

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1. CONSIDERACIONES INICIALES

Denominamos sustitutivos óseos a todos los tejidos o materiales que pueden emplearse para rellenar defectos del hueso, con el objetivo de obtener la regeneración y reparación del tejido óseo. De acuerdo con esto, podemos reconocer dos tipos fundamentales de sustitutivos, los injertos óseos y los biomateriales ¹.

Los injertos óseos corresponden a fragmentos de hueso que se pueden implantar en un área del esqueleto para restaurar el capital óseo perdido ².

Los biomateriales son aquellas sustancias, naturales o sintéticas, o combinación de sustancias, que pueden implantarse en el organismo para tratar, restituir, sustituir o aumentar un órgano o tejido, entre los cuales se encuentra el tejido óseo ³.

En la presente Tesis Doctoral estudiaremos las características biológicas de cuatro biomateriales cerámicos que corresponden a dos formulaciones de cementos óseos y dos de vidrios bioactivos basados en fosfatos de calcio, para determinar sus potencialidades como sustitutivos óseos en animales de experimentación, comparándolos con el autoinjerto óseo esponjoso fresco.

1.2. FUNDAMENTACIÓN DEL TRABAJO

El desarrollo dinámico, tan característico de nuestras sociedades modernas, nos ha permitido aspirar a un importante aumento de nuestras expectativas de vida, hecho que nos expone a mayores posibilidades de padecer accidentes de magnitud significativa. Asimismo, el envejecimiento progresivo de nuestra población se ha visto acompañado por un notable incremento de las afecciones articulares degenerativas que requieren de sustitución

protésica y sus correspondientes recambios y además los traumatismos de alta energía nos enfrentan a complejas fracturas esqueléticas cuya resolución suele ser muy demandante. Ambos sucesos comprometen directamente al aparato locomotor, especialmente al tejido óseo, provocando de inmediato en el caso de las fracturas y, más tardíamente, en los recambios protésicos, importantes defectos óseos que suelen ser muy difíciles de tratar^{4,5}.

El material preferido para el tratamiento de las soluciones de continuidad del hueso es el mismo tejido óseo, ya sea proveniente del propio paciente o bien de un individuo donante. El empleo del autoinjerto óseo esponjoso es probadamente el mejor procedimiento, sin embargo, tiene como limitaciones la reducida cantidad de tejido óseo disponible y la potencial morbilidad de los sitios donantes⁶⁻⁸.

En los grandes defectos óseos diafisarios se puede practicar la técnica del transporte óseo que a través de la osteogénesis por distracción, es capaz de resolver exitosamente amplias soluciones de continuidad del hueso. También es posible utilizar injertos óseos vascularizados que consiguen el mismo fin aprovechando las técnicas microquirúrgicas actuales. No obstante, ninguno de estos dos métodos es aplicable para tratar defectos cavitarios⁹⁻¹².

Frente a lo anterior, podemos disponer como alternativa del aloinjerto óseo, ya sea congelado, criopreservado o liofilizado; pero, para su obtención y utilización, se requiere contar con un banco de tejidos bien establecido y con un número apropiado de donantes. Por lo demás, su empleo siempre conlleva el riesgo potencial de transmisión de enfermedades al receptor^{13,14}.

Teniendo presente las reconocidas limitaciones descritas para los injertos óseos, numerosos grupos de investigadores han trabajado arduamente durante estas dos últimas décadas en el desarrollo, formulación y síntesis de variados biomateriales que pueden tener utilidad como sustitutivos óseos, evaluándolos prolijamente mediante estudios *in vitro* e *in vivo* para definir sus potenciales aplicaciones clínicas.

Entre los biomateriales de mayor interés para reconstruir defectos óseos se encuentran las cerámicas de fosfatos de calcio, dado que detentan reconocidas propiedades osteoconductoras y son capaces de otorgar un andamiaje que en forma progresiva y centrípeta es sustituido por tejido óseo diferenciado. A este grupo pertenecen los

cementos óseos y vidrios bioactivos basados en fosfatos de calcio que estudiaremos en este trabajo de tesis ¹⁵⁻¹⁷.

Los cementos basados en fosfatos de calcio son materiales osteoconductores, biocompatibles y biodegradables cuyas propiedades específicas les permiten ser moldeables, inyectables y adaptables a las distintas geometrías de las soluciones de continuidad del hueso. Los vidrios de base fosfato son biomateriales cerámicos particulados, solubles y bioabsorbibles que poseen propiedades bioactivas, por lo que representan una interesante alternativa para la sustitución ósea ^{18,19}.

El grupo de investigadores del Departament de Ciència dels Materials i Enginyeria Metal·lúrgica y el Centre de Recerca en Enginyeria Biomèdica de la Universitat Politècnica de Catalunya dirigido por el Profesor Josep Anton Planell Estany, ha trabajado activamente desde el inicio de los años 90 en la línea de investigación de los biomateriales cerámicos, lo que les ha permitido desarrollar numerosas formulaciones de cementos óseos y vidrios bioactivos basados en fosfatos de calcio de interés para su potencial empleo en la clínica médica ²⁰⁻²⁴.

Por otro lado, en el Institut Clínic de l'Aparell Locomotor del Hospital Clínic de Barcelona y en el Departament de Cirurgia i Especialitats Quirúrgiques de la Universitat de Barcelona, se ha venido desarrollando desde comienzos de la década de los 90 una línea de investigación en sustitutivos óseos dirigida por el Profesor Santiago Suso Vergara que, mediante el estudio experimental de diferentes implantes, ha entregado interesantes aportes a la clínica ortopédica y traumatológica. Continuando con esta línea, hemos decidido realizar un trabajo experimental que nos permita profundizar en el conocimiento del comportamiento biológico de los cementos y vidrios basados en fosfatos de calcio ²⁵⁻²⁸.

En relación con los cementos óseos de fosfatos de calcio, investigaremos el comportamiento *in vivo* de un cemento de fosfato α tricálcico que denominaremos, en lo sucesivo, Cemento H y de un cemento de fosfato monocálcico correspondiente al llamado Cemento R.

En cuanto a los vidrios bioactivos de base fosfato, estudiaremos la condición potencial como sustitutivos óseos de un vidrio de fosfato del sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O que denominaremos, en adelante, vidrio G0 y de un vidrio de fosfato del sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O - TiO_2 , identificado como vidrio G5.

1.3. NOMENCLATURA

1.3.1. BIOABSORBIBLE

Condición de ciertos biomateriales que, luego de ser implantados en un tejido del organismo, experimentan fenómenos de disolución en los fluidos corporales ^{28,29}.

1.3.2. BIOACTIVIDAD

Capacidad de un material para inducir, estimular, provocar o modular una acción biológica definida en el tejido receptor. Así, un material bioactivo es aquel que posibilita una respuesta biológica específica en su interfaz con los tejidos, favoreciendo el enlace de ambos ³⁰.

1.3.3. BIOCOMPATIBILIDAD

Tolerancia biológica local de cualquier biomaterial, caracterizada por la ausencia de una respuesta inflamatoria aguda o crónica durante su implantación e incorporación, así como por la carencia de efectos nocivos sobre tejidos distantes. Este término es poco preciso, pues ningún material es totalmente biocompatible. De esta forma, la biocompatibilidad se puede denominar más correctamente como Aceptabilidad Biológica, que corresponde a la interacción de los biomateriales con los tejidos susceptibles de estar en contacto con ellos ³¹.

1.3.4. BIODEGRADACIÓN

Descomposición, rotura o lisis de un material mediada por un sistema biológico, que se produce como consecuencia de la actividad celular, enzimática, bacteriana o viral, concluyendo con su desaparición ³².

1.3.5. BIOINERCIA

Ausencia de reacción de los tejidos vivos frente a cualquier material biocompatible luego de su implantación en el organismo. Sin embargo, en algunos casos puede presentarse una mínima respuesta inmunológica ³³.

1.3.6. BIOMATERIAL

Sustancia natural o sintética, o combinación de sustancias, que puede implantarse en el organismo para tratar, restituir, sustituir o aumentar un tejido, órgano o función ^{3,34}.

1.3.7. BIORREABSORBIBLE

Condición que poseen algunos biomateriales de degradarse en componentes de menor peso molecular, ya sea a través de las vías metabólicas u otras rutas alternativas del organismo ³⁵.

1.3.8. IMPLANTE

Material o tejido no viable, aunque no sea biológicamente inerte. De esta forma, todo tejido capaz de ser almacenado sin bioprotección debería ser denominado como implante ³⁶.

1.3.9. INJERTO

Tejido u órgano que luego de ser separado de su origen se inserta en un lugar del organismo, ya sea en el propio, en el de otro o en el de otra especie. Se caracteriza por que una vez implantado se puede rehabitar y se mantiene vital gracias a los tejidos vivos del receptor ^{2,37}.

1.3.10. OSTEOCONDUCCIÓN

Propiedad pasiva de un material o tejido de recibir y guiar el crecimiento óseo, por medio de la invasión vascular y celular proveniente del tejido óseo vivo del receptor ³⁸.

1.3.11. OSTEOGÉNESIS

Desarrollo y formación de tejido óseo a partir de células osteoformadoras como los osteoblastos ³⁹.

1.3.12. OSTEOINDUCCIÓN

Capacidad de un material para promover la diferenciación celular hacia la síntesis de matriz ósea mineralizada, mediada por los factores locales de crecimiento ⁴⁰.

1.3.13. OSTEOINTEGRACIÓN

Establecimiento de una continuidad fisico-química entre un implante y la matriz ósea sin interposición de tejido fibroso. También corresponde a la condición en que un injerto colabora en la neoformación ósea en base a la presencia de células mesenquimales. Este tipo de aporte celular es máximo con el autoinjerto óseo ⁴¹.

1.3.14. OSTEOTRANSDUCCIÓN

Función que combina las propiedades de biodegradabilidad selectiva activa y de osteoconducción. Así, se produce una verdadera transformación del material que en la medida que es degradado entra a formar parte del proceso de neoformación ósea ^{27,42}.

1.3.15. SINTERIZACIÓN

Procedimiento de producción de biomateriales cerámicos a partir de conglomerados de polvos previamente modelados, que luego son sometidos a calentamiento en hornos especiales, en el rango de los 1.000 a 1.500 °C, lo que provoca la fusión parcial de los componentes que, de esta manera, quedan soldados por presión ⁴³.

1.3.16. SOPORTE BIOMECÁNICO

Función física de mantenimiento y sostén, otorgado por una estructura anatómica ⁴⁴.

1.3.17. SUSTITUTIVO

Material o segmento tisular capaz de desempeñar las funciones de otro tejido del organismo. De acuerdo con esto, solamente los biomateriales que poseen propiedades de osteoconducción y osteointegración pueden considerarse verdaderos sustitutivos óseos ^{1,45}.

1.3.18. TRASPLANTE

Implante de un tejido u órgano que requiere de una anastomosis vascular para mantener su viabilidad celular. El más representativo para la reparación ósea es el hueso autólogo vascularizado que se denomina, comúnmente, injerto óseo vascularizado ^{11,12}.

1.4. CARACTERÍSTICAS DEL TEJIDO ÓSEO

El hueso es un tejido conjuntivo especializado, cuya composición, organización y dinámica le permiten aportar una función mecánica de sostén y participar en la homeostasis mineral. Está conformado por una matriz mineralizada que incluye distintos tipos celulares, lo que le confiere una gran dureza y resistencia. Las fuerzas que actúan sobre el tejido óseo modifican permanentemente su forma, de tal manera que la presión condiciona su reabsorción y la tensión da lugar a la neoformación ósea.

El conjunto de 206 huesos del organismo conforma el esqueleto, el que 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 el reservorio principal de minerales del organismo y alojan la médula ósea que produce y suministra las células hematopoyéticas ⁴⁶.

1.4.1. ESTRUCTURA

Los huesos del esqueleto presentan diferentes formas y tamaños que se relacionan con su función específica. Respecto a su estructura global, el tejido óseo está constituido por diferentes fases sólidas y líquidas, que le otorgan la característica de ser junto a la dentina y el esmalte de los dientes, los únicos tejidos duros del organismo ⁴⁷.

1.4.1.1. ESTRUCTURA MACROSCÓPICA

Los huesos poseen una estructura macroscópica común y están constituidos por tejido óseo esponjoso o trabecular, que representa alrededor del 20.0 % del volumen total del hueso, el que se encuentra en continuidad con el tejido óseo cortical o compacto, que corresponde a aproximadamente el 80.0 %.

1.4.1.1.1. HUESO ESPONJOSO

Está conformado por un entramado tridimensional de tabiques o trabéculas óseas ramificadas que se orientan de manera paralela a las líneas de fuerza y limitan un sistema laberíntico de espacios intercomunicantes, ocupados por médula ósea. 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 ⁴⁸.

1.4.1.1.2. HUESO CORTICAL

Está constituido por una masa sólida y continua cruzada por una red de finos conductos longitudinales, denominados canales de Havers, y transversales, conocidos como conductos de Volkmann, que alojan vasos sanguíneos y fibras nerviosas. Predomina en el esqueleto apendicular, conformando la diáfisis de los huesos que adopta la forma de un cilindro hueco para contener la médula ósea. Sus particulares características lo hacen resistente a las fuerzas de flexión, torsión y cizallamiento ⁴⁸.

1.4.1.2. ESTRUCTURA MICROSCÓPICA

Considerando su estructura microscópica se puede distinguir tres tipos diferentes de tejido óseo.

1.4.1.2.1. HUESO PLEXIFORME

Corresponde a un hueso inmaduro que se encuentra en el tejido óseo esponjoso y cortical de los individuos en crecimiento, por lo que durante la maduración es sustituido gradualmente por hueso laminar desde los 14 ó 16 años. Este tipo de hueso está ausente en el esqueleto adulto, aunque se puede formar cuando se acelera la producción de matriz ósea, como ocurre en los callos de fractura y tumores óseos.

El hueso plexiforme carece de una relación estable entre el contenido mineral y el colágeno, de tal manera que su densidad mineral es muy variable, a diferencia de los huesos haversiano y laminar, que se describen a continuación, que mantienen una relación fija entre estos elementos ⁴⁹.

1.4.1.2.2. HUESO HAVERSIANO

Se encuentra constituido por un conjunto de láminas concéntricas, denominadas osteonas o sistemas de Havers, que tienen un diámetro de alrededor de 200 μm . y una longitud de 1 a 2 cm. y poseen un eje neurovascular central, denominado canal haversiano, que está

recubierto por osteoblastos y células osteoprogenitoras. Los canales haversianos de osteonas contiguas se encuentran unidos entre sí por los conductos de Volkmann, los que se orientan en sentido perpendicular u oblicuo con éstos.

Las osteonas están conformadas por alrededor de 4 a 20 láminas óseas, entre las cuales se localizan los osteocitos. A nivel de la unión entre las osteonas vecinas se encuentra una delgada línea de cementación, que está compuesta principalmente por sustancia fundamental calcificada.

La microestructura de tipo osteonal o haversiana está presente en el hueso cortical maduro y se forma como resultado de la invasión vascular del tejido óseo ya existente, por lo que posee una menor resistencia mecánica y un sistema circulatorio menos eficiente que el del hueso laminar ⁴⁹.

1.4.1.2.3. HUESO LAMINAR

Las trabéculas del hueso esponjoso y los sistemas circunferenciales del hueso compacto están compuestos por una serie de láminas óseas paralelas entre sí. Las láminas tienen un espesor que oscila entre 3 y 7 μm . y están formadas por fibras colágenas dispuestas paralelamente unas con otras, aunque presentan una orientación distinta respecto de las fibras de láminas vecinas. En la interfaz entre las láminas óseas se encuentran las cavidades osteocitarias con sus correspondientes células, cuya nutrición depende de los canalículos existentes en la matriz ósea, los que permiten el intercambio de moléculas e iones entre los capilares sanguíneos y los osteocitos.

Las láminas del hueso laminar y las osteonas del hueso haversiano son diferentes configuraciones geométricas del mismo material, pues en ambas cada punto del tejido se encuentra, aproximadamente, a unos 100 μm . de un vaso sanguíneo.

Tanto el hueso laminar como el haversiano se encuentran simultáneamente en el tejido óseo humano. De esta manera, las diáfisis de los huesos largos están conformadas por los sistemas circunferenciales externos e internos que corresponden a hueso laminar, entre los cuales se encuentran el sistema de Havers constituido por hueso osteonal y el sistema intermedio que procede de restos de osteonas que fueron parcialmente destruidas durante el crecimiento óseo ⁴⁹.

1.4.2. COMPOSICIÓN

El hueso está compuesto por una matriz ósea que representa alrededor de un 98.0 % y células específicas que corresponden a un 2.0 %. Aproximadamente un 20.0 % de su volumen se encuentra constituido por agua. El tejido óseo almacena casi el 99.0 % del calcio del organismo, que corresponde aproximadamente a 1.200 g., de los cuales sólo 900 mg. se encuentran en el líquido extracelular ⁴⁸.

1.4.2.1. MATRIZ ÓSEA

Es la responsable de las propiedades biomecánicas del tejido óseo, de tal manera que el hueso esponjoso se encuentra mineralizado en alrededor de un 99.2 % y el hueso cortical en un 99.9 %. La matriz ósea no mineralizada recibe el nombre de osteoide y representa menos del 1.0 % del volumen total, pudiendo observarse en forma de ribetes de unos 10 μm . de espesor revistiendo algunas trabéculas y cavidades intracorticales. El periodo de latencia entre el depósito del osteoide y su mineralización oscila entre unos 10 y 20 días.

La mineralización se inicia en la interfaz entre el osteoide y el hueso preexistente y avanza hacia la superficie a lo largo de un plano de barrido de 2 a 3 μm . de espesor que se denomina frente de mineralización. A medida que este frente se desplaza, va dejando tras de sí una matriz ósea mineralizada en forma de cristales de hidroxapatita. La matriz ósea está conformada por una fracción orgánica, cuyo peso representa alrededor de un 25.0 %, y una fracción inorgánica que equivale a un 75.0 % ⁵⁰.

1.4.2.1.1. FRACCIÓN ORGÁNICA

Está constituida por fibras de colágeno tipo I que representan entre un 85.0 y un 90.0 % de la fracción orgánica, las que se encuentran rodeadas por sustancia fundamental interfibrilar. Cada molécula de colágeno está formada por una triple hélice de tres cadenas polipeptídicas α , dos cadenas α_1 y una cadena α_2 , dispuestas sobre un eje común constituyendo una unidad fundamental. Las moléculas de colágeno son sintetizadas en el retículo endoplásmico de los osteoblastos y luego son secretadas a la matriz extracelular donde se organizan y asocian en fibras. Las fibras de colágeno están compuestas por fibrillas de estructura periódica de 500 a 700 Å de grosor que se encuentran íntimamente mezcladas con la fase mineral y se disponen en paralelo en las laminillas óseas,

proporcionando al hueso su estructura laminar.

La sustancia fundamental interfibrilar está compuesta por proteínas adhesivas, como la sialoproteína ósea, la osteopontina, la fibronectina y la vitronectina, que parecen participar en la regulación de la actividad celular y la reconstrucción ósea; las proteínas antiadhesivas, representadas por la trombospondina, la osteonectina y dos pequeños proteoglicanos, la decorina y el biglicán que intervendrían en la proliferación y maduración celular; y las proteínas que contienen ácido γ -carboxiglutámico (GLA), constituida por la osteocalcina, la GLA proteica de la matriz y la proteína S. La osteocalcina es la más abundante de las proteínas no colágenas y parece ejercer un efecto quimiotáctico sobre los precursores de los osteoclastos, interviniendo en la reabsorción ósea.

Además de las proteínas descritas previamente, los osteoblastos sintetizan y secretan factores de crecimiento como TGB- β , IGF-I, IGF-II, FGF, PDGF y BMP, que desempeñan un papel fundamental en la regulación del metabolismo óseo. En resumen, la fracción orgánica está compuesta por proteínas colágenas y no colágenas que le proporcionan un módulo elástico de 1.2 a 2 gigapascales (GPa) ⁵¹⁻⁵³.

1.4.2.1.2. FRACCIÓN INORGÁNICA

Está conformada principalmente por fosfato cálcico de tipo amorfo, relativamente parecido a la hidroxiapatita mineral, que se presenta como pequeños cristales con forma de aguja y estructura hexagonal de 2 a 7 nm. de diámetro y de 5 a 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. Además del fosfato cálcico, existe una pequeña proporción de iones carbonato (CO_3) y sodio (Na).

La cristalización y la relación calcio / fósforo dependen del tipo de hueso, ya sea esponjoso o cortical, y de la edad. Los valores medios porcentuales son de un 35.5 % para el calcio y un 18.5 % para el fósforo y la relación Ca/P es de 1.61.

Las propiedades mecánicas descritas para la hidroxiapatita son una densidad de 3.219 g/cm^3 , un módulo elástico de 40 a 117 GPa, una resistencia a la compresión de 294 a 917 megapascales (MPa) y una resistencia a la tracción de entre 59 y 196 MPa. Por lo anterior, presenta, al igual que el hueso, una mayor resistencia a la compresión que a la tracción.

Las características mecánicas de la fase mineral del tejido óseo dependen de su porosidad, que para el hueso cortical es proporcionada por los canales de Havers y Volkmann y las cavidades de reabsorción, y, para el caso del hueso esponjoso, por los espacios intertrabeculares. Las propiedades mecánicas del tejido óseo varían significativamente de acuerdo a su contenido de agua, existiendo un grado de hidratación crítica, ya que entre 37 y 48 mg H₂O/g. de hueso, el agua puede liberarse de su ligadura a la estructura ósea.

En resumen, las fibras colágenas proporcionan flexibilidad y resistencia a la tensión al tejido óseo, mientras que las sales minerales le confieren dureza, rigidez y resistencia a la compresión. De hecho la estructura del hueso es muy similar a la del hormigón armado, en que las fibras colágenas realizan el papel del entramado de hierro y los minerales, el rol funcional del hormigón ^{54,55}.

1.4.2.2. CÉLULAS ÓSEAS

Son las responsables de producir, mantener y modificar la estructura del tejido óseo. El hueso posee una capa celular continua que se distribuye por todas las superficies de la matriz ósea, la que proviene de dos líneas diferentes, el linaje osteoblástico, del que forman parte los osteoblastos, los osteocitos y las células de revestimiento, y el linaje osteoclástico, conformado por los osteoclastos ⁵⁶.

1.4.2.2.1. OSTEOLASTOS

Son células de forma cúbica, citoplasma basófilo y tienen origen mesenquimático. Derivan de los preosteoblastos, los que a su vez provienen de células precursoras pluripotenciales que también son capaces de diferenciarse en condrocitos, fibroblastos, miocitos y adipocitos. Su citoplasma presenta un retículo endoplásmico rugoso abundante, un aparato de Golgi muy desarrollado y numerosas mitocondrias, que le permiten sintetizar la fracción orgánica de la matriz ósea, es decir, las fibras de colágeno tipo I, las proteínas no colágenas y los factores de crecimiento.

Estas células contienen grandes cantidades de fosfatasa alcalina, enzima que se encuentra en su membrana plasmática y parece ser la encargada de regular la composición de la matriz ósea extracelular, ya sea inhibiendo o favoreciendo el depósito de sales minerales, por lo que desempeñan un importante papel en el control de la mineralización ósea.

Los osteoblastos se disponen en las superficies donde se produce la formación activa de hueso, constituyendo grupos compactos de una capa de espesor con su núcleo ubicado en el extremo más alejado del área donde se asientan. En la superficie externa de los huesos se sitúan en la capa más interna del periostio y en la faz interna se encuentran entre el tejido y la medula ósea. Funcionalmente, no existe diferencia entre los osteoblastos periósticos y endósticos, pero la actividad de los primeros origina cambios en la morfología del hueso, mientras que la de los segundos genera modificaciones en la densidad de la masa ósea.

Estas células también participan en la primera fase de la reabsorción ósea, dado que poseen receptores de superficie para factores endocrinos y paracrinos que los inducen a producir una colagenasa que deja expuesta la matriz ósea mineralizada y también liberan factores que atraen a los osteoclastos. El mecanismo de acoplamiento que liga la proliferación osteoblástica y la formación de hueso con las lagunas de reabsorción osteoclástica es comandado por diversos factores locales de crecimiento.

Los osteoblastos establecen contacto con los osteocitos y las células osteoprogenitoras mediante uniones comunicantes. Se consideran células con diferenciación terminal, es decir, incapaces de dividirse, aunque sí conservan en parte la capacidad de proliferar. Al final de la fase de formación del tejido óseo, los osteoblastos se pueden convertir en osteocitos o células de revestimiento⁵⁷.

1.4.2.2.2. OSTEOCITOS

Son células de aspecto estrellado que se encuentran integradas dentro de la matriz ósea mineralizada, por lo que corresponden a osteoblastos que han experimentado una transformación terminal perdiendo gran parte de sus organelos. Los osteocitos se sitúan en espacios o cavidades elipsoidales denominados lagunas osteocitarias y mantienen contacto entre sí y con las demás células, a través de numerosos canalículos conocidos como conductos calcóforos.

