



**INSTITUTO
SABATO**

UNIVERSIDAD NACIONAL
DE GENERAL SAN MARTÍN
COMISION NACIONAL
DE ENERGIA ATOMICA
COMISION NACIONAL
DE ENERGIA ATOMICA

MAESTRIA

**en CIENCIA Y TECNOLOGIA
de MATERIALES**

**EVALUACIÓN DEL
COMPORTAMIENTO
DEL CIRCONIO ANODIZADO
PARA LA FABRICACIÓN DE
IMPLANTES PERMANENTES**

Rita Noelia Carrizo

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

Evaluación del comportamiento del circonio anodizado para la fabricación de implantes permanentes

Por Ing. Noelia Carrizo

Director

**Dra. Silvia Farina
Dra. Andrea Gomez Sanchez**

(*) Tesis para optar al título de Magister en Ciencia y Tecnología de Materiales

República Argentina

2014

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
CENTRO DE INFORMACION C A C

Esta tesis fue defendida públicamente el 22 de agosto de 2014 y fue aprobada por un jurado constituido por:

Ing. Liliana Berardo, INTI

Dra. Andrea Kaplan, UBA

Dr. Mariano Kappes, CNEA, UNSAM

Calificación: 10(diez)

A través de estas sencillas palabras quiero agradecer a todas las personas que directa o indirectamente participaron en la realización de esta tesis:

- Primero que todo quiero agradecerle a Silvia Farina, quien no sólo aportó todo su conocimiento y profesionalismo, sino que también en todo momento aportó su lado humano y comprensivo.
- Quiero agradecerle a Andrea Gomez Sanchez, por aportar su gran conocimiento en el tema.
- Al Dr. Daniel Olmedo, su ayuda y conocimiento fue de gran importancia en la realización de la tesis.
- A las personas que empezaron como compañeros de estudio y terminaron siendo mis amigos: Ame, Pedro, Nati, Maia, Carlitos y Fati.
- A Pamela Ramos, quien desinteresadamente me ayudó en más de una oportunidad.
- Quiero agradecerle a mi familia, por estar siempre. Gracias a mis viejos, todo lo que soy es gracias a Ustedes.
- Por último, y no menos importante, a la persona que elegí como mi compañero de vida. Gracias Ale por estar siempre y darme palabras de aliento cuando más las necesito.

A todas estas personas muchas gracias de corazón!!

RESUMEN

RESUMEN

Se estudió la factibilidad del uso de Zirconio (Zr) como potencial biomaterial para implantes permanentes. A fin de aumentar las propiedades anticorrosivas y el grado de oseointegración, probetas de Zr fueron modificadas superficialmente mediante un tratamiento superficial de anodizado a cuatro potenciales diferentes: 30V, 60V, 90V y 120V. El tratamiento de anodizado se llevó a cabo en solución de H_3PO_4 1 M, durante 60 minutos a potencial constante. Se caracterizaron los óxidos formados estudiando su morfología mediante microscopía electrónica de barrido y la composición química mediante espectroscopía dispersiva en energía y espectroscopía de ablación inducida por láser. Mediante espectroscopía Raman se examinó la estructura cristalina de la capa anódica. Adicionalmente, se midieron diversos parámetros de rugosidad en las muestras anodizadas y se compararon con el material sin anodizar.

A fin de evaluar la resistencia a la corrosión del Zr anodizado, se realizaron ensayos en la solución de anodizado (H_3PO_4 1M) y en solución simulada de fluido biológico (SBF). En ambas soluciones se trazaron curvas de polarización de las muestras con y sin tratamiento superficial. En el caso de los ensayos realizados en SBF, las muestras fueron previamente inmersas en dicha solución durante 1 y 30 días a 37°C, simulando las condiciones medioambientales a las cuales serán sometidos los implantes durante su vida útil.

Para analizar la capacidad de oseointegración, se implantaron muestras de Zr anodizadas a los potenciales extremos (30V y 120V) y muestras sin anodizar. El estudio *in vivo* se llevó a cabo en ratas Wistar de acuerdo al procedimiento del método *Laminar Test*. Al cabo de 30 días de la implantación, se determinó el grado de oseointegración y el volumen de hueso neoformado alrededor de las muestras implantadas.

Se encontró que el proceso de anodizado de Zr mejora no sólo su resistencia a la corrosión si no también su capacidad de oseointegración, medida a través del porcentaje de oseointegración. La comparación de los resultados obtenidos en el presente trabajo con los de la literatura muestran que 30V es un valor crítico de potencial de anodizado, ya que muestras anodizadas a potenciales mayores permanecen pasivas en solución SBF, mientras que muestras anodizadas a potenciales menores sufren corrosión localizada. De los potenciales de anodizado evaluados en el presente trabajo 30V es el que produce mayor porcentaje de oseointegración.

Palabras claves: circonio, anodizado, corrosión, oseointegración.

ABSTRACT

ABSTRACT

The feasibility of using the zirconium (Zr) metal as a potential permanent implantable biomaterial was studied. In order to increase the anticorrosive properties and percentage of osseointegration, specimens of Zr were anodized at four different potentials: 30V, 60V, 90V and 120V. The anodizing treatment was carried out in 1M H₃PO₄ solution, for 60 minutes at a constant potential. The oxides formed were characterized studying their morphology by scanning electron microscopy and their chemical composition by energy dispersive spectroscopy and laser Induced breakdown spectroscopy. The crystal structure of the oxides was examined by Raman spectroscopy. Additionally, several roughness parameters of the anodized specimens were measured and compared to those measured in the non-anodized specimens.

In order to evaluate the corrosion resistance of the anodized Zr samples, some tests were carried out in the anodizing solution (1M H₃PO₄) and in a simulated fluid solution (SBF). Potentiodynamic polarization curves were obtained in both solutions for the anodized and non-anodized specimens. In the case of the tests performed in SBF solution, the specimens were previously immersed in the SBF solution for 1 day and 30 days at 37°C, simulating the conditions at which the implants will be exposed during their life span.

To analyse the percentage of osseointegration, specimens of Zr anodized at 30 and 120V, as well as and non-anodized Zr specimens, were implanted in Wistar rats according to the *Laminar Test* method. After 30 days of implantation, the degree of osseointegration and new bone volume around the implanted samples were determined.

It was found that the anodizing process of Zr improves not only the corrosion resistance but also the osseointegration capability, measured through the percentage of osseointegration. By comparing the results obtained in the present work with those found in the literature, it was concluded that 30V is a critical anodizing potential, because specimens anodized at higher potentials remain passivated in SBF solution, while those anodized at lower potentials undergo localized corrosion.

Keywords: zirconium, anodization, corrosion, osseointegration.

ÍNDICE

CAPÍTULO I: *INTRODUCCIÓN*

I.1 Biomateriales	1
I.2 Clasificación de los biomateriales.....	3
I.3 Interfaz biomaterial – medio biológico	9
I.4 Generalidades del tejido óseo.....	10
I.4.1 Funciones del sistema esquelético	14
I.4.2 Estructura macroscópica del tejido óseo.....	15
I.4.3 Composición del hueso.....	17
I.5 El circonio como biomaterial	18
I.6 Importancia de la modificación superficial	19
I.6.1 Interfase tejido - material.....	25
I.6.2 Circonio anodizado como dispositivo biomédico.....	26
I.7 Objetivos del trabajo	28
I.8 Bibliografía	29

CAPÍTULO II: *MATERIALES Y MÉTODOS*

II.1 Introducción.....	31
II.2 Preparación de las probetas	31
II.2.1 Modificación superficial: anodizado	32
II.3 Ensayos de inmersión	33
II.4 Caracterización superficial	33
II.5 Técnicas electroquímicas.....	37
II.6 Ensayos in vivo.....	38
II.6.1 Procedimiento quirúrgico	38
II.6.2 Procesamiento histológico.....	40
II.7 Análisis histomorfométrico	42
II.8 Bibliografía.....	44

CAPÍTULO III: *CARACTERIZACIÓN SUPERFICIAL DEL CIRCONIO ANODIZADO*

III.1 Introducción.....	45
III.2 Resultados y discusión	47
III.2.1 Anodizado	47
III.2.1.1 Análisis químico	53
III.2.1.2 Estructura cristalina de la capa anódica	59
III.2.1.3 Rugosidad	61
III.2.2 Probetas incubadas por 24 horas	63
III.2.2.1 Análisis químico	65
III.2.2.2 Estructura cristalina de la capa anódica.....	69
III.2.3 Probetas incubadas por 30 días.....	71
III.2.3.1 Análisis químico.....	73
III.2.3.2 Estructura cristalina de la capa anódica.....	78
III.3 Conclusiones	80
III.4 Bibliografía.....	82

CAPÍTULO IV: *COMPORTAMIENTO ELECTROQUIMICO DE LA CAPA ANÓDICA*

IV.1 Introducción	85
IV.2 Resultados y discusión	87
IV.2.1 Curvas de polarización en solución de anodizado.....	87

ÍNDICE

IV.2.2 Curvas de polarización en solución Simulada de Fluido Biológico (SBF)	90
IV.3 Conclusiones	96
IV.4 Bibliografía	98
 CAPÍTULO V: <i>EVALUACIÓN IN VIVO DE IMPLANTES DE CIRCONIO</i>	
V.1 Introducción.....	99
V.2 Resultados y discusión	99
V.2.1 Estudio histológico.....	100
V.2.2 Análisis histomorfométrico	101
V.3 Conclusiones.....	107
V.4 Bibliografía.....	108
 CAPÍTULO VI: <i>CONCLUSIONES FINALES</i>	
VI.1 Conclusiones finales.....	109

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

I.1 Biomateriales

Boretos et al. [1], definen un biomaterial como cualquier sustancia (otra que no sea una droga) o combinación de sustancias, de origen sintético o natural, que se puede utilizar en cualquier período de tiempo en su totalidad o como parte de un sistema que aumenta o reemplaza algún tejido, órgano o función del organismo.

Según Tresco et al. [2], un biomaterial es cualquier material de origen natural o sintético que entra en contacto con tejidos, sangre o fluidos biológicos, y destinado para el uso en aplicaciones protéticas, de diagnóstico, terapéuticas o almacenamiento, sin afectar adversamente al organismo viviente y sus componentes.

Según la FDA (Food and Drug Administration), un biomaterial es un instrumento, aparato, implemento, máquina, implante, reactivo in vitro, u otro artículo similar o relacionado, incluyendo un componente, parte, o accesorio lo cual es reconocido en el Formulario Nacional Oficial, o de Farmacopea de EEUU, o cualquier suplemento para ellos, destinado para el uso en el diagnóstico de enfermedades u otras condiciones, o en la cura, mitigación, tratamiento, o prevención de enfermedades, en el hombre u otros animales, o destinado a afectar la estructura, o cualquier función del cuerpo humano o de animales, y el que no alcanza alguno de sus propósitos primarios a través de la acción química dentro del cuerpo del hombre o animales y el que no es dependiente de ser metabolizado para el logro de cualquiera de sus propósitos primarios.

Hay biomateriales de cada una de las siguientes familias de materiales: polímeros, materiales naturales, cerámicos y metales [3]. A veces se pueden combinar dos clases diferentes de materiales.

Los biomateriales deben presentar biofuncionalidad y biocompatibilidad. La primera es la habilidad del implante para llevar a cabo el propósito para el cual fue

1 | *Evaluación del comportamiento del circonio anodizado para la fabricación de implantes permanentes.*

diseñado [4]. Dentro de los requerimientos que un implante debe cumplir se encuentran las propiedades mecánicas, físicas y superficiales. La biocompatibilidad es la habilidad del dispositivo para proporcionar una respuesta adecuada ante una aplicación específica [4].

Los biomateriales se utilizan en varios campos de la medicina y cada uno de ellos está asociado a algún tipo de aplicación particular. En la Tabla I.1 se muestran algunos ejemplos.

Tabla I.1 - Ejemplos de aplicaciones de biomateriales [5].

Aplicación	Material frecuentemente empleado
<i>Sistema óseo</i>	
Reemplazo de articulaciones	Aleaciones de titanio, acero inoxidable, polietileno
Placas para la fijación de fracturas	Acero inoxidable, aleación Co-Cr
Cemento para huesos	Polimetilmetacrilato
Reparación de defectos óseos	Hidroxiapatita
Ligamentos y tendones artificiales	Teflón, Dracón
Implantes dentales	Titanio, alúmina, fosfato de calcio
<i>Sistema Cardiovascular</i>	
Prótesis cardiovasculares	Dracón, Teflón, poliuretano
Válvulas de corazón	Tejido reprocesado, acero inoxidable, Dracón
	Goma de silicona, Teflón, poliuretano
Catéter	
<i>Órganos</i>	
Corazón artificial	Poliuretano
Placas para reparación de la piel	Materiales compuestos de silicona – colágeno
Riñón artificial (hemodiálisis)	Celulosa, poliacrilonitrilo
Respiradores artificiales	Goma de silicona

Sentidos	
Lentes intraoculares	Polimetilmetacrilato, goma de siliconas
Lentes de contacto	Silicona – acrilato, hidrogeles.

La ciencia de los biomateriales es una ciencia interdisciplinaria, ya que reúne a investigadores con diversas bases académicas tales como médicos, odontólogos, químicos, físicos, ingenieros, veterinarios, etc. Se involucran varias disciplinas por tratarse de un proceso complejo que comprende desde la identificación de la necesidad de un biomaterial o dispositivo hasta su fabricación, venta e implantación [5].

1.2 Clasificación de los biomateriales

Como ya se mencionó, hay diferentes clases de biomateriales, los cuales pueden dividirse en:

Polímeros

Varios tipos de polímeros se utilizan ampliamente en dispositivos biomédicos que incluyen implantes ortopédicos, dentales, de tejido blando y cardiovasculares. Los biomateriales poliméricos deben su éxito a la posibilidad de fabricarlos de muy distintas formas, con características bien determinadas y con facilidad de conformarlos en fibras, tejidos, películas o bloques [3].

Materiales Naturales

Los materiales naturales ofrecen la ventaja de ser muy similares, generalmente idénticos, a las sustancias macromoleculares que el medio biológico está preparado a tratar y reconocer. Los problemas de toxicidad y de reacciones crónicas inflamatorias, así como la falta de reconocimiento de las células del medio biológico, tienden a disminuir [3].

Cerámicos

De los biomateriales cerámicos, a primera vista, podría pensarse que su principal ventaja consiste en su baja reactividad química por su carácter casi inerte, y que conduce a una buena biocompatibilidad. Pero no todas las biocerámicas son bioinertes, muchos materiales cerámicos que se utilizan en cirugía reconstructiva son bioactivos [3]. Un material bioactivo es aquel que se integra con las moléculas biológicas o células y regenera el tejido o bien es

capaz de responder a señales provenientes del medio fisiológico induciendo una respuesta específica del tejido biológico circundante [6].

Metales

Los metales fueron los primeros materiales que revolucionaron el modo de vida de la humanidad. El primer requisito para utilizar metales como implantes es que éstos deben ser biocompatibles, además deben presentar una buena resistencia a la corrosión. La corrosión es un problema general de los metales, más aún si están inmersos en un medio tan hostil como es el organismo humano a una temperatura de 37°C. Algunos metales no presentan este problema, como ser los metales preciosos; otros se pasivan y dificultan el proceso de corrosión, tal como ocurre con el Ti, el Zr y los aceros inoxidable. La Tabla I.2 hace referencia a los materiales metálicos más utilizados en la actualidad como biomateriales. Cabe destacar que los implantes realizados con estos metales no siempre son enteramente satisfactorios, ya que en algunos casos ocurren fallas como desgaste, corrosión, liberación de especies iónicas al organismo, pérdida de la unión con los tejidos óseos y de la transmisión de esfuerzo de los tejidos circundantes. Dentro de las técnicas que tienden a mejorar su comportamiento en ese sentido, existen algunas expectativas interesantes en la aplicación de tratamientos superficiales.

Tabla I.2 - Composición química [5], aplicaciones biológicas [7] y ventajas/desventajas de los metales más utilizados como dispositivos biomédicos metálicos.

Material	Composición química aproximada (% en masa)	Aplicaciones biológicas	Ventajas/ Desventajas
Acero inoxidable tipo AISI 316L	Cr, 18; Ni, 12; Mo, 2,5; C<0,03; Fe, balance	Reemplazo articular (cadera, rodilla). Fijadores de fracturas. Implantes dentales. Válvulas cardíacas. Instrumentos quirúrgicos. Tornillos, marcadores, prótesis de hombres.	Buena resistencia a la corrosión en implantes temporarios. / Presenta susceptibilidad a corrosión por tensión o en rendija.

Aleación de cobalto ASTM F75	Cr, 18; Mo, 6; Ni, 2; Co, balance	Platos para fijación de columna. Tornillos, implantes dentales, marcadores, prótesis ortopédicas, herramientas quirúrgicas. Reemplazos óseos y articulares (cadera, rodilla)	Facilidad de fabricación y amplio rango de propiedades. Excelente resistencia a la corrosión. Utilizables en usos clínicos prolongados. / En la aleación ASTM F75 el proceso de enfriamiento debe estar altamente controlado.
Aleación de cobalto ASTM F562	Cr, 20; Ni, 3,5; Mo, 10; Co, balance		
Titanio comercialmente puro	99% Ti	Reemplazos cocleares. Reemplazos óseos y articular (cadera, rodilla). Implantes dentales. Tornillos. Sutura. Dispositivos de fijación ósea. Válvulas cardíacas. Instrumentos quirúrgicos. Marcapasos.	Excelente biocompatibilidad. Alta resistencia al picado, a la corrosión intergranular y de rendija. Son metales oseointegrables. La aleación Ti6Al4V presenta excelente resistencia a la fatiga. / Ti6Al4V presenta sensibilidad a las muescas reduciendo la vida a la fatiga. Los iones de Al y V han sido asociados con problemas de salud a largo plazo, tales como Alzheimer, neuropatías y osteomalacia [8].
Aleación de titanio Ti-6Al-4V	Al, 6; V, 4; Ti, balance		

Los metales y aleaciones se emplean, básicamente, como componentes estructurales, a fin de reemplazar determinadas partes del cuerpo humano. De forma más precisa, puede afirmarse que los materiales metálicos son imprescindibles, hoy por hoy, para aquellas aplicaciones clínicas que requieran soportar cargas y eso es debido a dos razones básicas, sus propiedades mecánicas y su resistencia a la corrosión en el organismo humano. Además pueden ser conformados, o sea, se les puede dar diversas formas, por medio de una gran variedad de técnicas. Todo esto explica su frecuente empleo como biomateriales.

En efecto, los metales y las aleaciones encuentran múltiples aplicaciones en ortopedia, especialmente como materiales estructurales en dispositivos para la fijación de fracturas y en sustitución total o parcial de articulaciones; pero también en la fabricación de instrumental. En el ámbito de la odontología se emplean para aplicaciones en ortodoncia para prevenir el desplazamiento de la dentadura, en la construcción de puentes dentales y coronas y en la realización de implantes y prótesis. También suelen emplearse en cirugía

para prótesis vasculares y en válvulas cardíacas e injertos vasculares y, en algunos casos, como hilo de suturas en cirugía.

Dentro de los biomateriales metálicos más utilizados podemos mencionar: Ti comercialmente puro, aleaciones de Ti, aleaciones de Co-Cr-Mo y algunos aceros inoxidables. Una de las aleaciones de Ti más utilizada hasta el momento es Ti-6Al-4V. Esta aleación presenta el problema de que el V está considerado dentro del grupo de los metales tóxicos [9]. Por otro lado, es sabido de la excelente biocompatibilidad que presentan metales como el Ti, Zr, Nb y Ta. Se ha reportado que de los 70 metales existentes en la tabla periódica, solo el Ti y el Zr son capaces de soportar el crecimiento de los osteoblastos y promover la oseointegración [9].

La Figura 1.1 muestra la gran diversidad de materiales biomédicos.

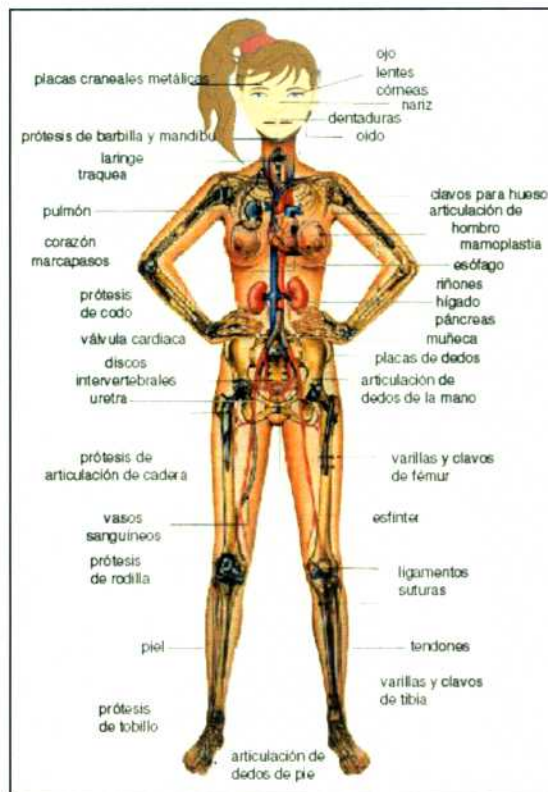


Figura 1.1: Biomateriales y su aplicación.

Capítulo I: INTRODUCCIÓN

La Figura 1.2 muestra algunos ejemplos de biomateriales en algunas de las diferentes áreas de la medicina. En la Tabla I.3 [4] se detallan algunos de los biomateriales más utilizados en Estados Unidos y Europa.

Aplicaciones en ortopedia



Fijadores de acero para fracturas femorales



Placas de Titanio

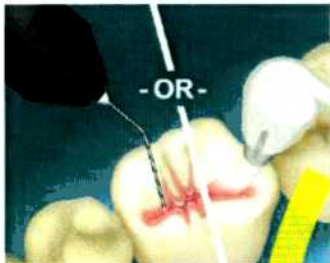


Barras y tornillos de acero para fusión vertebral

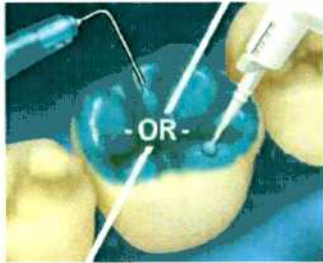
Aplicaciones en Odontología



Implantes dentales de Ti



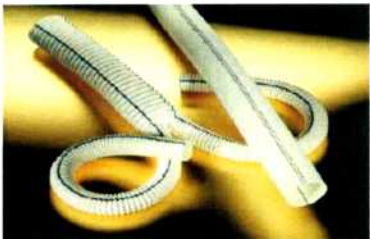
Selladores de caries o reconstrucciones dentales



Aplicaciones en Cardiología



Catéteres



Implantes Vasculares

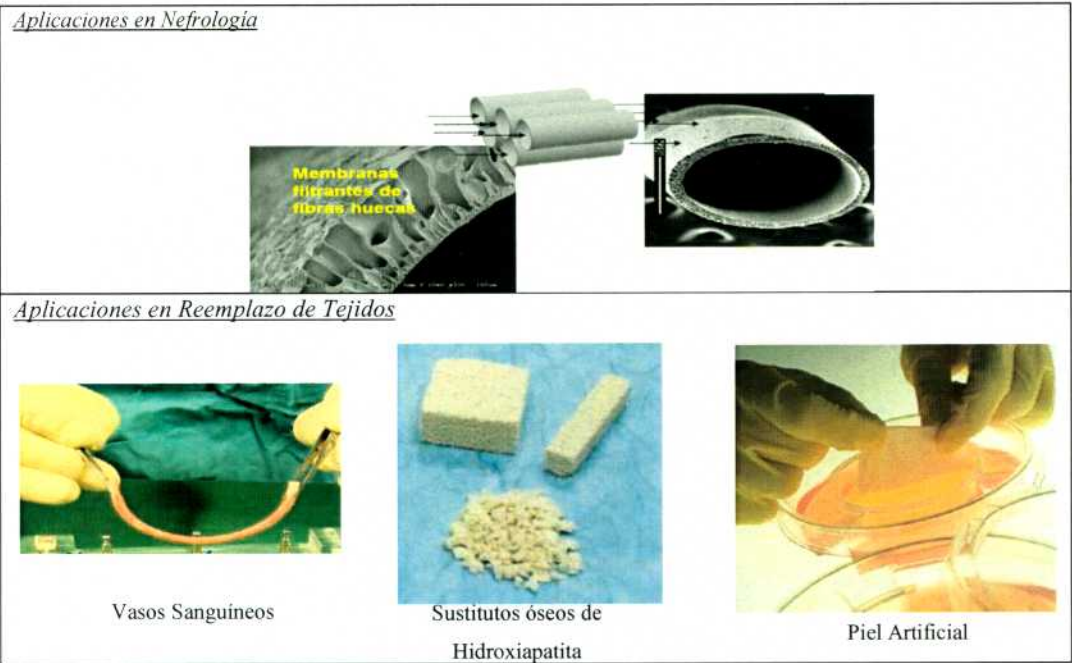


Figura 1.2: Ejemplos de biomateriales utilizados en los diferentes campos de la medicina.

Tabla I.3 - Biomateriales utilizados clínicamente en la recuperación ósea y muscular en Estados Unidos o Europa [4].

Composición	Tipo	Origen	Aplicación Clínica	Propiedades
Fosfatos de Calcio. Ej. Hidroxiapatita, fosfato tricalcico, fosfato octacalcico	Cerámico	Sintético	Regeneración ósea, relleno óseo. (Cementos, gránulos, recubrimientos)	Unión ósea (bioactividad), biodegradable.
Fosfatos de calcio base silica	Vidrio cerámico	Sintético	Regeneración ósea, relleno óseo. (Gránulos, recubrimientos)	Unión ósea (bioactividad), biodegradable.
Alúmina	Cerámico	Sintético	Reemplazo articular (rodilla, hombro)	Alta resistencia a la tracción, resistencia a la fatiga. Sin unión con el hueso. Capacidad de lubricación.
Titanio y aleaciones	Metal	Sintético	Reemplazo articular, sitios de	Unión ósea (bioactividad) en

			poca carga (prótesis de cadera o dentales, cajas espinales)	algunos casos, no corrosivo, resistencia a la fatiga, bajo módulo de elasticidad.
Acero inoxidable. Aleaciones de cobalto cromo	Metal	Sintético	Reemplazo ósea. Sitios de alta carga, prótesis de cadera o dentales, cajas espinales, fijadores.	Corrosivos a largo tiempo.
Polimetilmetacrilato	Polímero	Sintético	Reemplazo óseo, cemento de relleno para prótesis de cadera o fijación.	No degradable
Hueso	Composite mineral /proteínas.	Natural (Humano, Bovino)	Relleno óseo.	Composición similar al del huésped.

I.3 Interfaz biomaterial – medio biológico

Al introducir un biomaterial dentro del cuerpo humano se desencadena una serie de eventos, los cuales se describen a continuación [10]:

1. Dentro los primeros nanosegundos de haber sido incorporado el implante, se produce una capa de moléculas de agua alrededor de éste, dicho evento es altamente influenciado por la superficie del implante (Figuras 1.3a y 1.3b). Esta capa permite la adsorción de proteínas y otras moléculas en la superficie del sustrato [10]. 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 H_2O . Mientras que en una superficie hidrofóbica, las moléculas de H_2O 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 [10] (Figura 1.3c).

3. En la tercera etapa, se produce la interacción celular con el implante a través de la capa de proteínas adsorbidas (Figura 1.3d y 1.3e). Esta interacción permite la adhesión, migración y diferenciación celular, lo cual ocurre entre unas pocas horas a varios días. 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 [10]. El resultado de esta interacción puede ser la integración del implante o bien el encapsulamiento de éste en una capa fibrosa.

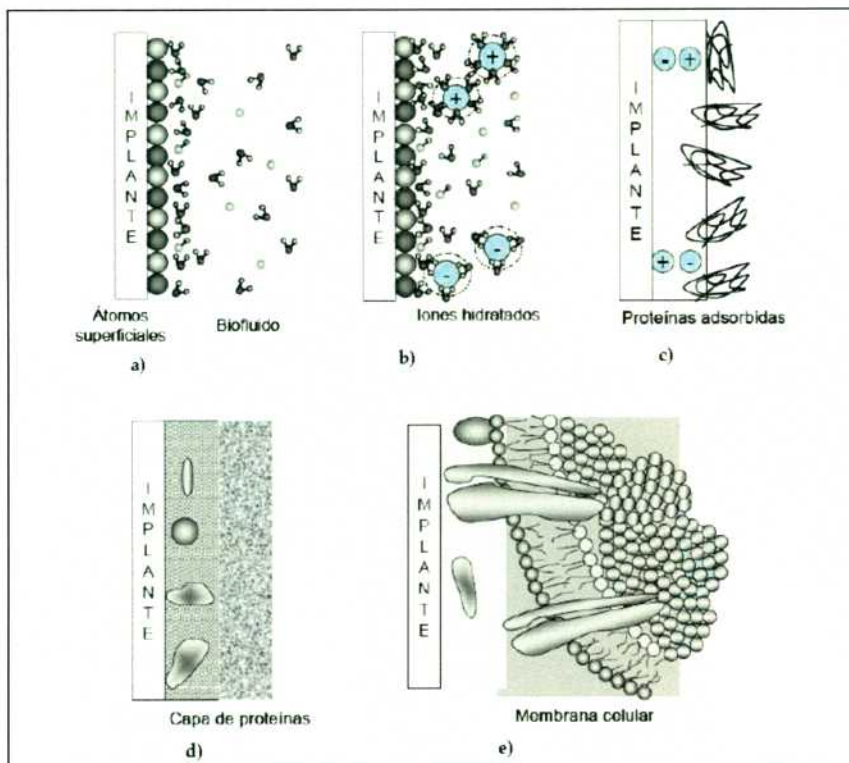


Figura 1.3: Eventos posteriores a la implantación.

