2008) 378–387.
- [16] T. Kokubo, F. Miyaji, H.-M. Kim, T. Nakamura, Spontaneous Formation of Bone-like Apatite Layer on Chemically Treated Titanium Metals, *J. Am. Ceram. Soc.* 79 (1996) 1127–1129.

**Capítulo V: COMPORTAMIENTO *IN VIVO***

**5.1 – Introducción**

Los estudios *in vivo* constituyen una etapa fundamental para la evaluación de la biocompatibilidad. Los materiales a ser estudiados para su potencial aplicación en sistemas biológicos, requieren de modelos experimentales *in vivo*. En la actualidad, los estudios que demandan el uso de animales, se rigen por normativas bioéticas con la finalidad de reducir al mínimo la cantidad de seres vivos en la experimentación, el dolor, el sufrimiento, el estrés o la generación de lesiones innecesarias, entre otras [1].

En este capítulo se presentan los estudios *in vivo* sobre la biocompatibilidad del tratamiento de anodizado de implantes de Zr-2.5%Nb. Se analizaron muestras anodizadas a potenciales de 30V, 60V, 90V y 120V en ácido fosfórico 1M. La elección de los potenciales se basó en estudios anteriores realizados sobre circonio [2], en donde los potenciales utilizados fueron los extremos, 30V y 120V y el anodizado se realizó bajo las mismas condiciones.

**5.2 – Resultados y discusión**

En ninguno de los grupos de animales implantados se observaron alteraciones locales o sistémicas, tanto en el post operatorio inmediato como mediato. Cabe destacar, que cada animal contaba con una muestra control (sin anodizar) en su miembro inferior izquierdo y una muestra anodizada en su miembro inferior derecho.

**5.2.1 – Estudio histológico**

Se observaron en todos los grupos estudiados, zonas de tejido óseo de tipo laminar en íntimo contacto con la superficie metálica (oseointegración), y sectores donde el tejido medular contactaba con la superficie metálica (mielointegración), figura 5.1. De esta manera, el tejido neoformado estableció una interfaz discontinua sobre la superficie del implante. En ninguno de los casos se observó respuesta de tipo inflamatoria.

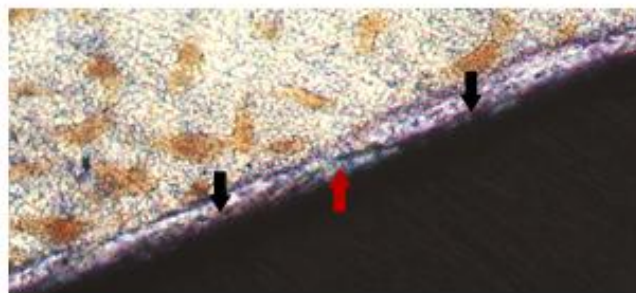




Figura 5.1: Respuesta biológica peri- implantaria. Se observa la superficie metálica en contacto con el tejido óseo laminar (oseointegración ) y en contacto con el tejido medular (mielointegración ). Cortes histológicos por desgaste. Resina acrílica. Azul de Toluidina al 1%. Mag. Orig. X400.

En la figura 5.2 se observan imágenes histológicas, correspondientes a los grupos control (C) y a los grupos experimentales de Zr-2.5%Nb anodizado a 30V, 60V, 90V y 120V. En cada caso se detallan la médula ósea, el implante y el tejido óseo peri-implante neoformado.