Cada osteocito emite unos 50 procesos o anastomosis celulares que se encuentran envueltos por un fluido rico en proteoglicanos, lo que les permite una participación activa en la transmisión de señales mecanosensitivas y en el intercambio con su microambiente. Cuando los osteocitos quedan incorporados en la matriz ósea, reducen su tamaño en alrededor de un 30.0 % y posteriormente continúan disminuyendo con la edad.

Las células osteoprogenitoras, los osteoblastos, las células de revestimiento y los osteocitos son capaces de actuar como una red funcional, gracias a la presencia de numerosos contactos intercelulares o uniones comunicantes, que permiten el acoplamiento eléctrico y el movimiento libre de iones, moléculas y metabolitos. Estas uniones son latero / laterales y las membranas ostentan una morfología ondulada que proporciona una mayor área de contacto. En el tejido óseo existen comunicaciones entre los diferentes grupos celulares y las células endoteliales de la red vascular ⁵⁸.

1.4.2.2.3. CÉLULAS DE REVESTIMIENTO

Son células aplanadas, con escasos organelos y corresponden a osteoblastos que han concluido la síntesis de matriz ósea, por lo que se encuentran en reposo sobre las superficies óseas inactivas. En el adulto pueden cubrir hasta el 80.0 % de las superficies trabeculares y endocorticales y están separadas del límite mineralizado del hueso por una fina capa de tejido conectivo. Al igual que los osteoblastos, están conectadas entre sí y con los osteocitos mediante uniones comunicantes.

La capa celular de revestimiento constituye una membrana ósea funcional que separa el compartimento óseo de los fluidos intersticiales, se encarga de la comunicación entre la superficie del hueso, el microambiente celular y los osteocitos de la matriz ósea, además regula el intercambio iónico y también produce factores locales que participan en el control de la fase inicial del remodelado óseo. Por efecto de diversos estímulos, estas células dejan libre la superficie del hueso, permitiendo la llegada de los osteoclastos. Las células de revestimiento habitualmente no presentan actividad mitótica, pero al ser estimuladas se pueden transformar de nuevo en osteoblastos ⁵⁶.

1.4.2.2.4. OSTEOCLASTOS

Son células móviles, gigantes, ampliamente ramificadas, que presentan un citoplasma acidófilo, pudiendo contener entre 6 y 50 núcleos y poseen numerosos lisosomas con enzimas proteolíticas. Pertenecen a la familia de los monocitos y macrófagos y derivan de la fusión de los preosteoclastos, que son células mononucleadas, los que, a su vez, provienen de células madres hematopoyéticas. Se disponen sobre las superficies óseas de manera aislada o en grupos poco numerosos y su función principal es el control de la homeostasis del calcio mediante la reabsorción del tejido óseo, luego que este proceso es iniciado por los

osteoblastos. Para ello se desplazan con un movimiento de vaivén, parecido al del cepillo de un carpintero, sobre un territorio varias veces superior a la superficie de la célula, que se denomina dominio osteoclástico.

Los osteoclastos degradan la fracción orgánica de la matriz ósea mediante la producción de dos tipos de enzimas lisosómicas, las cisteinproteinasas, como la fosfatasa ácida tartrato resistente, que funcionan con pH ácido y las metalproteinasas, como la colagenasa, que actúan con un pH más neutro. La reabsorción ósea se desarrolla en dos fases, por lo que primero se solubiliza el mineral y luego se digiere la matriz orgánica, hasta que finalmente los osteoclastos mueren por apoptosis. La comunicación entre los osteoclastos y las demás células óseas se realiza en forma indirecta, mediante intermediarios químicos, factores paracrinós y factores de unión de la matriz ⁵⁹.

1.4.3. BIOMECÁNICA DEL HUESO

El hueso posee una resistencia a la tensión similar a la del hierro, pero es tres veces más ligero y diez veces más flexible. El esqueleto se adapta a su función específica en el organismo tanto respecto a su configuración como a su estructura microscópica. La naturaleza suele seguir, en general, la ley del mínimo, de tal manera que las funciones mecánicas de carga y de protección se consiguen con el mínimo peso y máxima eficacia.

Las distintas cargas que actúan sobre los huesos del esqueleto se encuentran relacionadas con las diversas actividades del individuo, tanto compresivas, como de tracción o de cizalladura. El hueso esponjoso trabaja principalmente a compresión, en cambio, el hueso cortical debe soportar fuerzas de compresión, tracción y cizalladura. En líneas generales, la fase mineral del hueso le confiere su resistencia a la compresión y cizalladura, mientras que el colágeno le proporciona su resistencia a la tracción.

El hueso responde con un patrón característico a las fuerzas aplicadas sobre su superficie, el que depende del tipo de fuerza, densidad, arquitectura y composición del tejido. La primera fase es elástica y genera una deformación temporal que se mantiene mientras actúa la fuerza, para luego recuperar su forma original. Si la fuerza aumenta, se entra en una fase plástica y el hueso, aunque se recupera parcialmente, queda deformado. Por último cuando la fuerza aplicada es superior a la resistencia del tejido se produce la fractura. Las fuerzas que actúan sobre el tejido óseo son tensión, compresión y torsión. Además pueden ser

aplicadas de forma perpendicular a la superficie ósea, como fuerza normal, o de forma oblicua, como fuerza de cizallamiento.

Los huesos largos, formados fundamentalmente por tejido cortical, son elásticos y poco plásticos, por lo que su resistencia es mayor cuando la fuerza se aplica de manera vertical al sentido de la carga. Cuando la fuerza actúa de forma oblicua la fase plástica se acorta y el hueso se fractura con mayor rapidez.

En los huesos integrados por tejido esponjoso, la resistencia es mayor cuando la fuerza se aplica a lo largo de su eje vertical. Estos huesos al ser menos densos, son más plásticos y menos elásticos, por lo que pueden resistir deformaciones mayores. En los huesos esponjosos las fracturas se producen con variaciones de longitud de alrededor de un 7.0 %, en cambio, en los huesos corticales bastan modificaciones de alrededor de un 2.0 %^{48,49,60}.

1.4.3.1. BIOMECÁNICA DEL HUESO ESPONJOSO

El hueso esponjoso se caracteriza por poseer una estructura porosa que se mide mediante la densidad aparente o estructural. Para diferenciar ésta de la densidad de la matriz mineralizada se debe descontar el volumen de los poros de la masa total, de esta forma la densidad aparente es directamente proporcional a la porosidad del hueso. El aumento del área ocupada por los poros implica una disminución de las propiedades mecánicas del hueso.

Cuando el hueso esponjoso es sometido a deformación presenta inicialmente un comportamiento elástico, pero al mantenerse la aplicación de la carga comienza la rotura de algunas trabéculas. Al persistir las fuerzas deformantes se genera un fenómeno de reforzamiento estructural transitorio, previo a la fractura, determinado por el llenado de los poros del hueso aún intactos con los fragmentos de las trabéculas rotas.

La estructura del tejido esponjoso se adapta a la función particular de cada hueso. De esta manera, un hueso más resistente a las sollicitaciones en flexión es el más adecuado para la absorción de energía de impactos, en cambio, en áreas como la epífisis proximal de la tibia el hueso esponjoso presenta mayor resistencia a las sollicitaciones en carga axial. La estructura porosa plena de líquido es la mejor organización y diseño para absorber la energía procedente de los impactos.

Las propiedades del hueso esponjoso dependen de su densidad aparente, por lo que los valores del módulo elástico y resistencia varían con el cubo o el cuadrado de ésta. Así, la densidad del hueso esponjoso oscila entre 0.1 y 1 g/cm³, mientras que la del hueso cortical es de aproximadamente 1.8 g/cm³. Las trabéculas del hueso esponjoso tienen una densidad que fluctúa entre 1.6 y 1.9 g/cm³, muy similar a la del hueso cortical. La magnitud de las propiedades del hueso esponjoso son muy variables, pero los valores medios de su resistencia son de 5 a 10 MPa y su módulo de Young oscila entre 50 a 100 Mpa^{48,49,60}.

1.4.3.2. BIOMECÁNICA DEL HUESO CORTICAL

El hueso cortical es altamente anisotrópico, por lo que su resistencia depende de la orientación de la carga respecto a la dirección de las osteonas. Además, en los huesos largos se admite la existencia de un isotropismo transversal, cuya dirección de referencia es determinada por su eje longitudinal. De esta manera, la resistencia del hueso cortical depende de la dirección y forma en que se aplican las cargas, de modo tal que la resistencia a la compresión es mayor que a la tracción en todas las direcciones. La resistencia a la torsión suele tener un valor de, aproximadamente, un tercio de la correspondiente a la compresión.

Debido a la proximidad entre los límites elástico y plástico del hueso cortical, es muy rara la deformación elástica sin fractura en los huesos maduros. En cambio, en los huesos inmaduros, que tienen menor contenido mineral, es más frecuente la deformación plástica sin rotura ósea. El hueso cortical se muestra más rígido y resistente cuando la velocidad de deformación es mayor, hecho que hace que su módulo elástico varíe hasta en un 15.0 % en función de la actividad física del individuo. La resistencia a la fatiga es moderada y el hueso se encuentra acumulando daño constantemente durante la actividad normal. Por lo tanto, se requiere que se produzca un proceso de remodelación ósea permanente para mantener la integridad estructural del sistema esquelético.

La particular distribución del tejido óseo cortical en los huesos minimiza las tensiones generadas por las cargas fisiológicas que deben soportar. De esta forma, una estructura tubular como la diáfisis femoral es la más adecuada para enfrentar las sollicitaciones en compresión, tracción, flexión y torsión, en cambio, la sección triangular de la diáfisis tibial es óptima para absorber las sollicitaciones en flexión en el plano sagital, que predominan durante la marcha.

Las propiedades mecánicas del hueso cortical varían con la orientación de las fuerzas y para las cargas longitudinales la resistencia a la tracción oscila entre 78.8 y 151 MPa, la resistencia a la compresión entre 131 y 224 MPa y el módulo de Young entre 17 a 20 GPa. Los valores de referencia para las fuerzas transversales corresponden a una resistencia a la tracción entre 51 y 56 MPa, una resistencia a la compresión entre 106 y 133 MPa y un módulo de Young entre 6 y 13 GPa. Los valores de resistencia a la cizalladura oscilan entre 51.1 y 70 MPa y el módulo de cizalladura es de 3.3 GPa^{48,49,60}.

1.4.4. DINÁMICA DEL TEJIDO ÓSEO

El tejido óseo está constituido en su mayor parte por matriz extracelular, sin embargo, es uno de los sistemas más dinámicos del organismo y experimenta fenómenos de crecimiento, modelado, remodelado y reparación⁶¹.

1.4.4.1. CRECIMIENTO ÓSEO

Se inicia en la vida embrionaria y continúa hasta la pubertad por medio de la adición de hueso nuevo a la cara diafisaria de la placa de crecimiento o fisis, que es una estructura con forma de disco que se localiza entre la epífisis y la diáfisis. Su región central está constituida por cartílago hialino en el que se diferencian cuatro capas que se denominan zona germinal, zona proliferativa, zona de cartílago hipertrófico y zona de cartílago calcificado.

La zona germinal, también conocida como capa de reserva o reposo, es la que se encuentra más cerca de la epífisis y está constituida por células cartilaginosas ovales aisladas. En esta capa se observan mitosis y existe una intensa síntesis de matriz extracelular.

La zona proliferativa está conformada por células cartilaginosas cuneiformes cuyo eje mayor es perpendicular al del hueso y se disponen en columnas paralelas a su eje longitudinal. Aquí también se observan mitosis y se verifica una activa producción de matriz extracelular.

En la zona de cartílago hipertrófico los condrocitos maduran y adquieren una forma redondeada y su tamaño aumenta a medida que se alejan de la epífisis.

En la zona de cartílago calcificado la matriz se mineraliza, el núcleo de los condrocitos pierde su cromatina, su citoplasma se vacuoliza hasta que finalmente mueren quedando en

el extremo de cada columna un espacio vacío rodeado por matriz cartilaginosa. Sobre esta matriz los osteoblastos del estroma de la médula diafisaria depositan hueso plexiforme, generando una osificación de tipo endocondral.

La región periférica de la placa de crecimiento se denomina zona de Ranvier y corresponde a un anillo de sección triangular y base externa que rodea la región central de la fisis. Esta zona se encuentra constituida por células inmaduras con diferenciación condroblástica y osteoblástica. Las primeras contribuyen al crecimiento circunferencial de la placa de crecimiento y las segundas colaboran con el incremento longitudinal de la cortical diafisaria.

El crecimiento del espesor del hueso se obtiene mediante la aposición concéntrica subperióstica de tejido óseo. Las células de la capa más interna del periostio se diferencian en osteoblastos que depositan hueso sobre la superficie externa de la cortical diafisaria, a través de una osificación de tipo intramembranoso. El crecimiento óseo depende de factores genéticos y, además, es influido por factores sistémicos y locales.

Los factores sistémicos que intervienen en el crecimiento óseo son de tipo hormonal y corresponden a las hormonas necesarias para el crecimiento, como las hormonas somatotrófica, tiroidea e insulina; hormonas inhibitoras del crecimiento, como el cortisol; hormonas activadoras de la maduración, como las hormonas sexuales; y, por último, la vitamina D y la hormona paratiroidea.

Los factores locales que participan en el crecimiento óseo son de tipo mecánico y nervioso. El resultado de la acción de las fuerzas mecánicas depende de su intensidad, dirección y sentido, de tal forma que las cargas compresivas paralelas a la dirección del crecimiento disminuyen la actividad de la fisis. En cambio, las fuerzas de tracción de pequeña intensidad incrementan levemente el crecimiento, pero si su magnitud es mayor provocan la epifisiodesis prematura. Las fuerzas perpendiculares a la dirección del crecimiento producen un efecto deformante. El sistema nervioso parece actuar controlando el flujo sanguíneo ⁶².

1.4.4.2. MODELADO ÓSEO

En las metáfisis, el crecimiento óseo se asocia a fenómenos de reabsorción en la superficie externa y de formación ósea en la interna, mientras que en las diáfisis ocurre lo contrario. Este proceso se denomina modelado óseo y permite que los distintos huesos conserven su

forma durante el crecimiento. Lo anterior, permite la renovación constante del esqueleto y cuando el modelado se altera pueden generarse deformidades óseas. El modelado está programado genéticamente, pero es probable que los factores mecánicos locales también influyan sobre el mismo. Se considera que la tensión que ejerce el manguito perióstico sobre ambos extremos óseos es un factor que contribuye a que aparezcan osteoclastos sobre la superficie externa del cono metafisario ⁶³.

1.4.4.3. REMODELADO ÓSEO

En el adulto, alrededor de un 8.0 % del tejido óseo se renueva anualmente, cifra que es superior en el joven e inferior en el anciano. Este proceso se realiza mediante la acción sucesiva, o acoplamiento, de osteoblastos y osteoclastos sobre una misma superficie ósea. Cada ciclo de remodelado consta de una fase de reabsorción en que un grupo de osteoclastos erosiona la superficie ósea formando las lagunas de Howship, una fase de reposo o inversión que es un periodo de aparente inactividad y una fase de formación en que los osteoblastos rellenan con hueso nuevo la zona excavada por los osteoclastos, depositando matriz ósea no mineralizada que se denomina osteoide.

El conjunto de osteoclastos y osteoblastos, que de manera coordinada actúan sobre un área ósea durante un ciclo de remodelado, reciben el nombre de unidades multicelulares básicas, las que se activan de manera asincrónica y coexisten en las tres fases. El segmento óseo que resulta de la acción de cada unidad multicelular se denomina unidad estructural ósea. El límite entre el hueso preexistente y la nueva unidad estructural se identifica por una línea ondulada que recibe el nombre de superficie de inversión o de cementación.

En la remodelación del hueso compacto los osteoclastos parten desde los canales de Havers o de Volkmann y excavan túneles cilíndricos, que corresponden a unidades estructurales óseas corticales, llamadas también osteonas. En cambio, en el hueso esponjoso los osteoclastos labran en la superficie de las trabéculas excavaciones poco profundas y de base ancha, razón por la cual las unidades estructurales óseas trabeculares, llamadas también paquetes trabeculares, tienen forma plano convexa.

Se conoce como recambio óseo al volumen total de hueso que es renovado por unidad de tiempo, mediante el remodelado, el que es directamente proporcional al número de unidades multicelulares básicas activas. La diferencia entre el volumen de hueso formado y

reabsorbido por unidad de tiempo se denomina balance óseo y corresponde a la suma del hueso ganado o perdido en cada ciclo de remodelado. Si la reabsorción y la formación son idénticas, el balance es igual a cero y el volumen total, o masa ósea, no varía en el tiempo.

La masa ósea máxima se alcanza a los 30 años de edad y depende de factores genéticos y ambientales. De los 30 a los 40 años el balance óseo es igual a cero y la masa del hueso permanece estable. A partir de los 40 años se instaura un balance negativo y la masa ósea disminuye de manera progresiva. En el hombre, la pérdida ósea se desarrolla a una velocidad constante de un 0.5 % anual, mientras que en la mujer se acelera durante los años de la menopausia. Al inicio de la octava década los hombres han disminuido su masa ósea en un 20.0 % y las mujeres en un 30.0 %.

El remodelado óseo está sometido a un control sistémico que regula el ritmo de activación de las unidades multicelulares básicas y la actividad funcional de las células que las integran, siendo especialmente importantes la hormona paratiroidea y la vitamina D, aunque también intervienen las hormonas tiroideas, los esteroides sexuales, los glucocorticoides, la insulina y la hormona somatotrófica. El control local del remodelado óseo se lleva a cabo a través de diversos factores de crecimiento que son producidos por las células óseas y medulares adyacentes, tales como células hematopoyéticas, linfocitos y macrófagos. Los factores locales intervienen en el control de la actividad funcional de las células de las unidades multicelulares básicas y permiten el acoplamiento de osteoclastos y osteoblastos.

Las células del linaje osteoblástico son capaces de activar a los osteoclastos por medio de la producción de factores locales, contribuyendo al inicio de los ciclos de remodelado. A su vez, factores liberados por los osteoclastos, o por la matriz ósea bajo la acción de éstos, pueden activar a los osteoblastos. Estos fenómenos constituyen el sustrato molecular para el acoplamiento entre la reabsorción y la formación dentro de los ciclos de remodelado. La resistencia del hueso a la fatiga es moderada, por lo que acumula daño constantemente durante la actividad normal, hecho que genera un proceso de remodelación ósea permanente para mantener la integridad estructural del sistema esquelético ⁶⁴.

1.4.4.4. REPARACIÓN O CONSOLIDACIÓN ÓSEA

El tejido óseo es el único capaz de repararse a sí mismo de manera completa por medio de la reactivación de los procesos que tienen lugar durante su embriogénesis. Cuando un

hueso es sometido a fuerzas que superan su resistencia mecánica se origina su fractura, desencadenándose el proceso de consolidación o reparación ósea, que tiene como objetivo restablecer la estructura tisular y las propiedades mecánicas originales.

La consolidación comienza con la estabilización otorgada por los callos periósticos y endósticos, proceso que restablece la continuidad de los extremos fracturarios. Cuando la fractura es manejada en condiciones de estabilidad óptima por medio de la reducción anatómica y compresión interfragmentaria no se forma el callo perióstico, denominándose a este proceso consolidación primaria. La siguiente fase corresponde al establecimiento de una unión ósea entre los fragmentos fracturarios. Si durante este periodo la fractura carece de condiciones de estabilidad, se puede generar una pseudoartrosis hipertrófica, debido a la persistencia de tejido fibroso. Sin embargo, el proceso tolera un pequeño margen de movimiento, que es capaz de estimular la consolidación ósea. En la fase final del proceso de reparación el tejido óseo neoformado experimenta fenómenos de remodelación que se mantienen hasta conseguir la resistencia inicial del hueso lesionado.

Los factores que favorecen la consolidación son la presencia de fracturas en áreas de hueso esponjoso, la estabilización correcta, el procedimiento de transporte óseo, los injertos óseos, los biomateriales sustitutivos del tejido óseo, la matriz ósea desmineralizada, los factores de crecimiento, las células de la medula ósea, el traumatismo craneoencefálico concomitante, los campos eléctricos, el oxígeno hiperbárico, el ejercicio físico, la hormona somatotrófica, las hormonas tiroideas, la calcitonina, la insulina, las vitaminas A y D, los esteroides anabolizantes, el condroitinsulfato y la hialuronidasa, entre muchos.

Los factores que dificultan la consolidación son la ocurrencia de fracturas en hueso de tipo cortical, el compromiso de los tejidos blandos en las fracturas expuestas o por alta energía, las lesiones articulares, las fracturas en hueso patológico, la interposición de tejidos blandos, la desvascularización extensa o el aporte sanguíneo precario, la manipulación tardía, la edad avanzada, la infección, la malnutrición, el tratamiento con corticoides, la diabetes mellitus, la anemia, el uso de cera ósea, la denervación y los anticoagulantes, entre otros.

La consolidación ósea se desarrolla en tres etapas secuenciales que se superponen en el tiempo, que corresponden a las fases de inflamación, reparación y remodelación^{48,65}.

1.4.4.4.1. FASE DE INFLAMACIÓN

Los traumatismos causantes de las fracturas lesionan las células, vasos sanguíneos y matriz del tejido óseo y también comprometen los tejidos adyacentes como periostio y músculos. De esta forma, se establece un hematoma fracturario que es la base del proceso de consolidación. La lesión vascular interrumpe el aporte sanguíneo a los osteocitos y por ello en los extremos fracturarios no se encuentran células vivas. Los mediadores de la inflamación liberados por las plaquetas y demás células lesionadas provocan vasodilatación y la aparición de un exudado plasmático que lleva al edema agudo.

Entre las células inflamatorias que migran al foco de fractura se encuentran leucocitos polimorfonucleares, macrófagos y linfocitos. En la medida que disminuye la reacción inflamatoria, el tejido necrótico y el exudado plasmático son reabsorbidos y los osteoblastos se encargan de producir una nueva matriz ósea ^{48,66}.

1.4.4.4.2. FASE DE REPARACIÓN

El proceso de consolidación es estimulado por factores quimiotácticos liberados en la fase previa, las proteínas de la matriz expuestas por la desorganización tisular y los factores eléctricos. La organización del hematoma de fractura proporciona un soporte de fibrina que facilita la migración celular, proliferación y síntesis de matriz ósea. En este estado evolutivo el microambiente a nivel del foco fracturario es ácido, pero en la medida que el proceso avanza el pH se va alcalinizando progresivamente, de este modo, la fosfatasa alcalina alcanza su nivel de actividad óptimo, favoreciendo la mineralización del callo óseo.

Cuando los extremos fracturarios se necrosan son reabsorbidos por los osteoclastos, lo que permite que los vasos periósticos aporten los brotes vasculares que inician la reparación. Las células mesenquimáticas pluripotenciales del foco de fractura y del torrente sanguíneo son las responsables de la neoformación ósea. La composición del callo óseo se modifica a medida que progresa la consolidación, de tal forma que las células sustituyen el coágulo de fibrina por una matriz fibrosa que contiene colágeno tipo I y III, proteoglicanos y glicosaminoglicanos. Luego el tejido fibroso se transforma en fibrocartílago que presenta un importante contenido de colágeno tipo II, proteoglicanos específicos y proteínas de unión. Posteriormente, se produce la mineralización de la matriz ósea con un aumento de la concentración de colágeno tipo I, fosfatasa alcalina y proteínas no colágenas, proceso que concluye con la osificación de la masa fusiforme del callo que envuelve los extremos fracturarios, el que contiene cantidades crecientes de hueso inmaduro ^{48,67}.

1.4.4.4.3. FASE DE REMODELACIÓN

Corresponde a la última fase del proceso de reparación o consolidación en que se sustituye el hueso inmaduro del callo óseo por hueso laminar. Una vez que se ha reemplazado todo el hueso neoformado, el proceso de remodelación continúa con la reabsorción de las trabéculas mal orientadas por parte de los osteoclastos y su sustitución por otras nuevas adaptadas a las líneas de fuerza. Cuando la remodelación del callo óseo concluye completamente, se recuperan las propiedades mecánicas originales del hueso comprometido ^{48,61,67}.

1.5. DEFECTOS ÓSEOS

Los defectos óseos se pueden clasificar en tres grupos, teniendo en consideración que sus distintas características pueden combinarse entre sí ⁶⁸.