1.4 Generalidades del tejido óseo

Un hueso está típicamente compuesto por tejido óseo y otros tejidos conjuntivos, incluido el tejido hemopoyético y el tejido adiposo, junto con vasos sanguíneos y nervios. Si el hueso forma parte de una articulación móvil (sinovial) hay cartílago hialino presente. La capacidad del hueso de desempeñar su función esquelética se debe al tejido óseo y, cuando está presente, al cartílago hialino o articular [11].

El tejido óseo se clasifica en compacto (denso) y esponjoso (trabeculado). Al examinar la superficie de corte de un hueso se pueden identificar dos organizaciones estructurales distintas del tejido óseo (Figura 1.4). Una capa densa y compacta forma la superficie ósea externa (tejido óseo compacto) mientras que una malla de aspecto esponjoso compuesta por trabéculas (delgadas espículas de tejido óseo anastomosadas) forma la parte interna del hueso (tejido óseo esponjoso). Los espacios que hay en la malla están comunicados y, en los seres vivos, contienen la médula y los vasos sanguíneos [11].

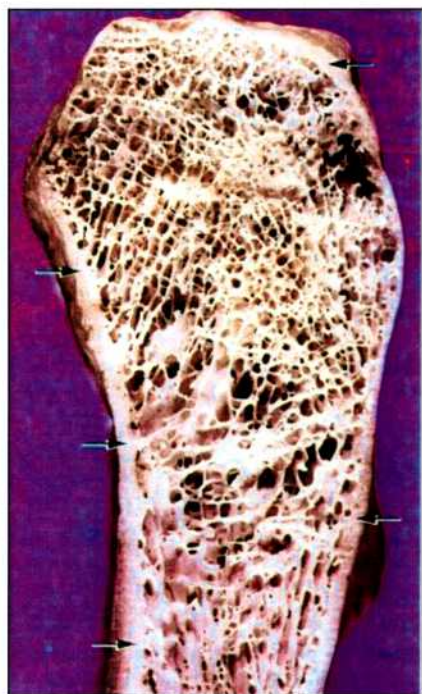


Figura 1.4: Epífisis de un hueso largo de adulto. Esta fotografía muestra un corte transversal de la epífisis de un hueso largo. La porción más externa tiene una estructura maciza (flechas) y corresponde al hueso compacto (denso). El interior del hueso es de aspecto reticulado y corresponde al hueso esponjoso (trabeculado), que está formado por muchas trabéculas óseas anastomosadas entre las cuales hay un laberinto de espacios medulares intercomunicados [11].

Los huesos se clasifican según su forma; la ubicación de los tejidos óseos compacto y esponjoso varía de acuerdo con la forma del hueso. Según su forma, los huesos se pueden clasificar en cuatro grupos [11]:

- *Huesos largos*, que tienen una longitud mayor que las otras dos dimensiones y están compuestos por una diáfisis, por ejemplo, la tibia y los metacarpianos. La figura 4 muestra una representación esquemática de un hueso largo seccionado longitudinalmente a través de la diáfisis.
- *Huesos cortos*, que tienen sus tres dimensiones casi iguales, por ejemplo, los huesos del carpo.
- *Huesos planos*, que son delgados y anchos, por ejemplo, los huesos de la calota craneana y el esternón. Están compuestos por dos capas de tejido óseo compacto bastante gruesas con una capa interpuesta de tejido óseo esponjoso.
- *Huesos irregulares*, que poseen una forma que no permite clasificarlos dentro de ninguno de los grupos anteriores; la forma puede ser compleja (por ejemplo vértebras) o el hueso puede contener espacios aéreos o senos (por ejemplo hueso etmoides) [11].

Los huesos largos tienen un cuerpo llamado *diáfisis* y dos extremos dilatados que reciben el nombre de *epífisis* (Figura 1.5). La superficie articular de la epífisis se halla cubierta de cartílago hialino. La porción dilatada del hueso que está entre la diáfisis y la epífisis se denomina *metáfisis* y se extiende desde la diáfisis hasta la línea epifisiaria. Una gran cavidad ocupada por la médula ósea, que recibe el nombre de *cavidad medular*, forma la parte interna del hueso. En la diáfisis casi todo el espesor del hueso está formado por tejido óseo compacto; a lo sumo, solo una cantidad pequeña de tejido esponjoso rodea la cavidad medular. En las epífisis sucede lo contrario, dado que el hueso esponjoso es abundante y el tejido óseo compacto apenas forma una delgada cubierta externa [11].

Los huesos cortos poseen una fina corteza de tejido óseo compacto y en su interior hay tejido óseo esponjoso y espacios medulares. Estos huesos suelen formar articulaciones

móviles con sus vecinos y, lo mismo que los huesos largos, poseen cartilago hialino en sus superficies articulares. El resto de la superficie externa del hueso está cubierto por una cápsula de tejido conjuntivo denso, el *periostio* [11].

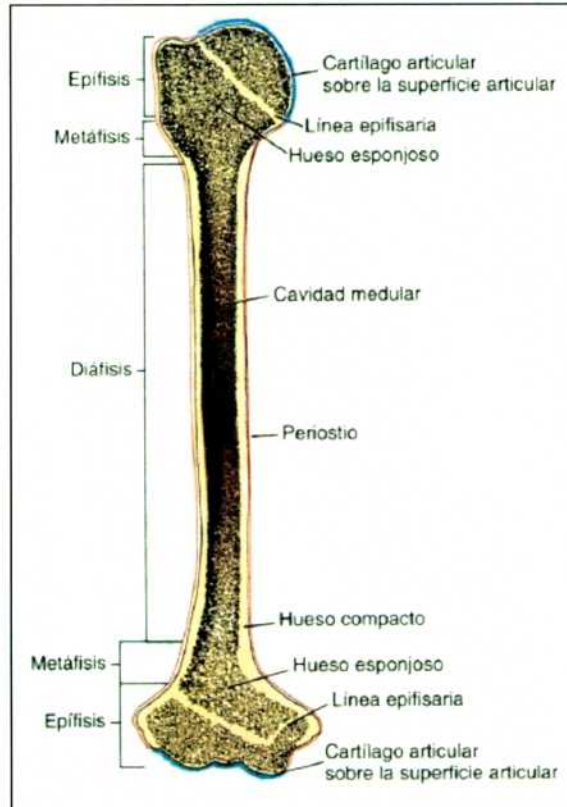


Figura 1.5. Estructura de un hueso largo típico. La diáfisis de un hueso largo posee una amplia cavidad medular limitada por una gruesa pared de hueso compacto. La superficie interna del hueso compacto puede estar revestida por una cantidad pequeña de hueso esponjoso. Los extremos (o epifisis) proximal y distal del hueso largo están compuestos principalmente por tejido óseo esponjoso revestido por una delgada capa externa de hueso compacto. La metáfisis es la parte ensanchada que sirve de unión entre la diáfisis y las epifisis. Salvo por las superficies articulares, que están cubiertas de cartilago (articular) hialino, indicado en azul, la superficie externa del hueso posee un revestimiento de tejido conjuntivo llamado periostio, indicado en rojo [11].

Un conjunto de 206 huesos en el organismo conforman el esqueleto, el cual tiene un peso de aproximadamente 9 kg. El esqueleto proporciona el marco estructural para el apoyo y protección de los diferentes órganos del cuerpo. Además, los huesos proveen los puntos de sujeción a la musculatura responsable del movimiento corporal y la locomoción,

conforman la reserva principal de minerales en el organismo y alojan la médula ósea que produce y suministra las células hematopoyéticas.

Según el grado de madurez, el tejido óseo se clasifica en reticular y laminar. El hueso reticular está considerado como un hueso inmaduro o primitivo y normalmente se encuentra en los embriones y recién nacidos, en los callos formados en el período de remodelación después de una fractura y en la región de la metáfisis de los huesos en crecimiento. Este tipo de huesos tiene fibras gruesas que no están orientadas uniformemente. Tiene más células por unidad de volumen que el hueso laminar, su contenido mineral varía y las células están dispersas al azar. El hecho de que las fibras de colágeno estén desorientadas le confiere a este tipo de hueso isotropía con respecto a las características mecánicas del tejido.

El hueso laminar se comienza a formar un mes después del nacimiento, por lo que este tipo de hueso es más maduro que el fibrilar y de hecho se forma a partir del proceso de remodelación del hueso inmaduro. Al contrario del tipo anterior, en el hueso laminar, las fibras de colágeno están altamente organizadas y orientadas, lo cual le confiere propiedades anisotrópicas, es decir, el comportamiento mecánico de esta clase de hueso varía dependiendo de la orientación de las fuerzas aplicadas, teniendo la mayor resistencia en dirección paralela al eje longitudinal de las fibras de colágeno.

1.4.1 Funciones del sistema esquelético

El sistema óseo cumple con una serie de funciones que son de vital importancia para el organismo humano. Ellas son:

Sostén: los huesos son el soporte de los tejidos blandos, y el punto de apoyo de la mayoría de los músculos esqueléticos.

Protección: los huesos protegen a los órganos internos, por ejemplo el cráneo protege al encéfalo, la caja torácica al corazón y pulmones.

Movimientos: en conjunto con los músculos.

Homeostasis de minerales: el tejido óseo almacena calcio y fósforo para dar resistencia a los huesos, y también los libera a la sangre para mantener en equilibrio su concentración.

Producción de células sanguíneas: en la médula ósea roja (tejido conectivo especializado) se produce la hemopoyesis para producir glóbulos rojos, blancos y plaquetas.

Almacenamiento de triglicéridos: la médula ósea roja es reemplazada paulatinamente en los adultos por médula ósea amarilla, que contiene adipocitos.

I.4.2 Estructura macroscópica del tejido óseo

Los huesos poseen una estructura macroscópica común y están constituidos por tejido óseo esponjoso o trabecular, que representa alrededor del 20% del volumen total del hueso, el cual se encuentra en continuidad con el tejido óseo cortical o compacto, que corresponde aproximadamente al 80%.

- **Hueso esponjoso**

Está conformado por un entramado tridimensional de tabiques o trabéculas óseas ramificadas, que limitan un sistema laberíntico de espacios intercomunicantes, ocupados por la médula ósea (Figura 1.6). El hueso esponjoso se encuentra en el esqueleto axial, en las epífisis y metáfisis de los huesos largos y en los huesos planos y tiene la capacidad de resistir fuerzas de compresión y tensión.

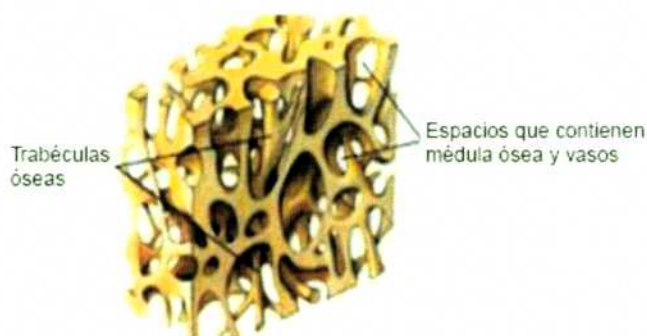


Figura 1.6: Ilustración del hueso esponjoso.

- Hueso cortical

Forma la capa externa de todos los huesos; brinda protección y sostén. Está formado por unidades llamadas *osteonas* o *sistemas de Havers*, que constan de:

- i. un conducto central que tiene un trayecto longitudinal y que contiene un vaso sanguíneo, llamado *conducto de Havers*.
- ii. Una serie de *laminillas* concéntricas que rodean al conducto de Havers, que son anillos de matriz dura calcificada.
- iii. *Lagunas*, que son espacios ubicados entre los anillos de las laminillas, y que contienen células que mantienen la vitalidad del hueso denominadas osteocitos.
- iv. *Canalículos* que se irradian desde las lagunas en todas direcciones, llenos de líquido extracelular, y que contienen delgadas prolongaciones de los osteocitos; comunican a las lagunas entre sí y con los conductos centrales.

Las osteonas son circulares y no se ajustan perfectamente entre ellas, y las zonas que quedan entre las osteonas están llenas de *laminillas intersticiales* y *laminillas circunferenciales*.

Los vasos sanguíneos y linfáticos y los nervios provenientes del periostio penetran en el hueso compacto, por los *conductos perforantes de Volkmann*.

La Figura 1.7 muestra la estructura del tejido óseo esponjoso y compacto.

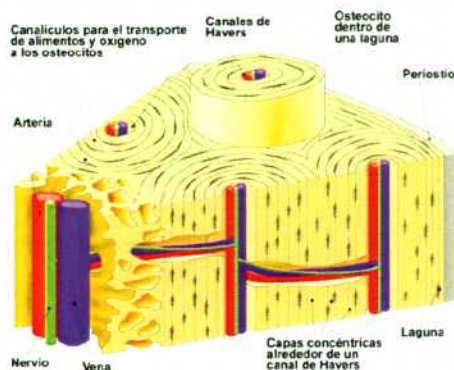


Figura 1.7: Estructura del tejido óseo esponjoso y compacto.

1.4.3 Composición del hueso

El hueso está compuesto por una matriz ósea que representa alrededor de un 98% y células específicas que corresponden a un 2%. Aproximadamente un 10% de su volumen se encuentra constituido por agua.

- Matriz ósea

Es la responsable de las propiedades biomecánicas del tejido óseo, de tal manera que el hueso esponjoso se encuentra mineralizado aproximadamente un 99,2% y el hueso cortical en un 99,9%. La matriz ósea está conformada por una fracción orgánica, cuyo peso representa alrededor de un 25%, y una fracción inorgánica que equivale a un 75%.

- Fracción orgánica

Está constituida por fibras de colágeno tipo I, que representan entre un 85-90% de la fracción orgánica, y que se encuentran rodeadas por sustancia fundamental interfibrilar.

- Fracción inorgánica

Está conformada principalmente por fosfato cálcico de tipo amorfo, relativamente parecido a la hidroxiapatita mineral, la cual se presenta como pequeños cristales con forma de aguja, y estructura hexagonal de 2-7 nm de diámetro y de 5-10 nm de longitud. Esta fracción tiene una estructura sólida continua, y los cristales de hidroxiapatita se orientan con su eje paralelo al de las fibras de colágeno tipo I, en las que se encuentran nucleados.

1.5 El circonio como biomaterial

El Zr presenta una excelente resistencia a la corrosión en un amplio rango de condiciones, incluyendo soluciones orgánicas agresivas, ácidas y alcalinas. La principal aplicación del Zr se encuentra en la industria nuclear, dado que posee un bajo coeficiente de absorción neutrónica. Sin embargo, su resistencia a la corrosión junto con sus propiedades mecánicas hace que sea considerado como un potencial biomaterial. Si bien la biocompatibilidad del circonio ha sido probada en algunos estudios *in vivo*, su estudio sistemático aun va en proceso. El Zr junto con sus aleaciones promueven la oseointegración y además su citotoxicidad es muy baja, en algunos casos mucho más baja que la citotoxicidad de las aleaciones de Ti [12]. El desempeño *in vivo* del Zr se debe principalmente a la presencia de una capa de óxido protectora formada en aire espontáneamente o en electrolitos oxigenados. Dicha capa de óxido, no sólo proporciona resistencia a la corrosión, sino que también determina el grado de biocompatibilidad y oseointegración del sustrato [13].

Ya se ha reportado el uso de Zr y de sus aleaciones para la fabricación de implantes para aplicaciones traumatológicas, ortopédicas y dentales [13]. Tanto para el Ti como para el Zr, las propiedades fisico-químicas, tales como la velocidad de oxidación, interacción

con el agua, estructura cristalina, propiedades de transporte, y propiedades de sus óxidos difieren cuantitativamente, y estas diferencias pueden tener un efecto sobre la respuesta biológica.

El Ti y el Zr son metales altamente reactivos y en presencia de oxígeno, tanto en electrolitos como en medios gaseosos, sobre sus superficies se desarrolla rápidamente una capa de dióxido de titanio (TiO_2) o dióxido de circonio (ZrO_2) dando como resultado la pasivación del metal. Esta película de óxido se encuentra en íntimo contacto con el medio biológico y con la estructura metálica. El dióxido de titanio existe en la naturaleza, principalmente en tres estructuras cristalinas: rutilo, anatasa y brookita. En cuanto al óxido de circonio, la baddeleyita es la forma más abundante [14].

I.6 Importancia de la modificación superficial

La superficie de un implante necesita ser modificada para optimizar sus propiedades y bioactividad en la interfaz con el tejido biológico. Según la Norma ISO 23317, la bioactividad se define como la propiedad que provoca una respuesta biológica específica en la interfaz del material, la cual resulta en la unión del tejido con el implante [15]. Las características biológicas de un implante pueden mejorarse y/o aumentar a través de diferentes métodos: agregando material con propiedades deseadas, cambiando la composición o removiendo material de la superficie. Estos métodos se conocen como tratamientos o modificaciones superficiales, y pueden clasificarse en forma general como: mecánicas, físicas y químicas. Dentro de las modificaciones mecánicas se encuentran los procesos de mecanizado, desbastado, pulido y arenado. Los tratamientos superficiales físicos incluyen spray térmico, deposición por vapor y deposición e implantación iónica. En las modificaciones superficiales químicas se encuentran los tratamientos químicos (ácidos, alcalinos, peróxidos de hidrógeno), oxidación anódica, procesos sol-gel y deposición química por vapor [16].

Aumentar la bioactividad mientras se mantiene un bajo nivel de corrosión es uno de los principales objetivos de la mayoría de las investigaciones llevadas a cabo en materiales

metálicos con el propósito de ser utilizados como implantes permanentes. Se ha demostrado que el éxito o fracaso del proceso de oseointegración está determinado por características superficiales en diferentes escalas, y que aquellos materiales en donde ocurre oseointegración presentan una menor tasa de reemplazo de implante [17]. La oseointegración es la unión del implante al hueso.

Luego de la incorporación de un implante pueden producirse dos tipos de respuestas. Una incluye la formación de una capsula fibrosa alrededor del dispositivo implantado. Esta capa fibrosa no asegura una fijación biomecánica apropiada y lleva a la falla clínica del implante. La segunda respuesta es el contacto directo entre el hueso y el implante; en este caso se produce la oseointegración. Esta fijación biológica se considera como un prerequisite para el éxito a largo plazo del implante. El porcentaje y calidad de oseointegración se encuentran relacionados con las propiedades superficiales del implante. La composición química superficial, la hidrofiliidad y rugosidad son parámetros que juegan un papel importante en la interacción implante-tejido y oseointegración [18]. Por todos estos motivos son muchos los tratamientos superficiales utilizados para modificar la superficie de metales en orden de obtener una mayor bioactividad. Otra clasificación de los tratamientos superficiales los divide en dos grandes grupos: aquellos tratamientos en los que se efectúa un recubrimiento superficial con cerámicos bioactivos y aquellos en los que se modifica la química y/o topografía superficial del metal. En el primer caso, el objetivo es obtener recubrimientos ricos en compuestos de Ca-P, ya que se sabe que la oseointegración ocurre a mayor velocidad en superficies ricas en dichos compuestos. Los métodos de recubrimiento, así como los espesores obtenidos son variables y se detallan en la Tabla I.4.

Tabla I.4 - Diferentes tratamientos de recubrimiento superficial con vidrios bioactivos [19].

Recubrimiento de superficies metálicas con cerámicos bioactivos (Hidroxiapatita [HA] o vidrios bioactivos)				
<i>Método</i>	<i>Características del Proceso</i>	<i>Espesor</i>	<i>Fortalezas</i>	<i>Debilidades</i>
Plasma Spray	Un flujo de spray que contiene partículas de HA en suspensión pasa a través de un arco eléctrico creado por dos electrodos y se convierte en plasma. El material impacta sobre el metal a recubrir a alta velocidad y elevada temperatura, lográndose la adhesión.	50 – 200 μm	El método ha sido desarrollado hasta su implementación a escala industrial, aun en geometrías complejas.	Baja adhesión del recubrimiento. Equipamiento costoso. Escasa homogeneidad en composición, cristalinidad y porosidad. Tensiones residuales.
Sputtering Magnético	Un dispositivo magnético genera una diferencia de potencial (3000V aprox.) entre el sustrato a recubrir (cátodo) y un blanco del material de recubrimiento (vidrio bioactivo). Se desprenden iones del ánodo y colisionan en el cátodo, adhiriéndose fuertemente a su superficie.	200 - 500 μm	El recubrimiento posee la misma composición que la del blanco utilizado.	Se requieren post – tratamientos a alta temperatura para cristalizar el recubrimiento, que se deposita como amorfo sobre la superficie. Equipamiento costoso y actualmente de escala laboratorio. Difícil de realizar en geometrías complejas.
Electrodeposición	El material a ser recubierto funciona como cátodo de una celda electroquímica. El electrolito es una solución que contiene los iones que se quieren depositar sobre el sustrato (Ca, P). La temperatura, densidad de corriente, potencial catódico aplicado y tiempo de tratamiento son	15 – 60 μm	Equipamiento sencillo. Apto para geometrías complejas.	La presencia de burbujas durante el proceso dificulta la adhesión y homogeneidad de los recubrimientos. En general se requieren pos tratamientos a

catódica películas de fosfato de calcio	algunos de los parámetros que determinan la formación de un recubrimiento de características deseadas en cuanto a fases presentes y cristalinidad.			altas temperaturas para aumentar la cristalinidad de los depósitos. La composición de los compuestos Ca – P es difícil de controlar.
Deposición Electroforética	Una suspensión de HA, vidrios bioactivos o compuestos de Ca-P en forma de partículas nano o micrométricas se somete a una diferencia de potencial en una celda donde el sustrato metálico a recubrir funciona como cátodo. Las partículas cargadas colisionan y se adhieren al sustrato.	20 – 60 μm	Equipamiento sencillo. Apto para geometrías complejas. Control de la composición del recubrimiento.	Pos tratamientos térmicos a temperaturas altas (600 – 900°C) en atmósfera controlada. Alta porosidad, baja adherencia.
Métodos Biomiméticos	Deposición <i>in vitro</i> de compuestos ricos en Ca-P a partir de soluciones ricas en iones presentes en los fluidos biológicos.	1 – 20 μm	Equipamiento sencillo. Condiciones suaves de proceso. Se puede adaptar a geometrías complejas.	En general requiere de pre tratamientos en medios alcalinos por tiempos prolongados (12 – 72 hs), a temperaturas moderadas (60 – 100 °C) y pos tratamientos a temperaturas elevadas. Baja homogeneidad y difícil control de la composición y cristalinidad.

En el segundo caso la modificación superficial se realiza con el objetivo de obtener la deposición de cerámicos bioactivos *in vivo* o para inducir interacciones material/medio biológico. La superficie bioactiva se genera mediante cambios en la topografía y la incorporación de impurezas que modifican la química superficial sin alterar la composición

global del material en contacto con los fluidos biológicos. Este tipo de tratamientos genera recubrimientos con espesores más pequeños que el caso anterior, como se puede apreciar en la Tabla I.5.

Tabla I.5 - Tratamientos superficiales de modificación de la química y/o topografía del metal [19].

Modificación de la química y/o topografía superficial del metal para obtener la deposición de cerámicos bioactivos in vivo o inducir interacciones material/medio biológico				
<i>Método</i>	<i>Características del Proceso</i>	<i>Espesor</i>	<i>Fortalezas</i>	<i>Debilidades</i>
Tratamiento Alcalino	Inmersión del material en una solución acuosa concentrada de NaOH durante 24 hs, con posterior tratamiento térmico a 600°C, para formar una capa de gel de titanato de sodio.	1 – 5 µm	Equipamiento sencillo. Adaptable a geometrías complejas.	Tratamiento térmico a altas temperaturas.
Tratamiento en peróxido H ₂ O ₂	Inmersión del metal en soluciones concentradas de H ₂ O ₂ a temperaturas moderadas (50 – 80 °C) para engrosar la película de óxido superficial y formar en la superficie una capa de gel de titanato.	2 – 10 µm	Equipamiento simple. Apto para geometrías complejas.	Luego se realiza un tratamiento térmico entre 200 – 600°C. Proceso largo (hasta 24 horas de inmersión).
Anodizado	El sustrato metálico se coloca como ánodo de una celda electroquímica. Se somete a una	5 nm – 10 µm	Sencillo, reproducible e independiente de la geometría. Gran adherencia. Si las películas	A potenciales altos la porosidad es difícil de controlar, mientras que a

	diferencia de potencial en modo galvanostático o potencioestático, formándose una película de óxido coherente con el sustrato. Los parámetros de proceso controlan la porosidad o incorporación de especies a la superficie del metal.		anódicas no son demasiado porosas, se aumenta la resistencia a la corrosión.	potenciales bajos disminuye la homogeneidad. La correlación entre las condiciones de anodizado y las características de la película son complejas.
Inmersión en ácidos concentrados	Inmersión en una solución concentrada de H_3PO_4 a 80°C durante dos horas para producir micro rugosidad con incorporación de fósforo al óxido superficial, o en HNO_3 para aumentar la pasividad e inducir bioactividad.	1 – 5 nm	Implementación sencilla. Apto geometrías complejas.	El P es adsorbido en la superficie y no incorporado a la película de óxido. Modificación de la rugosidad de modo no homogéneo.
Tratamientos Mecánicos	El sustrato metálico es sometido a granallado, pulido u otro tratamiento mecánico para modificar la rugosidad superficial.	1 nm – 100 μm	Equipamiento sencillo. Adaptable a geometrías complejas.	Tensiones residuales. Puede afectar la resistencia a la corrosión.
Oxidación Térmica	El metal es sometido a un tratamiento térmico en aire (200 – 600°C) para engrosar la	5 – 30 μm	Apto para geometrías complejas. Sencillo.	Equipamiento costoso.

	película de óxido superficial.			
--	--------------------------------------	--	--	--

I.6.1 Interfaz tejido – material

Las características de la interfaz tejido – material son de vital importancia para definir el comportamiento de un biomaterial o dispositivo biomédico. Una interfaz se define como la conexión entre dos aparatos o sistemas independientes; en este caso los sistemas independientes son la superficie del implante y el tejido biológico circundante.

La caracterización superficial de materiales empleados en cirugía ortopédica es un tema de gran importancia dado que la superficie del implante juega un papel crucial en la respuesta del tejido vivo. Hay muchos aspectos de la interacción implante – tejido vivo que aun no han sido dilucidados. Este tema ha sido ampliamente estudiado en Ti y en sus aleaciones. En estos materiales se encontró que tanto la topografía como la composición química de la superficie tienen una fuerte influencia en las etapas tempranas del proceso de oseointegración. La interacción superficie – medio biológico es un problema multiescala, con un amplio rango que abarca desde unos pocos micrones, donde la topografía de la superficie cambia el área efectiva de contacto del implante con el hueso; hasta décimas de nanómetros, donde la influencia de especies químicas presentes en la superficie pueden modificar la nucleación y crecimiento de compuestos de Ca-P, los cuales preceden la formación de hidroxiapatita [12].

El estudio de diversas interfases (implante-hueso, implante-sangre, implante-piel, etc.) así como estudios *in vitro* de la adhesión y proliferación celular sobre diferentes biomateriales, ha demostrado que los sistemas biológicos tienen la habilidad de reconocer cualquier detalle a nivel molecular. El reconocimiento está programado en las moléculas y células a través de la combinación de su arquitectura tridimensional, la arquitectura química y sus propiedades dinámicas. Entre las propiedades físico – químicas de las superficies que se ha determinado que afectan la respuesta celular se encuentran: la mojabilidad

(hidrofobicidad o hidrofiliidad de la superficie), energía superficial, rugosidad, textura, composición química, carga superficial y morfología [6].

La energía superficial es uno de los factores más importantes en lo que respecta a adhesión y proliferación celular y, sin embargo tiene menor influencia en la orientación celular. En términos de la orientación celular, factores como textura, morfología y rugosidad juegan un papel más relevante. Sin embargo, la orientación celular, a su vez, puede afectar la diferenciación celular y la rugosidad misma puede modificar la correlación entre energía superficial y proliferación celular. Aun no se han logrado establecer reglas generales, ya que la respuesta celular depende del fenotipo celular; fibroblastos, osteoblastos, etc., y también depende de la adsorción de proteínas y su conformación en la superficie [6].

1.6.2 Circonio anodizado como dispositivo biomédico

Como ya fue mencionado, el Zr es un metal válvula que tiene la capacidad de formar espontáneamente una delgada capa de óxido sobre su superficie. El óxido de Zr presenta notables propiedades, tales como estabilidad química y térmica, resistencia mecánica, resistencia al desgaste, buen intercambio iónico y excelente biocompatibilidad [16]. El espesor de esta capa “nativa” de óxido varía, de acuerdo a diferentes autores, entre 2 y 5 nm [12]. El incremento del espesor de este film podría mejorar el efecto barrera contra la corrosión, y también podría modificar la topografía del metal.

Controlando con precisión los parámetros propios del proceso, el anodizado puede resultar ser un método simple y económico de modificación superficial. Asegurando un buen sistema de sujeción de la pieza a tratar, se puede obtener una película uniforme de óxido sobre la superficie del dispositivo. Una vez optimizado el proceso es posible controlar el grosor de la capa anódica mediante la variación de los parámetros intervinientes. La capa de óxido resultante presenta una fuerte unión y adhesión con el metal sustrato.

La técnica de anodizado ha sido ampliamente utilizada con el propósito de mejorar el desempeño de implantes de Ti y sus aleaciones.

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 [19].

El proceso de anodizado en electrolitos que contienen iones fosfatos se propone como una alternativa para lograr la modificación superficial y además brindar las características requeridas de mejorar la oseointegración así como la resistencia a la corrosión de los materiales implantables. Dentro de las características deseadas, se incluyen el incremento de la rugosidad y porosidad, el aumento del efecto barrera a la corrosión mediante el espesor de la capa anódica, y la incorporación de iones fosfatos en la capa de óxido. En titanio, las superficies anodizadas proporcionan un gran reforzamiento de la respuesta ósea presentando valores altos en test biomecánicos e histomorfométricos en comparación con superficies sin anodizar [18]. Es de esperar que un comportamiento análogo sea posible lograr en circonio.