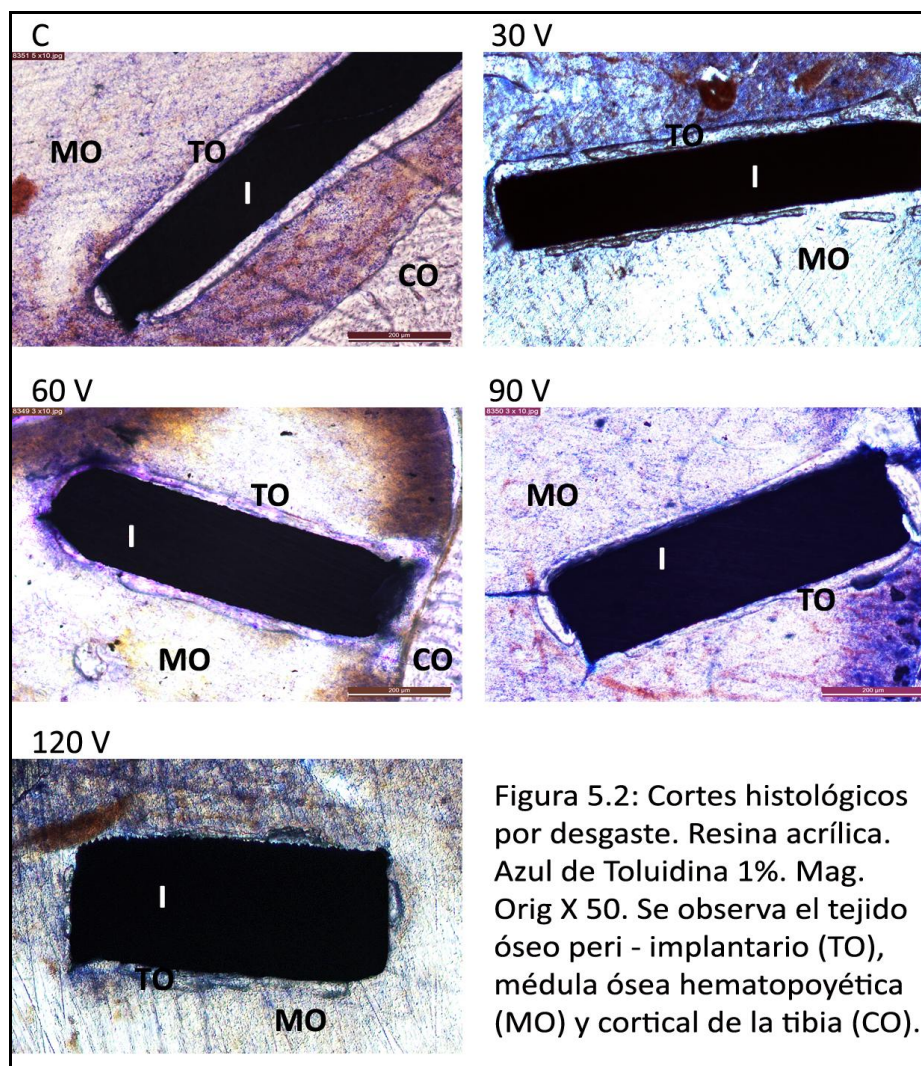


Figura 5.2: Cortes histológicos por desgaste. Resina acrílica. Azul de Toluidina 1%. Mag. Orig X 50. Se observa el tejido óseo peri - implantario (TO), médula ósea hematopoyética (MO) y cortical de la tibia (CO).

En la figura 5.3 se observan a modo de ejemplo, imágenes histológicas correspondientes a oseointegración en una caso control versus uno de 30V.

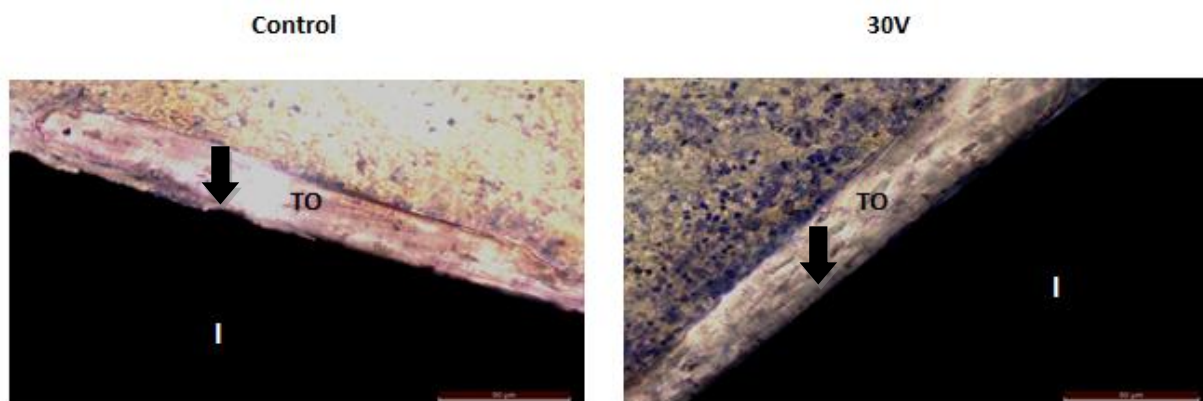


Figura 5.3: Oseointegración ( ). Se observa el íntimo contacto entre el tejido óseo laminar y la superficie del implante . Resina acrílica. Azul de Toluidina. Mag. Orig. X400. I (implante), TO (tejido óseo).