Respecto a su forma y tamaño existen:

- Defectos óseos cavitarios
- Defectos óseos segmentarios

De acuerdo con su localización anatómica tenemos:

- Defectos óseos epifisarios
- Defectos óseos metafisarios
- Defectos óseos diafisarios

En relación con el tipo de tejido óseo involucrado encontramos:

- Defectos óseos esponjosos
- Defectos óseos corticales

1.5.1. DEFECTO ÓSEO CAVITARIO

Ausencia localizada de tejido óseo que respeta la continuidad anatómica del hueso. Estos defectos pueden tener origen tumoral como el quiste óseo simple; infeccioso, como la osteítis; metabólico, como el pseudoquiste hemofílico; o posquirúrgico, como posrecambio protésico. Algunas fracturas y pseudoartrosis también pueden comportarse como defectos óseos cavitarios.

En este trabajo de investigación hemos seleccionado como modelo experimental el defecto óseo cavitario esponjoso metafisario descrito por Katthagen en 1986, el que reúne las siguientes características:

- Su realización es sencilla y rápida, por lo cual la intervención quirúrgica de los animales de experimentación presenta una escasa incidencia de complicaciones infecciosas.
- No compromete la continuidad del hueso, por lo que resulta innecesaria la estabilización con materiales de osteosíntesis, dado que estos podrían introducir sesgos en los resultados.
- La técnica quirúrgica es fácilmente reproducible, pues los defectos creados son siempre idénticos.
- El estudio de los resultados es sencillo, pues este modelo experimental facilita las proyecciones radiológicas, el análisis histológico y el estudio histomorfométrico ⁶⁹.

1.5.2. DEFECTO ÓSEO SEGMENTARIO

Falta de tejido óseo que provoca una solución de continuidad anatómica del hueso. Estos defectos pueden tener origen traumático como ocurre con la mayoría de las fracturas conminutas, tumoral por lesiones malignas, posquirúrgico como los grandes defectos óseos encontrados en los recambios protésicos y por pseudoartrosis.

1.5.3. DEFECTO ÓSEO ESPONJOSO EPIFISARIO

Ausencia de tejido óseo esponjoso a nivel de la epifisis del hueso, que puede ser de origen tumoral o postraumático.

1.5.4. DEFECTO ÓSEO ESPONJOSO METAFISARIO

Falta de hueso a nivel de la metafisis, que es un área anatómica muy rica en tejido óseo esponjoso. Suelen tener origen postraumático, como en el caso de las fracturas con hundimiento trabecular, o tumoral.

1.5.5. DEFECTO ÓSEO CORTICAL DIAFISARIO

Ausencia de un fragmento de cortical de la diáfisis de un hueso largo, cuyo origen puede ser posquirúrgico, como en el caso de defectos secundarios a recambios protésicos, o tumoral, como en las metástasis diafisarias.

1.6. SUSTITUTIVOS ÓSEOS

Corresponden a los tejidos y materiales que se emplean para solucionar diferentes defectos óseos, con el objetivo de lograr la regeneración del hueso. Existen dos tipos fundamentales, los injertos óseos y los biomateriales ^{1,15-17,30,32,38,70-72}.

1.6.1. INJERTOS ÓSEOS

Fragmentos de tejido óseo que se implantan en una parte del esqueleto para reparar una lesión ósea específica ^{2,37,73}.

1.6.1.1. TIPOS DE INJERTOS

Los injertos óseos se clasifican de acuerdo con su origen y las características del receptor, de tal manera que los diferentes tipos quedan definidos por la relación genética existente entre el donante y el receptor ^{74,75}.

1.6.1.1.1. AUTOINJERTO

Corresponde al injerto óseo obtenido del propio individuo, siendo considerado como el sustitutivo óseo que posee las mejores características biológicas. Lo anterior, debido a que ostenta las propiedades de osteoconducción, osteoinducción, osteogénesis y soporte estructural, complementadas con la ausencia de problemas de histocompatibilidad y riesgos de transmisión de enfermedades.

Los principales inconvenientes del autoinjerto óseo son su disponibilidad limitada y la problemática asociada con su obtención, es decir, afectación de estructuras anatómicas indemnes, morbilidad quirúrgica añadida, prolongación del tiempo quirúrgico, riesgo de infección y dolor posoperatorio.

El autoinjerto óseo esponjoso posee el mayor poder osteogénico entre todos los implantes empleados para el relleno óseo, debido a su capacidad para promover una neoformación ósea progresiva que no requiere pasar por el estadio de reabsorción osteoclástica necesario para la incorporación de los aloinjertos, por lo que constituye el material de referencia con el que se comparan todos los sustitutos óseos ^{6-8,37,73-75}.

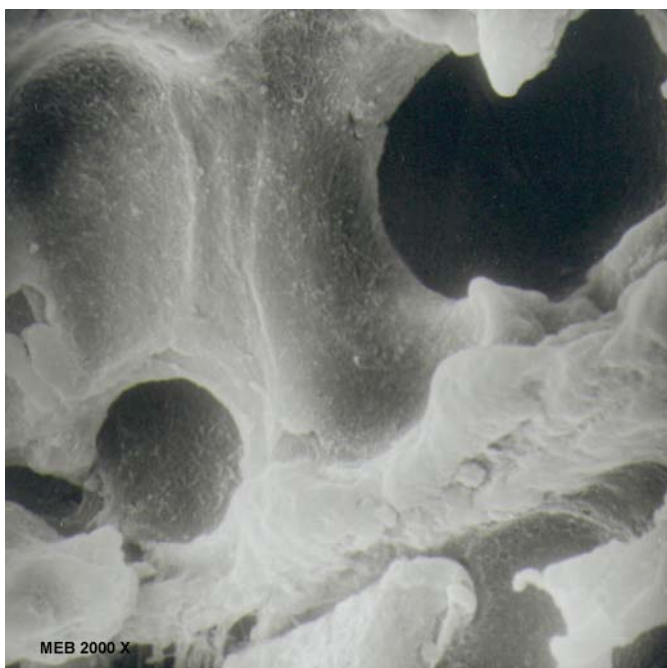


Figura 1. Microestructura del autoinjerto óseo esponjoso.

1.6.1.1.2. ALOINJERTO

Injerto extraído de un donante que se implanta en un receptor perteneciente a la misma especie, pero con distinto genotipo. Se puede obtener de donantes vivos, como en el caso de las cabezas femorales extraídas en las artroplastías de cadera, de donantes multiorgánicos o de donantes de tejidos. Para su conservación se pueden emplear los métodos de congelación, criopreservación o liofilización.

Entre las ventajas de los aloinjertos destacan su amplia disponibilidad, que depende de la oferta de los bancos de tejidos, su reducida inmunogenicidad y su buena tolerancia por parte del receptor. Sin embargo, presentan como inconvenientes un comportamiento biológico inferior al del autoinjerto óseo, un elevado costo de mantenimiento, el riesgo de infección, una mayor incidencia de fracturas y la posibilidad de transmisión de enfermedades como SIDA, hepatitis, leucemia, tuberculosis, sífilis, cáncer y encefalopatía de Creutzfeldt-Jakob, entre otras.

Sus propiedades mecánicas y biológicas son variables y dependen de los sistemas de conservación y esterilización empleados previamente. Se utilizan principalmente en forma de injertos libres, ya sean esponjosos, corticales o corticoesponjosos, para el tratamiento de variados defectos óseos segmentarios o cavitarios ^{13,14,25,37,76-82}.

1.6.1.1.3. ISOINJERTO O INJERTO SINGÉNICO

Injerto que se obtiene e implanta entre individuos genéticamente idénticos, como es el caso de los gemelos univitelinos o animales de laboratorio procedentes de un mismo ovocito ⁸³.

1.6.1.1.4. XENOINJERTO O HETEROINJERTO

Injertos que se implantan entre individuos de especies diferentes. Son el centro de interés de muchos estudios debido a que se pueden conseguir con facilidad, sin embargo, su capacidad inmunogénica, tanto de las células como de la matriz orgánica, limita su utilización y hace necesaria su desprotección.

Existen diferentes preparados de heteroinjertos óseos disponibles, siendo los más conocidos los huesos de Kiel y Oswestry. Presentan las mismas ventajas que los aloinjertos, pero carecen de capacidad osteoinductora y, debido a los procesos de conservación y esterilización, sus propiedades biomecánicas son deficientes ⁸⁴.

1.6.1.1.5. INJERTO ÓSEO VASCULARIZADO

Injerto óseo que conserva su irrigación sanguínea y se implanta en el sitio receptor mediante técnicas microquirúrgicas de anastomosis vascular. En rigor se trata de un trasplante óseo y habitualmente corresponde a un autoinjerto.

En 1975 se publica el primer caso clínico de injerto óseo vascularizado realizado con éxito, luego de transplantar un segmento de peroné para tratar una gran solución de continuidad tibial de la extremidad inferior contralateral. Dos años después, se da a conocer un resultado similar empleando una costilla vascularizada para la resolución de un defecto mandibular. También se han realizado estudios experimentales que han utilizado aloinjertos óseos vascularizados, no obstante, estos son susceptibles de presentar rechazo ^{11,12}.

1.6.1.2. CONSERVACIÓN DE LOS ALOINJERTOS

Luego de la obtención de los aloinjertos óseos estos deben conservarse correctamente hasta ser distribuidos para su utilización clínica. Para lo anterior se emplean tres métodos principales ^{13,14,85}.

1.6.1.2.1. CONGELACIÓN

Es el proceso más utilizado para almacenar aloinjertos en los bancos de tejidos y consiste en la conservación de las piezas óseas a temperaturas que oscilan entre - 20 y - 190° C. La hipotermia es el método más sencillo para enlentecer la actividad enzimática de las colagenasas y proteasas, lo que permite disminuir la inmunogenicidad de los aloinjertos. Sin embargo, con este método de almacenamiento el tejido óseo sólo se puede mantener por un tiempo limitado, dado que no evita el daño celular producido por el frío al ser incapaz de detener los fenómenos enzimáticos celulares ⁸⁶.

1.6.1.2.2. CRIOPRESERVACIÓN

Método de congelación gradual de los aloinjertos que emplea sustancias crioprotectoras como el dimetilsulfóxido (DMSO) o el glicerol. Tiene especial utilidad para conservar piezas óseas con cartílago, dado que los condrocitos sobreviven a este proceso. Existen diferentes curvas de criopreservación adecuadas para los variados tipos de tejido que se requiere conservar.

Los crioprotectores tienen como objetivos evitar que las células lleguen al volumen mínimo crítico, reducir el riesgo de cristalización intracelular, modificar la naturaleza del gel extracelular y evitar las hiperconcentraciones salinas intracelulares ⁸⁷.

1.6.1.2.3. LIOFILIZACIÓN

Proceso que consiste en la deshidratación de tejidos previamente congelados mediante el vacío, de manera tal que el agua que ha sido convertida en hielo pasa directamente del estado sólido al gaseoso, sin fase de vapor, quedando una cantidad de agua residual que oscila entre un 5.0 y un 8.0 %.

Los cambios inducidos por la liofilización en los aloinjertos óseos se deben al efecto de la congelación, que produce necrosis celular para disminuir la inmunogenicidad y hace que estos tejidos no sean osteogénicos.

Esta técnica se utiliza para conservar aloinjertos y xenoinjertos a temperatura ambiente durante largos períodos. Sin embargo, presenta como inconvenientes la disminución de la

resistencia mecánica de los tejidos y la pérdida de su capacidad osteoinductiva cuando han sido esterilizados con radiaciones ⁸⁸.

1.6.1.3. ESTERILIZACIÓN

Los procedimientos de esterilización deben ser efectivos para la erradicación de bacterias, hongos y virus, para que de esta forma los aloinjertos se puedan utilizar en forma segura en la clínica. Para ello se emplean dos métodos principales ⁸⁹.

1.6.1.3.1. IRRADIACIÓN

Se realiza por medio de la aplicación de rayos gamma procedentes del cobalto 60, que poseen una excelente penetración en el tejido óseo, lo que permite irradiar uniformemente el interior de los aloinjertos. Es el método de esterilización que se utiliza con más frecuencia y su objetivo es la obtención de tejidos que posean un aceptable margen de seguridad y cambios mínimos en su estructura y comportamiento. Se ha descrito que la irradiación disminuye las propiedades osteoinductivas y las características biomecánicas de los aloinjertos ⁹⁰.

1.6.1.3.2. ÓXIDO DE ETILENO

Es un gas alquilante que tiene la capacidad de inactivar cualquier microorganismo, incluyendo bacterias, esporas y virus. Sin embargo, tiene como inconvenientes la reducción de la capacidad osteoinductora del aloinjerto óseo, la toxicidad de sus residuos para el receptor del tejido esterilizado, la posibilidad de generar accidentes al personal encargado de su manipulación y la potencial oncogenicidad en humanos. Lo anterior, ha desaconsejado su utilización como método de esterilización de los tejidos musculoesqueléticos ^{91,92}.

1.6.1.4. FUNCIONES DE LOS INJERTOS ÓSEOS

Para cumplir integralmente la condición de osteosustitutivos los injertos óseos deben ser capaces de proporcionar las funciones de osteoconducción, osteoinducción, osteogénesis y soporte estructural. El único sustitutivo óseo que ostenta estas cuatro propiedades es el autoinjerto óseo ⁹³.

La osteoconducción corresponde a la aportación de una estructura capaz de guiar la neoformación y aposición ósea.

La osteoinducción es la capacidad de promover la síntesis de matriz ósea mineralizada mediante el reclutamiento de células osteoformadoras.

La osteogénesis se genera con el aporte de tejido óseo que contenga células osteoformadoras vitales.

La función de soporte estructural es proporcionada conjuntamente por el tejido óseo implantado y el hueso neoformado.

1.6.1.5. INCORPORACIÓN DE LOS INJERTOS

Corresponde al proceso dinámico simultáneo de reabsorción de hueso necrótico y de neoformación ósea. La integración de los injertos óseos se puede definir como el proceso de interdigitación y englobamiento del hueso del donante por el nuevo tejido óseo que forma el receptor, y tiene muchas semejanzas con la reparación o consolidación de las fracturas.

En general la incorporación de los injertos óseos se produce en cinco fases:

- Fase I: Corresponde a una fase de inflamación y proliferación celular en el lecho receptor, proceso que involucra desde minutos hasta horas.
- Fase II: Se produce la osteoinducción, hecho que transcurre entre uno y cuatro días.
- Fase III: Comienzan a aparecer los osteoblastos que se encargan de la síntesis de matriz ósea, este proceso se produce entre los cuatro y siete días.
- Fase IV: Se desarrollan los fenómenos de osteoconducción que generan la revascularización y la neoformación ósea, hecho que involucra meses.
- Fase V: Se produce la remodelación del hueso neoformado influenciada por diferentes factores mecánicos, proceso que puede tardar desde uno a diez años^{37,94}.

1.6.1.5.1. INCORPORACIÓN DE LOS AUTOINJERTOS

Durante la primera semana se produce la formación de un coágulo sanguíneo en el lecho receptor, el injerto experimenta una respuesta inflamatoria y es invadido por capilares desde la periferia. En la segunda semana aparece tejido fibroso de granulación y disminuyen las

células inflamatorias. La revascularización del injerto comienza a las pocas horas de la implantación y puede estar terminada a las dos semanas.

A medida que se produce la invasión vascular, las células mesenquimáticas primitivas se van diferenciando a células osteogénicas por un proceso de inducción celular. Las células osteoformadoras se diferencian inicialmente en osteoblastos que recubren las trabéculas necróticas depositando un ribete de osteoide. Luego, los osteoclastos reabsorben el hueso necrótico, el que posteriormente es sustituido por hueso neoformado.

La diferencia histológica más importante entre la incorporación del hueso esponjoso y el cortical, es que, en este último, el proceso de revascularización es más lento. La fragmentación del hueso cortical aumenta la superficie expuesta, favoreciendo la revascularización y, por lo tanto, puede mejorar la incorporación del injerto ^{25,37,94}.

1.6.1.5.2. INCORPORACIÓN DE LOS ALOINJERTOS

Histológicamente el aloinjerto corresponde a un hueso necrótico, por lo que su proceso de incorporación puede demorar entre 1 y 2 años para llegar a formar un tejido óseo con características similares al hueso normal. Lo anterior, implica que la penetración vascular, los procesos de inducción y la formación ósea se presentan más tardíamente que con los autoinjertos. Además, la reacción inflamatoria es mayor y los aloinjertos son reconocidos como extraños por el receptor, desencadenando reacciones de inmunidad celular y humoral. Esto, hace que el proceso de incorporación sea más lento, o incompleto, aunque no implica que el aloinjerto sea rechazado. Por otro lado, los sistemas de conservación previos modifican las propiedades biológicas y mecánicas del aloinjerto óseo.

La respuesta histológica inicial del receptor frente al aloinjerto es similar a la que se presenta ante el autoinjerto. La osteogénesis comienza a partir de la cuarta semana, pero es cuantitativamente menor a la que genera el injerto autólogo. De esta forma, la revascularización de un aloinjerto a los ocho meses de su implantación es inferior que la del autoinjerto óseo un mes después de la intervención.

El proceso de incorporación del aloinjerto congelado a - 40° C es más lento que el del autoinjerto, mientras que los aloinjertos criopreservados a - 190 ° C muestran una escasa capacidad neoformadora ósea ^{25,37,74,94}.

1.6.2. BIOMATERIALES

Corresponden a todos los materiales destinados a estar en contacto con los sistemas biológicos con el objetivo de tratar, aumentar o sustituir un tejido, órgano o función del organismo. El implante de un biomaterial genera la reacción de los tejidos vivos receptores, produciéndose un proceso inflamatorio de cuantía variable que concluye con la cicatrización. En la reacción de los tejidos también influyen los productos de corrosión, degradación o abrasión del material implantado ^{3,34,48,49,95}.

La respuesta de los tejidos puede favorecer la incorporación del material o acelerar la regeneración de una lesión. Este es el caso de los implantes de cementos óseos y vidrios bioactivos basados en fosfatos de calcio en que los biomateriales interactúan directamente con los componentes del tejido óseo y el proceso resultante permite la reparación del defecto óseo ^{18-24,27}.

El estudio preclínico de cualquier biomaterial debe considerar la valoración de los siguientes aspectos:

- Las características físico-químicas del material, tales como, composición, densidad, microestructura, propiedades termodinámicas, entre otras.
- Las propiedades mecánicas principales como elasticidad, resistencia y dureza.
- La estimación en un banco de pruebas del desgaste, fricción, fatiga, corrosión y envejecimiento del biomaterial.
- La evaluación biológica, que comprende el estudio de la biocompatibilidad del material.

Previo al empleo de cualquier biomaterial en la clínica humana es fundamental determinar su biocompatibilidad. Este concepto hace referencia al grado de aceptación de un material por parte del organismo y se denomina más precisamente aceptabilidad biológica ⁴⁹.

La bioaceptabilidad puede estudiarse evaluando los siguientes eventos:

- La interacción entre los biomateriales y tejidos receptores.
- La reacción resultante de la degradación del material.
- Los factores mecánicos involucrados.

El objetivo principal de los estudios de biocompatibilidad es analizar las posibles respuestas adversas, tales como, inflamación, pirogenicidad, toxicidad sistémica, sensibilización, mutagenicidad, carcinogenicidad y reacción a partículas extrañas. Además, estos ensayos

permiten determinar el comportamiento y actuación de los nuevos materiales. El riesgo biológico de la utilización de los biomateriales depende de la sustancia utilizada, de su actividad específica, de la cantidad implantada y de la frecuencia y/o del tiempo de exposición. La información debe obtenerse en las condiciones más parecidas posibles a su posterior uso en la clínica humana, hecho en que cumplen un importante rol los diferentes modelos animales que permiten investigar la eficacia de los nuevos biomateriales ³¹.

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

- Factores químicos: La composición del material determina en gran medida su potencial toxicidad. Por ejemplo, los polímeros pueden ser tóxicos por sí mismos o por la acción de sus productos de degradación.
- Factores eléctricos: Las corrientes de polarización anódica o catódica que presentan los metales condicionan su corrosión. Por ejemplo, la polarización anódica provoca la disolución de iones metálicos en el organismo.
- Factores superficiales: La superficie de un material puede tener características hidrofílicas o hidrofóbicas, lo que condiciona la aptitud de las proteínas para la adsorción y, secundariamente, su tolerancia. En general, los materiales de superficie hidrófila son mejor tolerados.
- Factores mecánicos: Las interacciones en la interfaz entre el tejido y el biomaterial condicionan la respuesta tisular. Es el caso de los implantes intraóseos en que se puede producir la formación de tejido fibroso mediado por fuerzas de tracción o de cizallamiento, o de tejido óseo, por interacción de compresión.
- Factores geométricos: La respuesta a un mismo material depende de la granulometría, geometría y cantidad de éste, de tal manera que la reacción es distinta si la formulación es compacta o particulada. En general, el implante en forma de partículas genera una respuesta cuantitativamente mayor ⁴⁹.

1.6.2.1. EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA TISULAR

Los estudios relacionados con los biomateriales deben considerar la evaluación de cuatro fenómenos:

- Procesos iniciales en la superficie del material.
- Corrosión y degradación del biomaterial.
- Respuesta local.
- Respuesta sistémica.

La interacción entre un biomaterial y el tejido receptor origina una respuesta local similar a la provocada por un traumatismo o infección. La respuesta es variable, pero, en general, comienza con una reacción inflamatoria aguda, continúa con una respuesta inflamatoria crónica y concluye con un proceso de reparación.

Luego de la implantación de un biomaterial se produce una fase inflamatoria aguda caracterizada por vasodilatación, incremento del flujo sanguíneo, aumento de la permeabilidad capilar, extravasación sanguínea, estasis venoso y elevación de la presión local. Lo anterior, facilita la migración al lugar de la injuria de leucocitos y proteínas plasmáticas, por mediación de la histamina, predominando los neutrófilos en las primeras 6 a 24 horas. Posteriormente, los mecanismos de quimiotaxis generan la aparición de monocitos mononucleares, correspondientes a los macrófagos, que se encargan de la fagocitosis de partículas del biomaterial. Esto indica que todo biomaterial es considerado como un cuerpo extraño por el organismo y la respuesta a su implantación puede terminar alterando su funcionamiento.

Seguidamente, se presenta un proceso inflamatorio crónico que genera una respuesta más proliferativa con la presencia de macrófagos, células plasmáticas y linfocitos, incluso los primeros se pueden fusionar para aumentar su eficacia dando origen a células gigantes multinucleadas.

Finalmente, en la fase de reparación, el tejido de granulación da lugar a un tejido fibroso, donde predominan los fibroblastos fusiformes y el colágeno denso, conformando una matriz extracelular pobremente vascularizada. Este tejido de aspecto cicatricial se puede encontrar después de la implantación de diferentes materiales.

La respuesta tisular frente a los biomateriales se analiza habitualmente por medio de la histología, por lo que los estudios experimentales comparativos deben estandarizar el tamaño, forma y superficie de los implantes a utilizar.

En las pruebas básicas de biocompatibilidad se suelen utilizar como modelos experimentales la rata y el conejo. La rata es especialmente útil para realizar estudios con gran número de animales, dada su fortaleza y tolerancia a variados tipos de cirugía. La única desventaja es su reducido tiempo de vida, que oscila entre 18 a 24 meses, de ahí que para estudios más prolongados se prefiere a los conejos que son más longevos.

Las áreas más comunes de implantación de biomateriales son las zonas intramuscular y subcutánea, cada una de las cuales tiene sus ventajas e inconvenientes. La implantación intramuscular tiene como desventaja la potencial migración del material mediado por las contracciones, mientras que la subcutánea presenta como dificultad el posible cizallamiento del implante por la musculatura subyacente.

La implantación debe realizarse de preferencia en forma bilateral y contar con un mínimo de dos animales por cada biomaterial y periodo de estabulación. Luego de la eutanasia farmacológica se efectúa la remoción meticulosa del material para su análisis, cuidando especialmente el tejido que lo rodea, dado que su estudio es primordial para interpretar correctamente la respuesta tisular.

Posteriormente, se puede proceder al estudio histológico convencional y por histoquímica enzimática. Esta última técnica permite evaluar la actividad de las células situadas alrededor del biomaterial y los cambios metabólicos inducidos por el implante, determinando los niveles de fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, esterasa no específica, leucina aminopeptidasa y deshidrogenasa. De esta forma, se puede obtener información relativa a los efectos más sutiles de los materiales que pueden tener relación con su potencial toxicidad ⁴⁹.

1.6.2.2. ESTUDIO DE LA BIOCOMPATIBILIDAD

En la Unión Europea y los Estados Unidos de América diversos organismos se encargan de estandarizar las pruebas destinadas a los estudios de biocompatibilidad y publican las normas para controlar su proliferación. En Francia existe la AFNOR (Association Française de Normalisation), en el Reino Unido la BS (British Standards), en Alemania la DIN (Deutsches Institut für Normung) y en España la AENOR (Asociación Española de Normalización). Se han creado también organismos comunitarios, entre los que destaca ISO (Internacional Organization for Standardization). El comité técnico ISO TC-194, constituido por 12 grupos de trabajo, es el encargado de la evaluación biológica de los biomateriales y el expediente que los norma se denomina ISO 10993.