En estudios anteriores realizados por este grupo de trabajo [19], se comprobó que el anodizado de Zr en H_3PO_4 1 mol/L en un rango de 0V a 30V, cambia la topografía y la química superficial del material. También se demostró la incorporación de P a la capa de óxido para todas las condiciones estudiadas. El grupo H_2PO_4^- ha sido considerado uno de los más potentes nucleantes para compuestos ricos en Ca-P durante la inmersión en solución *simulada de fluido biológico* (SBF). Mediante este estudio también se probó el aumento de la resistencia a la corrosión con el aumento del potencial de anodizado. A través de la realización de ensayos *in vivo*, se comprobó la formación continua de hueso alrededor del material tratado superficialmente. En cambio, la formación de hueso sobre el

material sin anodizar era discontinua, presentando áreas sin la presencia de tejido óseo neoformado.

I.7 Objetivos del trabajo

Sabiendo que el anodizado sobre Zr se presenta como un tratamiento de modificación superficial adecuado para el potencial uso del material en implantes permanentes, el objetivo del presente trabajo consistió en determinar el comportamiento del metal como material apto para la fabricación de dispositivos oseointegrables luego de diferentes tratamientos superficiales de anodizado a cuatro potenciales diferentes: 30V, 60V, 90V y 120V.

Una vez obtenidos los recubrimientos, se caracterizaron los óxidos bajo diferentes condiciones de anodizado y se relacionaron sus propiedades con el comportamiento electroquímico del circonio anodizado en soluciones simuladas de medio biológico. Se realizaron ensayos *in vivo* en ratas Wistar para ver el grado de oseointegración para los tratamientos superficiales propuestos.

Los resultados del presente trabajo fueron comparados con los obtenidos en trabajos previos [19] sobre titanio y circonio con diferentes acabados superficiales.

1.8 Bibliografía

- [1] J.W. Boretos, M. Eden, "Contemporary Biomaterials, Material and Host Response, Clinical Applications, New Technology and Legal Aspects", Noyes Publications, Park Ridge, NJ (1984) 232 – 233.
- [2] P.A. Tresco, "Introduction to Modern Biomaterials", Utah University. 2011.
- [3] Sascha y col., "Biomaterials Science. An Introduccion to Materials in Medicine" 2nd edition, Editorial Elsevier 2004.
- [4] F. Barrère, T.A. Mahmood, K. de Groot, C.A. van Blitterswijk, "Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions", Materials Science & Engineering R 59, (2008) 38-71.
- [5] G. Duffó, "Biomateriales, una mejor calidad de vida", 1^o edición, Colección Ciencia Joven, Eudeba, 2005.
- [6] S. Rodil, "Modificación Superficial de Biomateriales Metálicos", Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales, 29 (2), (2009) 67-83.
- [7] N.R.Patel, P.P.Gohil, "A Review on Biomaterials: Scope, Applications & Human Anatomy Significance", International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering, 2, Issue 4, (2012) 2250-2459.
- [8] W. Simka, M. Sowa, R.P. Socha, A. Maciej, J. Michalska, "Anodic oxidation of zirconium in silicate solutions", Electrochimica Acta 104 (2013) 518-525.
- [9] Y. Okazaki, "Effect of friction on anodic polarization properties of metallic biomaterials", Biomaterials 23, (2002) 2071-2077.
- [10] A. Chug, S. Shukla, L. Mahesh, S. Jadwani, "Osseointegration-Molecular events at the bone- implant interface: A review", Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology 25 (2013) 1-4.

- [11] M. Ross, W. Pawlina, “Histología texto y atlas color con bibliografía celular y molecular”. 6º Edición. Editorial Panamericana 2013.
- [12] A. Gomez Sanchez, W. Schreiner, G. Duffó, S. Ceré, “Surface characterization of anodized zirconium for biomedical applications”, *Applied Surface Science*, 257 (2011) 6397–6405.
- [13] F.Y. Zhou, K.J. Qiu, D. Bian, Y.F. Zheng, J.P. Lin, “A Comparative in vitro Study on Biomedical Zr-2.5X (X=Nb, Sn) Alloys” *J. Mater. Sci. Technol.*, 2013, -(), 1e8. ARTICLE IN PRESS
- [14] D. Olmedo, D. Tasat, G. Duffó, R. Cabrini, M. Guglielmotti, “Systemic and Local Tissue Response to Titanium Corrosion” *Pitting Corrosion*, Prof. Nasr Bensalah (Ed.), (2012), ISBN: 978-953-51-0275-5.
- [15] International Standard ISO 23317, “Implants for surgery – In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials”, ISO 23317:2007(E).
- [16] S. Minager, C.C. Berndt, J. Wang, E. Ivanova, C. Wen, “A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces”, *Acta Biomaterialia* 8 (2012) 2875-2888.
- [17] A. Gomez Sanchez, J. Ballarre, J. C. Orellana, 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* DOI 10.1007/s10856-012-4770-8.
- [18] L. Le Guéhennec, A. Soueidan, P. Layrolle, Y. Amouriq, “Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration”, *Dental Material* 23 (2007) 844-854.
- [19] 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 (CNEA-UNSAM) – 2011.

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

II.1 Introducción

El trabajo consistió en tres etapas:

- En la primera etapa se anodizaron muestras de Zr puro a cuatro potenciales diferentes. Mediante diferentes técnicas se caracterizó química y físicamente la superficie de las probetas y se evaluó el comportamiento electroquímico para cada condición.
- La segunda etapa consistió en la realización de ensayos de inmersión. Muestras anodizadas y sin anodizar fueron incubadas en solución fisiológica simulada (SBF), durante 24 horas y 30 días a 37°C. Posteriormente se realizó una caracterización superficial química y física de las muestras incubadas a diferentes tiempos de inmersión. También se evaluaron las propiedades electroquímicas.
- En la tercera etapa del proyecto se llevaron a cabo los ensayos *in vivo* en ratas Wistar. Mediante la técnica de Implante Laminar se implantaron las probetas modificadas superficialmente en la tibia de las ratas a fin de evaluar su comportamiento frente a la oseointegración.

II.2 Preparación de las probetas

Se utilizó Zr 702 (Zr 99,5% en peso) en formas de chapas de 0,3 mm de espesor. El contenido de las principales impurezas se detalla en la Tabla II.1 [1].

Tabla II.1 – Principales impurezas presentes en Zr [1].

Elemento	p.p.m
C	90
Fe+Cr	<700
H	<3
Hf	70
N	30
O	900

Se utilizaron probetas de dimensiones 2 x 1 x 0,03 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 convenientemente de manera tal que no entrara en contacto con la solución del electrolito. En la Figura 2.1 se indican las dimensiones de la probeta.

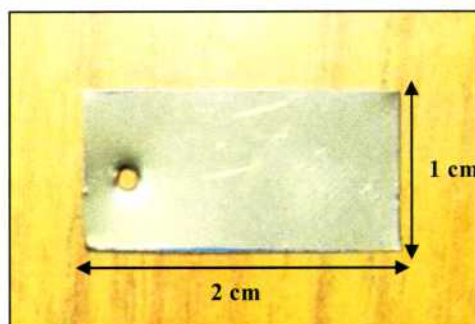


Figura 2.1: Dimensiones de las probetas de Zr.

II.2.1 Modificación superficial: anodizado

Para el anodizado de las muestras se utilizó una celda de dos electrodos, siendo el electrodo auxiliar una malla de acero inoxidable (Figura 2.2).



Figura 2.2: Celda de anodizado utilizada junto con la fuente de voltaje.

Se anodizaron las probetas a cuatro potenciales diferentes: 30V, 60V, 90V y 120V respecto del electrodo auxiliar, durante 60 minutos a potencial constante, en solución 1 mol/L de H_3PO_4 . La solución de anodizado se obtuvo por dilución de H_3PO_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 y agua destilada, secadas con aire caliente y guardadas en recipientes herméticos.

II.3 Ensayos de inmersión

Los ensayos de inmersión, se llevaron a cabo sumergiendo las probetas en solución simulada de fluido biológico (SBF). La composición para 1 litro de solución se describe en la Tabla II.2 [2]. 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 ISO 23317:2007 [3]. Se reguló el pH de la solución entre 7,25 y 7,35 con Tris (hidroximetil) aminometano y HCl concentrado.

Tabla II.2 – Composición de la solución SBF [2].

<i>Compuesto</i>	<i>Cantidad (gr/L)</i>
NaCl	8,053
KCl	0,224
CaCl ₂	0,278
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,305
K ₂ HPO ₄	0,174
NaHCO ₃	0,353
Tris(hidroximetil)aminometano	6,057

Se sumergieron las muestras en solución SBF, y se incubaron en estufa a 37°C durante 24 horas y 30 días.

II.4 Caracterización superficial

Las técnicas utilizadas para estudiar la superficie de las probetas luego de los diferentes tratamientos fueron las siguientes:

- 33 | *Evaluación del comportamiento del circonio anodizado para la fabricación de implantes permanentes.*

- *Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)*

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

- *Espectroscopía dispersiva en energía (EDS)*

Se realizó un análisis químico elemental cualitativo mediante espectroscopía de dispersión de rayos X. Se determinó el espectro de las superficies en al menos dos regiones por muestra. Se realizó un mapeo de algunas zonas de las probetas, para analizar la distribución de ciertos elementos.

- *Espectroscopía Raman*

Las fases cristalinas correspondientes a los óxidos anódicos se determinaron mediante espectroscopía Raman. Para tal fin se utilizó un Espectrómetro Raman AvaRaman-785TEC. Se realizaron al menos dos mediciones en cada muestra.

- *Espectroscopía de plasma inducido por láser (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy LIBS)*

La técnica LIBS es un tipo de espectroscopía de emisión que emplea como fuente de excitación láseres de alta energía. Se utiliza la emisión de átomos, moléculas e iones para identificar los elementos presentes en una sustancia. La técnica tiene la capacidad de analizar cualquier sustancia independientemente del estado de agregación, ya sean sólidos, líquidos o gases. Debido a que todos los elementos de la tabla periódica emiten luz cuando son excitados convenientemente, la técnica LIBS puede potencialmente resolver la composición elemental de cualquier sustancia [4-6]. La identificación de los elementos presentes en el espectro LIBS se realizó a través de la base de datos de emisión atómica del *National Institute of Standards and Technology, USA (NIST)* [7]. Para saber la concentración relativa de los elementos de interés, se realizó el cociente entre la altura del pico del elemento en cuestión con la altura del pico del material base, el cual corresponde al pico de mayor altura. Esta relación se denomina $I_{(N^{\circ} \text{ de cuentas})}$ y está dada por la ecuación 2.1:

$$I_{(N^{\circ} \text{ de cuentas})} = \frac{I(x)}{I(t)}$$

Ecuación 2.1.

donde $I(x)$ y $I(t)$ son las alturas de los picos del elemento de interés y del material base respectivamente en el espectro LIBS. Mediante esta técnica se buscó la presencia de P en las muestras anodizadas a los diferentes potenciales. También se examinó la existencia de Ca en las probetas que fueron incubadas por 24 horas y 30 días en solución SBF. Para realizar la medición se utilizó un equipo LIBS 2500 de Ocean Optics. Se trabajó con una energía de disparo de 4J, realizando tres disparos en cada muestra y tomando el valor promedio. Se analizaron las muestras anodizadas y las muestras posteriormente incubadas a diferentes períodos, tomando un valor de referencia correspondiente a una muestra sin ningún tratamiento previo.

- *Rugosimetría*

Utilizando los siguientes parámetros de rugosidad: *altura promedio (Ra)*, *rugosidad cuadrada media (Rq)* y *altura máxima pico-valle (Rt)* se midió la rugosidad de las probetas anodizadas a los diferentes potenciales. Los parámetros de amplitud son los parámetros más importantes para caracterizar la topografía de una superficie. Estos parámetros son utilizados para medir las características verticales de las desviaciones superficiales [8]. A continuación se da una breve descripción de los parámetros utilizados:

- a. *Altura Promedio Ra*: es el parámetro más utilizado para control de calidad general. Se define como el promedio de los valores absolutos de las desviaciones tomando como referencia una línea media en la longitud de medición [8]. La Figura 2.3 ilustra al parámetro Ra. Este parámetro es fácil de definir, fácil de medir y proporciona una buena descripción general de las variaciones de altura.

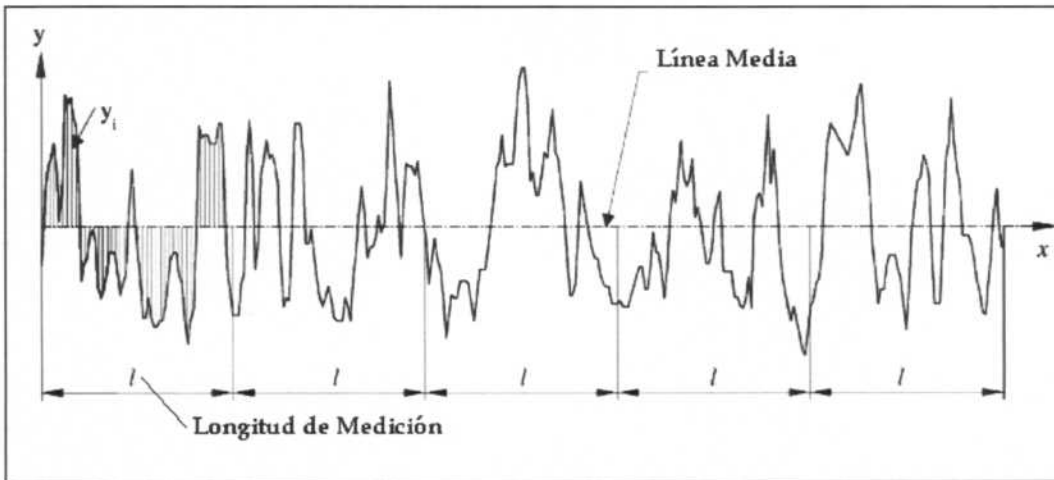


Figura 2.3: Definición del parámetro Ra [8].

- b. *Rugosidad cuadrada media Rq*: también es conocido como RMS. Representa la desviación estándar de las alturas en la superficie, por lo que es considerado un parámetro importante para describir la rugosidad superficial por métodos estadísticos. Este parámetro es más sensible que Ra para valores muy alejados de la línea media.
- 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).

Para realizar la medición se utilizó un rugosímetro marca Taylor Hobson Form Talysurf Intra 2. La medición de los diferentes parámetros se llevó a cabo sobre ocho direcciones diferentes sobre las probetas (Figura 2.5). Se utilizó como longitud de medición $L=0,8$ cm. Luego se realizó un análisis estadístico para poder comparar la rugosidad de las películas anódicas.

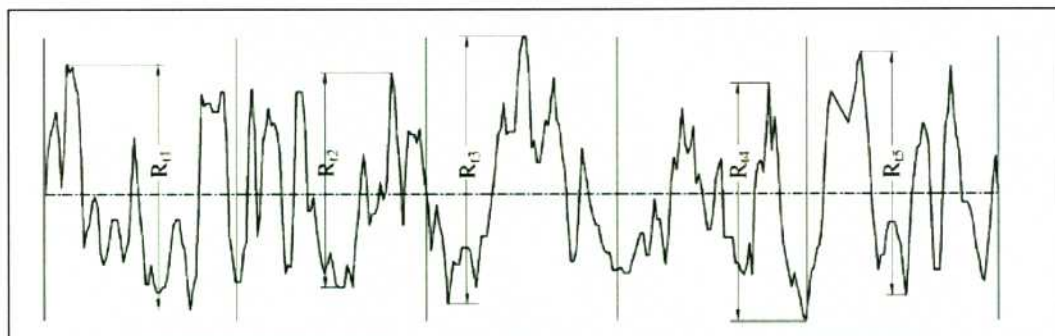


Figura 2.4: Parámetro R_t [8].

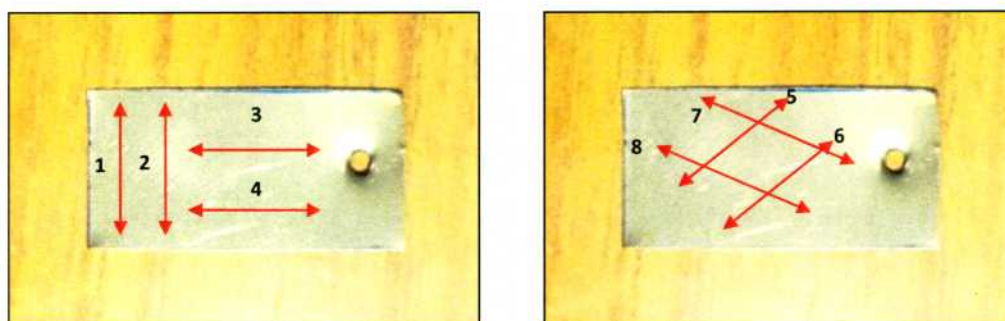


Figura 2.5: Diferentes direcciones de medición de rugosidad.

II.5 Técnicas electroquímicas

Los ensayos electroquímicos se realizaron en una celda convencional de tres electrodos, con electrodo de referencia de Calomel saturado, contraelectrodo de platino y las probetas de Zr como electrodo de trabajo. Los ensayos se realizaron en solución de anodizado y en solución SBF, cuidando de sumergir sólo una determinada área de la probeta ($A=1\text{cm}^2$).

- *Curvas de polarización anódicas*

La medición de las curvas de polarización se llevó a cabo en solución 1 mol/L de H_3PO_4 para las probetas anodizadas a diferentes potenciales, y en solución SBF para las probetas anodizadas e incubadas en SBF durante 24 horas y 30 días. Como mínimo, se trazaron 2 curvas para cada una de las condiciones ensayadas. Los ensayos se realizaron

a una velocidad de barrido de $0,001\text{V.s}^{-1}$, partiendo desde el potencial de corrosión (E_{corr}) hasta 1,4V respecto del electrodo de referencia o hasta que la densidad de corriente alcanzara el valor de $0,002\text{ A.cm}^{-2}$ para la rama anódica. Se utilizó un potenciostato marca GAMRY CMS-100 para realizar las mediciones.

II.6 *Ensayos in vivo*

Los ensayos *in vivo* se llevaron a cabo siguiendo la metodología desarrollada por Cabrini et al. [9]. Se utilizaron ratas Wistar macho de aproximadamente 100g de peso corporal.

Las dimensiones de las probetas utilizadas fueron de 5x1x0,3 mm. (Figura 2.6).

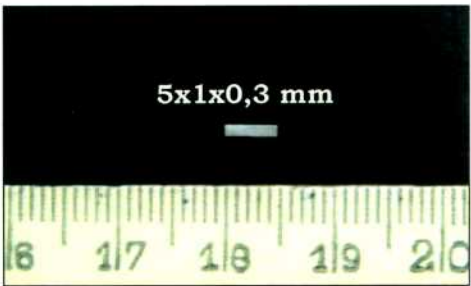


Figura 2.6: Probeta utilizada en los ensayos *in vivo*.

Se implantaron 2 grupos de 12 ratas cada uno. Cada grupo corresponde a los valores extremos de potencial propuesto, 30V y 120V. En la Tabla II.3 se detallan los grupos con sus respectivos voltajes.

Tabla II.3 - Grupos con sus correspondientes voltajes.

Grupo	Voltaje de anodizado [V]
I	30
II	120

II.6.1 *Procedimiento quirúrgico*

Los animales fueron anestesiados intraperitonealmente con una solución de 8 mg de Clorhidrato de Ketamina (Fort Dodge® - Argentina) y 1,28 mg de Xylazina (Bayer

Argentina S.A.) cada 100 g de peso corporal. Ambas tibias fueron rasuradas en la zona de cresta tibial con rasuradora eléctrica, y se realizó una incisión de aproximadamente 1,5 cm a nivel de la misma con hoja de bisturí Bard-Parker número 15 (Figura 2.7).

El tejido celular subcutáneo, músculos y ligamentos fueron disecados con el fin de exponer la cara lateral externa de la tibia en el área diafisiaria. Con una fresa redonda se realizó una perforación de aproximadamente 1,5 mm de diámetro por rotación manual para prevenir sobrecalentamiento del tejido óseo y posterior necrosis.

En la tibia derecha de la rata (grupo experimental) se introdujo en la médula ósea hematopoyética un implante laminar de circonio anodizado (Figura 2.8). En la tibia izquierda (grupo control) se colocó un implante laminar de circonio sin anodizar. Se procedió a realizar la sutura a puntos separados. No se administró antibióticoterapia. A los animales se les provocó la eutanasia por sobredosis de barbitúricos a los 30 días post – implantación. Las tibias con implante se resecaron, fijaron en solución de formol 10% y se radiografiaron con un aparato odontológico convencional y películas periapicales (Kodak) a una distancia foco objeto de 20 cm.



Figura 2.7: En la imagen se observa la incisión a nivel de la cresta tibial.

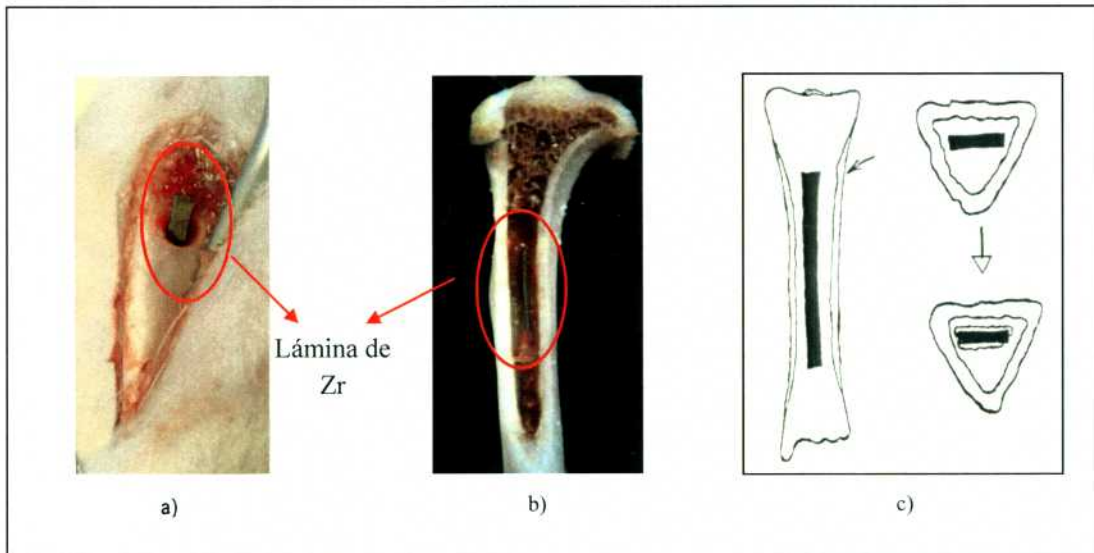


Figura 2.8: a) Implante laminar introduciéndose en la tibia de la rata, b) macroscopia donde se observa el implante laminar en el interior de la tibia luego que se ha resecado la cresta tibial, c) esquema donde se muestra la posición del implante laminar en corte longitudinal y transversal.

II.6.2 Procesamiento histológico

Las tibias fueron procesadas para su posterior inclusión en metacrilato de metilo. Las tibias incluidas fueron seccionadas con una sierra en forma manual a nivel del implante metálico (Figura 2.9 - a), obteniéndose tres cortes perpendiculares al eje mayor de la tibia (Figura 2.9 - b).



Figura 2.9 – a: Tibia incluida en metacrilato de metilo.



Figura 2.9 – b: Muestras de aproximadamente 500 μm de espesor, luego de cortes transversales al eje mayor de la tibia.

La Figura 2.10 muestra un macrocorte en donde se puede observar el implante de Zr inmerso en la médula ósea del hueso tibial.

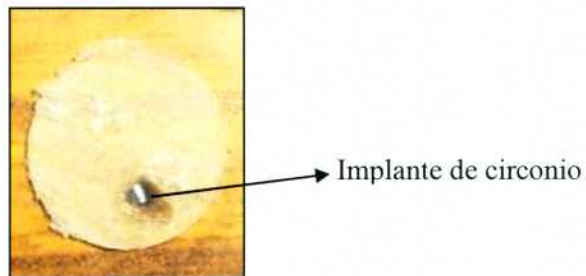


Figura 2.10: Ubicación de implante en uno de los macrocortes.

Una vez realizados los macrocortes se continuó con el proceso de desbastado, que consistió en rebajar el grosor de los macrocortes hasta llegar a un espesor lo suficientemente fino que permita la tinción y la posterior observación microscópica. El desbastado se llevó a cabo utilizando una pulidora con lijas al agua de granulometría #320, #400 y #600.

Se obtuvieron cortes de aproximadamente 50 micrómetros de espesor. Los mismos fueron coloreados con la técnica 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 por microscopía óptica (Figura 2.11).

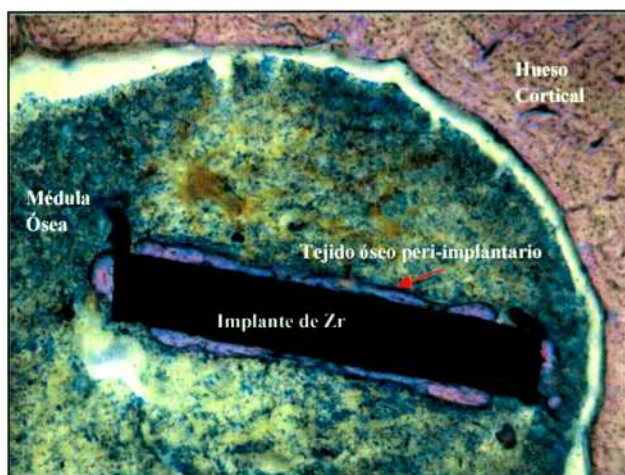


Figura 2.11: Corte histológico incluido en metacrilato de metilo donde se observa el implante laminar (negro), el tejido óseo peri-implantario, la médula ósea hematopoyética y parte de la cortical de la tibia. Azul de Toluidina 1%.

II.7 Análisis histomorfométrico

Los parámetros histomorfométricos evaluados en todos los cortes histológicos a los 30 días post – implante fueron:

1. Porcentaje de contacto tejido óseo – implante (oseointegración)
2. Volumen 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. De esta manera se determinó el porcentaje de tejido óseo oseointegrado.

Para la determinación del volumen se estimó la cantidad de tejido óseo peri – implante. La determinación del volumen se lleva a cabo mediante la utilización de una herramienta del software ImageTool Versión 3.0 Final, la cual proporciona el valor del volumen a partir de la selección de una determinada área.

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.)

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

II.8 Bibliografía

- [1] 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 de Tecnología Prof. J. Sabato, (CNEA-UNSAM), 2011.
- [2] T. Kokubo, H. Takadama, “How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?”, *Biomaterials* 27 (2006) 2907-2915.
- [3] International Standard ISO 23317, “Implants for surgery – In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials”, ISO 23317:2007(E).
- [4] F. Anabitarte, A. Cobo, J.M. Lopez-Higuera, “Laser Induced Breakdown Spectroscopy: Fundamentals, Applications and Challenges”, *ISRN Spectroscopy*, Article ID 285240 (2012) 1-12.
- [5] C. Pasquini, J. Cortez, L.M.C. Silva, F.B. Gonzaga, “Laser Induced Breakdown Spectroscopy”, *J. Braz. Chem. Soc.* 18 (2007) 463-512.
- [6] I. Schechter, A. Miziolek, V. Palleschi, “Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS): fundamentals and application”, Cambridge University, Cambridge, UK (2006) 1-39, 127-133.
- [7] NIST Electronic Database: www.nist.gov/pml/data/handbook/index.cfm. Noviembre 2012.
- [8] E. S. Gadelmawla, M. M. Koura, T. M. A. Maksoud, I.M. Elewa, H. H. Soliman, “Roughness parameters” , *Journal of Materials Processing Technology* 123 (2002) 133 – 145.
- [9] R.L. Cabrini, Guglielmonti M.B., Almagro J.C., “Histomorphometry of initial bone healing around zirconium implants in rats”, *Implant Dent* 1993, 2(4):264-267.

CAPÍTULO III: CARACTERIZACIÓN SUPERFICIAL DEL CIRCONIO ANODIZADO

III.1 Introducción

La superficie de un implante necesita ser modificada para optimizar sus propiedades y maximizar su bioactividad cuando se encuentra en contacto con el tejido biológico. Las características biológicas de los implantes pueden mejorarse agregando material con las propiedades deseadas, cambiando la composición o removiendo material de la superficie. Estos métodos se conocen como tratamientos o modificaciones superficiales y pueden clasificarse en cuatro categorías: mecánica, física, química y bioquímicas [1].

Las técnicas de recubrimiento electroquímicas poseen más ventajas que las técnicas convencionales. Esto se debe a que tanto el espesor como la morfología del recubrimiento pueden ser controlados y, además, se pueden obtener depósitos uniformes con propiedades específicas aún en geometrías complejas. Por ejemplo, en la obtención electroquímica de óxido de circonio utilizando el proceso de anodizado, se puede modificar la estructura a nivel micrométrico del óxido y la morfología ajustando parámetros tales como la composición del electrolito, temperatura y densidad de corriente (bajo condiciones galvanostáticas) o el voltaje aplicado (bajo condiciones potencioestáticas). Además de todas las ventajas que posee esta técnica para desarrollar nuevos materiales con propiedades superficiales mejoradas, el equipamiento experimental es muy económico, lo cual aumenta las posibilidades de aplicación tecnológica [2].