### **5.2.2 – Análisis histomorfométrico**

El estudio histomorfométrico reveló menor volumen óseo peri-implante (VOP) estadísticamente significativo en el grupo de los animales implantados con las muestras anodizadas a 120V (grupo IV) respecto a los grupos de animales implantados con muestras control (sin anodizar), ( $p < 0,05$ ).

Los grupos anodizados a 30 V, 60 V y 90 V no mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto del grupo control ( $p > 0,05$ ). Los grupos 60 V y 90 V mostraron un mayor VOP respecto del grupo 30V, diferencia que fue estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). El grupo 120V evidenció un menor VOP significativamente menor respecto al grupo 30V ( $p < 0,05$ ). La tabla y el gráfico 5.1 hacen referencia a estos datos.

Volumen óseo peri-implante ( $\mu\text{m}^2$ )	
Control	38.000 $\pm$ 24.000
30 V (Grupo I)	30.000 $\pm$ 10.000 *
60 V(Grupo II)	44.000 $\pm$ 11.000 *
90 V(Grupo III)	38.000 $\pm$ 21.000 *
120 V(Grupo IV)	16.500 $\pm$ 4.600 *

Tabla 5.1: Estudio histomorfométrico: evaluación del volumen óseo peri-implante VOP. Los datos se expresan como media  $\pm$  desviación estándar, (\* $p < 0,05$ ).

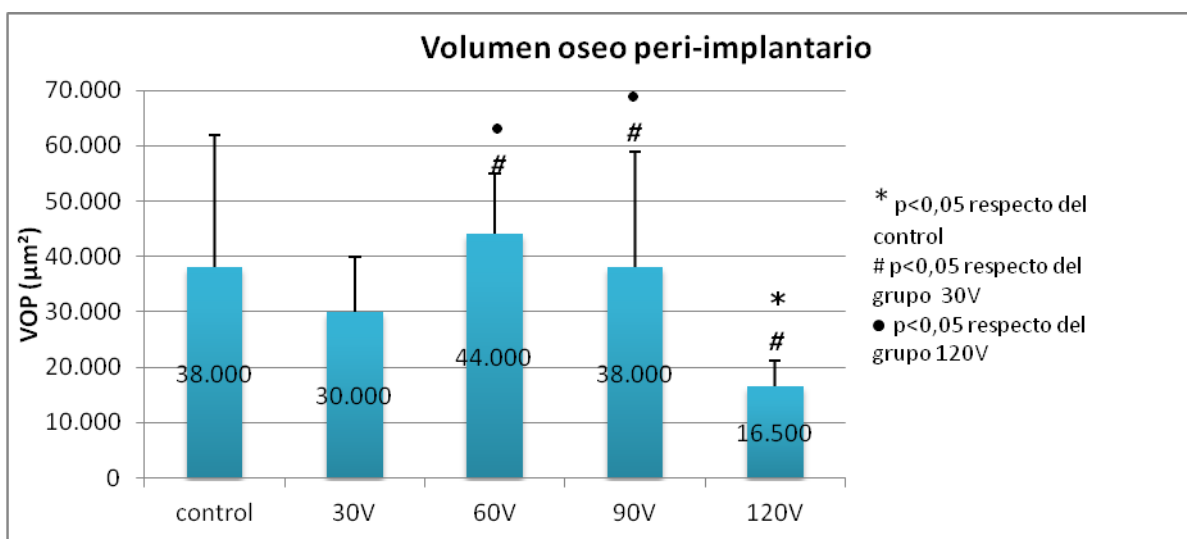


Gráfico 5.1: Estudio histomorfométrico: volumen óseo peri-implante (VOP). Los datos se expresan como media  $\pm$  desviación estándar.

Respecto a la oseointegración (OI), se observó un mayor porcentaje estadísticamente significativo en las muestras anodizadas a los 30V y 120V respecto de los controles ( $p < 0,05$ ). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los grupos 60V y 90V respecto del control. Se observó un mayor % OI, estadísticamente significativo en el grupo 30V respecto a 60 y 90V ( $p < 0,05$ ). La tabla 5.2 y el gráfico 5.2 hacen referencia a estos resultados.