En Estados Unidos de América funciona la American Society for Testing and Materials, que se ocupa del desarrollo y regulación de materiales, productos, sistemas y servicios. Uno de sus subcomités se ha encargado de la publicación de la primera estandarización de

pruebas para estudios de biocompatibilidad (Recommended Practice for Experimental Testing for Biological Compatibility of Metals for Surgical Implants).

La tendencia actual en el estudio de la biocompatibilidad, es la realización de una serie de pruebas biológicas que dan como resultado final el denominado Índice de Respuesta Acumulativa. Las cinco pruebas fundamentales son cultivos celulares, implantación tisular, prueba de hemólisis, irritación cutáneo-mucosa y prueba de sensibilización ⁴⁹.

1.6.2.2.1. CULTIVOS CELULARES

El comportamiento de las células en la interfaz entre el tejido y el material permite definir la aceptabilidad biológica y la biofuncionalidad de éste último. Los cultivos celulares determinan tres niveles de biocompatibilidad:

- No biocompatible: Cuando el sistema celular se desdiferencia.
- Biocompatible: Si las estructuras y funciones celulares específicas se mantienen en calidad y cantidad.
- Bioactivo: Cuando el material estimula la diferenciación celular.

Una de las técnicas más utilizadas es la conocida como Agar Overlay, que se aplica en cultivos de fibroblastos, la que está diseñada para detectar la respuesta producida por el biomaterial sobre cultivos celulares.

1.6.2.2.2. IMPLANTACIÓN TISULAR

La respuesta tisular frente a la implantación de un biomaterial depende del modelo animal, la geometría del implante y el lugar y tiempo de inserción. El estudio se puede realizar a nivel intraperitoneal, intramuscular, especialmente en la región paravertebral, o en el tejido subcutáneo.

El ensayo más utilizado es la Prueba Muscular en Conejos que contempla 12 criterios histológicos de respuesta tisular para determinar la toxicidad de un material. Luego de la escisión del implante se estudian la necrosis, la inflamación, los leucocitos polimorfonucleares, los macrófagos, los linfocitos, las células plasmáticas, las células gigantes, los cuerpos extraños, la fibroplasia, la fibrosis, la infiltración y las áreas de involución. Actualmente, se preconiza la realización de estudios de histomorfometría, pues hacen posible la obtención de resultados cuantitativos para evaluar la reacción tisular ⁶⁴.

1.6.2.2.3. PRUEBA DE HEMÓLISIS

Permite la valoración *in vitro* de las propiedades hemolíticas de los biomateriales en estudio o extractos de éste, los que son puestos en contacto con sangre de conejo, ya sea en condiciones estáticas o dinámicas, determinando el aumento de hemoglobina libre.

1.6.2.2.4. PRUEBA DE SENSIBILIZACIÓN

Está diseñada para estudiar el potencial de una sustancia o extracto de material, para producir una reacción de tipo alérgico en contacto con la piel. Para ello se emplea el conejillo de indias y se valora la reacción cutánea a las 24, 48 y 72 horas.

1.6.2.2.5. PRUEBA DE IRRITACIÓN CUTÁNEA

Esta prueba se realiza en conejos y sirve para estudiar la irritación que produce un biomaterial al ponerse en contacto con la piel, valorando la aparición de eritema o edema.

1.6.2.3. COMPORTAMIENTO MECÁNICO

El comportamiento de un material sometido a una carga mecánica depende de cuatro propiedades básicas: elasticidad, plasticidad, fractura y viscosidad. Las propiedades que describen el comportamiento mecánico se definen a través de ecuaciones constitutivas, que son tan numerosas como diversos los materiales desarrollados. Sin embargo, algunas simples relaciones entre tensión y deformación proporcionan una adecuada descripción de las propiedades mecánicas de muchos materiales.

Cuando se aplica una fuerza a un cuerpo, éste responde con una deformación directamente proporcional, por lo tanto, la fuerza aplicada siempre hace referencia a la unidad de área sobre la cual actúa. Este corresponde al concepto de tensión o esfuerzo, es decir, la fuerza por unidad de área y se expresa en MPa. La deformación generada es la relación entre el tamaño inicial y final, expresada en porcentaje.

Considerando lo anterior, se definen cuatro tipos de sollicitaciones mecánicas diferentes:

- Axial, de compresión o de tracción. Estas producen deformaciones de acortamiento o alargamiento, de acuerdo con el sentido de la fuerza.

- Tangencial o de cizallamiento. Provoca deformaciones de deslizamiento.
- Flexión. En este caso, la resultante de las fuerzas no coincide con el eje del material y la magnitud del momento de flexión depende de la fuerza aplicada y de la distancia que la separa de éste. Casi todos los huesos están sometidos a estas sollicitaciones, las que generan deformaciones de acortamiento en un costado del eje y de alargamiento en el otro.
- Torsión. Cuando la resultante de las fuerzas tangenciales a una sección no pasa por su eje de simetría, se produce un momento de torsión que intenta hacer girar esta sección respecto a la inmediatamente contigua, provocando deformaciones angulares ⁴⁹.

1.6.2.3.1. ELASTICIDAD

Muchos materiales poseen un comportamiento linealmente elástico que sigue la ley de Hooke. Esta incluye el principio de superposición, en que la sumatoria de las fuerzas es igual a la suma de las deformaciones, y el principio de independencia del tiempo, en que la deformación es instantánea y no varía con éste. Los ensayos mecánicos de los materiales permiten definir la curva de tensión / deformación. La pendiente de esta curva en su tramo lineal se denomina módulo elástico de Young y se expresa en MPa.

La fuerza de tracción genera una deformación de alargamiento que se acompaña de la disminución del área de sección, fenómeno que se expresa por la relación de Poisson. Esta sólo es válida para materiales isotrópicos, dado que los anisotrópicos, como el hueso, pueden presentar contracciones diferentes de acuerdo con la dirección analizada. La relación de Poisson es una medida de la capacidad de un material para resistir un cambio de volumen y/o de forma.

Un material linealmente elástico se deforma reversiblemente, ya que recupera su longitud inicial al desaparecer la fuerza. El producto de la tensión por la deformación, corresponde a la energía por unidad de volumen, que es exactamente el área bajo la curva de tensión / deformación. El material gana energía en carga y la cede en descarga, es decir, almacena energía de deformación ⁴⁹.

1.6.2.3.2. PLASTICIDAD

En un determinado punto de la curva de tensión / deformación, se pierde la relación lineal entre estos dos parámetros, éste corresponde al límite elástico del material. Tensiones

superiores generan una deformación plástica del material, que ya no recupera su longitud inicial. Dado que el límite elástico es difícil de identificar, se acepta por consenso que éste corresponde al punto donde la deformación es del 0.2 %. La deformación plástica implica movimiento relativo de los átomos y moléculas del material. Los ensayos en tracción también permiten conocer la ductilidad del material, determinando la deformación plástica que éste puede experimentar antes que se presente la fractura ⁴⁹.

1.6.2.3.3. FRACTURA

El concepto de resistencia supone que una fuerza se aplica uniformemente sobre toda la sección del material, pero la presencia de una hendidura, orificio o grieta, hace que las trayectorias se agrupen de manera tal que la distribución de tensiones esté mucho más concentrada en el extremo de esta irregularidad. Este es el concepto de concentración de tensiones elásticas y condiciona la fractura del material.

La teoría básica de la fractura lineal de un sólido isotrópico, es formulada por Griffith, que considera que ésta corresponde a la creación de nuevas superficies en el material, hecho que requiere del aporte de energía. De este modo, se puede calcular la tensión necesaria para romper simultáneamente todos los enlaces interatómicos sobre un plano, cuyo valor está comprendido entre $E/5$ y $E/20$, siendo E el módulo elástico de Young del material. No obstante, la resistencia a la fractura habitual se suele situar en valores que oscilan entre $E/1000$ para un material frágil y $E/100$ para un material dúctil, debido al fenómeno de concentración de tensiones que originan las hendiduras o grietas. De esta forma, se establece que una hendidura se propaga cuando el incremento de energía elástica producida por la tensión aplicada es igual o mayor que la energía necesaria para crear una nueva superficie de grieta. La ecuación de Griffith permite determinar la tensión máxima de trabajo del material cuando se conoce el tamaño mayor de las hendiduras que presenta, es decir, la resistencia a la fractura de un material está determinada por el tamaño y orientación de su grieta más amplia.

La teoría de Griffith sólo es aplicable a los materiales linealmente elásticos, y no a aquellos en que se presenta una deformación plástica, debido a que ésta hace disminuir la concentración de tensiones. Orowan e Irwin modifican la ecuación de Griffith dando lugar a la teoría de la mecánica de la fractura lineal elástica, válida cuando la zona plástica a nivel de la punta de la hendidura es muy pequeña.

La tenacidad de fractura es la resistencia que ofrece el material a la propagación de una hendidura. De este modo, si la hendidura se propaga en forma rápida, la tenacidad a la fractura es baja y el material se considera frágil. En cambio, si el material soporta la presencia de una hendidura y su propagación requiere un gran aumento de carga mecánica, la tenacidad de fractura es elevada. Todos estos conceptos son fundamentales para evaluar el comportamiento frente a la fractura de cualquier material ⁴⁹.

1.6.2.3.4. VISCOCIDAD

El comportamiento elástico implica la recuperación de las dimensiones iniciales de un sólido al momento de retirar la carga, es decir, existe un movimiento transitorio de materia. En el extremo opuesto se encuentran los fluidos viscosos, en que los átomos y moléculas se trasladan disipando energía y la deformación no se restaura al quitar la carga. De esta forma, se considera que el tiempo de relajación de un sólido elástico ideal tiende a infinito pues recupera inmediatamente su forma original al retirar la carga y el de un líquido viscoso tiende a cero.

La mayoría de los materiales tienen un comportamiento intermedio, que se denomina viscoelástico lineal, que se puede describir determinando el tiempo de relajación y lo presentan, entre otros, los polímeros, elastómeros y tejidos biológicos. En los materiales linealmente viscoelásticos el tiempo de relajación varía en función del tiempo de carga, lo cual dificulta el cálculo de su módulo de elasticidad. Este problema se puede resolver aplicando una tensión constante y observando como varía la deformación con el tiempo, que corresponde al concepto de fluencia, o bien, empleando una deformación constante y verificando como varía la tensión con el tiempo, que determina el concepto de relajación de tensiones.

El comportamiento de los materiales viscoelásticos también varía en función de la temperatura, hecho que se debe tener en consideración al caracterizar un biomaterial. Asimismo, es posible construir modelos mecánicos que permiten analizar de manera simplificada el comportamiento de los materiales viscoelásticos, dándole un tratamiento matemático al desenvolvimiento real de éstos. En resumen, el estudio y correcta caracterización del comportamiento mecánico de los diferentes biomateriales, disponibles en la actualidad, es fundamental para definir sus posibilidades de utilización en la clínica humana ⁴⁹.

1.6.2.4. BIOMATERIALES COMO SUSTITUTIVOS ÓSEOS

Los biomateriales que tienen utilidad como sustitutivos óseos son los que al ser implantados tienen la capacidad de promover la regeneración o reparación ósea, por lo que pueden ser empleados, con éxito, en el tratamiento de fracturas conminutas con pérdida de tejido óseo, en la solución de cavidades generadas por la resección de tumores óseos o para rellenar defectos óseos secundarios a endoprótesis, pseudoartrosis y artrodesis frustradas. Se considera que los biomateriales ideales son aquellos que progresivamente son sustituidos por tejido óseo neoformado del hueso receptor ^{1,3,30,36,96}.

La síntesis química permite la creación de materiales perfectamente caracterizados, que al ser evaluados mediante estudios *in vitro* en cultivos celulares e *in vivo* en animales de experimentación, pueden ser correctamente evaluados y definidos para su posterior empleo clínico.

Un biomaterial óptimo para la sustitución ósea debe ser osteoconductor, para lo cual necesita proporcionar un armazón apto para guiar los fenómenos óseos reparativos; estructuralmente resistente, para aportar de acuerdo con su formulación específica el mejor soporte biomecánico hasta su reemplazo por el tejido óseo neoformado; y biorreabsorbible, es decir, capaz de ser degradado progresivamente sin generar productos tóxicos.

Considerando la relación que se establece entre el implante y el huésped se puede diferenciar cuatro tipos de biomateriales ⁹⁷.

- Biomateriales inertes: Aquellos que provocan escasa o nula respuesta.
- Biomateriales interactivos: Corresponden a los materiales diseñados para que la respuesta del huésped sea beneficiosa.
- Biomateriales viables: Aquellos que pueden incorporar células vitales al momento de su implantación y que el huésped trata como si fueran la matriz de un tejido normal, siendo activamente reabsorbidos y/o remodelados.
- Replante: El material consiste en un cultivo de células específicas previamente obtenidas del sujeto a implantar.

Los materiales que pueden ser empleados como sustitutivos óseos corresponden a biomateriales cerámicos, poliméricos y compuestos, destacando entre estos las cerámicas de fosfatos de calcio porque son comparativamente similares a la fase mineral del hueso.

1.6.2.4.1. EL HUESO COMO BIOMATERIAL

Las apatitas biológicas son las principales constituyentes del componente mineral de los tejidos calcificados, es decir, tejido óseo esquelético, y esmalte y dentina de los dientes. Son compuestos no estequiométricos, deficientes en calcio, con carbonatos en su estructura, por lo que corresponden a carbonatohidroxiapatitas. Estas poseen muy baja cristalinidad, un alto número de defectos reticulares, un pequeño tamaño de partícula y una elevada superficie específica. Su tamaño menor de 500 Å es el factor responsable de su solubilidad y la constante regeneración del hueso mediante ciclos continuos de disolución y cristalización. Las apatitas biológicas son difíciles de sintetizar en el laboratorio con contenidos de carbonato equivalentes a los del tejido óseo.

Las apatitas pertenecen a la familia química de los fosfatos de calcio y se encuentran implicadas en los procesos de mineralización de los precursores de los cristales óseos y también participan en el origen de la litiasis renal y las calcificaciones heterotópicas. Su composición es muy variable dependiendo de las especies, los tejidos analizados, la edad del individuo y el régimen alimentario. La gran flexibilidad química de las apatitas y el hecho que acepten muchas variaciones estequiométricas es señal que poseen una adaptabilidad extraordinaria que es única entre todos los materiales.

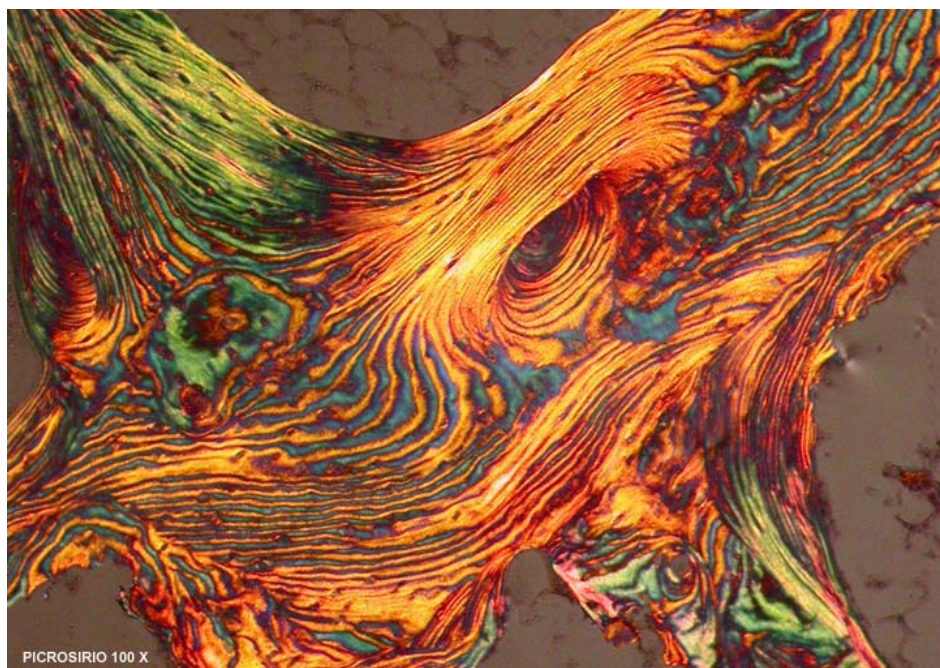


Figura 2: Microestructura del hueso como biomaterial.

En resumen, la fase mineral del hueso corresponde a una carbonatohidroxiapatita, que posee una relación molar Ca/P que oscila entre 1.67 y 1.50, cuya fórmula general es $(Ca,X)_{10}(PO_4,HPO_4,CO_3)_6(OH,Y)_2$, donde "X" corresponde a cationes como magnesio, sodio o estroncio, los que pueden ser sustituidos por iones calcio, e "Y" a aniones como cloro y fluor, que pueden ser remplazados por grupos hidróxilos. Las apatitas óseas poseen una función de reserva de iones minerales, conteniendo el 99.0 % del calcio y el 85.0 % del fósforo del organismo. Además, pueden llegar a integrar algunos elementos tóxicos como el Pb y el Ba y elementos radioactivos como el ^{90}Sr ^{98,99}.

1.6.2.4.1.1. MINERALIZACIÓN DE LOS TEJIDOS

Las apatitas óseas se encuentran asociadas a una matriz orgánica formando un verdadero material compuesto y poseen una baja densidad, que es, como máximo, de $2,3 \text{ g/cm}^3$ en el hueso compacto y mucho menor en el hueso esponjoso. La matriz ósea está formada por fibras de colágeno, que se organizan formando una red que delimita unas oquedades donde se inicia la calcificación. La mineralización comienza en el interior de las fibras de colágeno, luego se extiende al espacio interfibrilar y posteriormente a todo el tejido óseo, para lo cual requiere del aporte de iones minerales y la formación de cristales. Diversas proteínas y ésteres fosfatados de treonina o serina participan en este proceso, ya sea como inhibidores del crecimiento cristalino o bien como agentes de nucleación.

La inhibición del crecimiento de los cristales se realiza por adsorción de proteínas a su superficie, con el objetivo de permitir la cristalización de los lugares más alejados y preservar las vías de difusión iónica al interior de la matriz de colágeno. También existen inhibidores iónicos del crecimiento de los cristales de apatita como los iones carbonato, magnesio o pirofosfato, que pueden difundir en los espacios interfibrilares. El conjunto de procesos que permiten la osificación está bajo el estrecho control de los osteoblastos, que son los responsables de la formación del tejido óseo^{52,100}.

1.6.2.4.1.2. EVOLUTIVIDAD DE LAS APATITAS

La característica principal de las apatitas biológicas que las diferencia del resto de los materiales, es su capacidad de evolución, de tal manera que su composición no queda establecida en el momento de su formación. Los primeros cristales de apatita que se forman en el esmalte, dentina y tejido óseo, tienen una estructura bastante similar, hecho que

justifica la hipótesis de un precursor común. Estos cristales tienen una composición muy parecida a la del fosfato octocálcico cuya fórmula es $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Los cristales de apatita son ricos en iones fosfato y mantienen una cierta proporción de iones carbonato. En el tejido óseo los primeros depósitos minerales son muy inestables y evolucionan hacia la formación de una apatita cada vez más carbonatada y mejor cristalizada. No obstante, el proceso de maduración es constantemente interrumpido por la disolución completa del tejido y su neoformación. Este fenómeno se enlentece con la edad dado que aumenta la proporción carbonato / fosfato y el mineral tiende a madurar durante más tiempo. El hueso como tejido vivo remodelable y reservorio de iones, está constituido por microcristales lacunares fáciles de disolver. Las modificaciones de la composición del mineral óseo no afectan su estequiometría, por lo que se le puede representar por la fórmula $\text{Ca}_{8,3}(\text{PO}_4)_{4,3}(\text{HPO}_4, \text{CO}_3)_{1,7}(\text{OH}, \text{CO}_3)_{0,3}$ ¹⁰¹.

1.6.2.4.1.3. PRECURSOR MINERAL

Las apatitas fosfocálcicas tienen una velocidad de crecimiento de cristales muy baja y su formación *in vitro* está precedida por la precipitación de una fase amorfa que evoluciona, más o menos rápidamente, hacia una apatita. La existencia de un precursor de la fase apatítica de vida corta ha sido objeto de numerosos estudios, proponiéndose como tal al fosfato octocálcico, pues tiene la composición química más parecida a la del mineral óseo. No obstante, su presencia en los primeros estadios de la mineralización del hueso no ha podido ser confirmada.

Debido a su pequeño tamaño los cristales del mineral óseo representan en conjunto una superficie de unos 3 km² de mediana por adulto y quedan relativamente accesibles para presentar reacciones de intercambio iónico con los fluidos biológicos. De esta manera, la matriz de colágeno y otras proteínas interactúan en la superficie del mineral para regular el proceso de remodelación ósea.

El desentrañamiento, aún en desarrollo, de las características de las apatitas biológicas, que propone al fosfato octocálcico como el precursor del mineral óseo, ha permitido el estudio y caracterización de numerosos y variados biomateriales, que con mayores o menores posibilidades, pueden resultar de interés como potenciales sustitutivos óseos en la clínica humana^{99,102}.

1.6.2.4.2. CLASIFICACIÓN DE LOS BIOMATERIALES

Considerando los numerosos estudios y líneas de investigación que actualmente se desarrollan, nos ha parecido pertinente emplear una clasificación simplificada de los distintos biomateriales que probadamente, tanto en investigación básica como en clínica, tienen utilidad como sustitutivos óseos.

De esta forma, hemos ordenado en tres grupos generales los materiales que permiten restaurar el capital óseo perdido y que corresponden a los biomateriales cerámicos, los biomateriales poliméricos y los biomateriales compuestos ⁷¹.

1.6.2.4.2.1. BIOMATERIALES CERÁMICOS

Los estudios relacionados con las cerámicas para su aplicación en el campo de la medicina comienzan hace poco más de 20 años. El interés por los biomateriales cerámicos se debe a que en su mayoría corresponden a óxidos metálicos, por lo cual no presentan oxidación ni corrosión en el medio biológico y poseen una gran dureza que los hace muy resistentes a la fricción y el desgaste ^{15-17,36}.

Las cerámicas son los biomateriales más parecidos al componente mineral del tejido óseo, por lo que detentan una buena compatibilidad y capacidad de osteointegración. Sin embargo, su aplicación en áreas que deben soportar cargas representa un problema no resuelto, dado que son rígidas y quebradizas ¹⁰³.

Teniendo en cuenta las características de la respuesta que generan en el tejido circundante, los biomateriales cerámicos se pueden clasificar en tres grandes grupos ¹⁰⁴.

- Cerámicas bioinertes. Poseen una elevada estabilidad *in vivo*, gran resistencia mecánica y óptima biocompatibilidad. Tienen una influencia nula o muy pequeña en el tejido óseo aledaño y su principal representante es la alúmina.
- Cerámicas bioactivas. Tienen propiedades osteoconductoras y enlazan directamente con el hueso vivo. Sin embargo, sus propiedades mecánicas son inferiores a las de las cerámicas bioinertes. A este grupo pertenecen los vidrios bioactivos y las cerámicas de fosfatos de calcio.
- Cerámicas biorreabsorbibles. Luego de su implantación son progresivamente reemplazadas por tejido óseo neoformado. Para ello debe existir una adecuada correlación

entre las velocidades de reabsorción del biomaterial y de regeneración del hueso. En este grupo se puede clasificar los cementos de fosfatos de calcio.

De acuerdo con las características de la adhesión de las biocerámicas se describen cuatro tipos de fijación al tejido óseo ⁴⁹:

- Fijación morfológica. Se produce por crecimiento óseo en las irregularidades de la superficie del biomaterial, como ocurre con las cerámicas cristalinas inertes, especialmente la alúmina.
- Fijación biológica. Se genera por colonización del material gracias al crecimiento óseo, como sucede con las cerámicas porosas inertes, especialmente la hidroxiapatita coralina.
- Fijación bioactiva. Se origina por enlaces químicos entre el tejido óseo y el biomaterial, como es el caso de las cerámicas cristalinas bioactivas, tales como los vidrios bioactivos y vitrocerámicas.
- Fijación sustitutiva. Se produce por la sustitución progresiva del material por hueso neoformado, como ocurre con las cerámicas porosas bioactivas, principalmente los fosfatos y sulfatos cálcicos. Los cementos de fosfatos de calcio desarrollan este tipo de fijación.

Considerando lo anterior, podemos clasificar los biomateriales cerámicos como cerámicas cristalinas inertes, cerámicas porosas inertes, cerámicas cristalinas bioactivas y cerámicas porosas bioactivas.