El proceso de oxidación anódica ha sido utilizado por más de cinco décadas para hacer crecer capas de óxidos uniformes en metales. Se ha demostrado que la capa formada tiene un papel fundamental en la biocompatibilidad del implante metálico. Se consigue un espesor controlado utilizando metales que generen en forma espontánea una capa de óxido al ser utilizados como ánodos en una celda electroquímica. Controlando el tipo de electrolito, la densidad de corriente aplicada, la concentración del electrolito, la temperatura

de la solución de trabajo, la velocidad de agitación y el área cátodo – ánodo, se pueden obtener capas de óxidos con diferentes morfologías. Inicialmente se demostró que en tales condiciones se podía formar una capa nanoporosa en aluminio; a partir de ahí se comenzó a utilizar otros metales como Ti, Nb, Ta y Zr. Dichos metales son conocidos como “metales válvulas”, los cuales son capaces de formar una capa de óxido densa, estable, de buena adherencia y aislante eléctricamente [1]. Dependiendo de las condiciones de crecimiento en un electrolito en particular, el recubrimiento puede ser en forma de nanotubos o poroso [3].

Como ya fue mencionado en el capítulo I, la capa de óxido nativa del Zr posee entre 2 – 5 nm. Haciendo uso del proceso de anodizado, es posible aumentar el espesor de dicha capa. El Zr posee propiedades notables, tales como estabilidad química y térmica, resistencia mecánica, resistencia al desgaste, buen intercambio iónico y excelente biocompatibilidad [1].

La oxidación anódica es un tratamiento superficial utilizado en varias aplicaciones, como ser aumentar la protección a la corrosión, mejorar el aspecto de las superficies, actuar como interfase de unión, etc [4].

Otra característica de las capas anódicas es que su color puede ser controlado en función del espesor del óxido y en menor medida de cambios composicionales. Este hecho ha sido utilizado para proveer un sistema de códigos de colores en los implantes ortopédicos, haciendo que la logística de suministro y de manejo sea más amigable para el usuario [5].

Debido a las propiedades de reflexión, refracción y absorbancia de la luz que presenta la capa de óxido formada, ésta presenta una coloración diferente de acuerdo al espesor de la misma, que a su vez depende del voltaje aplicado pues a mayor voltaje aplicado mayor será el espesor de la capa [6]. La Figura 3.1 hace referencia al fenómeno de interferencia de la luz sobre la capa anódica.

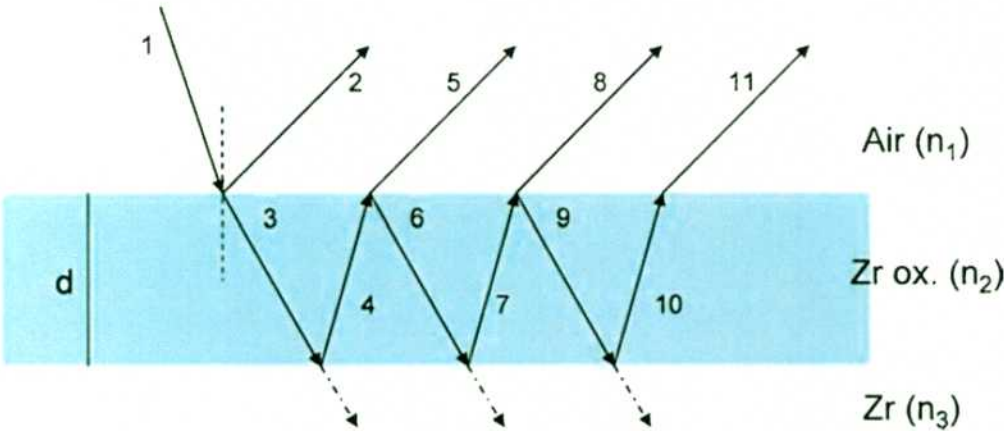


Figura 3.1: Esquema de la teoría de interacción múltiple. d : espesor de la película, n_1 , n_2 y n_3 : índices de refracción del aire, de la película de óxido y del metal sustrato, respectivamente [7].

III.2 Resultados y discusión

III.2.1 Anodizado

Se anodizaron probetas de Zr a cuatro potenciales diferentes: 30, 60, 90 y 120V respecto al contraelectrodo (CE). Para cada potencial de anodizado se obtuvieron probetas con colores característicos (Figura 3.2). El color de las mismas es muy difícil de asignar con un nombre que los describa, ya que son colores tornasolados y dependen del ángulo de incidencia de la luz. A pesar de ello, en las fotografías mostradas en la Figura 3.2 se pueden ver colores homogéneos y bien definidos que distinguen unívocamente a los especímenes anodizados a cada potencial en este trabajo. Para 30V y 60V el color que presentan las probetas varía en una gama de grises azulados, y dependiendo del ángulo de visión, la probeta anodizada a 60V presenta un color dorado. A 90V y a 120V se obtuvo un color morado y un verde oscuro, respectivamente, ambos tornasolados.

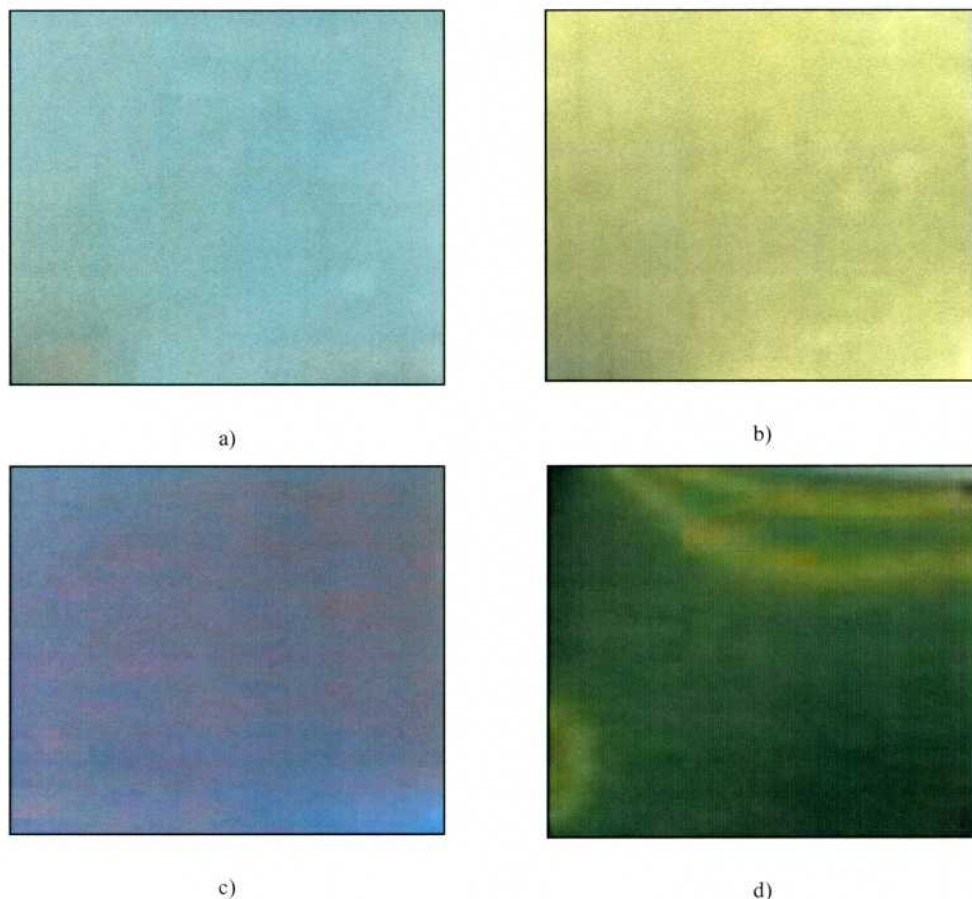


Figura 3.2: Probetas anodizadas a diferentes potenciales: a) 30V, b) 60V, c) 90V, d) 120V.

De las micrografías SEM, se observó que el óxido crece sobre el sustrato y va acumulándose en forma de pequeños grupos (Figuras 3.3 y 3.4). A medida que aumenta el potencial de anodizado, estos grupos de óxido aparecen con mayor frecuencia y en mayor tamaño sobre la superficie de la matriz de Zr. Aparentemente el recubrimiento crece copiando la estructura del metal base, ya que en todas las condiciones de anodizado se vio, en mayor o menor medida, la presencia de las líneas del laminado. En todas las micrografías se observaron pequeñas fisuras sobre la superficie del óxido, cuya cantidad aumentaba conforme aumentaba el potencial de anodizado. A priori, se cree que estas microfisuras se deben a que al aumentar el voltaje, el espesor de la capa de óxido aumentaría al igual que los defectos y las tensiones internas dentro de él. La Figura 3.5-a es una micrografía SEM de Zr sin anodizar, mientras que las Figuras 3.5-b y 3.5-c muestran

micrografías SEM de probetas anodizadas a 30V y a 120V, respectivamente, en las cuales pueden verse claramente las fisuras que se presentan sobre el óxido anódico. Se observó que en las probetas anodizadas a mayor potencial había más cantidad de microfisuras presentes sobre el “piso” donde crece el óxido. En las probetas anodizadas a 30V (Figura 3.5-b) se observó que los grupos de óxido, a priori, se encontrarían depositados sobre una delgada capa de óxido formada durante el proceso de anodizado. Mientras que en las probetas anodizadas a 120V se observó que toda la superficie del sustrato está cubierta en forma masiva del nuevo óxido formado, el cual también presentó fisuras. Para apoyar esta idea, se tuvo en cuenta que en la probeta anodizada a 30V podían verse con mayor claridad las líneas del trabajado o laminado del material base.

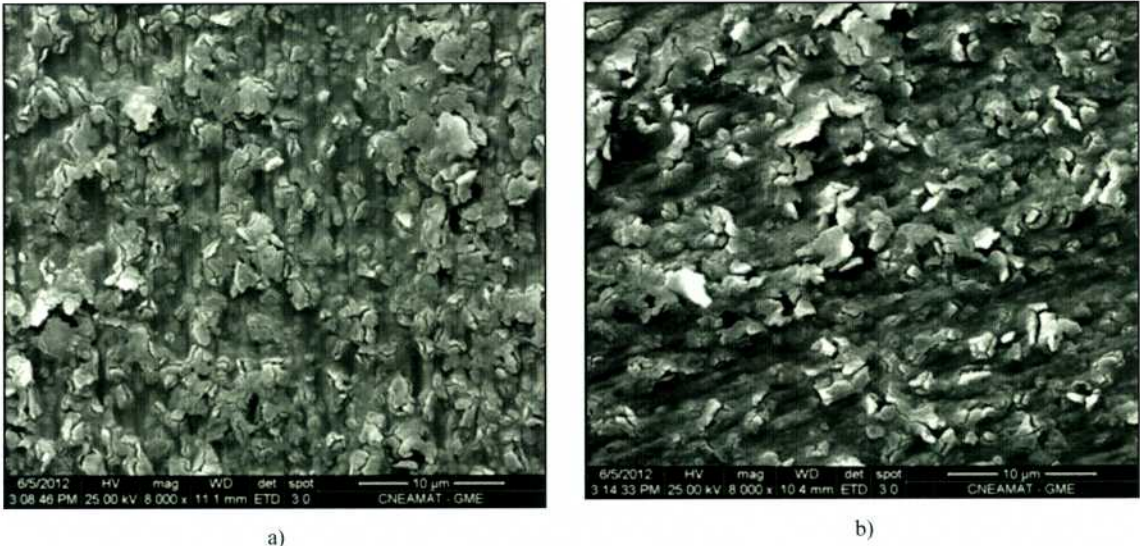


Figura 3.3: Micrografías SEM de probetas: a) anodizadas a 30V, b) anodizadas a 60V.

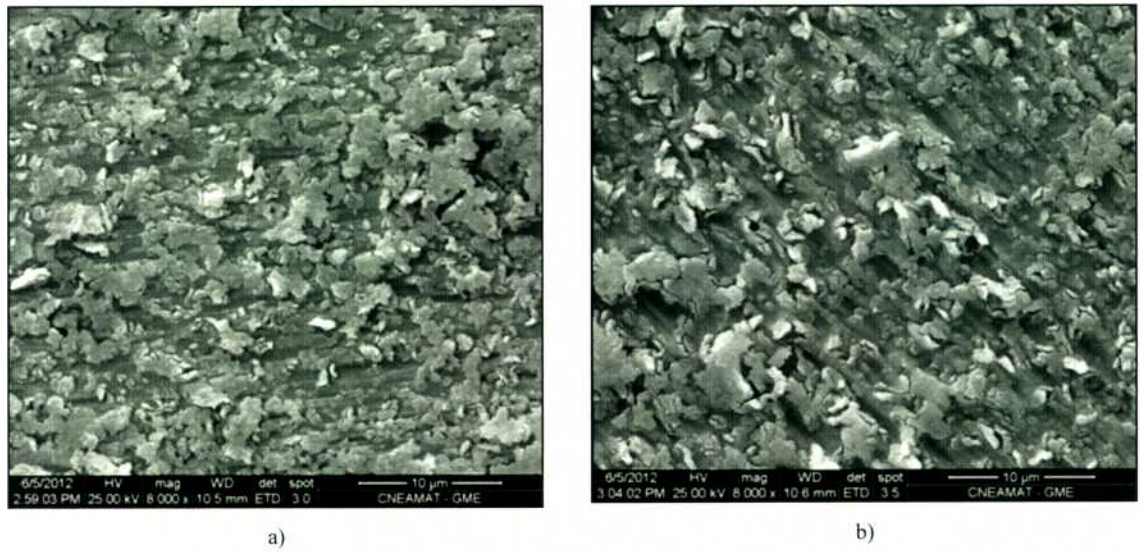
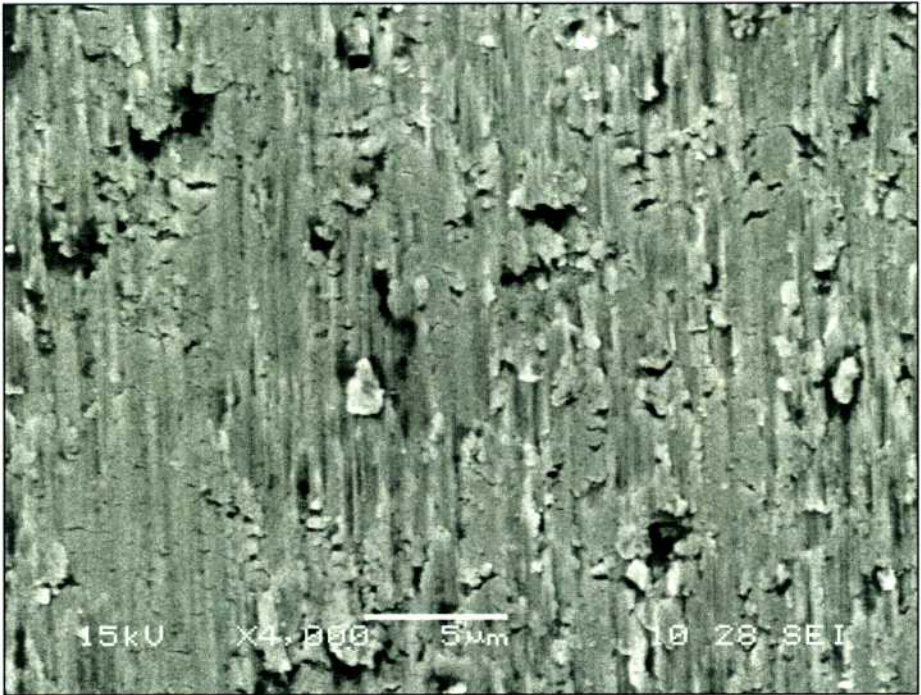


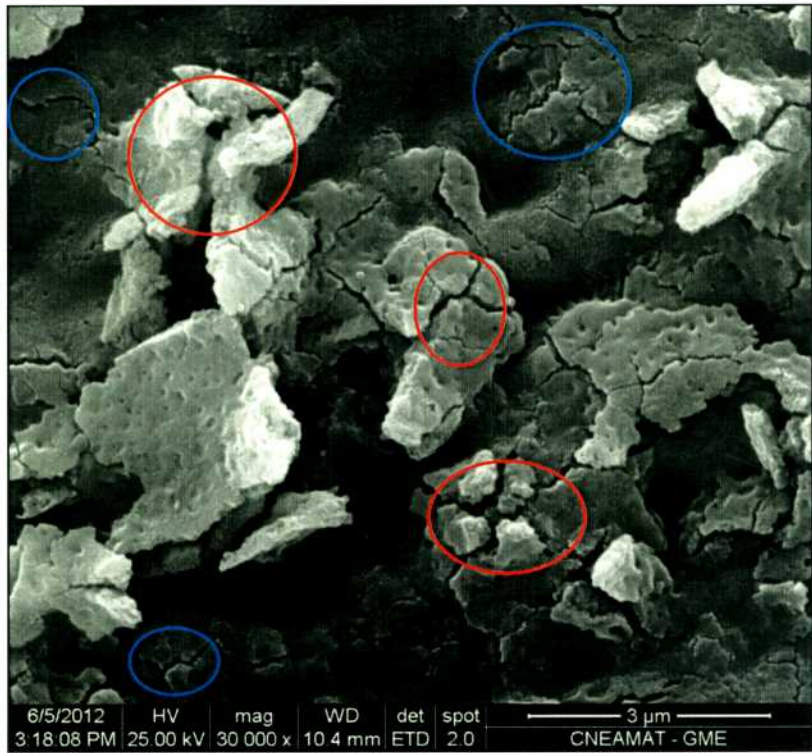
Figura 3.4: Micrografías SEM de probetas: a) anodizadas a 90V, b) anodizadas a 120V.



a)



b)



c)

Figura 3.5: Micrografías SEM de probetas: a) sin anodizar, b) anodizadas a 30V donde se observa la presencia de fisuras sobre los grupos de óxido formados (indicadas en rojo) y las líneas bien definidas del laminado, c) anodizadas a 120V donde se observan las fisuras sobre los grupos de óxido (en rojo) y sobre el “piso” (indicadas en azul) formado por la deposición del óxido.

La forma de deposición del óxido depende de varios factores, entre ellos el material, el electrolito utilizado, el potencial aplicado, la densidad de corriente, etc.

Gomez Sanchez et al. [7] estudiaron la morfología del Zr anodizado en solución de 1mol/L de ácido fosfórico entre 3V y 30V. Observaron que el recubrimiento de la superficie no era homogéneo ya que se encontraba en forma de islas aisladas que aumentaban en número y tamaño con el aumento del potencial de anodizado. En los trabajos de Calderón Moreno et al. [8], se observó que la aleación Ti-20Zr anodizada en electrolitos ácidos a baja densidad de corriente no presenta recubrimiento homogéneo sobre su superficie. Encontraron que anodizando a 10 mA/cm^2 durante 45 minutos en 0,3M y 1M

de H_3PO_4 , la superficie del sustrato se recubría totalmente presentando en ciertas zonas estructuras en formas de placas.

Simka et al. [9] anodizaron Zr en una solución de K_2SiO_3 y KOH a 100V, 200V y 400V. Solo encontraron cambios morfológicos en las probetas anodizadas al mayor voltaje propuesto en su trabajo. También encontraron la presencia de Si en la capa de óxido formada a 400V. La oxidación anódica mejoró significativamente la resistencia a la corrosión del material en presencia de la solución fisiológica de Ringer. Otros autores como Trivinho–Strixino et al. [2] encontraron que la deposición del óxido de circonio en probetas de Zr anodizadas a corriente constante en diferentes electrolitos (H_3PO_4 o $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) era en forma de ampollas con la presencia de huecos distribuidos en toda la superficie. Asocian esta morfología a la presencia de burbujas de oxígeno generadas en la superficie del electrodo durante la anodización. Por su parte, Muratore et al. [3] obtuvieron nanotubos amorfos en Zr anodizado a 40V en $0,35 \text{ mol dm}^{-3}$ de fluoruro de amonio en glicerol con y sin la adición de 1% y 5% de agua.

III.2.1.1 Análisis químico

Mediante Espectroscopía Dispersiva de Energía (EDS) se vio que la capa anódica se encuentra, para todos los potenciales propuestos, compuesta en su mayoría por oxígeno y por Zr. La Figura 3.6 es un espectro EDS de una muestra sin tratamiento superficial. En el mismo se puede ver el pico característico del material base, Zr. La Figura 3.7 muestra un espectro EDS de una muestra anodizada. En el mismo se puede apreciar el pico característico del O y Zr. Para poder detectar la presencia de P en la película anódica, el cual se supone que se introduce durante el proceso de anodización, se utilizó la técnica de Espectroscopía de Plasma Inducida por Láser (LIBS), ya que el pico de Zr coincide con el pico del P en los espectros EDS. Utilizando la técnica LIBS se puede apreciar por separado la presencia de ambos elementos.

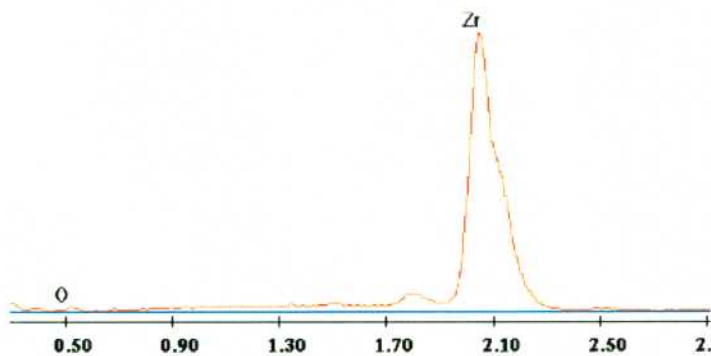


Figura 3.6: Espectro EDS de una muestra sin tratamiento previo. Se puede ver el pico característico de Zr.

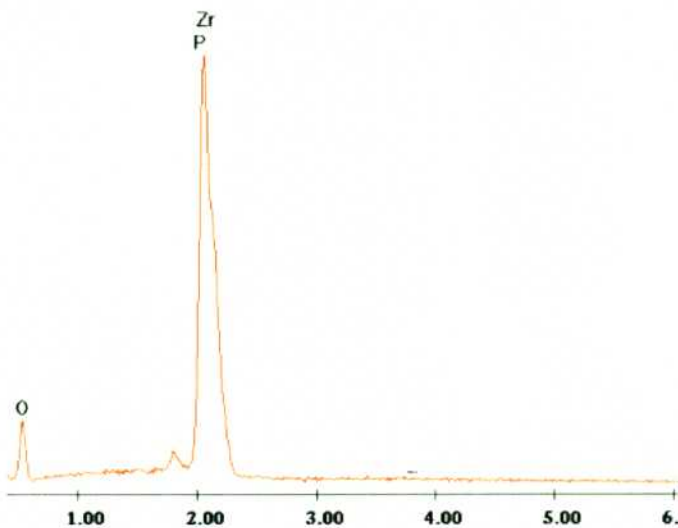
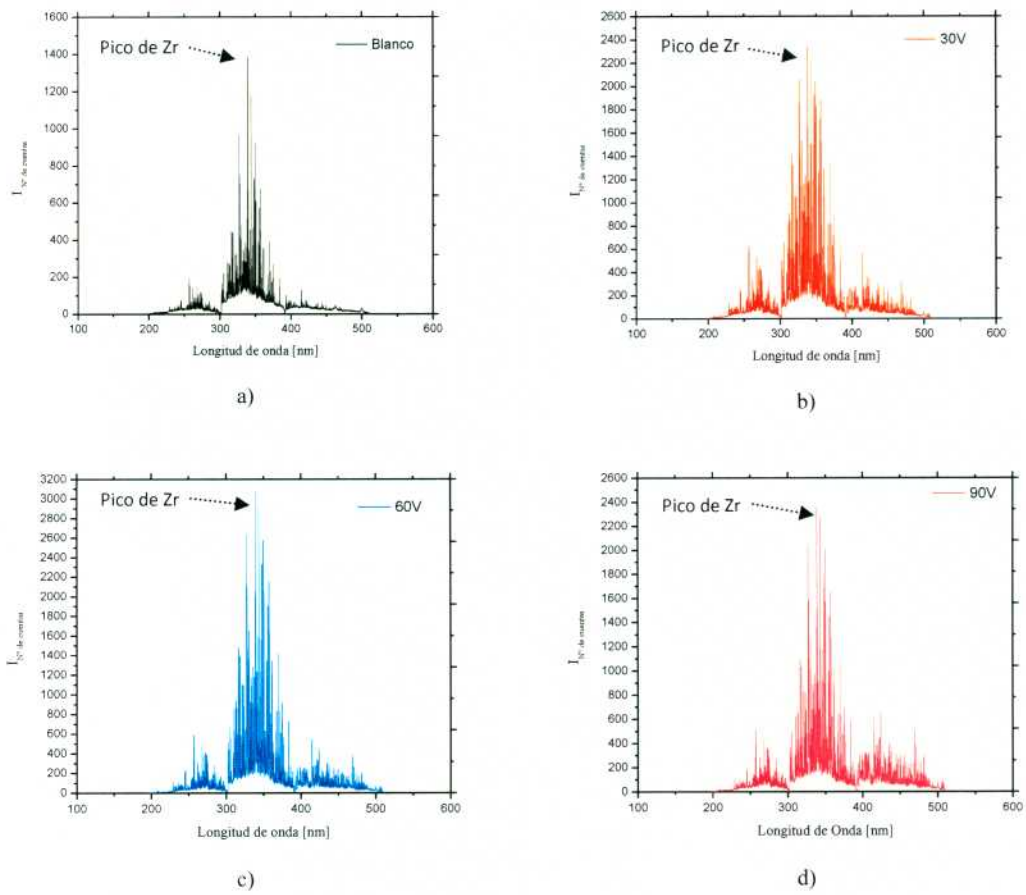


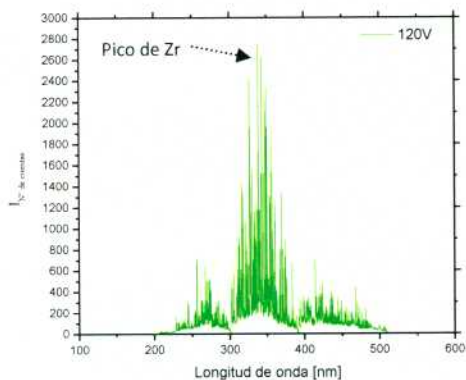
Figura 3.7: EDS realizado en una probeta anodizada. Se observa la presencia de oxígeno y del material base.

Para realizar la identificación de los picos en los espectros LIBS se utilizó la base de datos de emisión atómica del *National Institute of Standards and Technology, USA (NIST)* [10]. En los espectros obtenidos por LIBS, se identificó la longitud de onda característica del P, $\lambda=458,8$ nm [10] en todas las muestras anodizadas. Por otra parte la muestra que no tenía ningún tratamiento previo no reveló la presencia de este elemento. La Figura 3.8 muestra los espectros obtenidos de las probetas anodizadas a los cuatro potenciales diferentes y sin anodizar. En dichos espectros, el pico de mayor altura corresponde al Zr.

Capítulo III: CARACTERIZACIÓN SUPERFICIAL DEL CIRCONIO ANODIZADO

En la Figura 3.9 el rango del espectro se encuentra acotado para poder visualizar el pico característico del P, el cual es difícil de visualizar en los espectros completos (Figura 3.8). Claramente se observa que la muestra sin tratamiento superficial no presenta el pico característico de dicho elemento, mientras que las probetas anodizadas sí lo hacen (Figura 3.9).





e)

Figura 3.8: Espectros de energía de probetas anodizadas y sin anodizar obtenidos mediante LIBS. a) sin anodizar, b) 30V, c) 60V, d) 90V, e) 120V.

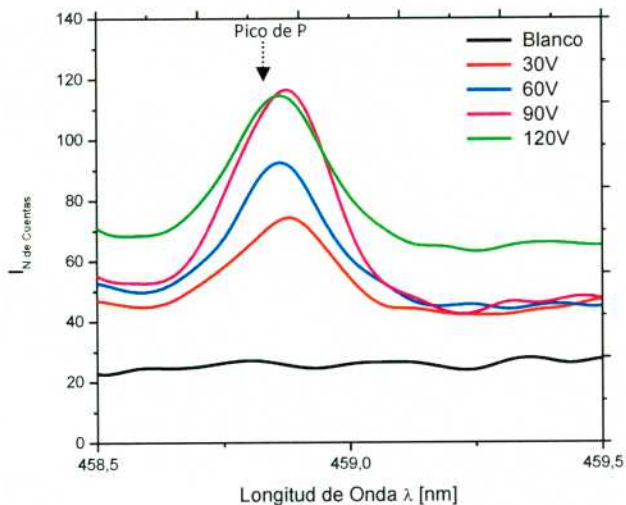


Figura 3.9: Espectros LIBS acotados entre 458,5 a 459,5 [nm] para poder visualizar la longitud de onda característica del P (458,8 [nm]). Se puede observar que la muestra sin anodizar (Blanco) no presenta el pico característico del P a diferencia de las muestras anodizadas.

Mediante la utilización de la técnica Raman, en trabajos anteriores se encontró la presencia de P en probetas anodizadas en H_3PO_4 . De acuerdo a Gómez Sanchez et al. [11], el espectro Raman mostró en la región de alta longitud de onda, un pico que puede ser atribuido a fosfatos de circonio incorporados en la película anódica durante el proceso de anodizado.

La incorporación de aniones en la capa anódica, provenientes del electrolito de anodizado, está fuertemente afectada por la naturaleza del mismo. Por ejemplo, los aniones de ácidos orgánicos se incorporan mucho menos en la capa de óxido anódico debido al gran tamaño de la cadena alcalina, en comparación con los aniones inorgánicos. En contraste, cantidades significantes (típicamente un pequeño porcentaje atómico) de fosfatos son incorporadas en la capa anódica durante el proceso de anodizado, si el electrolito es en base a fosfatos [12]. Según Simka et al. [13], la anodización en soluciones con calcio y fosfatos resulta en la presencia de estos componentes en la capa anódica.