Porcentaje de Oseointegración(%)	
Control	12 ± 4
30 V	30 ± 6
60 V	5 ± 2
90 V	8 ± 3
120 V	23 ± 4

Tabla 5.2: Estudio histomorfométrico: evaluación de la oseointegración. Los datos se expresan como media ± desviación estándar, (\*p<0,05).

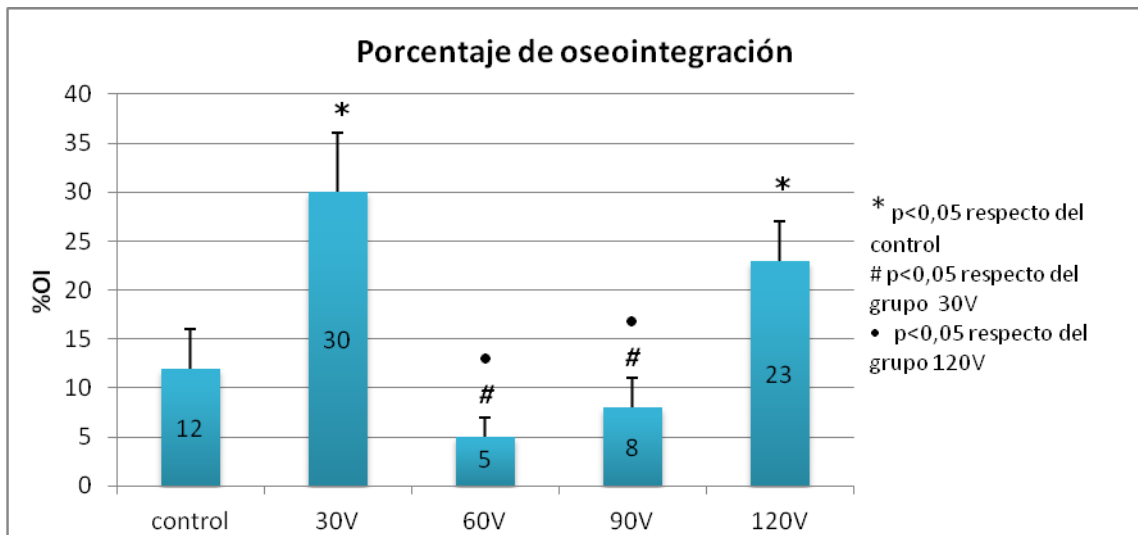


Gráfico 5.2: Estudio histomorfométrico: porcentaje de oseointegración (%OI). Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

El modelo experimental utilizado en este estudio permite la evaluación de la biocompatibilidad de materiales para implante ante variables locales y sistémicas [3]. Es de destacar que en la médula ósea no hay tejido óseo preexistente, de tal manera, que el tejido óseo observado se forma en respuesta al biomaterial implantado, a partir de las células de la médula ósea que tienen capacidad osteogénica, es decir, de formar tejido óseo.

En el presente trabajo, el modelo experimental permitió evaluar el tejido óseo neoformado alrededor del implante bajo una variable local (anodizado).

El análisis histomorfométrico realizado, mostró que las muestras anodizadas a 30V y 120V resultaron óptimas en relación al %OI respecto del grupo control. Estos resultados concuerdan con trabajos anteriores realizados en circonio puro, como los de Carrizo et. al [2], Gómez Sánchez et. al [4] y Sollazo [5]. En el primero, estudiaron al circonio anodizado a 30V y 120V y obtuvieron que el porcentaje de oseointegración creció un 167% para muestras de 30V y un 132% en muestras de 120V, respecto de las muestras control. A diferencia de esto, los porcentajes incrementados en el presente estudio de la aleación de Zr-2.5%Nb, fueron mayores; las muestras anodizadas a 30V, incrementaron el %OI en un 250% y las muestras de 120V, lo hicieron en un 190% respecto de las muestras no anodizadas, optimizando de esta manera la respuesta biológica. En el trabajo de Gómez Sánchez et. al [4] se evaluó cualitativamente la factibilidad de oseointegración del Ti y Zr anodizados a 30 V y sin anodizar, encontrando que tanto para el Ti como para el Zr, en las muestras sin anodizar el tejido óseo neoformado no se encontraba en toda la periferia del implante en la misma magnitud que en las muestras anodizadas. A su vez, mediante estudios *in vivo*, en el estudio de Sollazzo et al. [5] se concluyó que implantes de Zr, que fueron preparados y recubiertos mediante una suspensión coloidal de óxido de circonio, ZrO<sub>2</sub>, presentaban un porcentaje de contacto hueso-implante mayor y estadísticamente significativo en comparación con los implantes sin dicho recubrimiento.