1.6.2.4.2.1.1. CERÁMICAS CRISTALINAS INERTES

Este grupo de biomateriales cerámicos está conformado por óxidos metálicos como la alúmina u óxido de aluminio (Al_2O_3) y la zircona u óxido de zirconio (ZrO_2). Su representante principal es la alúmina que fue la primera biocerámica utilizada en clínica y que se caracteriza por tener una gran resistencia mecánica y química, lo que le confiere una excelente biocompatibilidad y probada resistencia a la corrosión y el desgaste.

La alúmina de alta densidad y pureza se utiliza en prótesis de cadera, prótesis de rodilla, tornillos de ostesíntesis, reconstrucciones maxilofaciales, reemplazos óseos en el oído medio, sustituciones craneales e implantes dentales. Las normas ISO exigen una pureza superior al 99.5 %, una densidad superior a 3.90 g/cm^3 , un tamaño de grano inferior a $7 \mu\text{m}$, una dureza de Vickers (HV) superior a 2.000 kg/mm^2 , una resistencia a la compresión de 4.500 MPa y a la flexión de 400 MPa y un módulo elástico de 380 GPa .

La biocompatibilidad de la alúmina es el resultado de su fijación morfológica, es decir, del crecimiento óseo que se genera en las irregularidades de la superficie del material. El desgaste de una prótesis de cerámica es 10 veces inferior a una del tipo metal / polietileno. El problema principal de la alúmina es que tiene un módulo elástico que es entre 10 y 50 veces superior al del hueso (7-25 GPa), hecho que puede inducir osteolisis y aflojamiento del implante ^{105,106}.

1.6.2.4.2.1.2. CERÁMICAS POROSAS INERTES

Las cerámicas porosas inertes proporcionan una buena estabilidad mecánica, debido a su fijación biológica que permite la colonización ósea al interior de sus poros. Sin embargo, la porosidad de estos biomateriales limita su utilización en áreas de carga, dado que para facilitar el crecimiento óseo y la vascularización los poros deben tener un diámetro superior a 100 μm . De este modo, el implante permite la osteoconducción actuando como puente estructural y modelo para la formación de tejido óseo. Las mejores representantes de este grupo son las cerámicas de carbonato de calcio (CaCO_3) derivadas del coral.

El coral corresponde al esqueleto calizo de varias especies de invertebrados marinos, que se encuentra compuesto por carbonato cálcico y se caracteriza por poseer una estructura porosa de dimensiones variables de acuerdo con la especie de origen. La microestructura del coral es un excelente material para molde de inversión de estructuras con tamaño de poros controlados, a través del proceso de duplicación, debido a la gran uniformidad de sus medidas e interconexión.

Las mejores cepas de coral corresponden a la familia de las *poritas*, que tienen poros interconectados de 140 a 160 μm y las *gonioporas* que poseen poros de 200 a 1.000 μm , estas últimas tienen una arquitectura macroscópica similar al hueso esponjoso humano. Considerando sus diferencias bioquímicas se pueden distinguir dos grupos principales que corresponden a los corales madreporicos y la hidroxiapatita coralina.

Los corales madreporicos se caracterizan por conformar grandes colonias en su hábitat marino. El biocoral corresponde a un biomaterial químicamente inalterado que se obtiene a partir del esqueleto mineral coralino del género *scleractinian* y que se encuentra compuesto por carbonato cálcico. Se trata de un material osteoconductor que se reabsorbe lentamente y se utiliza en clínica desde 1979.

La hidroxiapatita coralina corresponde a un biomaterial poroso que se obtiene a partir de corales marinos, en los que por un proceso de intercambio hidrotermal, el carbonato cálcico de sus esqueletos es transformado en fosfato de calcio. Se trata de un material osteoconductor que es escasamente reabsorbible.

Existen dos hidroxiapatitas coralinas disponibles para su utilización clínica, una que posee un tamaño de poros entre 190 y 230 μm ofreciendo un diseño adecuado para matrices de reconstrucción del hueso cortical y que se obtiene a partir de la replicación de especies coralinas del género *porites porites*, y otra que presenta un tamaño de poros de 500 μm que se reserva para el hueso esponjoso y que se consigue de la duplicación de *porites goniopora*¹⁰⁷⁻¹⁰⁹.

1.6.2.4.2.1.3. CERÁMICAS CRISTALINAS BIOACTIVAS

Estos biomateriales cerámicos se unen al tejido óseo por fijación bioactiva, enlazando directamente con el hueso sin interposición de tejido fibroso en su unión. A este grupo de cerámicas pertenecen dos representantes principales que corresponden a los vidrios bioactivos y las vitrocerámicas¹¹⁰.

1.6.2.4.2.1.3.1. VIDRIOS BIOACTIVOS

Son biomateriales capaces de establecer enlaces químicos con los ambientes fisiológicos donde son implantados. Desde el punto de vista de su microestructura, los vidrios bioactivos corresponden a sólidos amorfos, es decir, a materiales poseedores de un elevado desorden estructural determinado por la carencia de una periodicidad atómica tridimensional.

La composición de los vidrios bioactivos es fundamental para permitir el enlace con los tejidos del receptor, ya que la adhesión a éstos se puede observar solamente con materiales que contienen dióxido de silicio (SiO_2), pentóxido de fósforo (P_2O_5), óxido disódico (Na_2O) y óxido cálcico (CaO), en proporciones bien definidas.

Este grupo de materiales está representado por los vidrios de base silicio y los de base fosfato. El estudio de los primeros ha demostrado que al emplearlos en el relleno de defectos óseos, generan la formación de una capa apatítica activa en la interfaz entre el material y el hueso que presenta características muy parecidas a la fase mineral ósea¹¹¹⁻¹¹³.

1.6.2.4.2.1.3.2. VITROCERÁMICAS

Son cerámicas policristalinas conseguidas por cristalización controlada de vidrios, donde coexisten fases amorfas y cristalinas. Se obtienen por medio de un tratamiento térmico que permite cristalizar el 90.0 % de la masa vítrea para que el tamaño de los cristales esté comprendido entre 0.1 y 1 μm .

Para facilitar su síntesis se suelen añadir precipitados metálicos, lo que favorece la nucleación y cristalización de fases con tamaño inferior a 1 μm . Las vitrocerámicas poseen mejores propiedades mecánicas respecto de los vidrios, que son sus precursores, sin que el tratamiento térmico o la adición de precipitados metálicos, afecten su bioactividad.

Además de su capacidad como sustitutivos óseos, los vidrios bioactivos y vitrocerámicas pueden tener utilidad para la eliminación de células cancerígenas en el tejido óseo, mediante el método de hipertermia, que consiste en el calentamiento selectivo de determinadas áreas óseas por encima de los 43 °C ^{19,114,115}.

1.6.2.4.2.1.4. CERÁMICAS POROSAS BIOACTIVAS

Corresponden a cerámicas no cristalinas capaces de actuar como sustitutivos óseos, para lo cual el material debe ser degradado y reemplazado por tejido óseo neoformado. A este grupo pertenecen dos materiales basados en sales de calcio, las cerámicas de fosfatos de calcio y las de sulfatos de calcio ^{15,16,17,36}.

1.6.2.4.2.1.4.1. CERÁMICAS DE FOSFATOS DE CALCIO

El estudio de estos biomateriales cerámicos ha estado centrada en los compuestos del sistema ternario $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$, especialmente la hidroxiapatita y el fosfato tricálcico. La hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) es el componente principal de la fase mineral del tejido óseo, en cambio el fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) no es un constituyente natural del hueso.

Diversas investigaciones realizadas en modelos animales han demostrado que, tanto la hidroxiapatita como el fosfato tricálcico, establecen una unión directa con el hueso, confirmando su condición de cerámicas bioactivas. Este enlace se demuestra por la imposibilidad de separar el implante del hueso circundante, sin romper uno o ambos.

Las cerámicas de fosfatos de calcio presentan una buena tolerancia *in vivo*, tienen una probada capacidad de osteoconducción y osteointegración, pero en general se considera que carecen de propiedades osteoinductivas por sí mismas ¹¹⁶⁻¹¹⁹.

1.6.2.4.2.1.4.2. CERÁMICAS DE SULFATOS DE CALCIO

Estos materiales se forman a partir de sulfato cálcico hemihidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$), comúnmente conocido como yeso, el que al ser mezclado con agua forma una pasta moldeable, la que mediante una reacción exotérmica da lugar a un compuesto sólido microcristalino de sulfato de calcio dihidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

Las cerámicas de sulfatos de calcio corresponden a los primeros biomateriales utilizados en clínica como sustitutivos óseos, ya que fueron empleados por Dressmann en 1892 para rellenar defectos cavitarios en huesos largos.

Su utilización en clínica es restringida, ya que presentan una escasa resistencia mecánica a la compresión, y en el medio acuoso tienden a formar grumos que las hacen perder sus características estructurales. Sin embargo, pese a sus limitaciones las cerámicas basadas en sulfatos de calcio han continuado siendo empleadas, tanto experimentalmente como en clínica, con resultados muy variables. Recientemente se han publicado experiencias clínicas que evalúan su empleo como sustitutivos óseos en cirugía ortopédica y traumatología con resultados bastante alentadores ¹²⁰⁻¹²³.

1.6.2.4.2.2. BIOMATERIALES POLIMÉRICOS

Los polímeros sintéticos bioabsorbibles son macromoléculas compuestas por la unión de múltiples unidades repetidas, los monómeros, los que a su vez están formados por átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y, ocasionalmente, sílice y azufre.

Existen dos tipos de polímeros que tienen utilidad en cirugía del aparato locomotor:

- Homopolímeros. Constituidos por monómeros idénticos.
- Copolímeros. Conformados por la combinación de dos monómeros diferentes.

Son materiales biocompatibles que se degradan luego de su implantación en productos no tóxicos, los que son eliminados o metabolizados en el organismo. Además, los polímeros biodegradables permiten la transferencia gradual de la carga mecánica desde el implante

sintético al tejido natural, con el propósito de optimizar la regeneración y remodelación tisular.

La característica de degradación biológica progresiva hace que estos biomateriales estén especialmente indicados en aquellas situaciones en las que después de producirse la curación es innecesaria la presencia del implante, de esta forma, se evita la realización de una segunda intervención para su retirada. Por otro lado, la radiotransparencia de estos materiales facilita el estudio imagenológico de las lesiones tratadas.

Los biomateriales poliméricos presentan una amplia variedad de aplicaciones en la clínica humana, debido a que pueden ser sintetizados con muchas formas diferentes y a que tienen una importante similitud con diversos componentes de los tejidos orgánicos como el colágeno. De hecho, los polímeros ostentan interesantes propiedades entre las que destaca su gran flexibilidad de diseño, que permite adecuar su composición y estructura a necesidades específicas. Además, son biodegradables, es decir, sufren hidrólisis en contacto con los medios fisiológicos.

En las aplicaciones para la sustitución ósea actúan como un molde tridimensional sobre el cual pueden proliferar los osteoblastos, depositando matriz ósea extracelular mientras el polímero es degradado paulatinamente. Son varios los sistemas poliméricos que se investigan para su posible aplicación en la regeneración ósea, entre los que se pueden citar a los poli- α -hidroxiésteres, la polidioxanona, el polipropilénfumarato, el polietilenglicol, los poliortoésteres, los polianhídridos y los poliuretanos.

Dentro de los poli- α -hidroxiésteres destacan el ácido poliláctico y el ácido poliglicólico que han sido prolijamente investigados para la producción de homopolímeros y copolímeros bioabsorbibles, que tienen utilidad como materiales de implante y para la reparación de diferentes tejidos, entre ellos el tejido óseo ^{28,29,124-126}.

1.6.2.4.2.2.1. ÁCIDO POLIGLICÓLICO

El ácido poliglicólico es un polímero biocompatible cristalino de alto peso molecular que se hidroliza lentamente en agua, dando como resultado moléculas de ácido glicólico que se convierten por acción enzimática en glicina, la que participa en la síntesis proteica o de serina y que transformada en piruvato se incorpora al ciclo de Krebs.

Con este polímero se confeccionó la primera sutura reabsorbible aprobada para su uso en la clínica. Posteriormente, se han fabricado distintos implantes para el tratamiento de fracturas, especialmente maleolares, que tienen la ventaja de ser menos rígidos que los metálicos, lo cual disminuye el efecto de protección de carga y, por lo tanto, la osteoporosis secundaria. Además, tienen la característica de ser biodegradables, hecho que evita reintervenciones para retirar los materiales de osteosíntesis.

Las propiedades mecánicas del ácido poliglicólico, especialmente la resistencia a la flexión y a la torsión, se deterioran en un período de 4 a 6 semanas, por lo que para mejorarlas se utilizan compuestos autoreforzados que proporcionan un material formado por fibras sin solución de continuidad ¹²⁷.

1.6.2.4.2.2.2. ÁCIDO POLILÁCTICO

El ácido poliláctico también se ha utilizado en la clínica humana como material de sutura. Este biomaterial se transforma por desesterificación hidrolítica en ácido láctico, el que se incorpora al ciclo de Krebs y se excreta como CO₂ a nivel pulmonar. Los implantes de ácido poliláctico son menos rígidos que los de ácido poliglicólico, pero su período de degradación es más prolongado y generalmente fluctúa entre 6 y 12 meses.

Para la utilización de biomateriales poliméricos como sustitutivos óseos se requiere que tengan una tasa de bioabsorción rápida, que permita su reemplazo gradual por hueso, sin generar interferencias con el proceso de neoformación ósea. Estas propiedades las poseen los polímeros con más bajo peso molecular y proporciones de formas isoméricas adecuadas.

En 2001, García estudia la regeneración ósea producida por polímeros de ácido poliláctico con peso molecular de 30.000 y 60.000 Dalton y proporciones de formas isoméricas de L-Láctico y D-Láctico de 80/20 y 50/50, encontrando que la mayor neoformación ósea se observa con los homopolímeros de ácido láctico de 30.000 Dalton e isómeros L/D de 50/50.

Se han desarrollado numerosos copolímeros del ácido poliglicólico y del poliláctico con el objetivo de mejorar sus propiedades mecánicas y tiempo de degradación. De esta manera, se han confeccionado implantes de osteosíntesis para fracturas de consolidación rápida con buenos resultados clínicos ^{28,128}.

1.6.2.4.2.3. BIOMATERIALES COMPUESTOS

Tanto los biomateriales cerámicos como los poliméricos pueden combinarse para constituir materiales compuestos o composites, los que permiten la obtención de implantes que reúnen las mejores características biológicas y mecánicas de los materiales de origen para su empleo como sustitutivos óseos ventajosos.

El factible empleo de reconocidos biomateriales que pueden aportar un andamiaje seguro para diversos factores bioactivos hace posible sumar a las propiedades osteoconductoras de los primeros, la capacidad de osteoinducción de los segundos. A esto se agrega, más recientemente, la posibilidad de asociar biomateriales con células osteoformadoras cultivadas que pueden ser capaces de otorgar un verdadero aporte osteogénico para la reparación de los defectos óseos.

Los postulados antes señalados han sido recogidos por la ingeniería de tejidos, que se define como el arte y la ciencia de manipular compuestos sintéticos para fabricar estructuras anatómica y funcionalmente específicas, que pueden incorporar células vivas, agentes bioactivos o ambos, para reforzar o sustituir la fisiología de los tejidos receptores ¹²⁹.

1.6.2.4.2.3.1. ASOCIACIÓN DE BIOMATERIALES

La combinación de dos o más materiales para conformar biomateriales compuestos, ha permitido desarrollar y caracterizar nuevos implantes que pueden ser utilizados como potenciales sustitutivos óseos.

Uno de los materiales poliméricos naturales que más se ha empleado en asociación con otros para obtener biomateriales compuestos es el colágeno. Así, en distintas experiencias se ha combinado colágeno liofilizado que puede conformar una red de aldehídos como soporte para hidroxapatita granulada. Luego de su implantación este compuesto se comporta como un biomaterial osteoconductor. Sin embargo, hasta ahora la utilización exclusiva de colágeno no ha demostrado capacidad para promover neoformación ósea.

También se han desarrollado biomateriales compuestos que asocian cerámicas con diferentes polímeros sintéticos y materiales que combinan cerámicas de distintas características ^{24,130-134}.

1.6.2.4.2.3.2. ASOCIACIÓN DE BIOMATERIALES CON FACTORES OSTEOINDUCTIVOS

La implantación de biomateriales capaces de liberar factores osteoinductivos parte del hecho que éstos pueden provocar la migración de las células mesenquimales hacia el defecto óseo y su posterior diferenciación, lo que permite la neoformación ósea. Algunos de los materiales utilizados como vehículos para moléculas bioactivas son cerámicas de fosfatos de calcio, sulfatos cálcicos, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, polietilenglicol y diversos otros biomateriales compuestos ¹³⁵⁻¹³⁷.

1.6.2.4.2.3.2.1. PROTEINA MORFOGENÉTICA ÓSEA

En 1965, Urist describe la fracción proteica contenida en la matriz ósea descalcificada, que denominó proteína morfogenética ósea (BMP), la que al ser implantada en defectos cavitarios conduce a la formación de tejido óseo. Investigaciones posteriores han permitido identificar y purificar las proteínas que estimulan la diferenciación de las células mesenquimáticas hacia la línea osteogénica ¹³⁸.

Las BMP son proteínas básicas de bajo peso molecular que se pueden aislar desde el hueso cortical, la dentina y algunos tumores óseos. Actualmente se describen alrededor de 12, entre las que destacan la BMP2, BMP3, BMP4 y BMP6, las que se obtienen a partir de tecnologías de recombinación del DNA, asociándolas con diferentes biomateriales capaces de retenerlas en el lugar de implantación ⁴⁰.

Los estudios han demostrado que la cantidad de tejido óseo formado es mayor en presencia de BMP, encontrándose además que esta es dosis dependiente. En la actualidad se busca determinar la dosis mínima de BMP capaz de inducir la osteogénesis, para limitar los riesgos de su acción a distancia ¹³⁹⁻¹⁴¹.

1.6.2.4.2.3.2.2. FACTORES DE CRECIMIENTO ÓSEO

La matriz ósea extracelular constituye una importante reserva de factores de crecimiento, especialmente los sintetizados por las células óseas como IGF, TGF β , FGF y PDGF.

- IGF (Insulin Growth Factors): Estos factores regulan el crecimiento celular y determinan la calcificación de la matriz ósea. La síntesis de los IGF I e IGF II depende de la acción de la hormona del crecimiento sobre el tejido óseo.

Los glucocorticoides, los estrógenos y los análogos de la vitamina D, también pueden controlar la acción de los IGF.

- TGF β (Transforming Growth Factor β): Cumple un importante rol en los procesos de formación y mineralización de la matriz ósea. La acción del TGF β está regulada por otros factores como los FGF, los estrógenos y la calcitonina.
- FGF (Fibroblast Growth Factor): Genera la proliferación de células indiferenciadas en el proceso de reparación ósea y también es capaz de promover la neoangiogénesis.
- PDGF (Platelet Derived Growth Factor): Estimula la proliferación de fibroblastos y osteoblastos, siendo considerada junto con la IGF I uno de los factores más importantes en el proceso de regeneración del tejido óseo.

Varias líneas de investigación actual buscan conseguir biomateriales que actúen como portadores de factores de crecimiento, para mejorar la velocidad, cantidad y calidad de la regeneración ósea en el lugar de la implantación. Se ha empleado hidroxiapatita como vector de FGF e hidroxiapatita y fosfato tricálcico como portadores de IGF I.

El aislamiento de diversos factores bioactivos y la posibilidad de sintetizarlos con técnicas de ingeniería genética, permite postular un desarrollo promisorio de los sustitutivos osteoinductores. Sin embargo, se debe tener en consideración que los efectos secundarios de los diferentes factores de crecimiento óseo todavía no son bien conocidos ^{53,142-144}.

1.6.2.4.2.3.3. ASOCIACIÓN DE BIOMATERIALES CON CÉLULAS CULTIVADAS

Entre las líneas de investigación en desarrollo se encuentra la asociación de biomateriales con células osteoformadoras vivas cultivadas, con el objetivo de obtener un tejido artificial híbrido que posea las características del tejido óseo. Para conseguir materiales compuestos con estas propiedades se requiere que el componente celular pueda sintetizar osteoide lo más rápidamente posible y que el sustitutivo óseo aloje las células, permitiéndoles conservar sus funciones específicas.

Los osteoblastos son las células principales del proceso de regeneración ósea y pueden obtenerse ya diferenciados desde el hueso esponjoso o de precursores osteoblásticos extraídos del estroma medular. La utilización de osteoblastos diferenciados tiene una serie de inconvenientes, pues su tiempo de duplicación es muy largo y su potencial osteogénico disminuye rápidamente a medida que avanzan las generaciones en el cultivo. Lo anterior, ha

dirigido las investigaciones al desarrollo de cultivos estromales medulares como fuente de células osteogénicas, ya que estos contienen fibroblastos, células endoteliales, adipócitos, precursores osteoblásticos y células reticulares no macrofágicas que presentan una notable capacidad de proliferación y un elevado poder osteoformador.

Para la asociación de los osteoblastos con el biomaterial se han descrito dos posibilidades:

- Creación de cultivos de células de médula ósea en presencia del biomaterial. De esta forma, se cultivan simultáneamente células precursoras osteogénicas y no osteogénicas y, así, se obtendría un hueso híbrido policlonal y con propiedades funcionales heterogéneas.
- Asociación de una población clonal de células progenitoras osteogénicas con las mejores propiedades posibles, seleccionando los clones en función de su expresión fenotípica. Esta vía permitiría desarrollar un hueso híbrido con capacidad osteoformadora óptima, capaz de generar osteoide rápidamente.

En esta misma línea de investigación, también se considera la asociación de biomateriales con médula ósea, debido a que ésta cuenta con células hematopoyéticas y estromales. Los cultivos celulares de médula ósea han demostrado que es posible mantener viables las células madres hematopoyéticas, los precursores osteoblásticos y los predecesores de células estromales durante más de dos meses. Estos cultivos deberían permitir el desarrollo de un hueso híbrido constituido por el conjunto de células implicadas en la formación del tejido óseo ¹⁴⁵⁻¹⁴⁹.

1.6.2.4.2.3.4. CONCEPTO DE HUESO HÍBRIDO

Los requerimientos clínicos actuales necesitan del desarrollo de materiales cada vez más biológicos, de tal manera que la asociación de estos biomateriales con elementos celulares cultivados, harían posible contar en el futuro con un hueso híbrido, es decir, un sustitutivo óseo vivo. Estas parecen ser las líneas de investigación venideras más promisorias en el difícil desafío de obtener una solución integral para los defectos óseos.

Se considera que en el futuro la investigación en este campo estará orientada al desarrollo de biomateriales osteoinductores y a la búsqueda de un sustitutivo óseo vivo, es decir, un hueso híbrido. En resumen, la creación de un hueso híbrido es un importante reto en el campo de los biomateriales, pues permitiría extender su uso clínico al mejorar sus propiedades mecánicas y aumentar el volumen implantable ¹⁵⁰⁻¹⁵⁴.

1.6.2.5. CERÁMICAS DE FOSFATOS DE CALCIO

El empleo clínico de estos biomateriales se remonta a 1920, cuando Albee realiza la primera publicación respecto del uso satisfactorio de un fosfato cálcico en la restauración ósea. Sin embargo, la utilización efectiva de las cerámicas fosfocálcicas recién comienza en la década de los ochenta ^{15-17,155-160}.

El estudio de las cerámicas de fosfatos de calcio ha estado centrada en los compuestos del sistema ternario $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$, fundamentalmente la hidroxiapatita y el fosfato tricálcico. A temperatura corporal y en medio acuoso existen dos fosfatos de calcio que son estables, la brushita o fosfato dicálcico y la hidroxiapatita. A temperaturas superiores también son estables los fosfatos tricálcico y tetracálcico, que al interactuar con los fluidos fisiológicos se transforman en hidroxiapatita ¹⁶¹⁻¹⁶⁴.

La hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ es el componente mineral predominante de los huesos de los vertebrados, así como del esmalte dentario, constituyendo el 60.0 % del esqueleto humano calcificado y el 90.0 % de la matriz ósea inorgánica. Su utilización en aplicaciones clínicas comenzó en 1981, debido a que es la cerámica fosfocálcica químicamente más cercana a los cristales de las apatitas biológicas y que presenta una proporción Ca/P de 1.67 que corresponde al valor estequiométrico de la hidroxiapatita pura. Se caracteriza por ser un material biocompatible, inmunocompatible y bioactivo ^{38,160}.

Esta cerámica se comporta fundamentalmente como material osteoconductor, sin embargo, estudios recientes sugieren que determinadas geometrías podrían aportar capacidad osteoinductiva. Este biomaterial es preparado por precipitación bajo condiciones básicas y posteriormente es sinterizado a temperaturas de alrededor de 1.000 °C, lo que permite la obtención de presentaciones densas o macroporosas. Desde el punto de vista biomecánico la resistencia tensil de la hidroxiapatita densa varía entre 79 y 106 MPa y la de su formulación porosa es de alrededor de 42 MPa ^{39,165-171}.