La técnica LIBS ha sido aplicada en el análisis de metales en una gran variedad de matrices en fases sólidas, líquidas o gaseosas, pero sólo unos pocos estudios se realizaron para la determinación en forma cuantitativa con LIBS. Muchas de las restricciones en utilizar LIBS para aplicaciones cuantitativas provienen del hecho de que el fenómeno de pérdida de masa por la interacción del láser no está completamente comprendido. Sin embargo, esta situación tiende a cambiar, ya que nuevos experimentos y estudios teóricos proporcionan pistas para el entendimiento de los procesos involucrados [14]. Es importante destacar que el valor de la intensidad de un elemento en el espectro obtenido mediante la técnica LIBS está relacionado con la concentración del mismo en la muestra. Sin embargo, para calcular la concentración real es necesario tener en cuenta ciertos factores que en este trabajo no se considerarán. En esta ocasión se considerará la concentración relativa del elemento a analizar teniendo en cuenta la altura del pico del elemento que se quiere analizar.

Con la altura de los picos obtenidos para el P, se realizaron los cocientes I_P/I_{Zr} , donde I_P y I_{Zr} son las intensidades (alturas) de los picos de P y Zr. En todos los espectros el pico de Zr se encuentra ubicado en $\lambda=339,05$ [nm] (Figura 3.10). Se compararon los cocientes obtenidos para cada espectro y se pudo ver que el mayor valor corresponde a la muestra anodizada a 90V. Esto indicaría que para este potencial, la relación I_P/I_{Zr} es mayor que para los demás potenciales.

Rinaldi et al. [14] utilizaron la técnica LIBS para el análisis cuantitativo de Ca en suelos y cereales. Tomando como referencia la intensidad de la línea del Ba(II), realizaron el cociente de intensidades de las líneas correspondientes al Ca(II) y al Ba(II) obtenidas en los espectros LIBS. Concluyeron que una de las ventajas de este análisis es que el cociente entre las líneas es independiente de la ablación de masa realizada por el láser. Además reportaron que, desde un punto de vista analítico, es más conveniente analizar el comportamiento del cociente de intensidades de las líneas de Ca(II) y Ba(II) en vez de analizar las líneas individualmente ya que el cociente depende linealmente de la concentración [14].

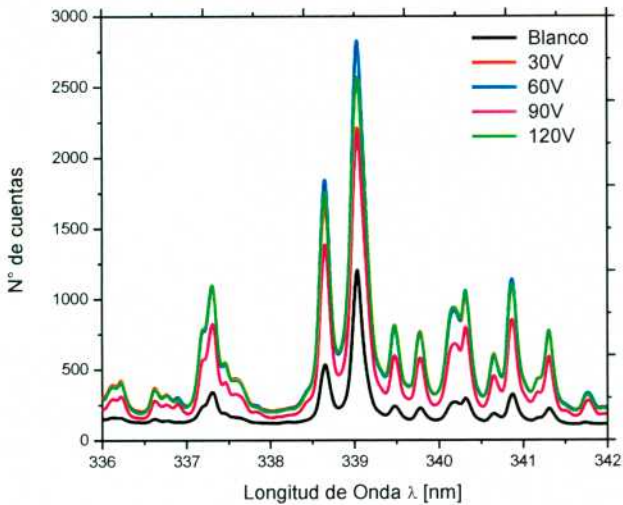


Figura 3.10: Espectros LIBS de todas las probetas anodizadas y sin anodizar. El espectro se encuentra acotado en longitud de onda para poder visualizar el pico de mayor altura correspondiente al sustrato (Zr). $\lambda=339,05$ [nm] es la longitud de onda donde se encuentra el mayor pico de Zr.

En la Tabla III.1 se detallan los valores obtenidos del cociente para cada potencial de anodizado.

Tabla III.1 - Cocientes I_P/I_{Zr} obtenidos para cada uno de los potenciales de anodizado.

Potencial de Anodizado [V]	Cociente de alturas de los picos del P y Zr
30	0,03
60	0,03
90	0,05
120	0,04

III.2.1.2 Estructura cristalina de la capa anódica

Mediante espectroscopía Raman se reveló la estructura cristalina del óxido formado. Las probetas anodizadas presentaron óxidos de Zr de estructura monoclinica, lo cual concuerda con trabajos anteriores [15] y con la bibliografía consultada [2,7,16]. Bajo las mismas condiciones de adquisición de los espectros, se observó que la señal obtenida era de mucha mayor intensidad en ciertas zonas de la superficie. Estas zonas podrían corresponderse a los lugares donde el óxido se encontraba agrupado. La Figura 3.11 muestra el espectro Raman obtenido para una probeta anodizada a 120V, en el cual se pueden ver dos curvas, una correspondiente a un óxido de estructura monoclinica (curva patrón) y la otra a la medición sobre la probeta. Para poder comparar los espectros medidos con los espectros patrones, se debe utilizar un algoritmo de ajuste (Figura 3.12).

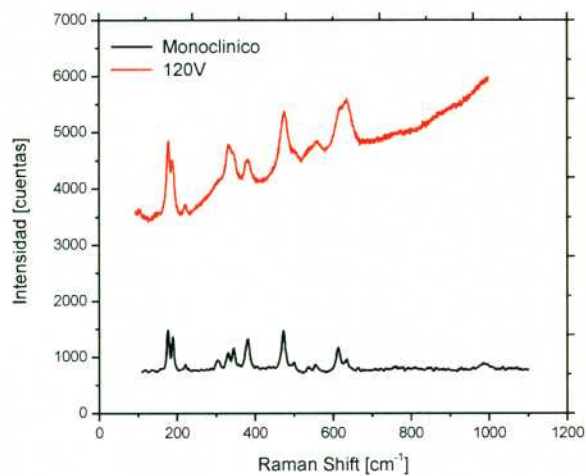


Figura 3.11: Espectros Raman de un patrón monoclinico (espectro en negro) y un espectro medido en una probeta anodizada a 120V (espectro en rojo). El espectro medido se encuentra sin ajustar.

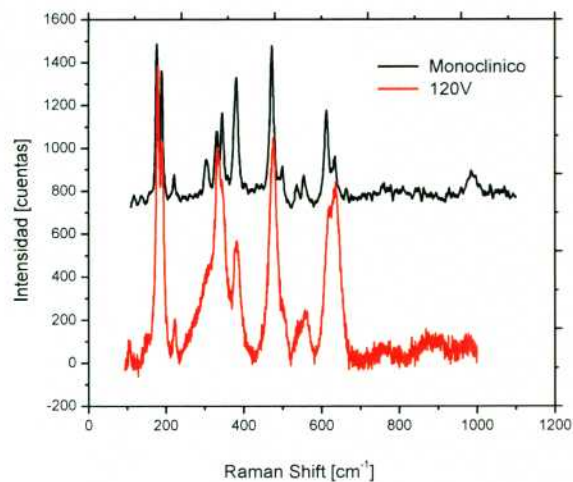


Figura 3.12: Espectros Raman del patrón monoclinico con el espectro medido y ajustado de una probeta anodizada a 120V.

Como se puede ver en la Figura 3.12, la curva correspondiente al espectro medido concuerda en varios puntos con el espectro patrón, por lo que se puede decir que la estructura de los óxidos formados durante el proceso de anodización es monoclinica. Las muestras anodizadas a los potenciales restantes (30V, 60V y 90V) presentaron la misma

estructura cristalina. Todas las muestras anodizadas mostraron estructura parcialmente cristalina.

III.2.1.3 Rugosidad

La Figura 3.13 muestra los valores obtenidos de las mediciones superficiales para los parámetros de rugosidad R_a , R_q y R_t (definidos en la sección II.4 del capítulo II), correspondientes a los cuatro potenciales propuestos, 30V, 60V, 90V y 120V y a una muestra sin anodizar. Las mediciones se realizaron sobre una longitud igual a 0,8 cm.

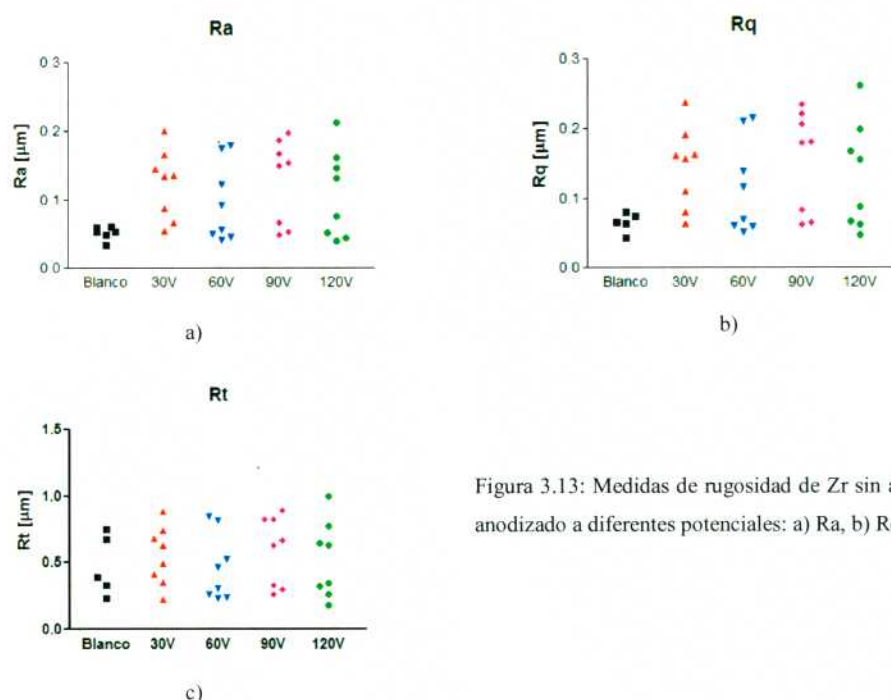


Figura 3.13: Medidas de rugosidad de Zr sin anodizar y anodizado a diferentes potenciales: a) R_a , b) R_q y c) R_t .

Del análisis estadístico, no se encontró diferencia estadísticamente significativa tanto en el parámetro R_a como en el parámetro R_q , para las muestras anodizadas. Sin embargo, sí hubo diferencia estadísticamente significativa para los parámetros R_a y R_q entre las muestras anodizadas y sin anodizar. En el parámetro R_t no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las muestras anodizadas y la muestra sin anodizar.

En la Figura 3.14 se pueden observar los valores promedios de los parámetros Ra, Rq y Rt. En los mismos gráficos se puede ver la distribución de los datos alrededor del valor promedio para cada condición de cada uno de los parámetros.

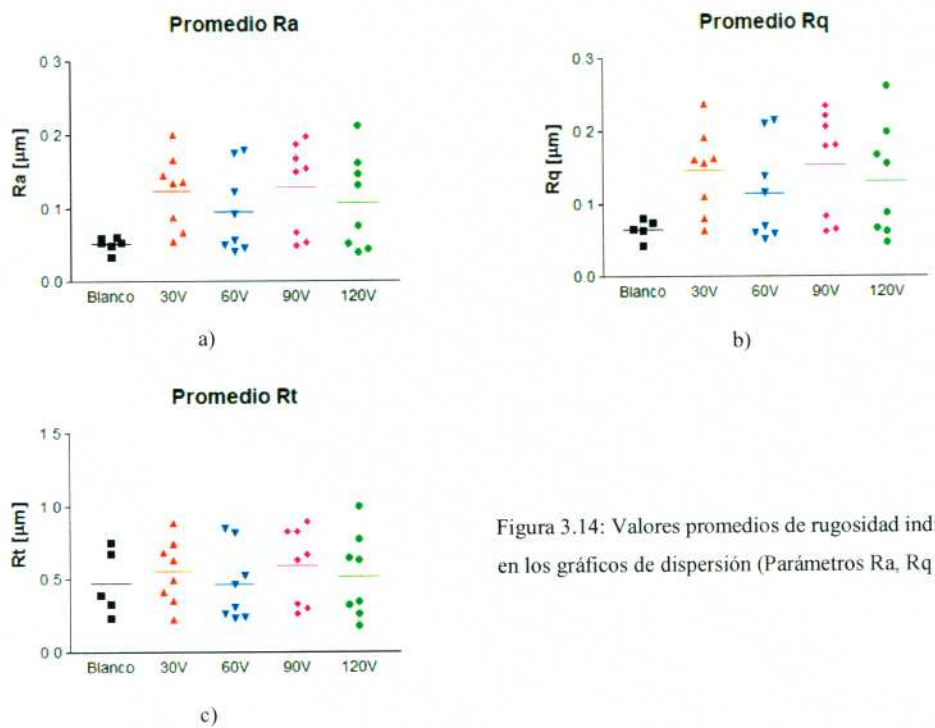


Figura 3.14: Valores promedios de rugosidad indicados en los gráficos de dispersión (Parámetros Ra, Rq y Rt).

Se pudo ver que los valores promedios de Ra varían entre 0,05 a 0,13 μm aproximadamente, correspondiendo el mayor valor a 90V y el menor valor a la muestra Blanco (sin anodizar). A excepción del valor de Ra para 60V, los demás valores obtenidos en muestras anodizadas son muy similares entre sí. El parámetro Rq presenta la misma tendencia que Ra. Gomez Sánchez et al. [15] midieron los parámetros Ra y Rq utilizando un equipo de AFM (Microscopía de Fuerza Atómica) en probetas sin anodizar y anodizadas a diferentes potenciales hasta 30V. Encontraron que para el Zr, el aumento en la rugosidad es continuo con el potencial de anodizado y los parámetros crecen en un orden de magnitud. Los valores de Ra y de Rq medidos para 30V fueron aproximadamente 0,16 y 0,21 μm , respectivamente. En su estudio determinaron un incremento continuo de la rugosidad con el incremento del potencial de anodizado para el rango de potenciales

analizado, mientras que en el presente trabajo no se encontró una correspondencia de la rugosidad con el aumento del voltaje de anodizado.

La Figura 3.15 muestra una comparación de los promedios correspondientes a los tres parámetros analizados para los cuatro potenciales y la muestra sin anodizar. En este gráfico se pudo ver claramente que los tres parámetros siguen la misma tendencia a pesar de tener rangos de valores diferentes. Se vio también que los valores de los parámetros de rugosidad Ra y Rq son mayores en las muestras anodizadas que en las muestras sin anodizar. Si bien los valores de Ra, Rq se modifican con el proceso de anodizar, se observó que estos valores no necesariamente aumentan con el aumento del potencial. Al parecer, los valores de los parámetros de rugosidad se saturan para este rango de potenciales. El hecho de que los valores de Ra y Rq sean similares entre sí para las probetas anodizadas, podría deberse a que la forma de deposición del óxido es parecida para los potenciales estudiados. En las Figuras 3.4a) a 3.4d) puede verse que los grupos de óxidos se distribuyen de manera similar en todas las condiciones estudiadas.

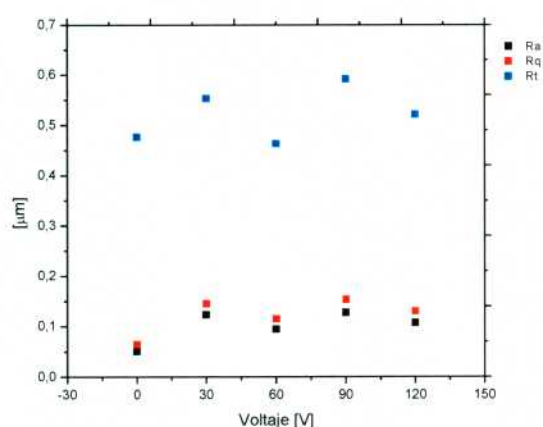


Figura 3.15: Comparación de los parámetros de rugosidad Ra, Rq y Rt en función del potencial de anodizado.

III.2.2 Probetas incubadas por 24 horas

Luego de 24 horas de incubación en solución simulada de fluido biológico (SBF) a 37°C, se analizaron probetas con y sin tratamiento superficial. Después del tiempo

estipulado de incubación, a simple vista ninguna de las probetas presentó signos de corrosión o de picado.

El propósito de los ensayos de inmersión 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 [15].

De las micrografías SEM, se pudo ver que la morfología de la superficie de las probetas incubadas no cambia significativamente respecto a las probetas no incubadas. Sin embargo, en micrografías de algunas de las probetas anodizadas e incubadas en SBF por 24 horas, se observaron pequeñas esferas, cuyo diámetro es del orden de los 100 nm (Figura 3.16). En principio se supuso que estas pequeñas estructuras podrían ser precursores de compuestos ricos en Ca y P, ya que en trabajos anteriores, luego de 30 días de inmersión se encontraron cristales aciculares característicos de los compuestos de Ca-P [15].



Figura 3.16: Probeta anodizada a 60V, luego de estar incubada 24 horas en SBF. Se observa la presencia de pequeñas esferas.

Uchida et al. [17], encontraron estructuras esferoidales en muestras de circonio tratadas con solución alcalina, inmersas luego en SBF durante 4 y 28 días. Las estructuras

esferoidales se encontraron preferentemente en el extremo de la muestra que estaba más cercano al piso del recipiente que contenía la solución SBF.

III.2.2.1 Análisis químico

Las mediciones de EDS, revelaron la presencia de Ca en las muestras incubadas en solución SBF durante 24 horas. El pico de P fue imposible de identificar debido a que la señal del Zr enmascara la señal de este elemento. Se realizaron mediciones puntuales en al menos dos zonas aleatorias de cada muestra. Se encontró que en todas las muestras había Ca, pero en ciertas zonas de las probetas, la señal de éste era más intensa. Al parecer, el Ca tiende a nuclearse en zonas preferenciales, las cuales aparecen como estructuras más oscuras al resto de la superficie.

Al igual que en las muestras anodizadas, también se identificó la presencia de O, cuyo pico aumentaba con el aumento del potencial de anodizado. Además se notó que el pico de O era mayor en las zonas “oscuras” donde también había un incremento considerable de Ca, tal como se muestra en la Figura 3.17. Los espectros de EDS revelaron la presencia de Cl, Na y K los cuales se cree que corresponden a restos de la solución SBF.

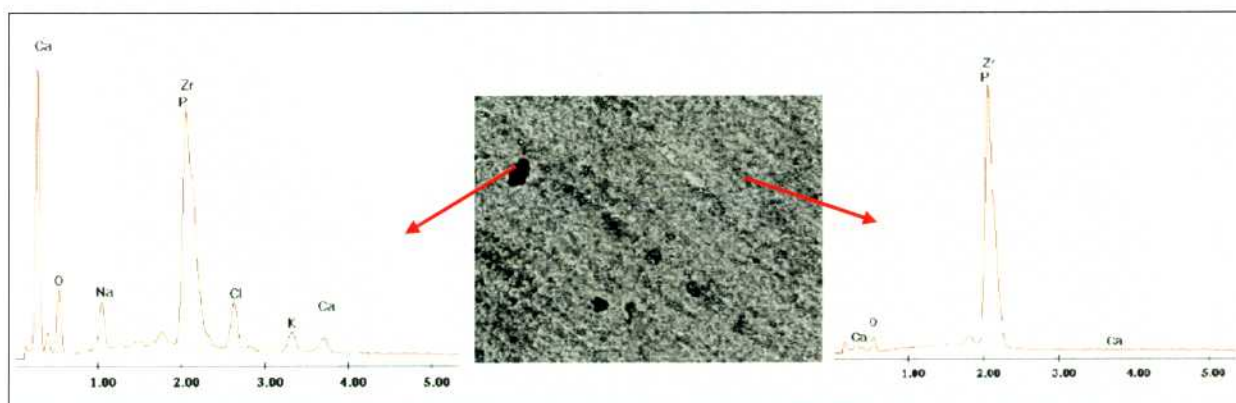


Figura 3.17: Micrografía SEM de una probeta anodizada a 60V e incubada por 24 horas en SBF, junto con sus espectros en diferentes zonas.

Se realizaron mapeos sobre las superficies de las muestras anodizadas e incubadas para tener una mayor apreciación de la distribución de los elementos sobre la superficie. Se analizó especialmente la presencia de Ca y O. Se vio que la distribución de estos elementos sobre la superficie de las muestras tratadas era muy uniforme y pareja. Sin embargo en algunos casos, se notó que había mayor concentración de oxígeno en ciertas zonas. Estas zonas aparecían sobre la superficie base como zonas de un color más intenso y oscuro. La Figura 3.18 muestra el mapeo realizado a las probetas tratadas superficialmente e incubadas por 24 horas.

Mediante espectroscopía de plasma inducido por láser (LIBS), se observó la presencia de P en las muestras incubadas 24 horas y se corroboró la presencia de Ca en la superficie de las mismas. Las probetas anodizadas presentaban P antes de su inmersión en SBF. Se estima que dicho elemento se introduce en la capa anódica durante el proceso de anodizado. Elivelton et al. [12] encontraron que dicho elemento se incorpora a la película anódica cuando el electrolito es a base de fosfatos. La Figura 3.19 muestra los espectros obtenidos mediante la técnica LIBS. En la Figura 3.19 se pueden ver los espectros obtenidos, resaltando la longitud de onda característica del P, $\lambda=458,8$ nm en la Figura 3.19a); y la longitud de onda características del Ca, $\lambda=393,3$ nm en la Figura 3.19b) [10]. Para poder ver los picos característicos tanto de P como de Ca, se analizó en conjunto las muestras anodizadas e incubadas 24 horas con una muestra sin anodizar e incubada 24 horas. En el espectro se hace referencia a esta muestra como “Blanco 24 Hrs”.

Capítulo III: CARACTERIZACIÓN SUPERFICIAL DEL CIRCONIO ANODIZADO

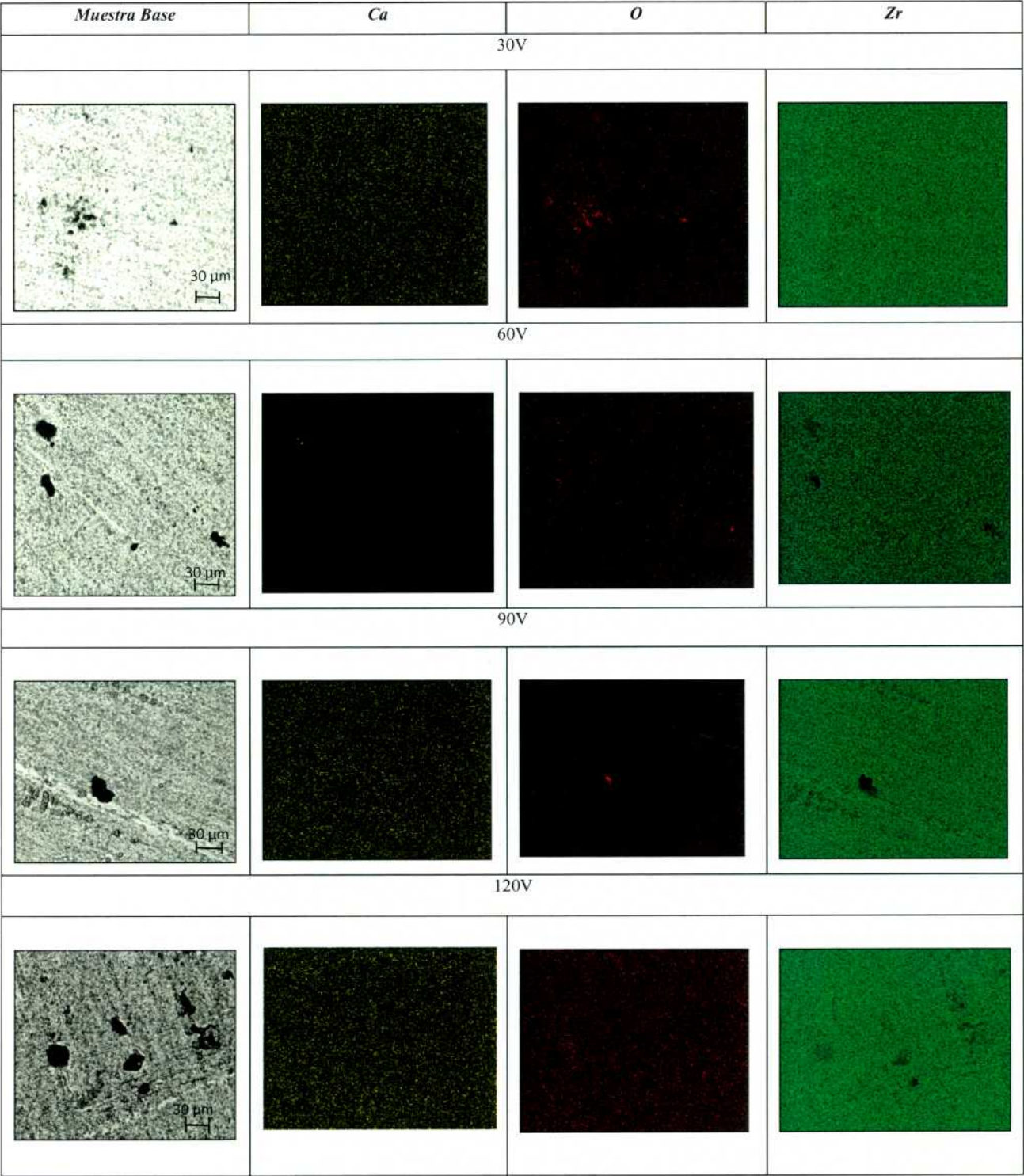


Figura 3.18: Mapeos de las probetas anodizadas a diferentes potenciales e incubadas durante 24 hs en SBF.

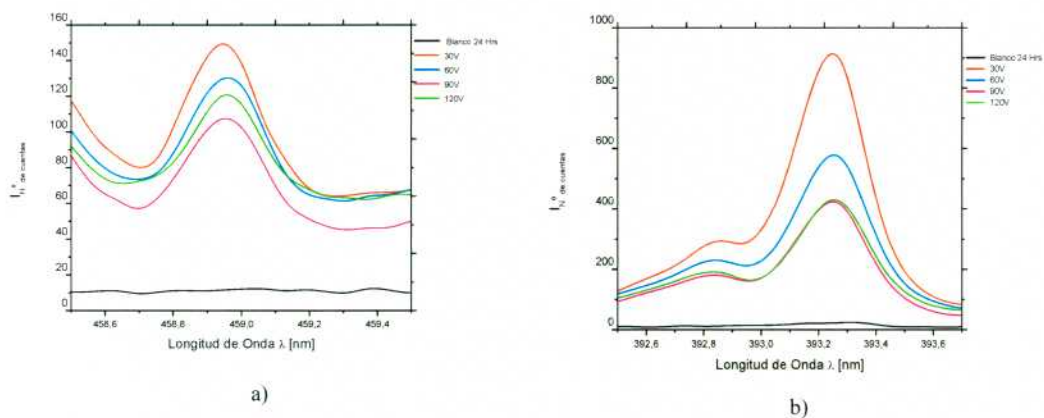


Figura 3.19: Espectros LIBS de probetas anodizadas y sin anodizar incubadas 24 horas en SBF. a) Pico de P en $\lambda=458,8$ nm , b) Pico de Ca en $\lambda=393,3$ nm.

Se realizaron los cocientes I_P/I_{Zr} de las muestras anodizadas e incubadas 24 horas en SBF. La Figura 3.20 muestra la comparación de los cocientes obtenidos para los espectros de las probetas anodizadas e incubadas 24 horas con los cocientes de las probetas anodizadas sin incubación. Se puede ver que para las probetas anodizadas e incubadas 24 horas, los cocientes de I_P/I_{Zr} son mayores que para los cocientes de las probetas anodizadas sin incubación. Esto daría cuenta del aumento de P luego de 24 horas de inmersión en SBF a 37°C. La muestra “Blanco 24 Hrs” incubada 24 horas no presentó P en su superficie.

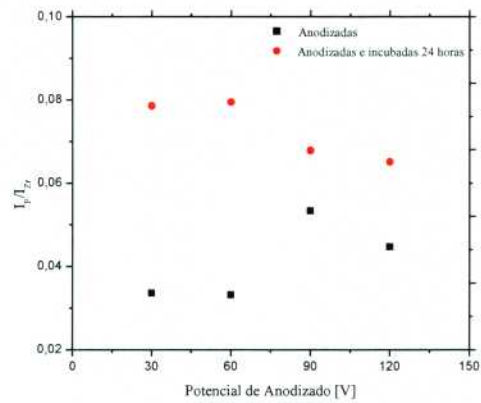


Figura 3.20: Cocientes I_P/I_{Zr} para probetas anodizadas sin incubación y con incubación de 24 horas en SBF. Se observa un aumento de los valores I_P/I_{Zr} para las probetas incubadas 24 horas.

Se pudo ver que las probetas anodizadas y sin anodizar, incubadas 24 horas, mostraron la presencia de Ca. Se realizaron los cocientes I_{Ca}/I_{Zr} , de manera similar al análisis realizado para el cociente I_P/I_{Zr} en la sección III.2.1.1. Las muestras anodizadas presentan un aumento del cociente I_{Ca}/I_{Zr} respecto de las probetas sin anodizar. Sin embargo, se observó un descenso de este cociente a medida que aumenta el potencial de anodizado en las muestras anodizadas. La Figura 3.21 ilustra los cocientes I_{Ca}/I_{Zr} para las probetas anodizadas y sin anodizar, incubadas 24 horas en SBF.

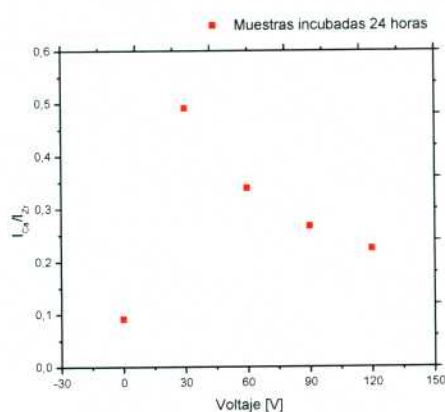


Figura 3.21: Cocientes I_{Ca}/I_{Zr} de probetas anodizadas y sin anodizar, incubadas 24 horas en SBF.