En relación al VOP, la mayoría de las muestras anodizadas a diferentes potenciales (30V, 60V y 90V), presentaron un volumen similar a las muestras control, a diferencia del conjunto anodizado a 120V cuyo VOP fue el menor de todos los grupos evaluados (a pesar de su adecuado porcentaje de oseointegración).

Desde el punto de vista biológico, si se considera el %OI y VOP, el grupo 30V resultó ser el potencial más adecuado de todos los evaluados, presentando un %OI superior al control y al resto de las variables y un VOP similar al control.

Por otro lado, en el trabajo de Apesteguy [6] se estudió la incidencia de la capa de óxido formada mediante el proceso de anodizado en implantes laminares de Ti sobre el

porcentaje de oseointegración. Trabajaron con potenciales relativamente bajos, entre 6V y 24V. Llegaron a la conclusión de que los potenciales intermedios eran los que mejores resultados presentaron, ya que eran los que proporcionaban un mayor %OI. Sin embargo, cabe aclarar que el %OI a estos potenciales intermedios eran iguales o levemente superiores al %OI del titanio sin anodizar. Aunque en este trabajo se utilizó una solución de sulfato de amonio para realizar los anodizados y los potenciales de anodizado del Ti estuvieron comprendidos entre 6V y 24V, si se comparan los resultados del %OI, teniendo en cuenta que el mayor potencial de anodizado de Ti corresponde a un 16% de oseointegración y que el valor de potencial más cercano a este, estudiado en el presente trabajo (30V) presenta un %OI de 30%, se podría decir que el Zr-2.5%Nb anodizado permite un mayor porcentaje de oseointegración que el Ti anodizado.

Las superficies anodizadas presentan propiedades adecuadas desde el punto de vista biológico y biomecánico en comparación con superficies maquinadas. En este sentido, el éxito clínico en Ti anodizado se ha explicado a través de dos mecanismos: unión mecánica del hueso neoformado y unión bioquímica [7].

Se conoce que los sistemas biológicos tienen la capacidad de reconocer cualquier detalle a nivel molecular. El reconocimiento está programado en las moléculas y células a través de la combinación de su estructura tridimensional, la arquitectura química y sus propiedades dinámicas. Entre las propiedades físico – químicas de las superficies que se han determinado que afectan la respuesta celular se encuentran: la mojabilidad (hidrofilicidad), energía superficial, rugosidad, textura, composición química, carga superficial y morfología [8].

Basándonos en estas hipótesis, se analizó si existía correspondencia entre las características del óxido anódico con los valores de OI. Se pudo ver que el mayor porcentaje de OI se corresponde a las muestras anodizadas a 30V y 120V. Se observó la morfología obtenida para cada potencial y se determinó que el óxido crecido sobre la superficie de las muestras era similar para todos los potenciales de anodizado. En la figura 5.4 se pueden observar micrografías mediante SEM del óxido que recubre a las probetas de Zr-2.5%Nb. Estos resultados discreparon con la morfología obtenida en el trabajo de Carrizo et al. [2] en donde el óxido había crecido sobre el sustrato en forma de pequeños grupos y a medida que aumentaba el potencial de anodizado, estos grupos de óxido aparecían con mayor frecuencia y

en mayor tamaño sobre la superficie de la matriz de Zr. En dicho trabajo se concluyó que la mayor oseointegración encontrada en la muestra anodizada a 30V estaba relacionada con la particular morfología de crecimiento de óxido de la misma. A diferencia de los que ocurre en la muestra anodizada a un potencial mayor (120V), en este caso, el óxido no cubre totalmente la superficie y se especula que esta particular morfología podría servir de “anclaje” para el crecimiento y desarrollo del hueso neoformado.

Sin embargo, a partir de lo observado en el presente trabajo, los %OI obtenidos para distintos potenciales de anodizado del Zr-2.5%Nb, no pueden atribuirse a una particular forma de deposición de óxido.