La hidroxiapatita corresponde a la cerámica de fosfato de calcio menos soluble y se reabsorbe lentamente en aproximadamente un 1.0 % de su volumen por año desde su implantación. Se caracteriza por ser un material rígido, frágil y difícil de adaptar a los defectos óseos y para su utilización en clínica se dispone de presentaciones en forma de gránulos y bloques ¹⁷²⁻¹⁷⁵.

El fosfato tricálcico $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ no es un componente natural del tejido óseo y tiene la característica de ser una cerámica más soluble en los fluidos corporales que la hidroxiapatita, por lo que su reabsorción es entre 10 a 20 veces más rápida. Sin embargo, el volumen de hueso neoformado que se encarga de sustituirlo es menor que el de fosfato tricálcico degradado. Su alta capacidad de remodelación debilita precozmente su resistencia mecánica, razón por la cual para su utilización en clínica se le debe asociar con otros materiales menos reabsorbibles o que posean potencial osteoinductivo. Al igual que la hidroxiapatita es preparado por medio de un proceso de sinterización y la proporción Ca/P que presenta es de 1.5 ^{15,116,176,177}.

La solubilidad, tendencia a la reabsorción y propiedades mecánicas de las cerámicas de fosfatos de calcio dependen de la relación Ca/P y de su microestructura, es decir, de la porosidad del material. Los poros pueden clasificarse como microporos, cuando poseen un tamaño menor de 10 μm ., o macróporos, cuando tienen un diámetro entre 100 y 500 μm ., tamaño a partir del cual se produce el crecimiento óseo en los intersticios del implante. Las variaciones en la microporosidad tienen mayor influencia en la resistencia a la tracción que a la compresión, por lo que las cerámicas de fosfatos cálcicos son bastantes frágiles. Estos biomateriales no pueden emplearse como sustitutivos óseos en áreas sometidas a fuerzas de torsión, flexión y cizalladura, por lo que estas solicitaciones deben ser neutralizadas mediante osteosíntesis asociada o descarga del segmento, hasta que la neoformación ósea incremente su resistencia a niveles similares a la del hueso contiguo ¹⁷⁸⁻¹⁸¹.

Tanto la hidroxiapatita pura como el fosfato tricálcico puro son difíciles de sintetizar, siendo la principal impureza de la primera el propio fosfato tricálcico, en una proporción que varía de un 1.0 a un 10.0 %. Por lo demás, muchas cerámicas son sintetizadas expresamente mezclando hidroxiapatita y fosfato tricálcico, para obtener compuestos bifásicos que presenten las mejores propiedades de sus componentes. De esta manera, se busca conseguir un balance óptimo de las fases más estables de la hidroxiapatita y de las más solubles del fosfato tricálcico para que este biomaterial compuesto presente una cinética de reabsorción que se adapte al proceso de remodelación ósea ¹⁸²⁻¹⁸⁴.

Actualmente, las cerámicas de fosfatos de calcio se emplean como implantes porosos, gránulos o polvos para el relleno de cavidades óseas en áreas sin soporte de carga, como pequeños implantes densos en el oído medio, como recubrimiento sobre implantes metálicos y como fase bioactiva en materiales compuestos. El mecanismo de enlace de la

hidroxiapatita se establece directamente por el crecimiento de pequeños cristales de apatitas biológicas sobre el implante ^{49,117,185-187}.

La reabsorción o biodegradación de las cerámicas de fosfatos cálcicos puede ser originada por disolución físico-química, que depende del tipo de material y del pH del medio, y por desintegración física en forma de pequeñas partículas a causa de un ataque químico. Los factores que aumentan la tasa de biodegradación de estos materiales son el aumento del área superficial, la disminución de la cristalinidad y homogeneidad de los cristales, la disminución del tamaño del grano y las sustituciones iónicas con $(\text{CO}_3)^{2-}$, Mg^{2+} o Sr^{2+} . Los factores que disminuyen la biodegradación son la existencia de F en la hidroxiapatita, la presencia de Mg^{2+} en el fosfato tricálcico y la disminución de la relación fosfato tricálcico / hidroxiapatita en los compuestos bifásicos. Todo lo anterior, hace necesario controlar la microestructura, el estado de las fases y la composición química de las cerámicas de fosfatos de calcio para obtener una determinada tasa de reabsorción ¹⁷²⁻¹⁷⁵.

Como se ha mencionado la elaboración de las cerámicas fosfocálcicas se realiza por medio del proceso de sinterización, que consiste en la obtención de un material sólido a partir de polvos, que en primer lugar son compactados dándoles la forma deseada y enseguida son sometidos a un tratamiento de alta temperatura, en el rango de los 1.000 a 1.500 °C. De esta manera, se produce la fusión parcial de los componentes y la aglomeración de los microcristales con el enfriamiento, los que quedan soldados por presión. Los cambios térmicos pueden fisurar el material, motivo que genera la fragilidad de las cerámicas de fosfatos de calcio. Modificando las variables de procesado, como temperatura y tiempo de sinterización, distribución del tamaño de partícula del polvo de partida o mezclando aditivos orgánicos, se puede controlar la porosidad de las cerámicas ^{43,158,188-191}.

Las cerámicas de fosfatos cálcicos se obtienen preformadas, por lo que pueden presentar problemas de adaptación a los defectos óseos generando su falta de fijación. Para mejorar su capacidad de relleno se puede utilizar la formulación en gránulos, pero estos pueden migrar desde el sitio de implantación ^{163,192}.

Los problemas de adaptación y fijación de las cerámicas de fosfatos de calcio convencionales han llevado a la elaboración de biomateriales cerámicos capaces de fraguar a temperatura ambiente, a partir de la reacción de una fase sólida en polvo y una fase líquida, consiguiéndose la formulación de los cementos óseos de fosfatos de calcio ¹⁹³.

1.6.2.6. CEMENTOS ÓSEOS

El desarrollo y caracterización de cerámicas de fosfatos de calcio formuladas como cementos tiene como objetivos principales conseguir biomateriales que tengan utilidad como sustitutivos óseos, que puedan ser moldeados antes de la implantación para adaptarlos correctamente a los defectos óseos y que sean capaces de fijarse al hueso en forma óptima para mejorar su estabilidad inicial y alcanzar una apropiada resistencia mecánica ^{32,42,193,194}.

En este grupo de biomateriales se clasifican los cementos basados en compuestos orgánicos, como el cemento de polimetilmetacrilato, y aquellos basados en compuestos inorgánicos, dentro de los cuales se incluyen los cementos de fosfatos de calcio ^{195,196}.

El cemento acrílico de polimetilmetacrilato está compuesto por una fase en polvo de polímero de metilmetacrilato y una fase líquida que corresponde al monómero, cuya mezcla desencadena una reacción de polimerización que se acompaña de importantes efectos exotérmicos, hasta que se obtiene finalmente un material sólido, resistente e irreabsorbible. En cirugía ortopédica y traumatología se emplea principalmente para la fijación de endoprótesis articulares y en el relleno de defectos óseos, teniendo en consideración que este material no se comporta como sustitutivo ¹⁹⁷⁻²⁰⁰.

Los cementos inorgánicos que pueden emplearse como sustitutivos óseos también están constituidos por una fase en polvo que, al ser mezclada con una cierta cantidad de una solución acuosa, da lugar a la formación de una pasta con características plásticas. La transformación de la pasta inicial del cemento óseo en un cuerpo sólido se obtiene en dos etapas. Primero, se produce el proceso de fraguado, en que la pasta plástica se transforma en rígida, de manera que si se moldea nuevamente o se mezcla con más solución líquida la plasticidad no se recupera. En la segunda etapa ocurre el proceso de endurecimiento, en el que la pasta rígida aumenta su resistencia mecánica hasta transformarse en un cuerpo sólido ^{20-23,201-204}.

El cemento óseo fraguado puede describirse como un entramado de finos cristales interconectados, que se bloquean mutuamente conformando una estructura rígida. Estas características permiten postular interesantes aplicaciones médicas para estos biomateriales, principalmente la sustitución ósea en cavidades o defectos, la mejoría de la osteosíntesis de fracturas y la facilitación de la fijación de endoprótesis articulares ²⁰⁵⁻²⁰⁸.

1.6.2.6.1. CEMENTOS BASADOS EN FOSFATOS DE CALCIO

Los cementos de fosfatos de calcio se han convertido en los últimos años en biomateriales de gran utilidad en el terreno de la regeneración ósea, dado que el producto de su proceso de reacción es, en la mayoría de los casos, una hidroxiapatita muy similar a la biológica, es decir, nanocristalina, no estequiométrica, deficiente en calcio y capaz de incorporar diferentes iones en función de la composición de los reactivos y el medio²⁰⁹⁻²¹².

La concepción del desarrollo de los cementos basados en fosfatos de calcio fue postulada por LeGeros, en 1982, y concretada por Brown y Chow en 1983. Estos últimos autores publicaron el primer estudio sobre un cemento de fosfato de calcio que fragua a temperatura ambiente o corporal, luego de la mezcla de una fase en polvo, formada por dos sales de fosfatos cálcicos, una ácida, correspondiente a fosfato tetracálcico, y una básica, constituida por fosfato dicálcico dihidratado o hidrógenofosfato de calcio, con una fase líquida dada por una solución acuosa. El fraguado de esta combinación da origen a un cuerpo sólido que se obtiene como resultado de un proceso de disolución de los reactivos y la precipitación de una nueva fase²¹³⁻²¹⁹.

Desde comienzos de los años 90 el grupo de investigadores del Departament de Ciència dels Materials i Enginyeria Metal·lúrgica y el Centre de Recerca en Enginyeria Biomèdica de la Universitat Politècnica de Catalunya, ha desarrollado y caracterizado numerosas formulaciones de cementos basados en fosfatos de calcio, dos de las cuales estudiaremos en este trabajo de tesis, el cemento H que corresponde a fosfato α tricálcico y el cemento R constituido por fosfato monocálcico^{20-23,42,196,201,220,221}.

El desarrollo de biomateriales cerámicos formulados como cementos para el tratamiento de defectos óseos, tiene varias ventajas en comparación con las presentaciones convencionales en polvos, gránulos o bloques. Por un lado, la inyectabilidad que permite implantar el cemento con técnicas quirúrgicas mínimamente invasivas y, por otra parte, la moldeabilidad que hace posible una correcta adaptación del implante al defecto, asegurando una buena aposición entre el material y el tejido óseo, incluso en geometrías complejas. Ello permite que el defecto se estabilice mejor y el proceso de curación sea más rápido^{222,223}.

El control de variables como composición química de las fases líquida y sólida, el tamaño de las partículas, la relación líquido / polvo y la incorporación de aditivos orgánicos, hace

posible ajustar sus propiedades a las necesidades específicas de cada aplicación, especialmente las de fraguado y endurecimiento. Esto convierte a los cementos en materiales muy versátiles, que se pueden adaptar a variados requerimientos clínicos²²⁴⁻²²⁶.

Los numerosos estudios realizados con cementos de fosfatos de calcio revelan que se tratan de materiales biocompatibles, osteoconductores y favorecedores de la regeneración ósea. Sin embargo, la mayoría ostenta una cinética de reabsorción lenta, lo que representa una desventaja especialmente en los pacientes jóvenes, debido a la fragilidad del material implantado respecto del tejido óseo circundante. El cemento ideal debería ser capaz de reabsorberse a la misma velocidad que se desarrolla el tejido óseo neoformado encargado de su reemplazo²²⁷⁻²³¹.

Entre los parámetros que más influyen en la bioreabsorción están la macroporosidad, composición química y cristalinidad. En los cementos apatíticos que tienen reabsorción activa mediada por la actividad celular es importante la macroporosidad, ya que los osteoclastos van degradando el material por capas en forma centrípeta, penetrando a su interior. Para que se produzca el proceso de colonización por tejido óseo neoformado es necesario que los poros tengan entre 200 a 400 μm .^{18,179,232-234}

Para obtener la porosidad de los cementos se utilizan microondas, soluciones de peróxido de hidrógeno y emulsiones, no obstante, ninguno de estos métodos pueden emplearse en la fabricación de materiales inyectables a temperatura corporal. También se puede conseguir porosidad con la incorporación de cristales solubles de azúcar o manitol, sin embargo, la disolución de éstos es muy rápida, lo que hace perder estabilidad mecánica durante las fases iniciales de la implantación. Para controlar la porosidad se puede adicionar sulfato cálcico al cemento de fosfato α tricálcico, consiguiendo un material bifásico, con una fase estable dada por la hidroxiapatita y otra más reabsorbible otorgada por el sulfato dicálcico. Moléculas surfactantes, como el dodecil sulfato de sodio, también son eficaces como agentes porogénicos en la matriz del cemento^{235,236}.

El estudio de diferentes formulaciones químicas, de las propiedades físicas y mecánicas, el efecto de posibles aditivos, la biocompatibilidad y las propiedades biológicas de los cementos de fosfatos de calcio, permiten concluir que estos pueden tener variadas aplicaciones en los ámbitos quirúrgicos en que se requiere la sustitución y regeneración ósea^{42,237-241}.

1.6.2.6.1.1. DISEÑO DE LOS CEMENTOS DE FOSFATOS DE CALCIO

Para obtener cementos basados en fosfatos de calcio que sean ventajosos como sustitutivos óseos es imperativo que posean las siguientes características:

- Moldeabilidad: Es decir la posibilidad de dar forma al biomaterial previo a su implantación, introduciéndolo en estado pastoso en la cavidad o defecto a sustituir. Esto genera una buena adaptación del implante al área que se requiere reconstruir, ya que el fraguado *in situ* permite conseguir una correcta fijación, evitando los problemas de migración de tienen las formulaciones de las cerámicas de fosfatos de calcio convencionales.

- Fluidez: Por medio de la modificación de las variables de procesado es posible obtener materiales que fluyan adecuadamente para que puedan ser aplicados en forma inyectable.

- Aposición: Corresponde a una propiedad derivada de la moldeabilidad y adaptación del material a una cavidad, en que la existencia de un buen contacto entre el cemento y el tejido circundante permite la formación de un enlace íntimo entre ambos, favoreciendo la sustitución ósea.

- Manipulación: Estos biomateriales requieren ser fácilmente manejables durante su preparación e implantación para que se logre superar la reconocida fragilidad que les caracteriza.

Los requisitos generales que deben cumplir los cementos óseos para postular su empleo en para la reconstrucción y regeneración ósea son probada bioactividad, carencia de toxicidad local o general, capacidad de fraguar en contacto con los fluidos fisiológicos sin presentar descohesión, ausencia de efectos exotérmicos, tiempos de fraguado y endurecimiento razonables, ausencia de contracción de volumen y adquisición de una resistencia mecánica apropiada ^{18,22,42,222,223}.

Las variables de la fase en polvo que determinan las propiedades de un cemento óseo son la naturaleza de los constituyentes sólidos principales, su proporción relativa, el uso de aditivos tales como semillas, aceleradores o retardantes y el tamaño de las partículas. Los factores que afectan a la fase líquida son los aditivos y el pH. La variable principal que condiciona la mezcla de las dos fases es la relación líquido / polvo y, por último, uno de los factores más determinantes es el ambiente fisiológico del lugar de implantación, ya que en él ocurren los procesos de fraguado y endurecimiento del cemento. El producto final debe ser un biomaterial capaz de conservar su solidez en contacto con los fluidos corporales ^{217,242-247}.

1.6.2.6.1.2. FORMULACIÓN QUÍMICA

Un cemento de fosfato de calcio está constituido por una fase sólida en polvo formada por uno o más fosfatos cálcicos, que al ser mezclada con una fase líquida reacciona dando origen a la precipitación de una o más fases producto. Dentro de los fosfatos de calcio se pueden distinguir los metafosfatos, los pirofosfatos y los ortofosfatos. Los dos primeros se hidrolizan en contacto con los fluidos y pueden generar calcificaciones extraóseas, por lo que sólo los ortofosfatos son útiles para ser formulados como cementos ^{196,207-211,248-250}.

Los fosfatos de calcio que se pueden obtener por precipitación a temperatura ambiente o corporal son ^{22,224}:

- Fosfato de calcio amorfo (ACP), cuya relación Ca/P es de 1.35 y su pH de precipitación oscila entre 4.0 y 9.0.
- Fosfato monocálcico monohidratado (MCPM), cuya fórmula es $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, su relación Ca/P es de 0.50 y su pH de precipitación varía entre 0 y 2.0.
- Fosfato dicálcico dihidratado (DCPD), cuya fórmula es $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, su relación Ca/P es de 1.00 y su pH de precipitación oscila entre 2.0 y 6.0.
- Fosfato octocálcico (OCP), cuya fórmula es $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, su relación Ca/P es de 1.33 y su pH de precipitación varía entre 5.5 y 7.0. Este es considerado el precursor mineral de la matriz ósea.
- Hidroxiapatita deficiente en calcio (CDHA), cuya fórmula es $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$, su relación Ca/P es de 1.5 y su pH de precipitación oscila entre 6.5 y 9.5.
- Hidroxiapatita precipitada (PHA), cuya fórmula es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, su relación Ca/P es de 1.67 y su pH de precipitación varía entre 9.5 y 12.

1.6.2.6.1.2.1. COMPOSICIÓN DE LA FASE SÓLIDA

Los compuestos basados en fosfatos de calcio que pueden utilizarse como componentes de la fase sólida en polvo de los cementos óseos son ^{22,224}:

- Fosfato dicálcico (DCP), cuya fórmula es CaHPO_4 y su relación Ca/P es de 1.00.
- Fosfato β tricálcico (β -TCP), cuya fórmula es $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y su relación Ca/P es de 1.50.
- Fosfato α tricálcico (α -TCP), cuya fórmula es $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y su relación Ca/P es de 1.50.
- Fosfato tetracálcico (TTCP), cuya fórmula es $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ y su relación Ca/P es de 2.00.
- Hidroxiapatita sinterizada (SHA), cuya fórmula es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ y su relación Ca/P es de 1.67.

- Whitlockita sódica (SWH), cuya fórmula es $\text{Ca}_{10}\text{Na}(\text{PO}_4)_7$ y su relación Ca/P es de 1.42.
- Rhenanita (RH), cuya fórmula es CaNaPO_4 y su relación Ca/P es de 1.00.
- Fosfato cálcico potásico (CPP), cuya fórmula es CaKPO_4 y su relación Ca/P es de 1.00.
- Fosfato cálcico sódico potásico (CSPP), cuya fórmula es $\text{Ca}_2\text{NaK}(\text{PO}_4)_2$ y su relación Ca/P es de 1.00.
- Fosfato tricálcico de magnesio (MTCP), cuya fórmula es $\text{MgCa}_8(\text{PO}_4)_6$ y su relación Ca/P es de 1.33.
- Whitlockita de magnesio (MWH), cuya fórmula es $\text{Ca}_9\text{Mg}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$ y su relación Ca/P es de 1.28.
- Fosfato de calcio y zinc (CZP), cuya fórmula es $\text{CaZn}_2(\text{PO}_4)_2$ y su relación Ca/P es de 0.50.
- Espodiosita (SP), cuya fórmula es $\text{Ca}_2\text{PO}_4\text{Cl}$ y su relación Ca/P es de 2.00.
- Cloroapatita (CLA), cuya fórmula es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ y su relación Ca/P es de 1.67.
- Fluorapatita (FA), cuya fórmula es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ y su relación Ca/P es de 1.67.
- Carbonato cálcico (calcita o dragonita), cuya fórmula es CaCO_3
- Dolomita (DOL), cuya fórmula es $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$

Los compuestos antes descritos y los fosfatos de calcio obtenidos por precipitación a temperatura ambiente, pueden combinarse para conformar la fase sólida de diferentes cementos óseos.

Para facilitar la reacción de fraguado de los cementos de fosfatos de calcio se pueden agregar a la fase sólida pequeñas cantidades de materiales que actúan como gérmenes o semillas para la cristalización de la fase producto. Las semillas más utilizadas son hidroxiapatita precipitada o hidroxiapatita deficiente en calcio que permiten reducir los tiempos de fraguado. En el caso de los cementos de fosfato dicálcico dihidratado se produce la situación inversa, ya que su fraguado es excesivamente rápido y en este caso se adiciona sulfato cálcico hemihidratado, sulfato cálcico dihidratado y pirofosfato cálcico para retardar esta reacción ^{212,218,220,243,246,251,252}.

1.6.2.6.1.2.2. COMPOSICIÓN DE LA FASE LÍQUIDA

La fase líquida de los cementos fosfocálcicos actúa como vehículo para la disolución de los reactivos y la precipitación de los productos, pudiendo cumplir este rol el agua bidestilada y soluciones acuosas de sales inorgánicas o compuestos orgánicos, que tienen efectos aceleradores o retardantes para el fraguado del cemento.

El efecto acelerador dado por la presencia de iones fosfato en la solución de la fase líquida ha sido probado en diferentes formulaciones. Brown y Chow verificaron que la utilización de una solución diluida de ácido fosfórico aceleraba el fraguado del cemento conformado por fosfato tetracálcico y fosfato dicálcico o fosfato dicálcico dihidratado. Posteriormente, se ha demostrado un comportamiento similar en formulaciones basadas en fosfato α tricálcico, empleando como fase líquida una solución de Na_2HPO_4 ó $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ^{211,214,219,221}.

La gran versatilidad y facilidad de manipulación de los cementos de fosfatos de calcio, hace que la variedad de aditivos factibles de incluir en su formulación sea muy amplia. De hecho, la bioactividad de estos materiales puede ser mejorada incorporando factores de crecimiento y proteínas morfogenéticas óseas, sumando a su comprobada condición osteoconductora propiedades osteoinductivas ^{135,142,253-255}.

La relación de la fase líquida con la fase sólida en polvo es un factor que influye en la plasticidad inicial de la pasta, en los tiempos de fraguado y la resistencia final de los cementos de fosfatos de calcio. Las propiedades mecánicas dependen de la porosidad del biomaterial fraguado, hecho que tiene correspondencia directa con la relación líquido / polvo empleada, la que, a su vez, influye en la plasticidad de la pasta, condicionando la potencial inyectabilidad de los cementos fosfocálcicos ²⁵⁶⁻²⁵⁸.

1.6.2.6.1.3. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Las propiedades físico-químicas más importantes que deben ostentar los cementos de fosfatos de calcio son un tiempo de fraguado razonablemente reducido, mantención de la dureza obtenida en contacto con el ambiente del sitio de implantación, ausencia de variación de su volumen, reacción exotérmica limitada y resistencia mecánica adecuada ²⁵⁹⁻²⁶¹.

No se ha establecido un criterio general consensuado respecto al tiempo óptimo de fraguado de estos biomateriales para su aplicación clínica, pues las necesidades pueden ser variadas. Sin embargo, luego de mezclar las fases sólida y líquida es conveniente que el cemento fragüe en un periodo de tiempo reducido, suficiente como para facilitar la preparación e implantación de la pasta obtenida. Se han señalado como valores adecuados, un tiempo inicial de fraguado comprendido entre 4 y 8 minutos que permite moldear correctamente la pasta y un tiempo final de fraguado de entre 10 y 15 minutos para que el cemento alcance un nivel de resistencia apropiado ^{207,220,221,223,252,262}.

Los procedimientos para modificar los tiempos de fraguado del cemento son la adicción de semillas, la variación de la relación líquido / polvo y la utilización de soluciones acelerantes o retardadoras. El producto resultante es una hidroxiapatita monolítica, ya sea deficiente en calcio o precipitada, que desde el punto de vista microestructural está constituida por cristales aciculares y algunas formaciones de placas²⁶³⁻²⁷¹.

El cemento óseo debe poseer la capacidad de fraguar y endurecer inmerso en tejidos que tienen un elevado grado de humedad. Por lo tanto, no es suficiente que el biomaterial fragüe en condiciones atmosféricas, sino que debe hacerlo en contacto con la sangre y otros fluidos corporales, sin presentar descohesión. De esta manera, se ha definido el tiempo de cohesión como el periodo que transcurre desde que se mezclan los componentes sólido y líquido hasta sumergir la pasta en los fluidos fisiológicos sin que se produzca disgregación o desintegración. La situación óptima para que una formulación de cemento sea estable es que el tiempo de cohesión tienda a cero^{201,272-276}.

Una propiedad importante de considerar es la variación de volumen que pueden experimentar los cementos óseos durante la reacción de fraguado, ya que la contracción puede dificultar la fijación y bioactividad del material y su expansión puede lesionar la estructura ósea circundante. El estudio de la contracción lineal de volumen en tres formulaciones distintas de cementos de fosfato α tricálcico ha mostrado una variación de sólo un 0.10 ± 0.05 %. Este mismo resultado ha sido obtenido para un cemento de fosfato monocálcico monohidratado, mientras que en una formulación compuesta de fosfato tetracálcico y fosfato dicálcico se encontró una expansión lineal de 0.06 ± 0.01 %. Estos valores son lo suficientemente pequeños para que no planteen problemas en el comportamiento *in vivo* de estos biomateriales^{197,242,277}.