III.2.2.2 Estructura cristalina de la capa anódica

Para estudiar la estructura cristalina de la capa anódica se utilizó la técnica de espectroscopía Raman. Al igual que las probetas anodizadas, las probetas que fueron posteriormente incubadas en SBF durante 24 horas presentaron óxidos de Zr de estructura monoclinica. De forma similar, también se vio que la señal adquirida en ciertas zonas de la superficie era de mayor intensidad y que estas zonas correspondían a la agrupación de los óxidos formados [16].

La Figura 3.22 muestra el espectro de la probeta anodizada a 120V y posteriormente incubada por 24 horas. Los espectros de las probetas anodizadas a 30V, 60V y 90V también presentaron óxidos de estructura monoclinica, por lo que sólo se muestra como referencia, el espectro correspondiente a la muestra anodizada a 120V e

incubada 24 horas en SBF. Si bien los espectros de las probetas anodizadas a menor potencial presentaron la misma estructura cristalina, éstos eran de menor intensidad. Esto podría deberse a que, en la probeta anodizada a 120V, hay mayor cantidad de óxidos lo que se manifiesta como un aumento en la intensidad de la señal [16]. De igual manera que con los espectros de las probetas anodizadas, para poder comparar los espectros medidos con los espectros de referencia, se ajustó el espectro adquirido a través de un algoritmo de ajuste. La Figura 3.23 muestra los espectros de probetas anodizadas a 120V y anodizadas a 120V e incubadas 24 horas en SBF. Se vio que los espectros de las probetas anodizadas eran de menor intensidad que los espectros de las probetas anodizadas y posteriormente incubadas por 24 horas en SBF. Este hecho puede atribuirse a la zona donde fueron realizadas las mediciones. Como se mencionó anteriormente, la intensidad de los espectros es mayor en las zonas donde hay mayor acumulación de óxido.

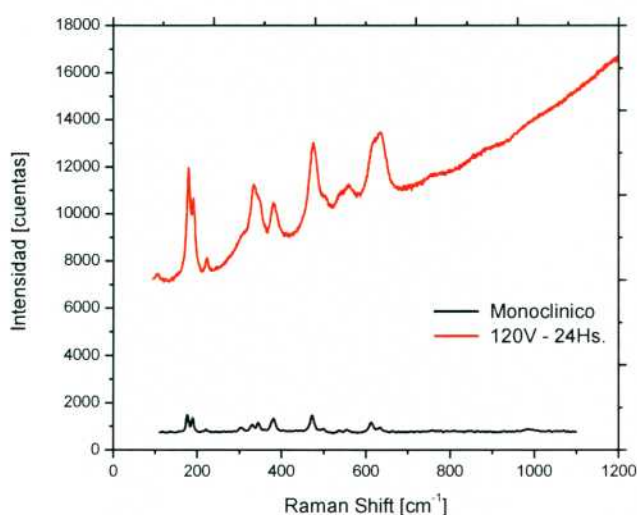


Figura 3.22: Espectro Raman de la probeta anodizada a 120V y luego incubada 24 horas en SBF. Se muestra también el espectro patrón de estructura monoclinica.

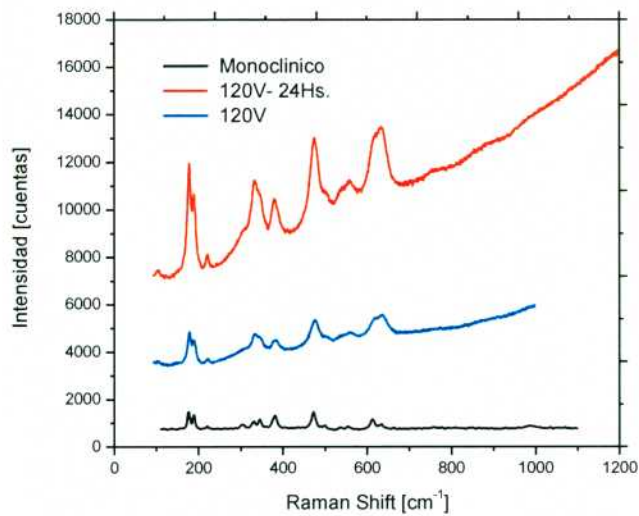


Figura 3.23: Espectros Raman de probetas anodizadas a 120V, con y sin incubación durante 24 horas en SBF. Se observa el espectro patrón al igual que en el caso anterior.

III.2.3 Probetas incubadas por 30 días

Luego de 30 días de incubación a 37°C se analizaron las muestras. A simple vista, luego del período de incubación ninguna de las probetas presentó signos de picado ni de corrosión.

Las micrografías SEM de todas las probetas incubadas 30 días, no revelaron grandes cambios respecto a las probetas incubadas por 24 horas. A modo de ejemplo, en la Figura 3.24 se observa una micrografía de una probeta anodizada a 90V incubada durante 30 días en SBF a 37°C. No se observaron cambios en la morfología obtenida por el anodizado, ni las estructuras esferoidales encontradas en las probetas incubadas por 24 horas. Tampoco se encontraron precipitados de compuestos de Ca-P sobre la superficie del metal. Sin embargo, estudios anteriores realizados en este grupo de trabajo reportan la presencia de compuestos ricos en Ca-P con modos activos en espectroscopia Raman compatibles con Hidroxiapatita (HA) en la superficie de las probetas anodizadas a 30V y

posteriormente incubadas [15]. La Figuras 3.25 muestra micrografía SEM, de una probeta anodizada a 30V e incubada durante 30 días, extraídas de la tesis doctoral de Gomez Sanchez. En dicha micrografía se pueden ver las estructuras aciculares correspondientes a compuestos de Ca y P [15].

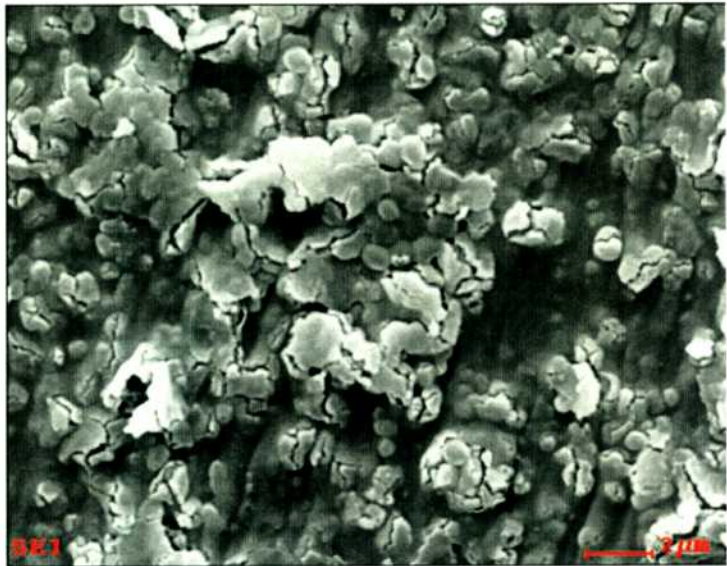


Figura 3.24: Micrografía SEM de una probeta anodizada a 90V e incubada 30 días en SBF a 37°C.

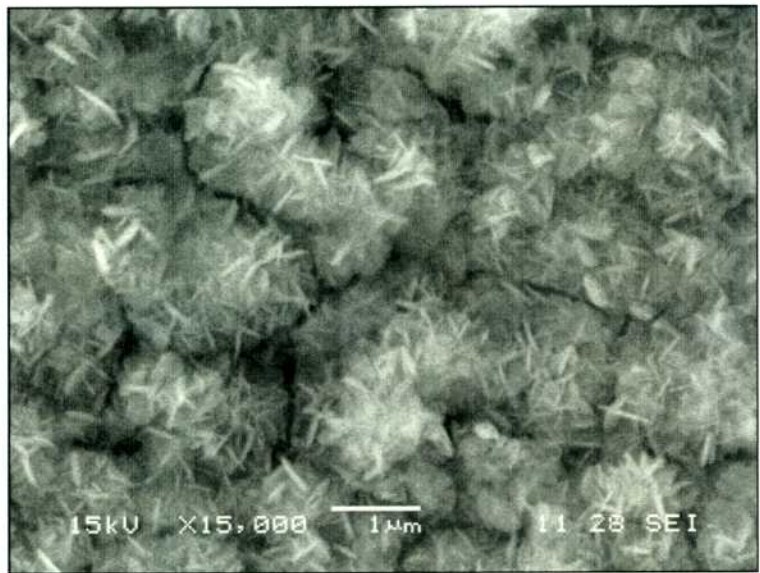


Figura 3.25: Micrografía SEM donde se observan las estructuras aciculares correspondientes a compuestos ricos de Ca-P, cuyos modos activos de espectroscopía Raman son compatibles con HA [15].

A pesar de que en este trabajo no se encontró la presencia de precipitados de Ca-P, algunos autores reportaron la presencia de los mismos luego de diferentes períodos de incubación en soluciones ricas en Ca y P. Por ejemplo, los estudios de bioactividad realizados por Wang et al. [18], mostraron la formación de una capa de HA sobre la superficie de ZrO_2 formada por nanotubos, obtenida mediante anodización. Encontraron la presencia de HA luego de 8 días de inmersión en SBF. Por otro lado, Uchida et al. [17] reportaron la formación de una capa de apatita sobre Zr en SBF. El metal se encontraba tratado previamente con solución NaOH con una concentración mayor a 5M, a 95°C durante 24 horas. En varios de sus estudios, Kokubo [19,20] reportó la formación de una capa de apatita sobre la superficie de Ti y sus aleaciones en SBF. Según Kokubo [21] los materiales que son capaces de formar apatita dentro del cuerpo, se unen al hueso a través de ella. Esta capacidad de formación de apatita puede evaluarse en SBF y se ha demostrado que varios grupos funcionales como SiOH, TiOH, ZrOH, NbOH, TaOH, PO_4H_2 , COOH y SO_3H son efectivos para la formación de apatita en el cuerpo humano. Sin embargo, Bohner et al. [22] criticaron la utilización de SBF como determinante de la formación de apatita. Sostienen que la elección de la solución de SBF para determinar la habilidad de formación de nuevo hueso en los materiales es arbitraria. Sustentan que el protocolo de preparación de SBF podría mejorarse, ya que: i) el procedimiento es largo y complicado, ii) las soluciones no son filtradas, y iii) el contenido de carbono no está controlado. Además, el uso de SBF para testear bioactividad puede llevar a resultados que sean falsos positivos o falsos negativos. Según estos autores es correcto decir que “los tests de bioactividad *in vitro* en SBF no pueden utilizarse para predecir la habilidad *in vivo* de unión del hueso de un material”. Esto podría explicar el hecho de que no se encontraron precipitados ricos en Ca-P sobre la superficie del metal luego de 30 días de inmersión en SBF en este trabajo.

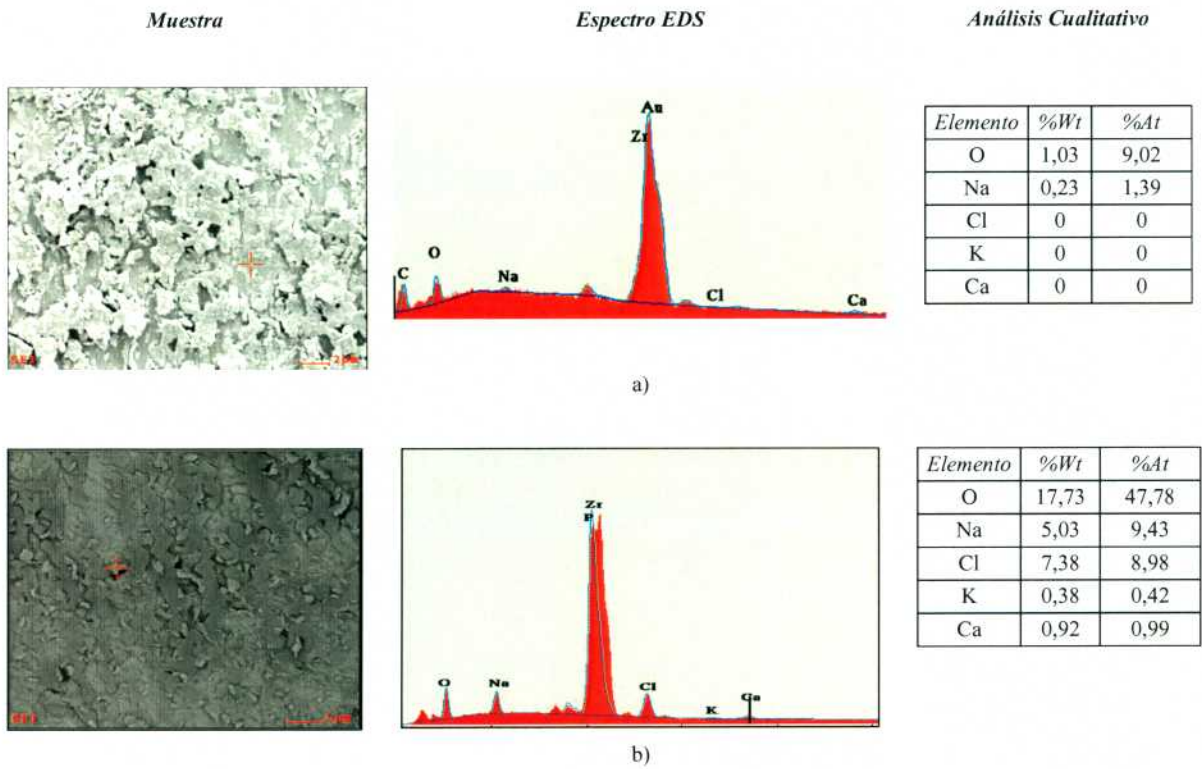
III.2.3.1 Análisis químico

Se realizaron análisis EDS a las probetas incubadas por 30 días. La Figura 3.26 muestra los espectros EDS y los análisis químicos cualitativos correspondientes a cada probeta.

Capítulo III: CARACTERIZACIÓN SUPERFICIAL DEL CIRCONIO ANODIZADO

Del análisis cualitativo se vio que las probetas incubadas por 30 días presentaban muy pocas cantidades de Ca. En los espectros EDS, el pico correspondiente al Ca era prácticamente despreciable, consistente con el hecho de la ausencia de HA sobre la superficie de las probetas.

Mediante la técnica LIBS se pudo ver la presencia de Ca en las muestras anodizadas e incubadas por 30 días. También se vio la presencia de P en la superficie de las muestras tratadas e incubadas. Las Figuras 3.27 y 3.28 muestran los espectros de las muestras anodizadas junto con el espectro de una muestra sin anodizar, todas incubadas por 30 días. En la Figura 3.27 se puede ver el pico de la longitud de onda característica del P ($\lambda=458,8$ nm), mientras que en la Figura 3.28 se aprecia el pico característico del Ca ($\lambda=393,3$ nm).



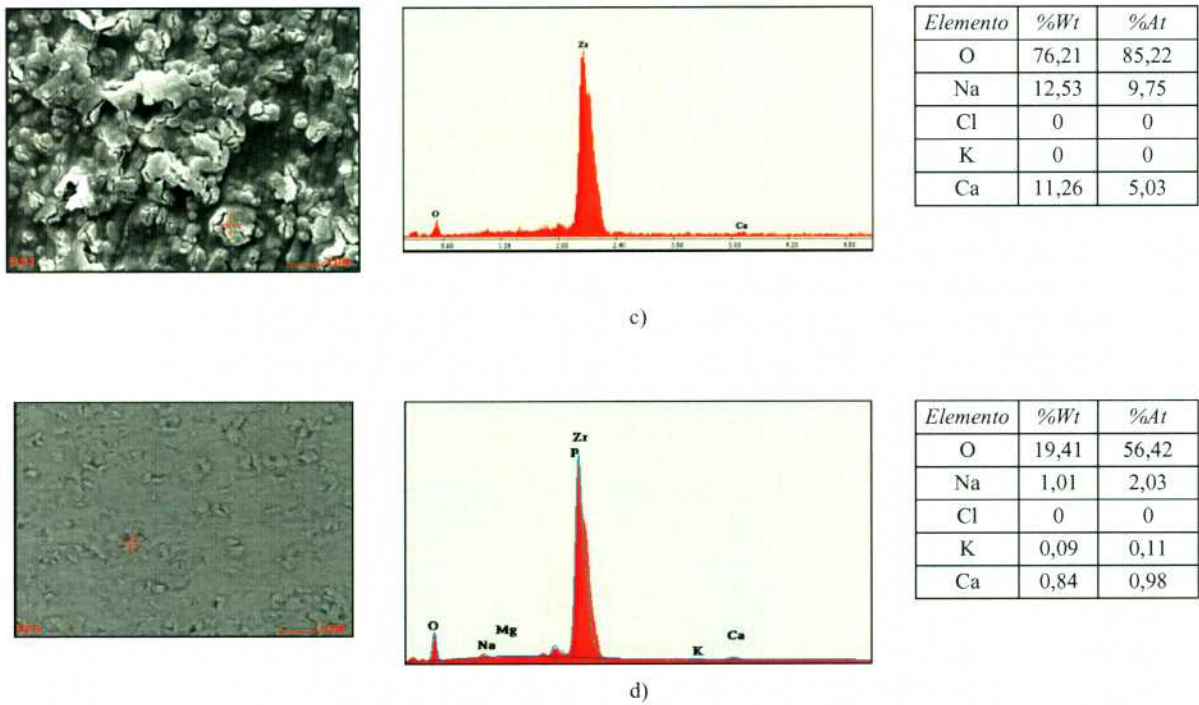


Figura 3.26: Espectros EDS y análisis cualitativo de las probetas anodizadas a: a) 30V, b) 60V, c) 90V y d) 120V.

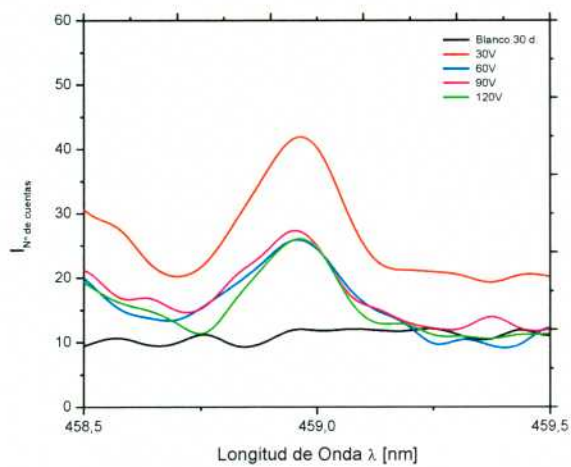


Figura 3.27: Espectros LIBS de muestras anodizadas y sin anodizar, incubadas 30 días en SBF. Se observa el pico característico de la longitud de onda de P ($\lambda=458,8$ nm).

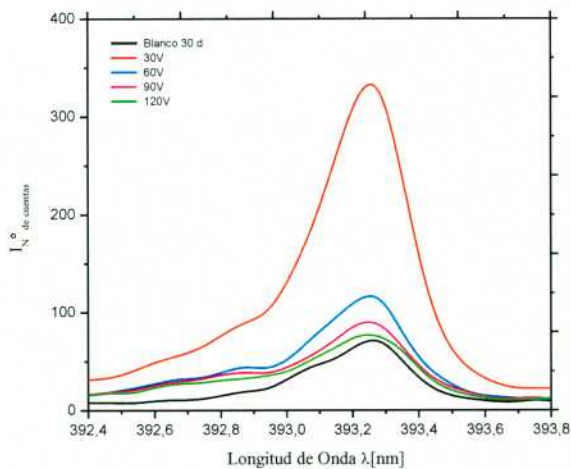


Figura 3.28: Espectros LIBS de muestras anodizadas y sin anodizar, incubadas 30 días en SBF. Se observa el pico característico de la longitud de onda de Ca ($\lambda=393,36614$ nm).

Se realizaron los cocientes I_p/I_{Zr} para las muestras incubadas 30 días en SBF. Se pudo ver que los valores de estos cocientes eran menores que los valores obtenidos para las muestras incubadas 24 horas y para las muestras sin incubación. La Figura 3.29 muestra los cocientes I_p/I_{Zr} para las muestras anodizadas, y las anodizadas e incubadas 24 horas y 30 días respectivamente. Esto podría deberse, a que el P contenido en un principio en la capa anódica, migró hacia la solución SBF.

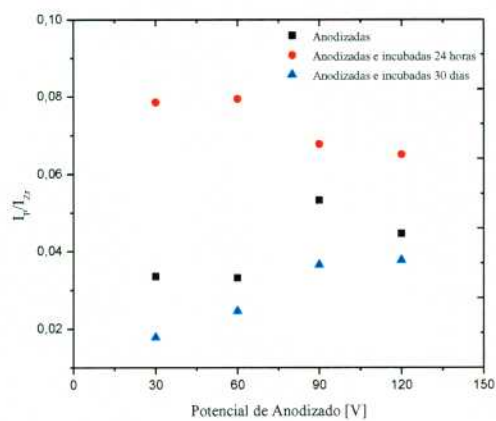


Figura 3.29: Cocientes I_p/I_{Zr} para cada condición de anodizado. Se observan los valores I_p/I_{Zr} para las muestras anodizadas, anodizadas e incubadas 24 horas y 30 días respectivamente.

De manera similar se realizaron los cocientes I_{Ca}/I_{Zr} de las muestras anodizadas y sin anodizar incubadas 30 días, y se compararon con los cocientes de las muestras a 24 horas. Se pudo ver que los valores de I_{Ca}/I_{Zr} para las muestras incubadas 30 días, eran menores que los valores de las muestras incubadas 24 horas. La Figura 3.30 muestra los cocientes I_{Ca}/I_{Zr} para las dos condiciones de incubación. Esto indicaría que, al igual que con el P, se produjo una migración del Ca desde la película anódica hacia la solución SBF. También se vio que los valores de los cocientes I_{Ca}/I_{Zr} de las muestras anodizadas e incubadas 30 días tienden a valores muy parecidos.

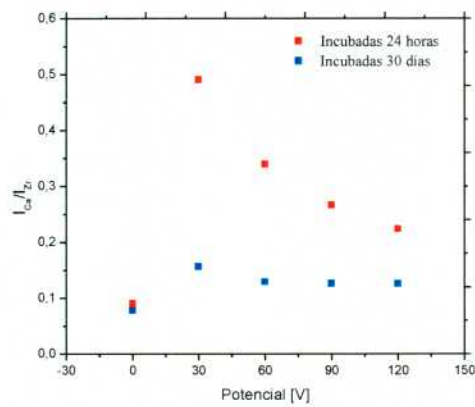


Figura 3.30: Valores de los cocientes I_{Ca}/I_{Zr} para cada potencial de anodizado. Se observan los valores de I_{Ca}/I_{Zr} para cada condición de incubación.

Si bien en el trabajo actual no se detectó mediante espectroscopía Raman la presencia de fosfatos, existen trabajos anteriores que denotan la presencia del mismo mediante esta técnica. Gómez Sanchez et al. [15] estudiaron los precipitados encontrados en probetas anodizadas a 30V e incubadas durante 30 días. Observaron que además de los picos correspondientes al óxido anódico, aparecían tres bandas, a 430-438, 551-557 y 986-1014 cm^{-1} y un hombro a 1043 cm^{-1} , que pueden asignarse a modos vibracionales de fosfatos en apatita. La Figura 3.31 es el espectro de una probeta anodizada a 30V e incubada durante 30 días en SBF [15].

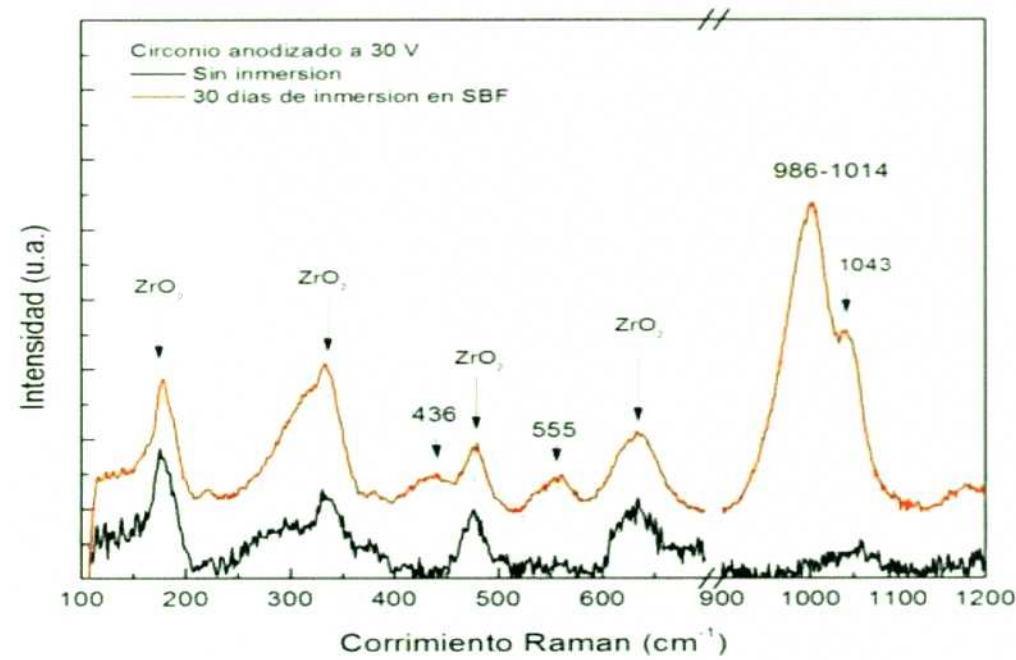


Figura 3.31: Espectro Raman de probeta incubada durante 30 días. Se observan los modos vibracionales de la apatita [15].

III.2.3.2 Estructura cristalina de la capa anódica

Mediante espectroscopía Raman se analizó la estructura cristalina de las probetas anodizadas e incubadas por 30 días. Para los cuatros potenciales de anodizado, todas las probetas luego de los 30 días de inmersión, presentaron óxidos de estructura monoclinica, lo cual concuerda con los resultados obtenidos para las probetas anodizadas y para las que fueron posteriormente incubadas por 24 horas.

La Figura 3.32 muestra el espectro Raman obtenido de una probeta anodizada a 120V y posteriormente incubada por 30 días; junto con los espectros patrones para los óxidos de estructura monoclinica y cúbica. Se observó que el espectro correspondiente a la probeta de 120V es muy similar al espectro patrón de óxidos monoclinicos.

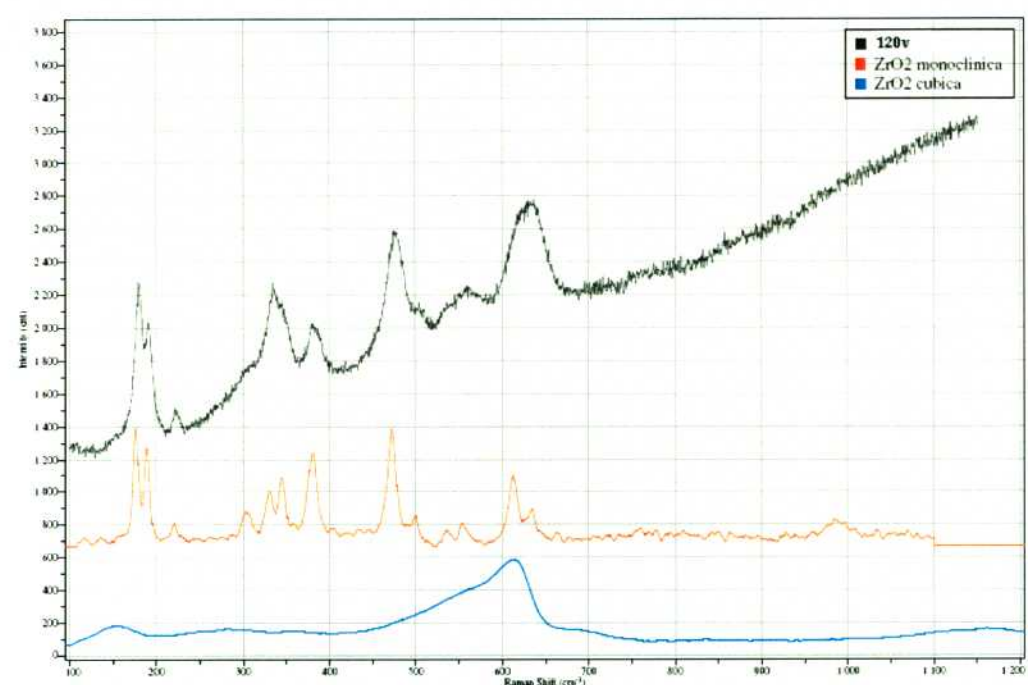


Figura 3.32: Espectro Raman de una probeta anodizada a 120V comparado con los espectros patrones de óxido monoclinico y cúbico.

III.3 Conclusiones

De la caracterización superficial se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- Luego del anodizado se obtuvo un color característico para cada potencial aplicado.
- El óxido anódico se deposita en forma de grupos sobre la superficie. Al aumentar el potencial, se observa que el óxido abarca en mayor medida la superficie del sustrato y que con el aumento del voltaje aumenta la presencia de grietas en el recubrimiento.
- La estructura del óxido formado es monocónica para todos los potenciales de anodizado.
- Todas las muestras anodizadas presentan P sobre su superficie y la cantidad de P introducido durante el proceso de anodizado depende del potencial aplicado. Después de 30 días de incubación en SBF el P permanece presente en la capa anódica, aunque en menor cantidad.
- Se observó un aumento en los parámetros de rugosidad Ra y Rq para las probetas anodizadas en comparación con probetas sin anodizar. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los valores de las muestras anodizadas y las sin tratamiento superficial para el parámetro Rt. Para potenciales mayores a 30V, los parámetros Ra, Rq y Rt tienden a tomar valores muy similares para el rango de potenciales propuestos en este trabajo.
- Las muestras incubadas por 24 horas y 30 días en SBF mostraron la presencia de Ca y P en ciertas zonas de la superficie. Si bien en ambos períodos de inmersión se observó la presencia de estos elementos, en las muestras incubadas por 30 días se observó menor cantidad que en las muestras incubadas 24 horas.