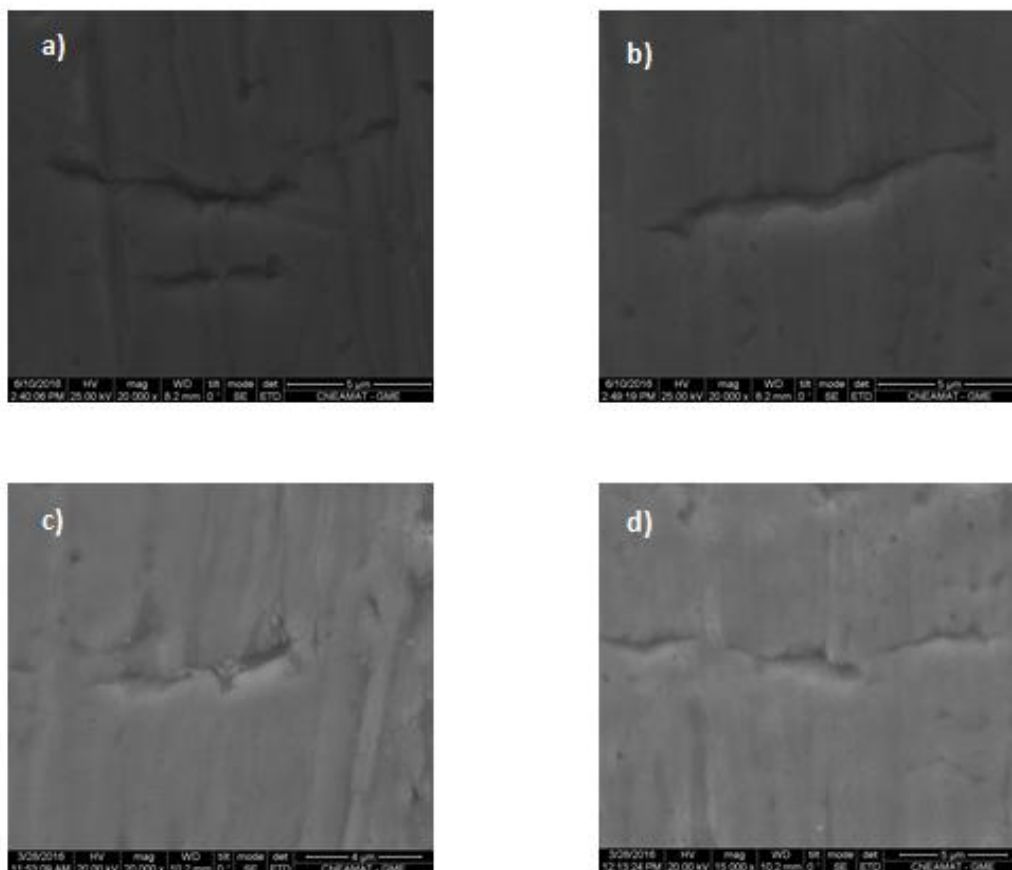


Figura 5.4: Micrografías de la morfología presente en muestras anodizadas a: a) 30V, b) 60V, c) 90V, d) 120V.

El mayor porcentaje de OI, también podría atribuirse al espesor de la capa anódica. No obstante, en el presente trabajo esta variable no fue evaluada. Sin embargo, de acuerdo a la

literatura, el espesor crece en función del anodizado en forma lineal. Oliveira et al. [9] estudiaron al Zr y el Ti, aduciendo que materiales válvulas como éstos, poseen superficies cubiertas de film de óxidos formados espontáneamente al aire o en diferentes electrolitos. Los espesores típicos de estas capas de óxidos oscilan entre 2-5 nm, cuando se forman a temperatura ambiente, pero este último se veía aumentado al anodizar a los materiales a diferentes potenciales. A su vez, Kurumoto et al. [10] trabajaron con Ti anodizándolo en solución de  $H_3PO_4$  y mediante microscopio de fuerza atómica mostraron que el espesor del film generado sobre la superficie del Ti aumentaba con el potencial aplicado, teniendo un crecimiento relativamente lineal hasta un voltaje de aproximadamente 200V, donde esta linealidad dejaba de tener efecto. Por todo lo expuesto, es de esperar que en el presente caso de Zr-2.5%Nb el espesor de la capa anódica también sea una función creciente del potencial de anodizado. De ser así, los diferentes %OI obtenidos no podrían correlacionarse con los diferentes espesores de la capa anódica, ya que los mayores %OI se encuentran para potenciales de anodizado iguales a 30V y 120V.