Los estudios calorimétricos realizados con diferentes formulaciones de cementos basados en fosfatos de calcio, revelan que durante el fraguado se produce, en general, una reacción isotérmica, especialmente con el cemento de fosfato α tricálcico. Mientras que con las formulaciones compuestas por fosfato monocálcico monohidratado y fosfato cálcico potásico la temperatura máxima registrada es de 33 °C y con las conformadas por fosfato monocálcico monohidratado y óxido de magnesio es de 44 °C. Esto es de primordial importancia dado que el elevado aumento de temperatura durante el fraguado de los cementos óseos, como el que ocurre con el polimetilmetacrilato que presenta alzas de hasta 133 °C, puede llegar a producir devascularización e, incluso, necrosis ósea^{197,216,278,279}.

Los parámetros de mayor interés para valorar las propiedades mecánicas de los cementos de fosfatos de calcio son la resistencia a la compresión y a la tracción diametral. Bermúdez y cols. realizaron un estudio comparativo de estas propiedades en varias formulaciones de cementos encontrando valores de resistencia a la compresión de hasta 60 MPa y a la tracción de 5 MPa ²⁴⁴.

Uno de los factores que más influye en las propiedades mecánicas de estos biomateriales es la porosidad, dado que niveles relativamente altos determinan una resistencia inferior a la de las cerámicas de fosfatos de calcio convencionales. Para la hidroxiapatita sinterizada se ha encontrado valores de resistencia a la compresión de hasta 917 MPa, sin embargo, se produce una disminución exponencial de este parámetro en la medida que se incrementa la porosidad entre un 8.0 y un 70.0 %. Para cerámicas de hidroxiapatita obtenidas a 1.150 ° C con una porosidad de alrededor de un 20.0 %, se señala valores de 308 ± 46 MPa de resistencia a la compresión, mientras que este parámetro aumenta a 509 ± 57 MPa cuando se sinterizan a 1.300 °C y presentan una porosidad de un 4.0 % ^{181,218,232,279}.

Para los cementos basados en fosfato tetracálcico y fosfato dicálcico se cumple la misma relación logarítmica inversa entre porosidad y resistencia a la compresión encontrada para las cerámicas. Esto implica que la obtención de hidroxiapatita monolítica a baja temperatura por medio de una reacción cementante, genera un comportamiento mecánico comparable con el que posee una cerámica de hidroxiapatita con porosidad equivalente. Para la resistencia a la tracción diametral y porosidad de un cemento de fosfato tetracálcico y fosfato dicálcico, se ha encontrado la misma relación exponencial, de tal manera que, si el material es denso, el valor es de 103 MPa, en cambio, si el cemento es poroso, es de alrededor de 10 MPa ^{181,232}.

Las características de los cementos de fosfatos de calcio hacen improbable una mejoría sustancial de su comportamiento mecánico, dada la íntima relación con su porosidad. Para reducir los poros se puede disminuir la relación líquido / polvo, sin embargo esta opción se encuentra limitada por la necesidad de contar con una pasta moldeable. Por otro lado, la preparación del cemento a altas presiones no consigue reducir la porosidad por debajo de un 26.0 a un 28.0 %, lo que implica un aumento de la resistencia de escasa cuantía. Para mejorar las propiedades mecánicas se han diseñado biomateriales compuestos que incorporan una matriz polimérica, sin embargo esto perjudica las características bioactivas del implante. La opción alternativa, busca que estos materiales sean sustituidos en

un periodo de tiempo reducido, de manera que las propiedades mecánicas sean aportadas por el tejido óseo neoformado ^{181,225,226,232}.

1.6.2.6.1.4. PROPIEDADES BIOLÓGICAS

Los cementos de fosfatos de calcio se comportan como sustitutivos óseos debido a que son capaces de conducir la neoformación ósea. Además, son materiales biocompatibles que no sufren fenómenos de encapsulación fibrosa, no generan reacciones tóxicas ni inflamatorias en los sitios de implantación ni a nivel general y carecen de potencial mutagénico ^{193,280-286}.

Estos materiales tienen propiedades biológicas particulares, ya que su osteointegración se produce por medio del mecanismo de osteotransducción. De este modo, el material sólido poroso resultante del fraguado entra a formar parte directamente del proceso de neoformación ósea, por lo que su degradación es activa, es decir, con la participación efectiva de las células osteoclasticas. Así, el concepto de osteotransducción se puede definir como la fijación biológica y bioactiva de un material con biodegradabilidad selectiva activa y biotransformación ^{27,42,167,172,196,287}.

El mecanismo de osteotransducción comienza luego de la implantación del cemento basado en fosfatos de calcio, con el desencadenamiento de fenómenos de cicatrización del área ósea intervenida, la que se acompaña de la eliminación de partículas residuales y células muertas desde la superficie del material por parte de los macrófagos. Posteriormente, se inicia la biodegradación del implante por fagocitosis y disolución extracelular mediada por la acción de macrófagos y células afines. También existe una pseudofagocitosis efectuada por fibroblastos que penetran al interior de la cerámica. Simultáneamente, la solución presente entre los cristales del implante se enriquece con iones calcio y fósforo, liberados por su disolución. En este momento se genera una precipitación cristalina, tanto en la superficie, como en el interior del implante, que tiene lugar en un medio rico en proteínas y conduce a la formación de cristales de apatita idénticos a los del hueso. De esta manera, se produce la calcificación sobre una matriz extracelular todavía indiferenciada, fenómeno que modifica las propiedades mecánicas del cemento ^{27,42,184,186,196,287-289}.

La osteointegración continúa con la invasión celular al interior de los poros del implante, conformándose un tejido óseo neoformado con osteocitos y matriz extracelular mineralizada. Este proceso es seguido por la remodelación del tejido óseo recién establecido, que es

similar a la desarrollada por el hueso normal. Los productos de degradación de los cementos basados en fosfatos de calcio son atóxicos y aportan elementos como calcio y fósforo que son necesarios para la neoformación ósea. La combinación de las propiedades de osteoconducción y biodegradabilidad de estos materiales ha sido confirmada por diversos autores^{27,42,184,186,196,287-296}.

Los cementos de fosfatos cálcicos implantados en los tejidos subcutáneo o muscular no experimentan fenómenos de degradación. También se ha podido determinar que estos materiales no se disuelven al entrar en contacto con sustancias similares al plasma sanguíneo, hecho que corrobora su estabilidad en los fluidos fisiológicos. Se ha observado un aumento de la diferenciación de las células osteoprogenitoras de la médula ósea en presencia de los cementos fosfocálcicos, sin embargo, algunos estudios sugieren la posibilidad que un elevado número de partículas del biomaterial podría inducir reacciones osteolíticas o que las partículas de cemento menores de 10 µm. de diámetro disminuirían la proliferación de osteoblastos²⁹⁷⁻³⁰⁷.

Numerosos estudios realizados en animales de experimentación implantando cementos de fosfatos de calcio destacan las propiedades de osteoconducción, osteointegración, biodegradabilidad y biocompatibilidad de estos materiales³⁰⁸⁻³²⁰.

Asimismo, resulta de interés la utilidad de los cementos fosfocálcicos como materiales liberadores de sustancias, también conocidos como sistemas DDS (Drug Delivery System), dado que su degradación progresiva permite el pasaje lento de variados fármacos al interior del hueso, entre muchos, la vancomicina, la gentamicina o la indometacina³²¹⁻³²⁴.

Diferentes estudios biomecánicos realizados en esqueletos de cadáver han demostrado que los cementos de fosfatos de calcio son capaces de favorecer y facilitar la fijación de determinadas fracturas³²⁵⁻³²⁹.

Por último, ya se han publicado estudios clínicos que describen el empleo de estos biomateriales cerámicos para mejorar la consolidación de fracturas frecuentes como las de epífisis distal de radio, de platillos tibiales, de cuello femoral y de calcáneo, entre otras, cuyos resultados preliminares en series limitadas de pacientes son bastante promisorios, lo que permite vislumbrar perspectivas muy interesantes para el uso médico de los cementos basados en fosfatos de calcio³³⁰⁻³³⁶.

1.6.2.6.2. CEMENTO DE FOSFATO α TRICÁLCICO

El cemento H se obtiene de la mezcla de una fase sólida en polvo constituida por un 98.0 % en peso de fosfato α tricálcico (α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) y un 2.0 % de hidroxiapatita precipitada (PHA), y una fase líquida correspondiente a una solución acuosa al 2.5 % de hidrógeno fosfato disódico (Na_2HPO_4) con una relación líquido / polvo de 0.35 ml/g.^{196,201,220,263}

La preparación del fosfato α tricálcico se realiza mezclando los reactivos carbonato de calcio (CaCO_3) y fosfato de calcio (CaHPO_4) en un recipiente plástico, luego de lo cual se coloca el polvo en un horno tubular Carbolite, efectuando un calentamiento desde la temperatura ambiental hasta 1.300 °C durante 15 minutos, tiempo suficiente para asegurar la transformación completa de los reactivos. A continuación, se lleva a cabo un temple, con el fin de retener la estructura cristalina monoclinica correspondiente a la fase α a la temperatura ambiente, evitando la conversión a su forma alotrópica β ²².

El fosfato α tricálcico corresponde a una fase metaestable, por lo que puede producirse la transformación de α en β , y si el temple no es lo suficientemente rápido el material puede contener un cierto nivel de impurezas. Esto explica la presencia de hasta un 15.0 % de fosfato β tricálcico. Una vez obtenido el fosfato α tricálcico, se le procede a fragmentar en un molino de bolas de tipo centrífugo Pulverisette 6, Fritsch GmbH, para convertirlo en polvo. Enseguida, se le agrega un pequeño porcentaje en peso de hidroxiapatita precipitada (PHA), con el objetivo que actúe como nucleador o semilla de la fase producto. Para homogenizar la mezcla de fosfato α tricálcico e hidroxiapatita precipitada se muele el polvo en remesas de 20 gramos durante 7 minutos²².

La caracterización física del cemento H muestra que posee un tiempo de cohesión menor de 5 minutos, un tiempo inicial de fraguado que varía entre 7 y 9 minutos y un tiempo final de fraguado que oscila entre 15 y 22 minutos. Desde el punto de vista mecánico ostenta una resistencia a la compresión de 20 MPa a las 8 horas, de 33 MPa a las 24 horas y de 40 MPa a las 40 horas, que corresponde a su resistencia máxima^{201,244}.

La preparación del cemento se realiza mezclando la fase en polvo con la solución acuosa de hidrógeno fosfato disódico (Na_2HPO_4) al 2.5 %, lo que genera como producto de la reacción una hidroxiapatita deficiente en calcio (CDHA) de características similares a la fase mineral ósea, cuya transformación se completa en 64 horas^{264,265}.

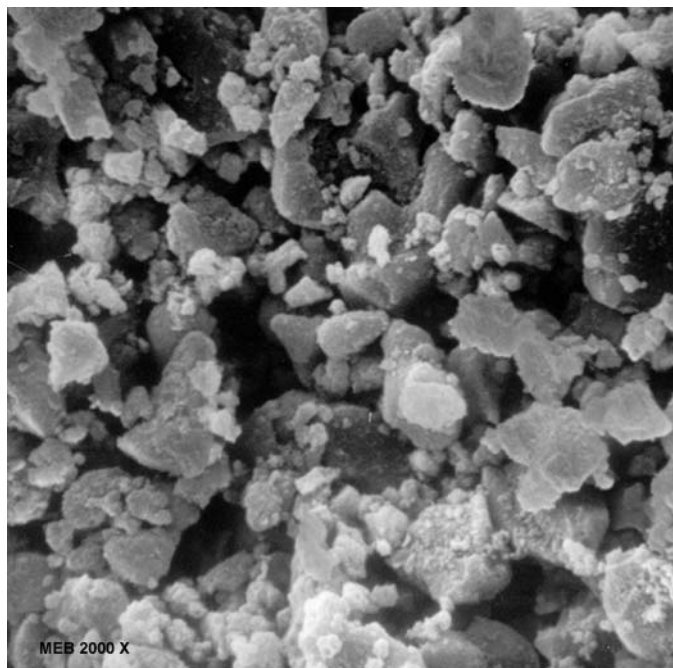


Figura 3. Microestructura del cemento H fraguado.

1.6.2.6.3. CEMENTO DE FOSFATO MONOCÁLCICO

Entre los aspectos de interés de los cementos basados en fosfatos de calcio se encuentra el aumento de la velocidad de reabsorción para que se aproxime a la de la regeneración ósea. Para lograr este objetivo se ha desarrollado y caracterizado un cemento óseo cuya composición incluye un fosfato de calcio de elevada solubilidad que contiene iones alcalinos de calcio y potasio ²⁴⁸.

El grupo de la Universitat Politècnica de Catalunya, ha realizado estudios en que emplea como fase sólida una mezcla de fosfato cálcico sódico potásico (CSPP - $\text{Ca}_2\text{NaK}(\text{PO}_4)_2$) con fosfato monocálcico monohidratado (MCPM - $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), fosfato dicálcico dihidratado (DCPD - $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y carbonato de calcio (CaCO_3), utilizando agua destilada como fase líquida ²⁴⁹.

La determinación del tiempo de cohesión se efectúa sumergiendo probetas de 6 mm. de altura por 12 mm. de diámetro, con cemento en agua destilada a diferentes tiempos de preparada la pasta, para valorar su resistencia a la desintegración y, de esta manera, establecer los tiempos de fraguado. Con las formulaciones que presentan una adecuada cohesión se realiza un estudio de la transformación del cemento sumergido en solución de Ringer a 37 °C, analizando las muestras en distintos periodos entre las 0.25 y 360 horas.

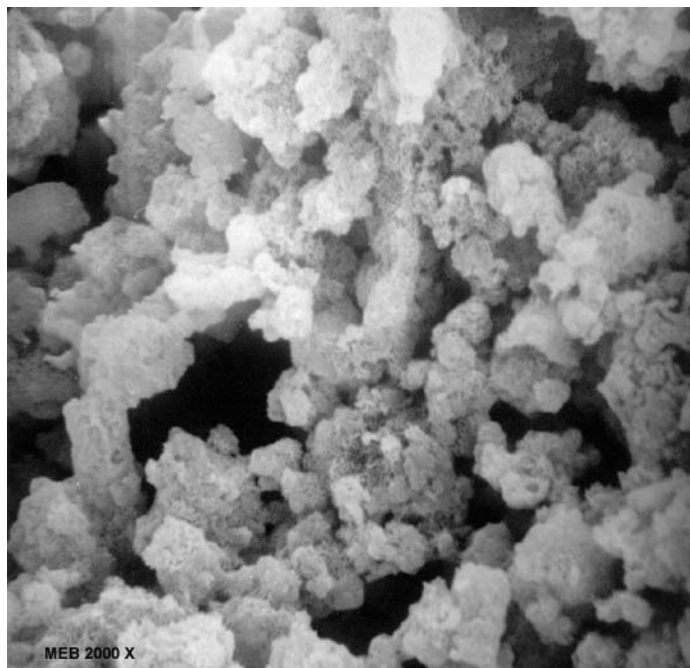


Figura 4. Microestructura del cemento R fraguado.

La caracterización química del cemento se realiza mediante difracción con rayos X, la resistencia a la compresión en una máquina universal de ensayos y la microestructura del material en un microscopio electrónico de barrido. En todas las formulaciones propuestas es posible obtener una pasta fácil de manipular, con distintos tiempos de fraguado y cohesión. Para los cementos óseos cuya fase sólida contiene MCPM la cohesión se logra a los 2 minutos, en cambio en las formulaciones con DCPD y CaCO_3 ésta no se presenta transcurridos 20 minutos. Dado que el tiempo de cohesión debe ser el menor posible e inferior al tiempo de fraguado, se establece que estas últimas formulaciones necesitan modificar su composición, adicionando promotores, para ser empleadas como cementos y evitar la migración de sus partículas. Por lo tanto, se considera que solamente el cemento de CSPP / MCPM, denominado como Cemento R, puede ser candidato para ser utilizado como sustitutivo óseo²⁹⁴.

El cemento R fragua, dando como producto final una hidroxiapatita precipitada (PHA) que presenta una gran solubilidad, lo que determina que sus propiedades mecánicas decrezcan a partir de las 64 horas. Esta característica es muy interesante, puesto que su alta solubilidad implicaría una mayor velocidad de reabsorción una vez implantado, aunque se hace necesario optimizar la velocidad de disolución de manera que el cemento mantenga unas propiedades mecánicas adecuadas por un tiempo más prolongado para permitir la recuperación del sitio de implantación.

1.6.2.7. VIDRIOS BIOACTIVOS

Los vidrios bioactivos son materiales cerámicos que ostentan la capacidad de enlazar iónicamente con algunos tejidos, entre ellos el hueso, intercambiando iones o grupos moleculares con el medio fisiológico donde son implantados. Los principales representantes de este grupo son los vidrios de base silicio y los de base fosfato ^{17,111}.

Los vidrios de base silicio fueron desarrollados por Hench y cols. en la década de los 70 y su estudio proporcionó la primera evidencia efectiva del establecimiento del enlace directo de un biomaterial con el tejido óseo. Estos materiales son sólidos, duros y transparentes y se encuentran constituidos por dióxido de silicio (SiO_2), óxido disódico (Na_2O), óxido de calcio (CaO) y pentóxido de fósforo (P_2O_5), siendo el primero su componente principal. El modelo clásico de vidrio de silicio está basado en la formulación 45S5, es decir, compuesto por un 45.0 % molar de SiO_2 , un 24.5 % de CaO , un 24.5 % de Na_2O , un 6.0 % de P_2O_5 y una relación de 5 a 1 molar de Ca a P ^{111, 337}.

La unidad estructural básica de los vidrios de base silicio corresponde a un tetraedro, en el cual el silicio ocupa el átomo central. Los tetraedros se organizan en unidades tridimensionales e interconectan unos con otros compartiendo un oxígeno. Los óxidos metálicos que pueden conformar un vidrio bioactivo corresponden a cationes de carga electrónica elevada, de radio iónico pequeño, que coordinados en tetraedros con el oxígeno son los denominados formadores de red. Estos son principalmente SiO_2 , P_2O_5 , GeO_2 o B_2O_3 . Por otra parte, los cationes con radio iónico elevado, coordinados en forma octaédrica con el oxígeno se denominan modificadores de red y corresponden a Na_2O , K_2O , CaO o BaO . Todos ellos tienen una importante influencia en las propiedades de los vidrios bioactivos ¹¹³.

Estos biomateriales se unen al tejido óseo por fijación bioactiva, experimentando una modificación cinética en su superficie al contactar con los fluidos biológicos, para formar una capa de hidroxicarbonatoapatita que es equivalente, química y estructuralmente, a la fase mineral del hueso. Esta capa se forma como consecuencia de la alta reactividad de los vidrios en el medio acuoso, situación que propicia un rápido intercambio iónico y reacciones de disolución y precipitación. Este proceso genera una variación de la concentración iónica del fluido y la formación de una capa de gel de sílice en la superficie vítrea, hechos que favorecen la cristalización de la apatita hidroxicarbonatada, estableciéndose una fuerte unión con el tejido óseo que hace posible su osteointegración ^{338,339}.

Las propiedades bioactivas de estas cerámicas permiten que determinadas formulaciones puedan tener utilidad como sustitutivos óseos, como recubrimiento superficial de diversos implantes para facilitar su osteointegración, como vehículos para la liberación sostenida de diferentes sustancias o fármacos y como andamios para la ingeniería de tejidos. Los estudios de biocompatibilidad han mostrado que en general los vidrios bioactivos carecen de toxicidad general o local, aunque algunas formulaciones pueden generar reacciones de tipo inflamatorio ³⁴⁰⁻³⁴³.

Existe una relación bien establecida entre las diferentes composiciones de los vidrios bioactivos y su capacidad para enlazar químicamente con el hueso, la que es determinada por las proporciones específicas de sus componentes, los que además condicionan su bioactividad, bioabsorción y comportamiento más o menos inerte. De esta manera, el enlace se establece solamente con materiales que contienen SiO_2 , P_2O_5 , Na_2O y CaO , ya que la presencia de sólo un 3.0 % de alúmina (Al_2O_3) en su composición impide la adhesión al tejido óseo ^{344,345}.

La concentración inicial de células óseas en la interfaz depende del ajuste del implante y del tipo de defecto óseo, debido a que todos los materiales bioactivos requieren de un período de implantación variable antes que se establezcan los enlaces y prolifere el tejido óseo. El periodo de incubación varía en función de la composición del implante, la que a su vez es responsable del control de la cinética de las reacciones que se generan en su superficie. De este modo, si las reacciones superficiales son rápidas el implante es bioabsorbible, mientras que si éstas son más lentas, se comporta como bioinerte estableciéndose una fijación de tipo morfológico ³⁴⁶.

Luego de la implantación de los vidrios bioactivos sus propiedades mecánicas, tanto resistencia a la flexión como módulo de elasticidad, permanecen estables durante el periodo de disolución, debido a que este proceso se establece con la formación de una capa de reacción hidratada en la superficie del biomaterial desde la cual se va extendiendo uniformemente hacia su interior ^{111,347}.

El valor del módulo de elasticidad de la mayoría de los vidrios bioactivos, se encuentra en alrededor de 50 GPa, relativamente cercano a los valores reportados para el hueso. Por lo anterior, desde el punto de vista mecánico aparecen como buenos candidatos para la reparación de defectos del tejido óseo ^{17,348}.

1.6.2.7.1. VIDRIOS BIOACTIVOS DE BASE FOSFATO

Los vidrios de base fosfato fueron desarrollados por Schott y cols. hace unos 100 años, determinando que eran poseedores de unas interesantes propiedades ópticas, tales como, un bajo grado de dispersión, un relativamente alto índice de refracción y una alta transparencia a la luz ultravioleta. Sin embargo, su baja estabilidad química representó una limitante que retrasó su progreso durante varios años ³⁴⁹.

En 1958, Van Wazer establece los fundamentos de la química del fósforo y sus compuestos en un extenso trabajo denominado teoría de la reorganización, desarrollando un modelo matemático que ha permitido llegar a la comprensión actual de la naturaleza de los vidrios de fosfato. Este modelo ha sido comprobado y validado por numerosos estudios experimentales ³⁵⁰.

El desarrollo de los vidrios de fosfato para aplicaciones biomédicas comienza a principio de los años 80, gracias a los estudios de Burnie y Gilchrist, quienes analizaron una serie de materiales con contenidos variables de pentóxido de fósforo (P_2O_5) entre 35.0 y 60.0 % molar como formador de red y distintas proporciones de óxido de calcio (CaO) y óxido disódico (Na_2O) como modificadores de red. Así, obtienen vidrios con un amplio rango de propiedades bioactivas y velocidades de disolución que varían entre días y meses ^{112,351-353}.

Desde mediados de los años 90, el grupo de investigadores del Departament de Ciència dels Materials i Enginyeria Metal·lúrgica y el Centre de Recerca en Enginyeria Biomèdica de la Universitat Politècnica de Catalunya, ha desarrollado diversas formulaciones de vidrios de base fosfato, dos de los cuales estudiaremos *in vivo* en este trabajo de tesis, que corresponden a un vidrio de fosfato del sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O y un vidrio de fosfato del sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O - TiO_2 , denominados vidrio G0 y G5, respectivamente ^{19,24,354}.

Los vidrios de fosfato tienen actualmente una gran variedad de aplicaciones entre las que destacan la fabricación de lentes y otros dispositivos ópticos, su asociación con biomateriales poliméricos u otras cerámicas para constituir materiales compuestos, como medios de almacenamiento de residuos nucleares, el sellado entre vidrios y metales, la fabricación de fibras ópticas para las comunicaciones, la elaboración de láseres y colectores de energía solar y las aplicaciones biomédicas, entre las que destaca su factible empleo como sustitutivos óseos ³⁵⁵⁻³⁵⁸.

1.6.2.7.1.1. CONSTITUCIÓN DE LOS VIDRIOS DE FOSFATO

Los vidrios conforman un grupo singular de cerámicas que pueden definirse como materiales isotrópicos, orgánicos o inorgánicos, que carecen de periodicidad atómica tridimensional y que ostentan una viscosidad superior a los 10^{14} poises³⁵⁹.

La unidad estructural básica de los vidrios de base fosfato corresponde a un tetraedro, en que el fósforo ocupa el átomo central. Los tetraedros están organizados en unidades tridimensionales y se encuentran enlazados unos con otros compartiendo un oxígeno. De esta manera, la estructura básica de un vidrio se puede definir como una red tridimensional de tetraedros organizados al azar³⁶⁰.