- Luego de 30 días de incubación no se observó la formación de cristales ricos en Ca-P sobre la superficie de las probetas.

III.4 Bibliografía

- [1] S. Minagar, C.C. Berndt, J. Wang, E. Ivanova, C. Wen, “A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces”, *Acta Biomaterialia* 8 (2012) 2875 – 2888.
- [2] F. Trivinho-Strixino, F.E.G. Guimarães, E.C. Pereira, “Zirconium oxide anodic films: Optical and structural properties”, *Chemical Physics Letters* 461 (2008) 82 – 86.
- [3] F. Muratore, A. Baron-Wiechéc, T. Hashimoto, A. Gholinia, P. Skeldon, G.E. Thompson, “Growth of nanotubes on zirconium in glycerol/fluoride electrolytes”, *Electrochimica Acta* 56 (2011) 10500 – 10506.
- [4] H.S. Seo, B.H. Kim, Y.M. Ko1, “Fabrication of anodized titanium with immobilization of hyaluronic acid to improve biological performance” *Progress in Organic Coatings* 69 (2010) 38–44
- [5] J.J. Ramsden, D.M. Allen, D.J. Stephenson, J.R. Alcock, G.N. Peggs, G. Fuller and G. Goch , “The Design and Manufacture of Biomedical Surfaces”, *CIRP Annals-Manufacturing Technology* 56, issue 2 (2007) 687-711.
- [6] J. C. Amaya, L. E. Forero, “Oxidación Anódica de la Aleación Ti10Nb35Zr para su utilización en implantes”. *Suplemento de la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales* 2009; S1 (1): 71-74
- [7] A. Gomez Sanchez, W. Schreiner, G. Duffó, S. Ceré, “Surface characterization of anodized zirconium for biomedical applications” *Applied Surface Science* 257 (2011) 6397–6405

- [8] J.M. Calderon Moreno, P. Osiceanu, C. Vasilescu, M. Anastasescu, S.I. Drob, M. Popa. "Obtaining, structural and corrosion characterization of anodized nanolayers on T-20Zr alloy surface". *Surface & Coatings Technology* 235 (2013) 792-802.
- [9] W. Simka, M. Sowa, R.P. Socha, A. Maciej, J. Michalska. "Anodic oxidation of zirconium in silicate solutions". *Electrochimica Acta* 104 (2013) 518-525.
- [10] NIST Electronic Database: www.nist.gov/pml/data/handbook/index.cfm. Noviembre 2012.
- [11] A. Gomez Sanchez, W. Schreiner, G. Duffó, S. Ceré, M. Rodríguez "Electrochemical Behaviour of anodic zirconium oxide film in phosphoric acid", *Sociedad Argentina de Bioingeniería* 2011. www.sabi2011.fi.mdp.edu.ar/proceedings/obi/Pdf/o-29.pdf
- [12] Elivelton A. Ferreira, Romeu C. Rocha-Filho, Sonia R. Biaggio, Nerilso Bocchi, "Corrosion resistance of the Ti-50Zr at.% alloy after anodization in different acidic electrolytes", *Corrosion Science* 52 (2010) 4058-4063.
- [13] W. Simka, A. Sadkowski, M. Warczak, A. Iwaniak, G. Dercz, J. Michalska, A. Maciej, "Characterization of passive films formed on titanium during anodic oxidation", *Electrochimica Acta* 56 (2011) 8962-8968.
- [14] C.A. Rinaldi, J.C. Ferrero, "Analysis of Ca in BaCl₂ matrix using laser-induced breakdown spectroscopy", *Spectrochimica Acta Part B* 56 (2001) 1419-1429.
- [15] 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 de Tecnología Prof. J. Sabato, (CNEA-UNSAM), 2011.

- [16] G. Siu, M. J. Stoke, "Variation of fundamental higher-order Raman spectra of ZrO_2 nanograins with annealing temperature", *Physical Review B*, Volume 59, Number 4, January 1999 II, 3173.
- [17] Uchida M., Kim H.-M., Miyaji F., Kokubo T., Nakamura T., "Apatite Formation on Zirconium Metal Treated with aqueous NaOH", *Biomaterials* 23 (2002) 313-317.
- [18] L.N. Wang, J.L. Luo, "Enhancing the bioactivity of zirconium with the coating of anodized ZrO_2 nanotubular arrays prepared in phosphate containing electrolyte", *Electrochemistry Communications* 12 (2010) 1559-1562.
- [19] T. Kokubo, "Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment", *Acta Mater.* Vol. 46, N°7, (1998), pp 2519-2527.
- [20] T. Kokubo, H.-M. Kim, F. Miyaji, H. Takadama, T. Miyazaki, "Ceramic-metal and ceramic-polymer composites prepared by a biomimetic process", *Composites: Part A* 30 (1999) 405-409.
- [21] T. Kokubo, T. Matsushita, H. Takadama, T. Kizuki, "Development of bioactive materials based on surface chemistry", *Journal of the European Ceramic Society* 29 (2009) 1267-1274.
- [22] M. Bohner, J. Lemaitre, "Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution?", *Biomaterials* 30 (2009) 2175-2179

CAPÍTULO IV: COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO DE LA CAPA ANÓDICA

IV.1 Introducción

La demanda de materiales metálicos para implantes médicos y dentales es bastante grande. Los metales y sus aleaciones son ampliamente utilizados como materiales biomédicos e indispensables en el campo médico. Es importante que un biomaterial sea seguro, presentando un buen comportamiento ante la corrosión. Por este motivo, se utilizan materiales como aceros inoxidable, aleaciones de Co-Cr-Mo, Ti y sus aleaciones [1].

Los fluidos corporales contienen varios aminoácidos y proteínas que influyen en la corrosión del metal. Además, los fluidos corporales contienen cloruro, que es una de las especies más agresivas para los metales. La concentración de oxígeno disuelto en la sangre venosa es $\frac{1}{4}$ de la concentración en aire, y un $\frac{1}{80}$ a $\frac{1}{4}$ en los espacios intercelulares. Estos medios pueden considerarse agresivos. El valor del pH de los fluidos corporales es casi constante, generalmente varía entre 7,0 a 7,35. En contraste, el pH de los tejidos duros, donde se implantan los dispositivos metálicos, decrece hasta 5,2 aproximadamente luego de la implantación y luego sube hasta 7,4 en un período de dos semanas. Esto da cuenta que la célula es una especie de cuerpo ionizado que puede influir en la corrosión de los materiales metálicos [1].

Un organismo vivo, que contiene soluciones salinas, se considera como un medio corrosivo para varios materiales. Gracias al alto valor de la resistencia a la corrosión de algunos metales válvulas (Zr, Ti, Nb, W, Ta) en diferentes medios altamente corrosivos, principalmente en aquellos de naturaleza oxidativa o que contienen cloruros, el campo de aplicación para estos metales y sus aleaciones fue naturalmente expandido, permitiendo un rápido y significativo avance en las áreas de instrumentación médica e implantes quirúrgicos [2].

Si bien es cierto que por sí mismo los metales no muestran toxicidad, los iones disueltos, productos de corrosión y/o partículas de desgaste, pueden manifestar toxicidad cuando se combinan con biomoléculas y células [1].

De acuerdo a Reclaru et al. [3] los estudios electroquímicos son una herramienta fundamental para predecir la predisposición a la corrosión de diferentes metales. 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.

Dado que el comportamiento corrosivo y la estabilidad de los materiales es una de las características más importantes de los biomateriales implantables [4], se debería evaluar el comportamiento corrosivo del material antes de que sea usado en la clínica médica.

En este capítulo se analizarán los resultados obtenidos de las mediciones de las curvas de polarización anódicas (CP) en diferentes electrolitos (H_3PO_4 y SBF) para las diferentes condiciones de anodizado en Zr y diferentes períodos de incubación en solución simulada de fluido biológico (SBF).

Se mostrarán los resultados obtenidos de las mediciones de las curvas de polarización de muestras anodizadas y sin anodizar en solución de anodizado (H_3PO_4) con el fin de determinar la acción protectora de la capa anódica.

De igual manera, se examinarán los resultados de las mediciones de las curvas de polarización de muestras anodizadas y sin anodizar incubadas durante diferentes períodos de tiempo, 24 horas y 30 días, en SBF. Las mediciones de las muestras incubadas se llevaron a cabo en SBF con el fin de determinar el impacto corrosivo de los iones de dicha solución durante el período de incubación.

IV.2 *Resultados y discusión*

A continuación se presentan los resultados obtenidos de los ensayos electroquímicos. Se midieron las curvas de polarización de probetas anodizadas y sin anodizar (Blanco). Las mediciones se llevaron a cabo en diferentes electrolitos. Las curvas que se presentan en este capítulo son representativas ya que los resultados de varias mediciones para cada condición fueron repetitivos.

IV.2.1 *Curvas de polarización en solución de anodizado*

Previo al trazado de las curvas de polarización se dejó estabilizar el potencial de corrosión (E_{corr}) durante media hora. La Figura 4.1 muestra la evolución del E_{corr} con el tiempo. En la misma se puede observar que el E_{corr} de las muestras anodizadas es mayor al del metal sin anodizar. Si bien no se encontró una correlación entre el valor E_{corr} y la magnitud del potencial de anodizado, es de destacar que la probeta anodizada a 120V muestra el E_{corr} más noble, lo que se podría atribuir a la mayor protección que presenta el material base debido al crecimiento de una gruesa capa de óxido protector. A su vez, las muestras anodizadas a 30V, 60V y 90V, todas mostraron un E_{corr} más noble que el Blanco, lo que pone de manifiesto que en todos los casos el crecimiento de una capa de óxido protege al metal base.

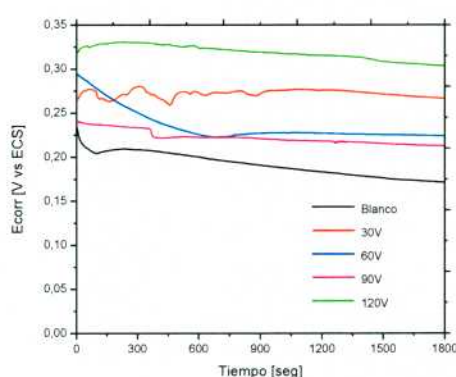


Figura 4.1. Potenciales promedios de corrosión (E_{corr}) para las probetas anodizadas y el blanco, medidos en solución de anodizado.

Una vez estabilizado el potencial, se midieron las curvas de polarización de circonio anodizado a cada uno de los potenciales de anodizado (30V, 60V, 90V y 120V) y de una probeta sin tratamiento (Blanco) en solución de anodizado (H_3PO_4 1M). Para cada uno de los cuatro potenciales propuestos se trazaron las curvas de polarización por duplicado como mínimo. Los resultados fueron repetitivos y en la Figura 4.2 se muestran las curvas de polarización representativas para cada potencial de anodizado.

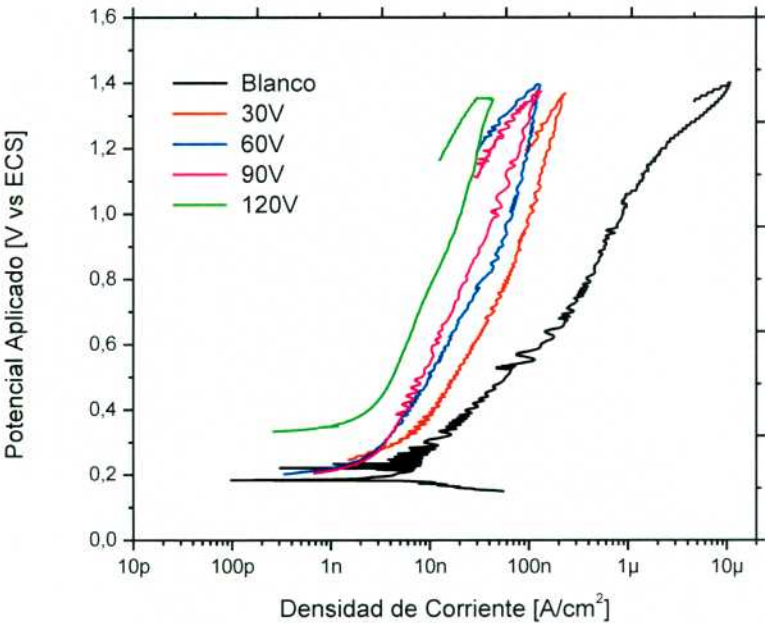


Figura 4.2: Curvas de polarización representativas obtenidas en solución de anodizado (H_3PO_4) para los distintos potenciales de anodizado.

Las curvas de polarización de las probetas anodizadas presentaron un crecimiento gradual de la densidad de corriente, lo que da cuenta del estado pasivo de las mismas. Se observó que al aumentar el potencial de anodizado disminuye el valor de la densidad de corriente. Las densidades de corriente de las probetas anodizadas se ubicaron en un rango comprendido entre 10^{-9} a 10^{-7} A/cm^2 , aproximadamente. A diferencia de las probetas anodizadas, el circonio sin anodizar (Blanco) presenta un crecimiento en la densidad de corriente de aproximadamente tres órdenes de magnitud. Este crecimiento más notorio en la

densidad de corriente para la muestra Blanco no es consecuencia de un proceso de corrosión activa sobre la superficie del metal, si no que se trata de una prueba del crecimiento continuo de una película de óxido anódico sobre la superficie de la muestra durante el ensayo de polarización anódica [5]. Para cualquier valor de potencial de anodizado, la corrosión de las probetas en solución de anodizado disminuye considerablemente en comparación con la probeta sin anodizar. El mejor caso se presenta para la probeta anodizada a 120V, ya que su densidad de corriente es tres órdenes de magnitud menor a la de la probeta Blanco (sin anodizar).

A pesar de la diferencia morfológica entre nanotubos de Zr generados por anodizado y los óxidos obtenidos en el presente trabajo cabe, la siguiente comparación. Wang et al. [4] estudiaron, mediante técnicas electroquímicas, el comportamiento electroquímico en SBF de nanotubos de Zr generados por anodización. Llegaron a la conclusión de que la superficie generada luego del proceso de anodizado presentaba mayor pasividad que la del material sin anodizar. Mostraron que la estructura nanotubular generada por anodizado aumenta la estabilidad del Zr contra la corrosión. Por otro lado, Simka et al. [6] encontraron que la oxidación anódica del Zr proporciona una mejora significativa de la resistencia a la corrosión del material y una disminución considerable en la densidad de corriente en presencia de solución fisiológica de Ringer.

En todas las curvas de polarización trazadas, se puede observar que presentan histéresis negativa (Figura 4.3). Esto significa que el camino de “vuelta” del ciclo de polarización se realiza con densidades de corrientes menores que las correspondientes al camino de “ida”. Este hecho permite concluir que no se ha producido corrosión por picado en las probetas [7]. Además, al ser observadas al microscopio, ninguna de las muestras presentó picado sobre su superficie.

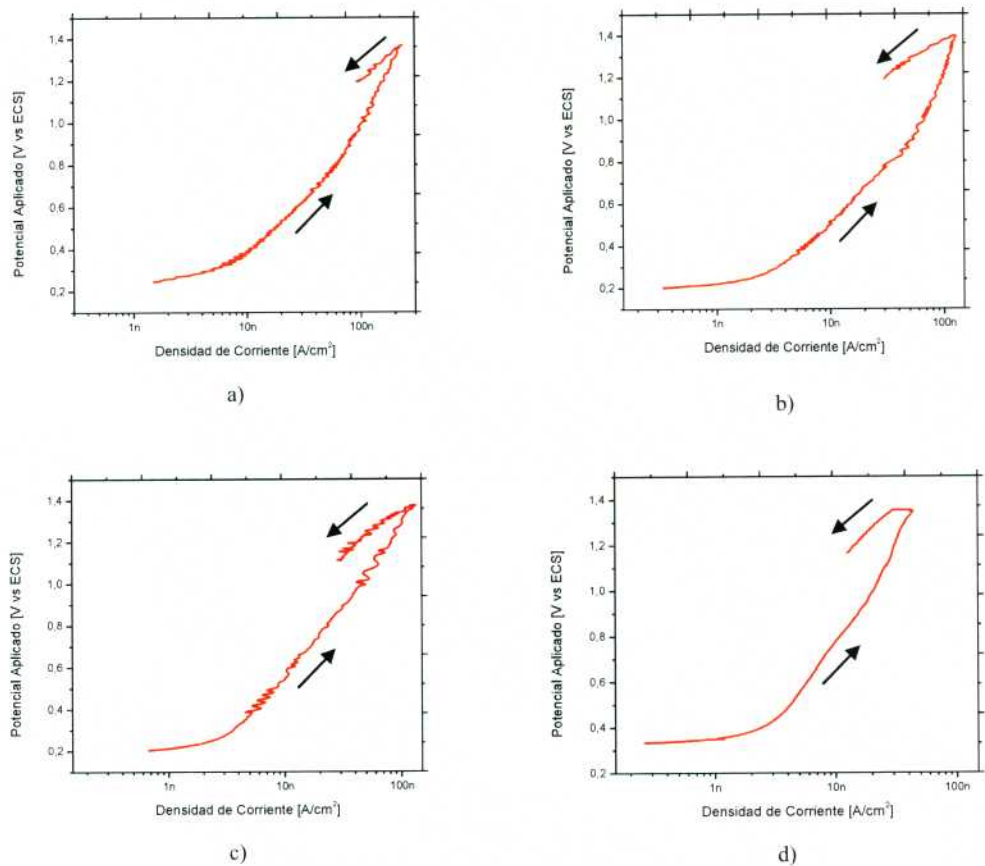


Figura 4.3: Curvas de polarización representativas realizadas en solución de anodizado (H_3PO_4): a) 30V, b) 60V, c) 90V, d) 120V. Se indica con flechas la dirección de barrido de potenciales.

IV.2.2 Curvas de polarización en solución Simulada de Fluido Biológico (SBF)

Probetas anodizadas a los cuatro potenciales de anodizado, y probetas sin anodizar (probetas Blancos) fueron inmersas en SBF durante 24 horas y 30 días a 37°C . Posteriormente se trazaron las curvas de polarización de estos materiales en solución SBF. Lo que se representa en las siguientes figuras son las curvas representativas.

- 24 horas de inmersión en SBF

La Figura 4.4 muestra las curvas de polarización en SBF para los cuatro potenciales de anodizado y para la muestra sin anodizar (Blanco24h), luego de 24 horas de incubación en SBF.

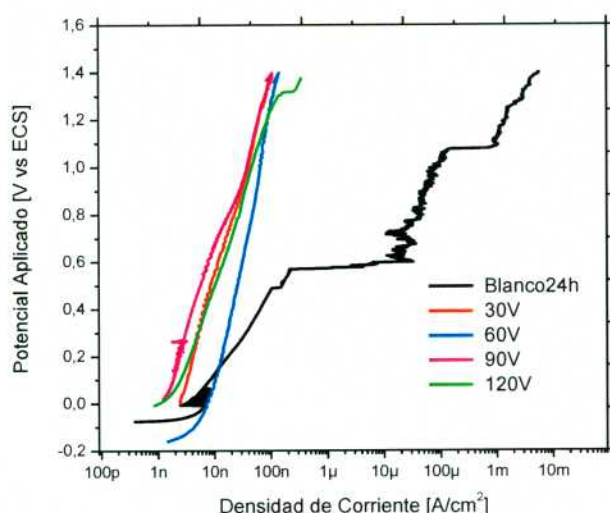


Figura 4.4: Curvas de polarización representativas en SBF de las probetas anodizadas y la muestra Blanco24h, después de 24 horas de incubación en SBF.

En cuanto a las probetas anodizadas a los diferentes potenciales, se vio que ninguna de ellas, luego de haber sido incubadas en SBF durante 24 horas, presentó picado ni corrosión generalizada sobre su superficie. Por otro lado, de acuerdo a lo observado en la curva de polarización, la probeta sin anodizar (Blanco24h) sí mostró ruptura de la capa pasiva. Este hecho se manifiesta en la curva de polarización como un abrupto aumento de la densidad de corriente a un potencial de aproximadamente $0,6V_{ECS}$ (potencial de picado).

Se pudo ver que las probetas tratadas superficialmente presentaron diferentes densidades de corrientes, comprendidas en un rango de 10^{-9} a $10^{-8} A/cm^2$ aproximadamente.

- 30 días de inmersión en SBF

La Figura 4.5 muestra las curvas representativas de polarización en SBF de probetas incubadas por 30 días para los cuatro potenciales de anodizado y una muestra sin anodizar (Blanco30d).

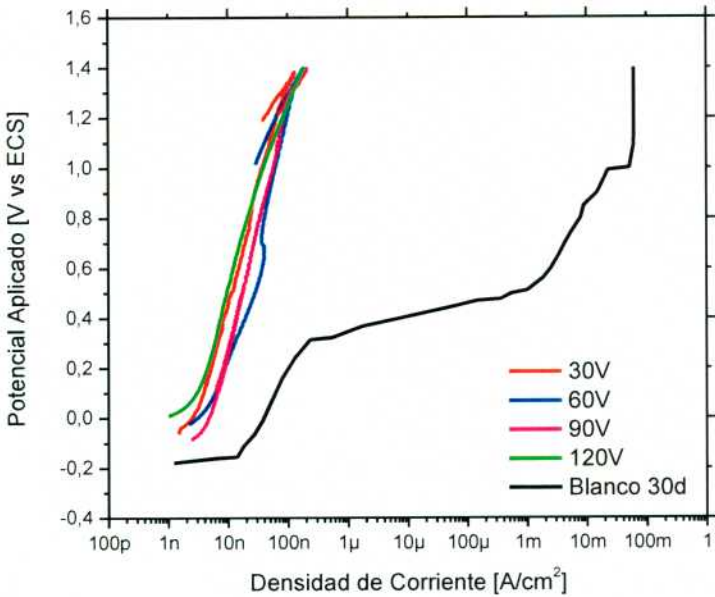


Figura 4.5: Curvas de polarización representativas en SBF de probetas sin anodizar (Blanco 30d) y anodizadas a 30V, 60V, 90V y 120V y posteriormente incubadas 30 días en SBF.

De las curvas trazadas, se vio que ninguna de las probetas anodizadas presentó picado ni corrosión generalizada. Por otro lado, la muestra sin anodizar (Blanco30d) al igual que la probeta sin anodizar incubada 24 horas (Blanco24h), también presentó ruptura de la capa pasiva. En esta oportunidad, el potencial de picado fue de $0,3V_{ECS}$, aproximadamente. Este hecho indicaría que las capas pasivas formadas para cada potencial actúan como protectoras ante la presencia de los iones cloruros propios de la solución SBF.

Cabe destacar que las probetas anodizadas a los potenciales extremos, presentan curvas de polarización con comportamientos muy similares. El rango de densidades de

corrientes, para las probetas anodizadas e incubadas por 30 días en SBF va de 10^{-9} a 10^{-7} $[A/cm^2]$ aproximadamente.

- Comparación de CP con diferentes periodos de inmersión en SBF

En la Figura 4.6 se muestran las curvas de polarización de probetas sin anodizar incubadas por 24 horas y 30 días respectivamente en SBF. En la misma se puede ver que las muestras sin tratamiento superficial experimentan una ruptura en su capa pasiva perdiendo las propiedades de protección a la liberación iónica al medio. Además, se puede ver que al aumentar el tiempo de inmersión en solución SBF, el potencial de picado disminuye y las densidades de corriente aumentan, poniendo de manifiesto cómo empeora la resistencia a la corrosión.

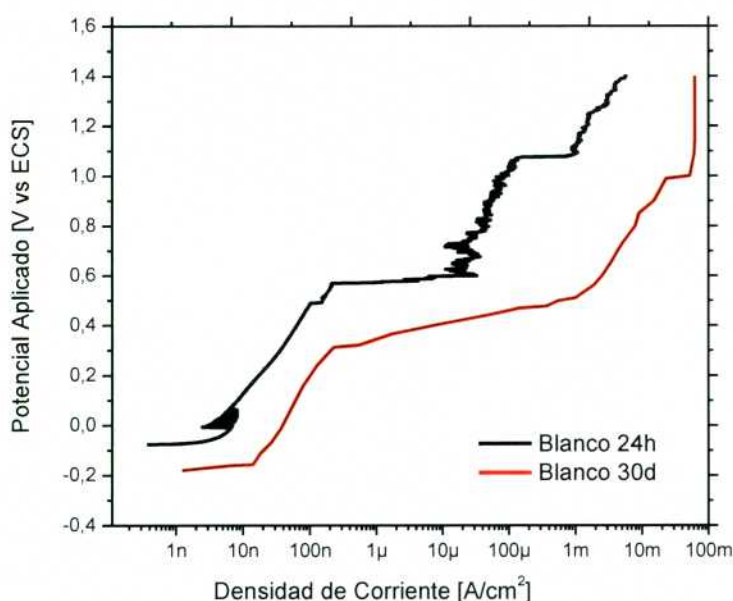


Figura 4.6: Curvas de polarización de circonio sin anodizar incubado por 24 horas y 30 días respectivamente en SBF.

Por otro lado se realizó la comparación, para una misma condición de anodizado, de las curvas de polarización de las probetas incubadas a diferentes periodos de tiempo. La Figura 4.7 muestra los gráficos de comparación. Para los cuatro potenciales de anodizado, se vio que las curvas de polarización trazadas luego de diferentes periodos de inmersión,

eran muy similares entre sí. No se observó, en ninguno de los cuatro casos, un crecimiento notorio de la densidad de corriente. Tampoco se observó, en ninguna de las probetas inmersas por diferentes períodos de tiempo, picado sobre su superficie. Esto da cuenta de que el tratamiento superficial de anodizado posee un efecto protector del metal evitando la liberación de iones metálicos al medio.

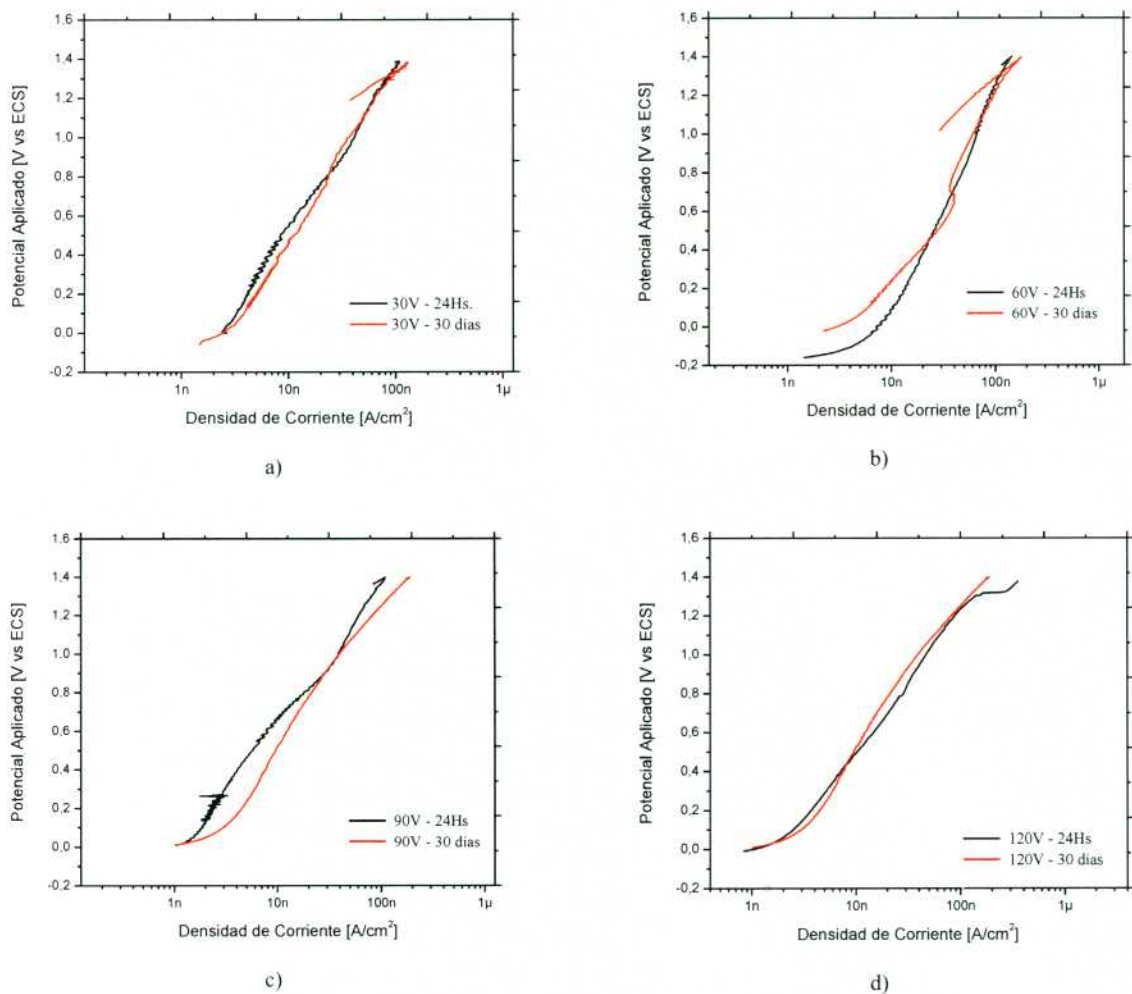


Figura 4.7: Comparación de las curvas de polarización para un mismo potencial de anodizado con diferentes tiempos de incubación en SBF. a) 30V, b) 60V, c) 90V, d) 120V.

Cabe mencionar que en la tesis doctoral de Gomez Sanchez [5] se llevó a cabo el trazado de curvas de polarización en SBF de probetas anodizadas entre 3 y 30V. De los ensayos realizados por Gomez Sanchez et al. [5] se pudo ver que todas las probetas,

incluida la de 30V, presentaban ruptura de la capa pasiva. Teniendo en cuenta estos resultados con los obtenidos en este trabajo, se concluye que 30V es un valor crítico de potencial, para el cual, puede o no producirse ruptura de la capa anódica. Para potenciales de anodizado menores a 30V, se obtiene picado en todos los casos [5]. Para potenciales de anodizado mayores a 30V no se presenta picado en ningún caso.