Respecto a la rugosidad, las muestras de Zr-2.5%Nb anodizadas presentaron similares valores promedio que la rugosidad de la muestra control. Como se había visto anteriormente en el capítulo 3, sección 3.2.1.3, las láminas de Zr-2.5%Nb originales, para ser utilizadas como material de estudio, sufrieron un proceso de recurrentes laminados, proporcionándoles deformación con una rugosidad inicial lo suficientemente alta como para que la rugosidad propia del proceso de anodizado sea casi imperceptible. Por lo que, en este trabajo no se pudo estudiar el efecto propio del anodizado en la rugosidad de las muestras. En este sentido, la variable rugosidad no pudo ser estudiada adecuadamente como para asegurar que tenga influencia o no, en la respuesta biológica.

Si bien, son muchos los estudios que dan cuenta de que un aumento en la rugosidad permite una mejora en la adhesión hueso-implante, en lo que respecta al Zr-2.5%Nb, todavía son pocos los estudios que relacionan la rugosidad con el porcentaje de oseointegración. Sin embargo en Ti existen gran cantidad de trabajos. Ponsonnet et al. [11] estudiaron la adhesión y proliferación celular para varias aleaciones de Ti con diferentes tratamientos superficiales modificando su rugosidad. Llegaron a la conclusión de que existe una fuerte correlación entre la rugosidad y la proliferación celular. Para los tratamientos superficiales propuestos por ellos,

concluyeron que existe un rango óptimo de rugosidad (entre 0,08 y 1  $\mu\text{m}$ ), por encima del cual la proliferación celular disminuye.

La rugosidad superficial juega un papel fundamental en la calidad y el porcentaje de OI en los implantes de Ti. Los implantes con gran rugosidad, han demostrado favorecer el anclaje mecánico y la fijación primaria al hueso [7].

### **5.3 – Conclusiones**

- Después de un período de 30 días de implantación de láminas de Zr-2.5%Nb en ratas Wistar, se observó en todas las muestras, anodizadas y sin anodizar, la presencia de tejido óseo laminar neoformado alrededor del implante.
- Todas las muestras implantadas presentaron zonas de oseointegración y zonas de mielointegración.
- Si se considera el % OI y VOP el grupo de muestras anodizadas a 30V resultó ser el más adecuado desde el punto de vista biológico, presentando un % OI superior al control y mayor que el resto de las variables y un VOP similar al control.
- Si bien el grupo anodizado a 120V presentó un adecuado %OI, el VOP fue el menor de todos los grupos evaluados.
- No se ha podido establecer una relación clara entre la rugosidad o la morfología del óxido y el %OI.
- Es importante destacar que el éxito clínico de un implante requiere además de un adecuado volumen de tejido óseo una óptima oseointegración, condiciones que resultaron satisfactorias sólo en el grupo anodizado a 30V.

**5.4 – Bibliografía**

- [1] A. Aranda, L. Miguel, P. García, *Ética De La Experimentación Con Animales, Bioética Y Ciencias La Salud*. Vol 3 N°4. 3 (2008) 1–11.
- [2] N. Carrizo, *Evaluación del comportamiento del circonio anodizado para la fabricación de implantes permanentes.*, Tesis de Maestría. Instituto Sabato. Universidad Nacional de San Martín. CNEA, 2014.
- [3] R.L. Cabrini, M.B. Guglielmotti, J.C. Almagro, *Histomorphometry of initial bone healing around zirconium implants in rats.*, *Implant Dent*. 2 (1993) 264–7.
- [4] A. Gomez Sanchez, *Evaluación in vitro e in vivo de la factibilidad del empleo de circonio como material para la fabricación de implantes oseointegrables*, Tesis Doctoral. Instituto Sabato. Universidad Nacional de San Martín-CNEA, 2011.
- [5] V. Sollazo, F. Pezzetti, A. Scarano, A. Piatelli, C. Bignozzi, L. Massari, G. Brunelli, F. Carinci, *Zirconium oxide coating improves implant osseointegration in vivo*, *Dent. Mater*. 24 (2008) 357–361.
- [6] J.. Apesteguy, *Efecto de la característica de la película pasivante sobre la corrosión*, Tesis de Maestria. Instituto Sabato. Universidad Nacional de San Martín. CNEA., 2003.
- [7] L. Le Guéhennec, A. Soueidan, P. Layrolle, Y. Amouriq, *Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration*, *Dent. Mater*. 23 (2007) 844–854.
- [8] S.E. Rodil, *Modificación superficial de biomateriales metálicos*, *Rev. Latinoam. Metal. Y Mater*. 29 (2009) 67–83.
- [9] N.T.C. Oliveira, S.R. Biaggio, R.C. Rocha-Filho, N. Bocchi, *Studies on the stability of anodic oxides on zirconium biocompatible alloys*, *J. Braz. Chem. Soc*. 13 (2002) 463–468.
- [10] N.K. Kuromoto, R.A. Simão, G.A. Soares, *Titanium oxide films produced on commercially*