IV.3 Conclusiones

De las mediciones realizadas en los dos electrolitos, se puede concluir:

En solución de anodizado H_3PO_4 ,

- El potencial de corrosión (E_{corr}) de las probetas anodizadas es mayor que el E_{corr} del metal sin anodizar. Aunque no se encontró una relación entre el potencial de anodizado y el E_{corr} , se debe destacar que el potencial más noble corresponde a la probeta anodizada a 120V.
- Las probetas anodizadas muestran un comportamiento pasivo en solución H_3PO_4 1M. La densidad de corriente pasiva disminuye conforme aumenta el potencial de anodizado. La muestra sin tratamiento previo (Blanco) fue la que mayor densidad de corriente presentó.

En solución simulada de fluido biológico SBF,

- Las probetas anodizadas y posteriormente incubadas 24 horas en SBF, no presentaron picado ni corrosión generalizada. En cambio la probeta sin tratamiento superficial incubada 24 horas en SBF, sí mostró ruptura de la capa pasiva.
- Luego de 30 días de incubación en SBF, ninguna de las probetas anodizadas presentó picado ni corrosión generalizada siendo las densidades de corriente pasivas muy similares a las obtenidas a las 24 horas, lo que pone de manifiesto su buena resistencia a la corrosión.
- En el caso de la probeta sin anodizar, luego de 30 días de incubación en solución SBF se observa un aumento en la densidad de corriente y disminución del potencial de picado, lo que demuestra su mayor susceptibilidad a la corrosión.

- Se ha encontrado que 30V es un valor crítico de potencial, ya que a potenciales de anodizado menores a 30V se observa ruptura de la capa pasiva y a potenciales de anodizado mayores a 30V las probetas permanecen pasivadas en SBF.

V.4 Bibliografía

- [1] T. Hanawa, "Evaluation techniques of metallic biomaterials in vitro", Science and Technology of Advanced Materials 3 (2002) 289–295.
- [2] 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. Vol. 13, Nº 4, 463-468, 2002.
- [3] L. Reclaru, R. Lerf, P.-Y. Eschler, A. Blatter, J.-M. Meyer, "Evaluation of corrosion on plasma sprayed and anodized titanium implants, bothwithand without bone cement", Biomaterials 24 (2003) 3027–3038.
- [4] L.N. Wang, J.L. Luo. "Electrochemical behavior of anodic zirconium oxide nanotubes in simulated body fluid", Applied Surface Science 258 (2012) 4830 – 4833.
- [5] 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 (CNEA – UNSAM) 2011.
- [6] W. Simka, M. Sowa, R.P. Socha, A. Maciej, J. Michalska, "Anodic oxidation of zirconium in silicate solutions", Electrochimica Acta 104 (2013) 518-525.
- [7] W. Stephen Tait, "An Introduction to Electrochemical Corrosion Testing for Practicing Engineers and Scientists", 1994, PairODoes Publications.

CAPÍTULO V: EVALUACIÓN IN VIVO DE IMPLANTES DE CIRCONIO

V.1 Introducción

Los estudios *in vivo*, llevados a cabo en diferentes animales, constituyen un paso previo fundamental para la evaluación de la biocompatibilidad y la posterior aceptación e incorporación al mercado de nuevos dispositivos biomédicos. Siguiendo las normativas existentes respecto a la protección de animales, en la actualidad se busca reducir al mínimo la utilización de seres vivos en las etapas de experimentación. El objetivo es concederles un trato que evite al máximo el dolor, el sufrimiento, el estrés o la generación de lesiones innecesarias [1].

En esta etapa del proyecto, se evaluó la incidencia del tratamiento superficial mediante el análisis del comportamiento *in vivo* del implante. Considerando la normativa de protección animal, se decidió utilizar sólo los valores extremos de los potenciales de anodizado ensayados: 30V y 120V, con el fin de reducir el número de animales implantados. A partir de los estudios realizados en el Capítulo III, la elección de los potenciales extremos se basó también en el valor del coeficiente I_p/I_{Zr} de las muestras incubadas en SBF durante 30 días, ya que las muestras anodizadas a 30V y 120V fueron las que mayor y menor valor presentaron respectivamente. Se deja el análisis *in vivo* de los valores intermedios (60V y 90V) para etapas posteriores de este estudio.

V.2 Resultados y discusión

En ninguno de los dos grupos implantados, a 30V y a 120 V, se observaron alteraciones locales ni sistémicas en los animales, tanto en el postoperatorio inmediato como mediato.

Cabe mencionar que cada animal contaba con una muestra control (sin anodizar) en su miembro inferior izquierdo y la muestra a ensayar en su miembro inferior derecho.

V.2.1 Estudio histológico

En todos los grupos estudiados se observaron zonas de tejido óseo de tipo laminar (Figura 5.1) en íntimo contacto con la superficie metálica (interfaz oseointegrada), y sectores donde el tejido medular contactaba con la superficie metálica (mielointegración). De esta manera, el tejido neoformado estableció una interfaz discontinua sobre la superficie del implante. En ningún caso se observó infiltrado inflamatorio.

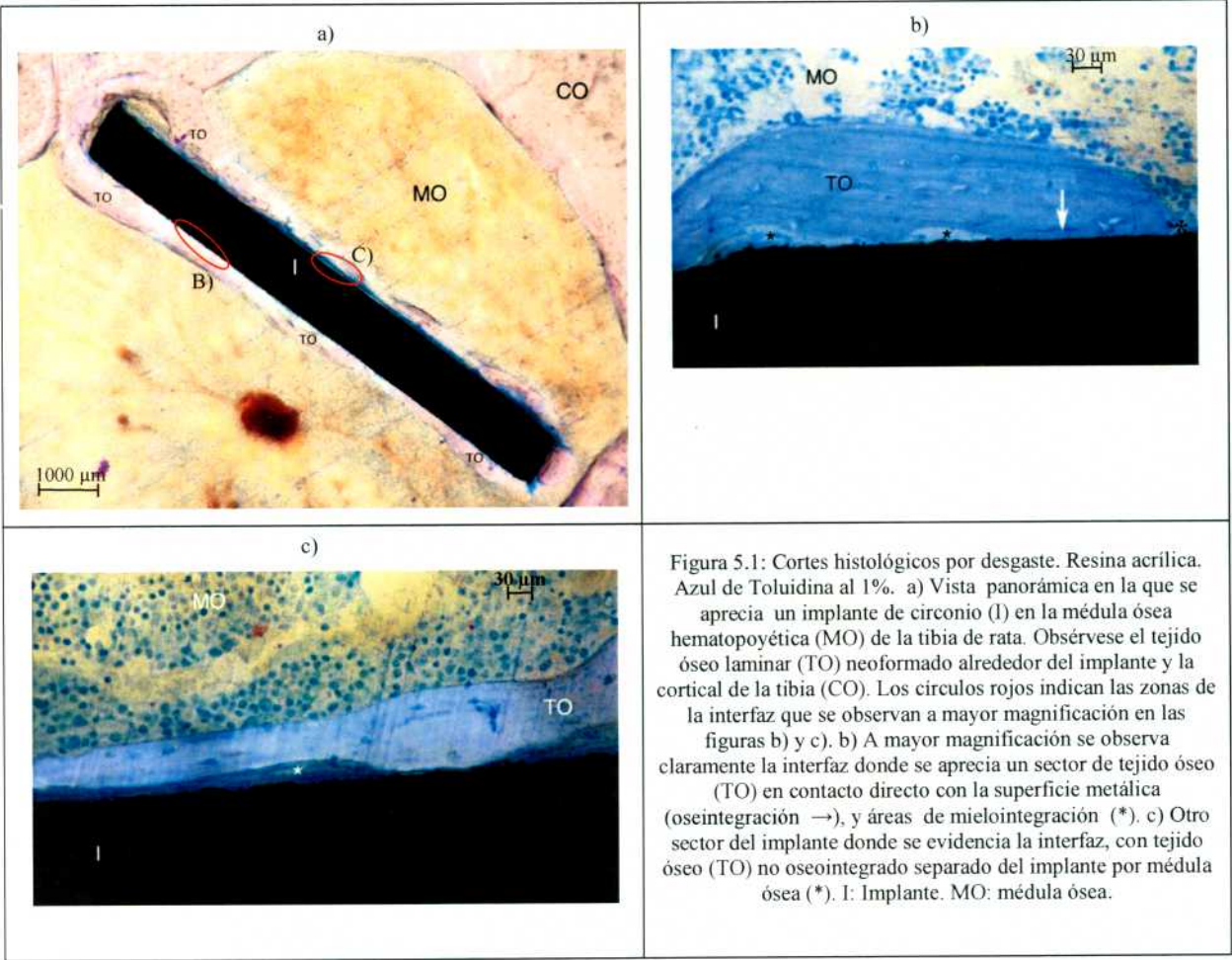
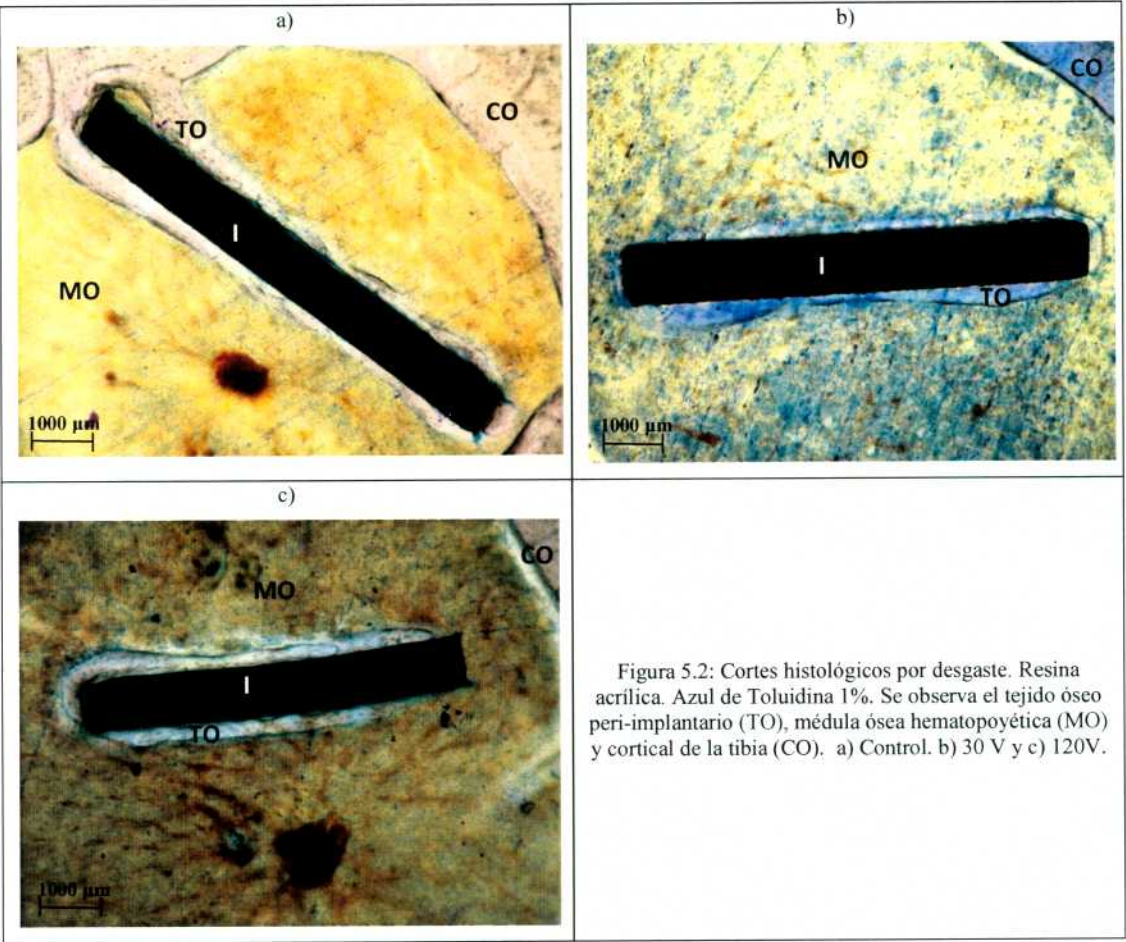


Figura 5.1: Cortes histológicos por desgaste. Resina acrílica. Azul de Toluidina al 1%. a) Vista panorámica en la que se aprecia un implante de circonio (I) en la médula ósea hematopoyética (MO) de la tibia de rata. Obsérvese el tejido óseo laminar (TO) neoformado alrededor del implante y la cortical de la tibia (CO). Los círculos rojos indican las zonas de la interfaz que se observan a mayor magnificación en las figuras b) y c). b) A mayor magnificación se observa claramente la interfaz donde se aprecia un sector de tejido óseo (TO) en contacto directo con la superficie metálica (oseointegración →), y áreas de mielointegración (*). c) Otro sector del implante donde se evidencia la interfaz, con tejido óseo (TO) no oseointegrado separado del implante por médula ósea (*). I: Implante. MO: médula ósea.

La Figura 5.2 muestra tres cortes histológicos, correspondientes a la muestra control (a) y a los dos potenciales utilizados de 30V y 120V (b y c, respectivamente). En cada caso se indican la médula ósea, el implante y el tejido óseo peri-implante neoformado.



V.2.2 Análisis histomorfométrico

El estudio histomorfométrico reveló un mayor volumen óseo peri-implante (VOP) estadísticamente significativo en el grupo de los animales implantados con las muestras anodizadas a 30V (grupo I) respecto a los grupos de animales implantados con muestras control (sin anodizar) y anodizadas a 120V (grupo II), ($p<0,05$). La Tabla V.1 hace referencia a estos datos.

Respecto a la oseointegración (OI) se observó un mayor porcentaje de OI estadísticamente significativo en las muestras anodizadas respecto a los controles ($p<0,05$). A su vez se encontró un mayor porcentaje de OI estadísticamente significativo en el grupo I (30V) respecto al grupo II (120V), ($p<0,05$). La Figura 5.3 ilustra el porcentaje de oseointegración para los grupos estudiados.

Tabla V.1- Estudio histomorfométrico: evaluación del VOP. Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar, ($*p<0,05$). La flecha indica los grupos donde se observó diferencia estadísticamente significativa.

Grupo	Voltaje [V]	Volumen óseo peri – implante [μm^2 de proyección]
Control	0	37.900 $\pm$ 3.800
I	30	41.800 $\pm$ 6.000 (*)
II	120	34.300 $\pm$ 4.000

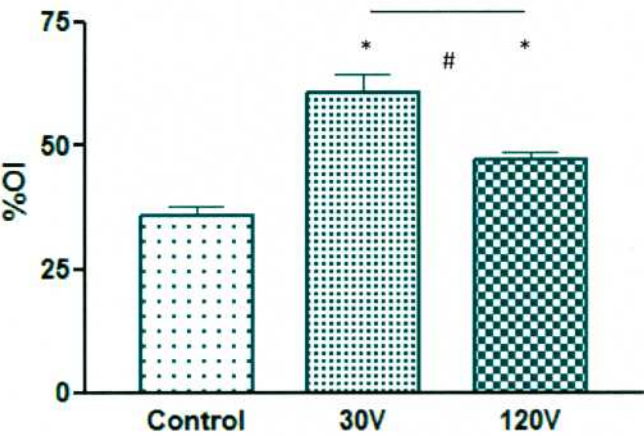


Figura 5.3: Estudio histomorfométrico: porcentaje de oseointegración (%OI). Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar, ($*p<0,05$). (*) indica diferencia estadísticamente significativa del grupo experimental respecto del control. (#) indica diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales.

El modelo experimental utilizado en este trabajo permite evaluar el tejido óseo neoformado alrededor del implante bajo condiciones locales y/o sistémicas [2].

El análisis histomorfométrico realizado, mostró que las muestras anodizadas presentaron mayores porcentajes de OI respecto a las muestras controles. Este resultado concuerda con los estudios de Gomez Sanchez et al. [3], quienes estudiaron la factibilidad de oseointegración de Ti y Zr anodizados a 30 V y sin anodizar. Encontraron que 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.

Mediante estudios *in vivo*, Sollazzo et al. [4] concluyeron que los implantes con óxido de circonio como recubrimiento superficial presentaron un porcentaje de contacto hueso-implante mayor y estadísticamente significativo en comparación con los implantes sin dicho recubrimiento. Si bien el óxido de circonio no fue obtenido mediante anodización en los estudios de Sollazzo, vale la comparación para este estudio.

Por otro lado, Olmedo et al. [5] estudiaron la incidencia en el porcentaje de oseointegración de la capa de óxido formada mediante el proceso de anodizado en implantes laminares de Ti. 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. En comparación con el presente estudio, los resultados obtenidos en Ti para el %OI son muchos más bajos que los obtenidos para el Zr, aun para los potenciales similares a los que fueron anodizados (24V para el Ti, 30V para el Zr). Comparando estas conclusiones, con los resultados del presente trabajo, se podría decir que el Zr anodizado permite obtener un mayor porcentaje de OI que el Ti anodizado.

Se sabe que las superficies anodizadas presentan propiedades adecuadas desde el punto de vista biológico y biomecánico en comparación con superficies maquinadas. El éxito clínico en Ti anodizado se ha explicado a través de dos mecanismos: unión mecánica del hueso neoformado y unión bioquímica [6].

Es sabido 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 [7].

De acuerdo a estas premisas se analizó si había 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. Se comparó la morfología obtenida para cada potencial de anodizado (30V y 120V) y se vio que en las muestras anodizadas al valor inferior de potencial, los grupos de óxido se encuentran sobre una delgada capa de óxido anódico, observándose las líneas del laminado del sustrato, tal como se mencionó en la sección III.2.1 del capítulo III. Se cree que la forma de deposición del óxido afectaría el porcentaje de oseointegración. En la Figura 5.4 se observan las micrografías de las muestras anodizadas a 30V y 120V. En las mismas se observa la forma de deposición del óxido. El mayor porcentaje de OI, también podría atribuirse al espesor de la capa anódica. De acuerdo a lo que se observa en las micrografías SEM, la capa de óxido formada a 120V es mucho más densa y presentaría mayor espesor que la capa formada a 30V. Se cree que el espesor de la capa de óxido a 120V es mayor, ya que no se observan las líneas de laminado presentes en la muestra anodizada a 30V. Es probable que a mayor espesor, se generen tensiones internas en el recubrimiento, que ocasionaría el despegue de la capa anódica con el hueso neoformado.

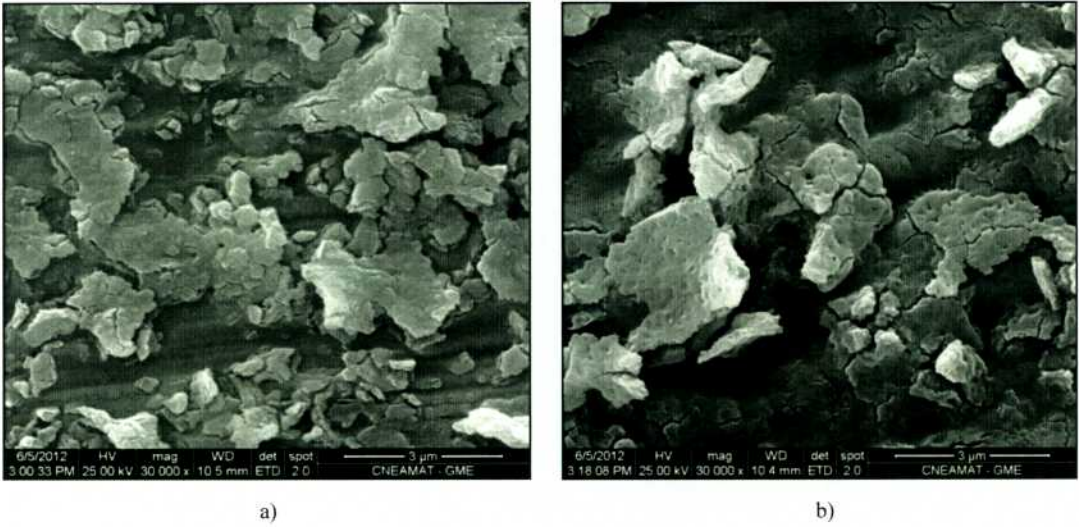


Figura 5.4: Micrografías de muestras anodizadas: a)30V, b)120V.

En el presente estudio se analizó además la relación entre la cantidad de P de las muestras anodizadas incubadas 30 días en SBF y el porcentaje de oseointegración. En este caso se observó que la muestra que presentaba el mayor porcentaje de oseointegración (30V) no era la que necesariamente tenía la mayor cantidad de P (medida a través del cociente I_p/I_{Zr}) (120V). La Figura 5.5 muestra la correlación entre los parámetros I_p/I_{Zr} , %OI y voltaje de anodizado.

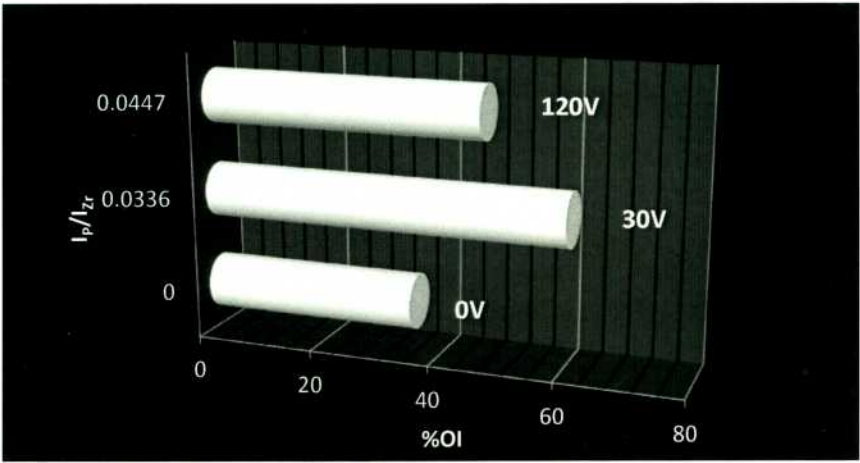


Figura 5.5: Correlación entre I_p/I_{Zr} , %OI y voltaje de anodizado.

Del estudio realizado en la sección III.2.1.3 del capítulo III, se vio que existe diferencia significativa de los parámetros de rugosidad Ra y Rq, entre las muestras anodizadas y las muestras sin tratamiento superficial. Los parámetros de rugosidad mencionados, resultaron mayores en las muestras con tratamiento superficial que en las muestras sin tratar. Este hecho, podría explicar el mayor porcentaje de OI en las muestras anodizadas respecto a las muestras sin anodizar. Sin embargo, no se puede explicar el aumento del %OI en las muestras anodizadas a 30V con respecto a las muestras anodizadas a 120V, ya que ambos grupos presentaban similar rugosidad.

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, 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. [8] 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, 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 [6].

De lo analizado en el presente trabajo, podemos decir que aun no queda claro la influencia de la rugosidad sobre el %OI. Si bien cierto grado de rugosidad pareciera favorecer el porcentaje de OI (cuando se comparan los resultados entre el blanco y el material anodizado); pequeñas variaciones de la rugosidad no parecen ser capaces de explicar el aumento en el %OI de la muestra anodizada a 30V, con respecto a las anodizadas a 120V.

V.3 Conclusiones

- Luego de 30 días de implantación en ratas Wistar se observó en todas las muestras, ya sea modificadas o no superficialmente, hueso laminar neoformado alrededor del implante.
- Todas las muestras implantadas presentaron zonas de oseointegración y zonas de mielointegración.
- Para el volumen óseo peri-implante (VOP), se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las muestras anodizadas a 30V y las muestras anodizadas a 120V y sin anodizar, siendo mayor el VOP de las muestras anodizadas a 30V.
- Se observó un mayor porcentaje de OI estadísticamente significativo en los grupos de las muestras anodizadas a 30V y a 120V respecto a los controles. A su vez, las muestras tratadas superficialmente a 30V presentaron mayor porcentaje de oseointegración respecto a las muestras anodizadas a 120V.
- No se encontró relación entre la cantidad de P en las muestras anodizadas y el porcentaje de oseointegración.
- No se ha podido establecer una relación clara entre la rugosidad de la capa anódica y el %OI.
- La condición que presentó mayor %OI (muestras anodizadas a 30V), presenta una morfología que se caracteriza por la deposición del óxido en forma de grupos aislados sobre la superficie, sin cubrir totalmente el piso del sustrato.

V.4 Bibliografía

- [1] A. Aranda García, L. M. Pastor García, “Ética de la experimentación con animales”, Revista Bioética y Ciencias de la Salud. Vol 3 N°4. 2004.
- [2] D. Olmedo, G. Duffó, R. Cabrini, M.B. Gugliemotti, “Local Effect of Titanium Implant Corrosion: an experimental study in rats”. International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery 37 (2008) 1032-1038.
- [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 de Tecnología Prof. J. Sabato, (CNEA-UNSAM), 2011.
- [4] V. Sollazzo, F. Pezzetti, A. Scarano, A. Piattelli, C.A. Bignozzi, L. Massari, G. Brunelli, F. Carinci, “Zirconium oxide coating improves implant osseointegration in vivo”, Dental Materials 24 (2008) 357-361.
- [5] D. Olmedo, G. Duffo, J. Apesteguy, G. Gianunzio, M.B. Gugliemotti, “Respuesta ósea Peri – implante ante distintos espesores de óxido de Titanio”, Sociedad Argentina de Investigación Odontológica, XXXII Reunión Anual, 120. 1999.
- [6] L. Le Guéhennec, A. Soueidan, P. Layrolle, Y. Amouriq, “Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration”, Dental Materials 23 (2007) 844-854.
- [7] S.E. Rodil, “Modificación Superficial de Biomateriales Metálicos”, Revista Latinoamérica de Metalurgia y Materiales 29 (2); (2009) 67 – 83.
- [8] 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”, Materials Science and Engineering C 23 (2003) 551–560.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES FINALES

- Las muestras anodizadas a 30, 60, 90 y 120V en H_3PO_4 1 M presentaron un color característico para cada valor de potencial de anodizado. Se observó que el óxido anódico crece sobre la totalidad de la superficie del sustrato y se concentra en forma de grupos aislados sobre la superficie. Con el aumento del potencial aumenta la cantidad de grupos depositados, los cuales van cubriendo en forma homogénea la superficie.
- Durante el proceso de anodizado se introduce P en el óxido formado. La estructura cristalina del óxido generado es monoclinica para todos los potenciales de anodizado ensayados. Se observó un aumento de la rugosidad en las muestras anodizadas respecto a las muestras sin tratamiento superficial, aunque no se encontraron variaciones de la rugosidad con el potencial de anodizado.
- Luego de diferentes períodos de inmersión (24 horas y 30 días) en solución simulada de fluido biológico (SBF) a 37°C , se observó la presencia de Ca en las muestras anodizadas y sin anodizar. El P permaneció presente en las muestras anodizadas luego de los diferentes períodos de inmersión. Sin embargo, no se identificaron compuestos de Ca-P, posibles precursores de la formación de hidroxiapatita.
- En general se encontró que el proceso de anodizado protege al material base, confiriéndole mejor resistencia a la corrosión.
- Los ensayos electroquímicos en solución de anodizado (H_3PO_4) mostraron que las muestras anodizadas se encuentran pasivadas, siendo la densidad de corriente pasiva menor al aumentar el potencial de anodizado.
- Luego de 24 horas y 30 días de inmersión en una solución potencialmente agresiva (SBF), las muestras anodizadas mostraron muy buena resistencia a la corrosión. A diferencia de lo que ocurrió con el metal sin anodizar, las muestras anodizadas no presentaron corrosión localizada y su comportamiento fue similar, independientemente del potencial de anodizado.
- La comparación de los resultados obtenidos en el presente trabajo con los de la literatura muestran que 30V es un valor crítico de potencial de anodizado, ya que muestras anodizadas a potenciales mayores permanecen pasivas en solución SBF,

mientras que muestras anodizadas a potenciales menores sufren corrosión localizada.

- Si bien no se han encontrado compuestos de Ca-P (posibles precursores de la formación de hueso) 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.
- Se observó un mayor porcentaje de oseointegración (OI) en las muestras anodizadas respecto de las no anodizadas. A su vez, el porcentaje de OI resultó mayor en la muestra anodizada a 30V respecto de la anodizada a 120V.
- No se ha podido establecer una relación directa entre el porcentaje de OI y el grado de rugosidad superficial.
- La mayor OI encontrada en la muestra anodizada a 30V se relacionó con la particular morfología de crecimiento de óxido de la misma. A diferencia de lo que ocurre en la muestra anodizada a un potencial mayor, en este caso la capa de óxido anódico que recubre la superficie del metal es muy delgada y los grupos de óxido son más pequeños y están más separados entre sí. Se especula que esta particular morfología podría servir de “anclaje” para el crecimiento y desarrollo del hueso neoformado.
- El proceso de anodizado de Zr mejora no sólo su resistencia a la corrosión si no también su capacidad de oseointegración, medida a través del porcentaje de OI. De los potenciales de anodizado evaluados en el presente trabajo se concluye que, si bien 30V es el que produce mayor porcentaje de OI, este potencial es crítico desde el punto de vista de la corrosión. Por otra parte, anodizados a potenciales muy altos para asegurar una buena resistencia a la corrosión, no parece ser una alternativa favorable para obtener altos porcentajes de OI. La existencia de este compromiso lleva a especular que se debería utilizar un potencial intermedio (por ejemplo 60V), tal que asegure una buena resistencia a la corrosión y brinde a su vez un alto porcentaje de OI. Dado que en este trabajo sólo se evaluaron *in vivo* muestras anodizadas a 30 y 120V, se sugiere como trabajo futuro evaluar el porcentaje de OI de Zr anodizado a 60V.