pure titanium by anodic oxidation with different voltages, *Mater. Charact.* 58 (2007) 114–121.

- [11] L. Ponsonnet, K. Reybier, N. Jaffrezic, V. Comte, C. Lagneau, M. Lissac, C. Martelet, Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behaviour, *Mater. Sci. Eng. C.* 23 (2003) 551–560.

### CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES FINALES

- Las muestras de Zr-2.5%Nb anodizadas a: 30V, 60V, 90V y 120V en solución de  $H_3PO_4$  presentaron colores característicos y altamente reproducibles. A medida que se modificó el potencial de anodizado, se observó que la superficie cambiaba. El crecimiento del óxido ocurrió de manera homogénea a pesar de la presencia de ciertas imperfecciones en la morfología superficial. Mediante EDS se observó la presencia de circonio y oxígeno, incrementándose este último con el aumento del potencial de anodizado.
- Se estableció que no existía diferencia estadísticamente significativa de los parámetros de rugosidad entre el material sin anodizar y el material anodizado. La rugosidad del material resultó independiente del potencial de anodizado.
- Luego de los diferentes períodos de inmersión (24 horas y 30 días) en solución simulada de fluido biológico (SBF) a 37°C, la morfología superficial de las muestras no cambió, resultando similar a las de las muestras que sólo habían sufrido el proceso de anodizado, sin ser sumergidas en SBF.
- En general, se encontró que el proceso de anodizado protege al material base, confiriéndole mejor resistencia a la corrosión.
- Tanto las muestras anodizadas y sumergidas en SBF durante 24 horas como las muestras anodizadas inmersas durante 30 días, mostraron muy buena resistencia a la corrosión permaneciendo pasivadas para todos los potenciales de anodizado. A diferencia del material sin anodizar que presentó corrosión localizada en su superficie.
- Los ensayos electroquímicos en solución SBF mostraron que las muestras anodizadas se encontraban pasivadas, siendo la densidad de corriente pasiva menor al aumentar el potencial de anodizado. A su vez, al incrementar el tiempo de inmersión (de 24 horas a 30 días), las densidades de corriente (en su mayoría) disminuyen, indicando que la capa pasivante cumple más efectivamente su rol protector ante los iones agresivos presentes en la solución.

## CONCLUSIONES FINALES

---

- Si bien, no se han encontrado compuestos de Ca-P (posibles precursores de la formación de tejido óseo) luego de la inmersión en SBF, en los estudios *in vivo* se observó que todas las muestras (anodizadas y sin anodizar) presentaron hueso neoformado a su alrededor.
- Las muestras anodizadas a 30V, incrementaron el %OI en un 250% y las muestras anodizadas a 120V, lo hicieron en un 190%, respecto de las muestras control, optimizando de esta manera la respuesta biológica.
- Se observó el mayor porcentaje de oseointegración en las muestras anodizadas a 30V y luego en las anodizadas a 120V. En relación al VOP el grupo 30V presentó un volumen similar al grupo control, mientras que la muestra de 120V mostró el VOP menor de todos los del grupo. Por lo que, si se considera el %OI y el VOP, el grupo de 30V resultó ser el óptimo desde el punto de vista biológico.
- No se pudo establecer una relación directa entre el porcentaje de oseointegración y el grado de rugosidad superficial.
- El proceso de anodizado del Zr-2.5%Nb mejoró la resistencia a la corrosión y la capacidad de oseointegración, medida a través del %OI. De los potenciales evaluados se concluye que 30V es el que produce mayor %OI y un VOP similar al control, resultando un potencial óptimo desde el punto de vista de electroquímico y biológico. Por otra parte, anodizados a potenciales mayores para asegurar buena resistencia a la corrosión, no son una alternativa favorable, pues si bien presentan mayor VOP que la muestra de 30V, poseen porcentajes de OI bajos.