Los vidrios de fosfato contienen pentóxido de fósforo (P_2O_5) como óxido formador de la estructura vítrea y poseen un alto porcentaje de óxidos modificadores de red. Por definición, los fosfatos son aquellos compuestos en los cuales cada átomo de fósforo se encuentra rodeado de cuatro átomos de oxígeno en las esquinas de un tetraedro. Mientras que un átomo de oxígeno forma un doble enlace con el fósforo, los otros tres corresponden a átomos de oxígeno puentes, pudiendo ser compartidos por varios tetraedros. De esta forma, se crean cadenas, anillos y polímeros ramificados constituidos por tetraedros de PO_4 interconectados^{24,360}.

El desarrollo de vidrios bioactivos de base fosfato como implantes solubles para el relleno de defectos óseos tiene gran interés, ya que éstos pueden actuar como puentes entre dos áreas de hueso dañado y ser sustituidos por hueso neoformado, en la medida que se van bioabsorbiendo. Los vidrios de fosfato capaces de enlazar químicamente con el tejido óseo, formando una capa apatítica activa, son aquellos formulados con una composición cercana a la de la fase mineral del hueso, habitualmente los de tipo metafosfato y pirofosfato³⁶¹⁻³⁶³.

1.6.2.7.1.2. TIPOS DE VIDRIOS DE FOSFATO

Considerando las proporciones relativas de cada unidad estructural que compone un determinado vidrio de fosfato, se pueden distinguir tres tipos principales de estructuras, correspondientes cada una a un rango de composición:

1.6.2.7.1.2.1. VIDRIOS DE ULTRAFOSFATO

Corresponden a vidrios que poseen un contenido de pentóxido de fósforo (P_2O_5) superior a un 50.0 % molar. Estos son muy reactivos y se disuelven muy rápidamente en presencia de agua, lo que limita sus posibles aplicaciones tecnológicas. Además, son muy difíciles de elaborar aunque presentan algunas propiedades más interesantes que las de los vidrios de base silicio. Sin embargo, durante esta última década han recibido una especial atención y se han desarrollado numerosos estudios para su caracterización ³⁶⁴.

1.6.2.7.1.2.2. VIDRIOS DE METAFOSFATO

Estos vidrios deberían tener, en sentido estricto, un porcentaje de P_2O_5 de un 50.0 % molar. Sin embargo, debido a la dificultad para obtener materiales vítreos con una composición estequiométrica exacta, se considera que los que poseen un contenido de P_2O_5 entre un 40.0 y un 55.0 % molar, aproximadamente, tienen una estructura de tipo metafosfato. Estos vidrios son mucho menos reactivos y más resistentes al agua, debido a que incluyen una mayor cantidad de modificadores de red. Por lo tanto, son de más fácil elaboración y presentan gran interés para distintas aplicaciones biomédicas y tecnológicas ^{19,24,365}.

Las dos formulaciones de vidrios bioactivos que se estudian en este trabajo presentan una estructura de tipo metafosfato en el sistema $44.5P_2O_5-44.5CaO-(11-X)Na_2O-XTiO_2$, en que X es igual a 0 ó 5, ambos con un porcentaje de P_2O_5 de 44.5 % molar.

1.6.2.7.1.2.3. VIDRIOS DE PIROFOSFATO

Esta clase de vidrios de fosfato tienen un contenido de P_2O_5 inferior al 30.0 % molar y un alto porcentaje de elementos modificadores de red. Se denominan también vidrios inversos y son difíciles de obtener debido a su tendencia a la cristalización espontánea durante su elaboración. Por lo tanto, los vidrios de pirofosfato se encuentran constituidos por sistemas más complejos, con adición de óxidos metálicos tales como MgO, ZnO o TiO_2 . Debido a su dificultad de elaboración, sólo han sido objeto de estudio recientemente.

Estos vidrios poseen una elevada estabilidad química y propiedades térmicas muy interesantes, por lo que presentan interés para muchas aplicaciones tecnológicas. Por otra parte, en cuanto a aplicaciones biomédicas, este tipo de estructura permite elaborar materiales vítreos con una relación Ca/P muy cercana a la fase mineral del hueso, por lo que también pueden ostentar características de vidrios bioactivos ^{366,367}.

1.6.2.7.1.3. ELABORACIÓN DE LOS VIDRIOS DE FOSFATO

Los vidrios de fosfato del sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O se elaboran empleando tres reactivos bases que corresponden a carbonato de calcio, amonio dihidrógeno fosfato y carbonato de sodio, cada uno de ellos en presentación en polvo. Para 1 mol de vidrio se requieren 44,900 g. de $CaCO_3$, 102,377 g. de $NH_4H_2PO_4$, y 11,659 g. de Na_2CO_3 , como materias primas^{24,368}.

La elaboración de estos materiales se realiza en dos etapas, dado que en primer lugar se debe proceder a la calcinación del carbonato cálcico ($CaCO_3$) para conseguir el CaO requerido para el vidrio correspondiente, procedimiento que consiste en un calentamiento rápido hasta 600 °C, seguido de uno más lento hasta 900 °C, debido a que en este intervalo térmico se produce la reacción química que permite su obtención.

En la segunda etapa se mezclan homogéneamente el CaO, $NH_4H_2PO_4$ y Na_2CO_3 y se colocan en un crisol de platino, que a su vez es instalado en un horno de altas temperaturas para obtener la fusión de estos componentes. Enseguida, se realiza un primer calentamiento hasta 450 °C para eliminar el agua y los vapores de amonio generados por la descomposición del $NH_4H_2PO_4$, luego de lo cual se continúa calentando la mezcla hasta alcanzar una temperatura entre 1.250 y 1.350 °C, la que se mantiene durante 3 horas para permitir la homogenización del material. Posteriormente, el vidrio es colado en una placa metálica previamente calentada a 350 °C. Se utiliza un crisol de platino, debido a que tiene un elevado punto de fusión (1.773 °C), lo que evita la contaminación del vidrio y, además, posee una gran resistencia frente a la mayoría de los reactivos químicos^{19,24,368}.

Seguidamente, se realiza un primer recocido del vidrio durante 30 minutos a 400 °C para eliminar las tensiones residuales inducidas por el enfriamiento rápido de la colada. Luego se efectúa un segundo procedimiento de recocido a la temperatura de transición vítrea (T_g), que para el caso de los vidrios de fosfato del sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O es de 350 °C. De esta manera, se concluye con la eliminación completa de las tensiones residuales. Tras el segundo recocido se deja enfriar el vidrio lentamente en el horno hasta alcanzar la temperatura ambiental³⁶⁸.

De esta forma, se obtienen placas de vidrio de dimensiones predeterminadas que luego son cortadas y fragmentadas, utilizando etanol como lubricante, hasta conseguir el tamaño de partículas vítreas requeridas.

1.6.2.7.1.4. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Las propiedades físico-químicas de los vidrios de base fosfato se encuentran en estrecha relación con su condición de sólidos amorfos, los componentes específicos que conforman el material, su estructura particular, ya sea binaria, ternaria o cuaternaria, la incorporación de óxidos metálicos en su composición, su solubilidad, su temperatura de transición vítrea y sus características mecánicas ³⁶⁹.

Los vidrios ternarios de base fosfato, como los del sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O , pueden ser elaborados con ciertas composiciones específicas para que puedan detentar propiedades bioactivas. De este modo, es posible conseguir materiales vítreos que pueden ser propuestos como moldes estructurales para la regeneración ósea en consideración a su semejanza química con la fracción mineral del hueso. Esta característica permite esperar una reducción o desaparición de los riesgos de alergia, inflamación, aflojamiento, pérdida, rechazo o corrosión del implante. Lo anterior, representa una ventaja respecto de los vidrios de base silicato, dado que los efectos del silicio en el ser humano en el largo plazo son desconocidos y debido a que existen estudios experimentales que han determinado que este elemento puede ser tóxico ³⁷⁰.

Los vidrios de fosfato se caracterizan por ser materiales bioabsorbibles y biodegradables, y estas propiedades se encuentran estrechamente ligadas con su solubilidad. La relación CaO/ Na_2O es la responsable del control de la velocidad de disolución de estos materiales, lo que permite elaborar vidrios con tiempos de solubilidad muy variables y acordes con la función que deban desempeñar en los ambientes fisiológicos de implantación. De esta manera, en la medida que aumenta el contenido de óxido de calcio (CaO) de los vidrios de fosfato, disminuye su solubilidad, en cambio, al aumentar la proporción de óxido disódico (Na_2O) se incrementa la velocidad de disolución ³⁷¹⁻³⁷².

La variación de la relación CaO/ Na_2O para controlar la solubilidad de los vidrios de fosfato tiene un límite, por lo que como alternativa se dispone de la incorporación de óxidos metálicos en la estructura vítrea. De esta forma, se puede disminuir la solubilidad e incrementar la durabilidad de estos materiales adicionando iones como TiO_2 , Fe_2O_3 o ZnO , entre otros, los que, además, permiten mejorar la resistencia mecánica. Sin embargo, se ha encontrado que la liberación de estos iones en los tejidos receptores puede generar algunas reacciones inflamatorias leves ³⁷³⁻³⁷⁹.

La solubilidad del vidrio es valorada mediante la pérdida de peso del material en fluido fisiológico simulado (SBF) a 37 °C en el transcurso de 80 días. Tres muestras del vidrio previamente pulidas son sumergidas en envases de polietileno con agua destilada, manteniendo una relación superficie / volumen constante de 1/10. El fluido es renovado semanalmente después de medir el peso de la muestra, calculando el porcentaje de pérdida ponderal. Además, se efectúa el seguimiento de la degradación de los vidrios por medio de la microscopía electrónica ambiental de barrido, a diferentes tiempos de degradación ^{110,369}.

La determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g) para cada vidrio de fosfato elaborado se realiza mediante dilatometría. Esta medición es de gran importancia, ya que permite aplicar este valor térmico al segundo recocido del vidrio que tiene como finalidad eliminar la totalidad de las tensiones residuales inducidas durante la colada, además de ser una constante física particular para cada material vítreo que proporciona información respecto a la rigidez de su estructura ³⁶⁸.

Las propiedades mecánicas de los vidrios se evalúan por medio de la dureza de Vickers (HV) y el módulo de Young, determinándose que la mayoría de las composiciones vítreas presenta una resistencia tensil cercana a la del hueso. El incremento del contenido de CaO y la adición de iones metálicos aumentan el módulo de Young y la resistencia de Vickers de estos materiales. Lo anterior, ha permitido el empleo de vidrios de fosfato como refuerzo de otros biomateriales cerámicos o poliméricos, como por ejemplo la hidroxiapatita y el ácido poliláctico, obteniendo materiales compuestos con mejores propiedades mecánicas que los componentes originales.

La determinación de la dureza de Vickers se efectúa a través de la técnica de indentación con una carga de 300 gramos aplicada durante 30 segundos sobre la superficie pulida del material. Cada muestra es encastada en resina y posteriormente es pulida hasta 0.05 μm . realizándose un mínimo de 20 indentaciones. Luego las superficies indentadas son observadas a través de un microscopio óptico bajo luz polarizada ³⁸⁰.

El módulo de Young se determina mediante la técnica de ultrasonidos, para lo cual se debe utilizar dos transductores, uno para las ondas longitudinales y otro para las transversales en conjunto con un osciloscopio. La velocidad acústica se mide en dos muestras de 15 x 15 x 5 mm. del material estudiado, colocando el transductor sobre cada una de ellas junto con un medio acoplante.

1.6.2.7.1.5. PROPIEDADES BIOLÓGICAS

Los vidrios de base fosfato representan una alternativa de gran interés para su potencial aplicación como soporte temporal del tejido óseo, pues poseen propiedades biológicas y mecánicas relativamente cercanas a éste. Bajo condiciones *in vitro* estos biomateriales se muestran carentes de citotoxicidad, sin embargo, poco se conoce respecto a sus reacciones *in vivo* ^{19,134,381}.

Los vidrios de fosfato se consideran materiales bioactivos, bioabsorbibles y biodegradables, debido a que su composición química y estructural se asemeja a la fracción mineral del tejido óseo. De este modo, al contactar con el hueso es preciso esperar la modificación cinética de la superficie vítrea para que permita la formación de una capa de hidroxycarbonatoapatita activa, que sea capaz de establecer un enlace directo con el tejido óseo receptor ^{134,382}.

Los estudios de biocompatibilidad realizados con los vidrios de base fosfato han revelado que ésta se encuentra muy relacionada con su composición, proporción relativa de sus componentes y solubilidad. En general, los ensayos han demostrado que estos materiales son citocompatibles y su reacción *in vivo* es muy limitada. Sin embargo, cuando se utiliza vidrios muy solubles se ha observado ocasionalmente la presencia de reacciones inflamatorias, llegando incluso a producir necrosis en los tejidos circundantes. Por esto, la evaluación de la respuesta biológica del material es de gran importancia, especialmente los ensayos de citotoxicidad que tienen como objetivo valorar el daño potencial que pueden provocar las sustancias liberadas por el implante en un cultivo celular. Para los materiales solubles esta prueba se lleva a cabo utilizando extractos obtenidos del mismo ^{19,383-385}.

Para el estudio de la citotoxicidad se pueden emplear fibroblastos de piel humana u osteoblastos de diferentes orígenes óseos obtenidos a partir de cultivos primarios. Las células son colocadas en diferentes placas junto con 10 ml. de medio de cultivo modificado, Dubelcco's Modified Eagle's Medium (DMEM), que es suplementado con 4.5 g. de glucosa, 10.0 % de suero de bovino fetal, 100 UI/ml. de penicilina, 100 µg/ml. de estreptomina y 2 mM de L-glutamina. Las células son mantenidas a 37 °C en una incubadora bajo una atmósfera con 5.0 % de CO₂ y el medio de cultivo es reemplazado cada dos días. Se realizan dos tipos de ensayo de citotoxicidad, uno con discos de vidrios donde se cultivan las células directamente sobre el material y otro con los extractos del vidrio ^{19,386-388}.

Para la preparación de los extractos de vidrio, se disuelve una muestra del material en el medio de cultivo. De esta forma, se introduce pequeños bloques vítreos y un cubreobjetos convencional previamente esterilizados, en un envase con DMEM a 37 °C durante 24 horas, siguiendo una relación superficie / volumen de 5 ml/cm². Posteriormente, el fluido es filtrado a través de un dispositivo con poros de 0.22 µm., impidiendo así el paso de posibles precipitados que pueden ser producidos por la disolución del vidrio. Los extractos se dividen en alícuotas de 10 ml. en envases estériles y se guardan a - 20 °C hasta su utilización. Para el ensayo de citotoxicidad se utiliza tanto el extracto puro como disoluciones 1:20 para el material estudiado y, en cada caso, se incorpora Hydroxy Ethyl Piperazine Ethane Sulfonic acid (HEPES) como tampón de la solución.

Para la evaluación de la citotoxicidad de los vidrios de fosfato del sistema P₂O₅-CaO-Na₂O se utiliza la prueba WST-1 de Roche, que emplea una sal de tetrazolio sulfonatado que es transformada en formazán mediante un complejo sistema enzimático correspondiente a la cadena respiratoria mitocondrial. Este es un sistema que sólo se encuentra activo en el caso de células viables. Por lo tanto, la cantidad de formazán producida durante el ensayo, que se evalúa mediante medidas de absorbancia en un espectrofotómetro, está directamente relacionada con el número de células vitales, es decir, la cantidad de células metabólicamente activas dentro del cultivo ^{19,368}.

Para los ensayos realizados con los vidrios de fosfato del sistema P₂O₅-CaO-Na₂O, se colocan 8.10³ células en contacto directo con discos de vidrio por cada pocillo, a los cuales se añade 300 µl. de DMEM. Se incluyen cubreobjetos de vidrio como control del material. En los ensayos con los extractos de vidrio, se dispone la misma concentración de células que en el caso anterior con 20 µl de DMEM. Después de 4 horas de incubación se cambia el medio por los extractos puros y sus diluciones.

Para monitorear adecuadamente el medio de cultivo se emplean un control positivo y otro negativo. Para implementar el control positivo se añade al medio 0.02 % v/v de SDS (dodecil sulfato de sodio) y para el control negativo se utiliza el medio con 0.01 N NaCl. Después de 20 y 44 horas sin cambiar el medio del cultivo, se añade a cada pocillo, tanto a aquellos en que se realizan las pruebas de contacto directo con los discos de vidrio, como a los que verifican los ensayos con los extractos del material, 30 µl. de WST-1 con el fin de medir la actividad mitocondrial de las células. Posteriormente, se mide la absorbancia después de 4 horas de contacto con WST-1 a 450 nm. ^{19,368}.

1.6.2.7.2. VIDRIO DE FOSFATO DEL SISTEMA P₂O₅-CaO-Na₂O

El vidrio G0 se obtiene de la mezcla homogénea y fluida, y de la fusión a altas temperaturas de NH₄H₂PO₄, CaCO₃ y Na₂CO₃, que permite la elaboración de un vidrio de fosfato del sistema P₂O₅-CaO-Na₂O que se presenta en forma particulada con tamaños que fluctúan entre 150 a 297 µm. La composición molar de este vidrio es P₂O₅ con un 44.5 %, CaO con un 44.5 % y Na₂O con un 11.0 % ^{389,390}.

La composición específica de los vidrios de fosfato del sistema P₂O₅-CaO-Na₂O le confieren propiedades bioactivas, lo que sumado a su solubilidad determinada por su proporción CaO/Na₂O y su relación Ca/P cercana a la de la hidroxiapatita, permiten que esta formulación pueda ser propuesta para el relleno de defectos óseos dado que ha demostrado ser biocompatible en los estudios *in vitro* e *in vivo*. A lo anterior, se añaden su factible empleo como recubrimiento de la superficie de variados implantes para facilitar su osteointegración, su capacidad para vehiculizar fármacos con liberación gradual y su posible utilización como andamio para la ingeniería de tejidos ^{19,368}.

Los estudios de las propiedades mecánicas y cinética de disolución de los vidrios de fosfato del sistema P₂O₅-CaO-Na₂O han determinado un valor de 357.30 ± 8.24 kg/mm² para la dureza de Vickers y de 59.86 ± 2.32 GPa para el módulo de Young. Respecto a la velocidad de disolución este vidrio de fosfato es 10 veces más soluble que el que incorpora titanio. En cuanto a la degradación del biomaterial, a los 80 días éste presenta una pérdida de peso de aproximadamente un 11.0 % ^{354,369}.

El análisis de los cambios estructurales del vidrio durante su disolución es determinado a través de la espectroscopía de FT - Raman y el de los cambios morfológicos mediante la microscopía electrónica, los que revelan que a las 4 semanas el material presenta una superficie llena de picaduras y la formación de una capa hidratada. A partir de los 24 días de inmersión en SBF se forman en la superficie del vidrio una serie de precipitados ³⁷².

En cuanto a la respuesta de las células fibroblásticas en contacto directo con los vidrios, el vidrio de fosfato presenta un menor nivel de absorbancia que el vidrio de laboratorio utilizado como control. Los ensayos de citotoxicidad tanto con los extractos puros, como con sus diluciones, no resultan ser tóxicos, ya que los resultados de absorbancia tienen valores similares a los obtenidos para los controles ^{18,368}.

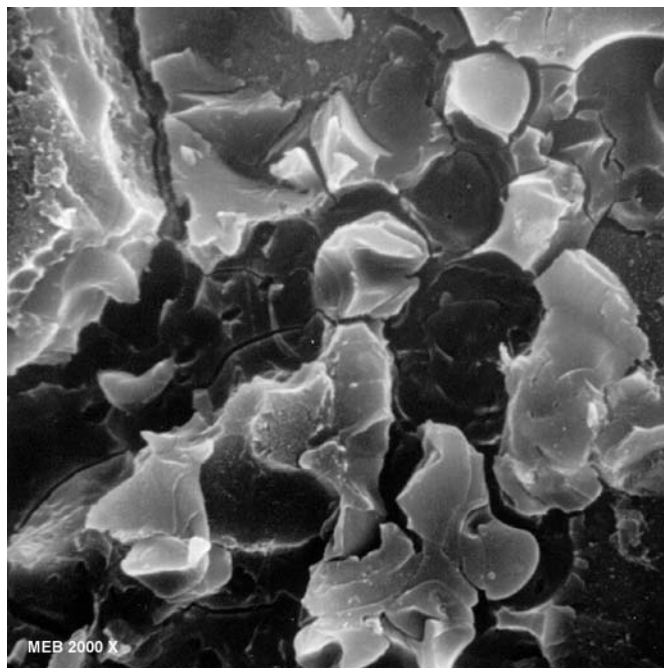


Figura 5. Microestructura del vidrio G0.

1.6.2.7.3. VIDRIOS DE FOSFATO DEL SISTEMA P_2O_5 -CaO- Na_2O - TiO_2

El vidrio G5 se obtiene de la mezcla y fusión a altas temperaturas de $NH_4H_2PO_4$, $CaCO_3$ y Na_2CO_3 , a los que se agrega dióxido de titanio (TiO_2), lo que permite la elaboración del vidrio de fosfato del sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O - TiO_2 que también se presenta en forma particulada con tamaños que fluctúan entre 150 a 297 μm . La composición molar de este vidrio es P_2O_5 con un 44.5 %, CaO con un 44.5 %, Na_2O con un 6.0 % y TiO_2 con un 5.0 %^{19,379}.

La adición de óxidos metálicos a los vidrios de base fosfato induce la depolimerización de la red con átomos de oxígeno, rompiendo las uniones P - O - P y creando oxígenos no puenteados en el material. A pesar de esto, la introducción de iones modificados puede crear uniones iónicas cruzadas entre los oxígenos no puenteados y dos cadenas diferentes de fosfatos. Esto aumenta la fuerza de unión de los enlaces iónicos pudiendo mejorar las propiedades mecánicas y durabilidad química de los vidrios^{368,391}.

Aunque la variación de la relación Na_2O/CaO permite el control de la solubilidad y de las propiedades mecánicas de los vidrios de fosfato, para las aplicaciones que requieren estabilidad en el largo plazo, la solubilidad de estos biomateriales continúa siendo elevada. Es conocido que la durabilidad química de los vidrios bioactivos de base fosfato puede ser mejorada por la adición de iones metálicos con pequeño radio iónico y mayores cargas

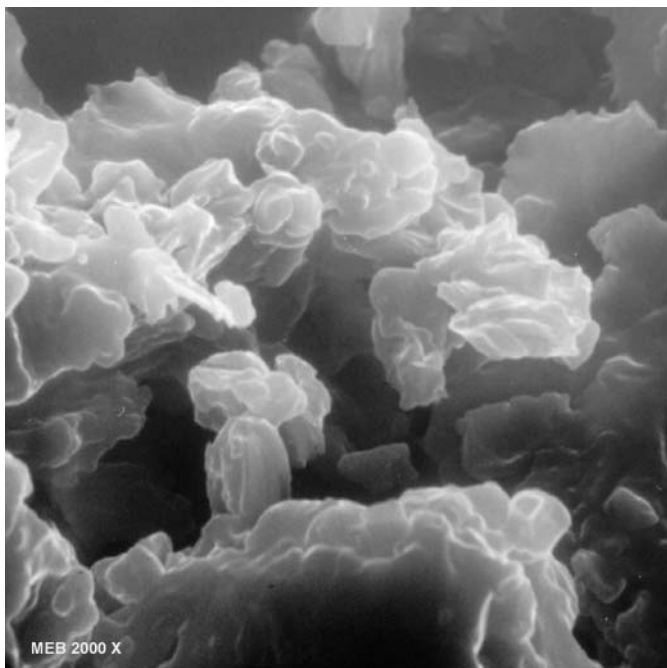


Figura 6. Microestructura del vidrio G5.

eléctricas como el Fe^{3+} , Al^{3+} y Ti^{4+} . Para el caso de los vidrios de fosfato del sistema P_2O_5 - CaO - Na_2O - TiO_2 el ion adicionado es el Ti^{4+} . De esta manera, se considera que la incorporación de estos iones podría mejorar y controlar las propiedades mecánicas de los vidrios de fosfato. Este hecho reviste gran importancia, dado que es factible obtener biomateriales con condiciones estructurales ventajosas para postular su desempeño como potenciales sustitutivos óseos ³⁷⁶.

Al introducir TiO_2 dentro del sistema vítreo se produce la modificación de las propiedades del material, debido principalmente al hecho que el Ti^{4+} es un ión de pequeño radio iónico y una alta carga eléctrica, lo que le confiere la capacidad de incorporarse de manera intersticial dentro de la red vítrea, creando nuevos enlaces entre las cadenas formadoras del material. Por lo tanto, la adición de TiO_2 genera un mayor número de reticulaciones dentro de la estructura vítrea y, como consecuencia, el vidrio bioactivo se vuelve más rígido y menos soluble ^{379,391}.

La elaboración de los vidrios de fosfato del sistema P_2O_5 - CaO - Na_2O - TiO_2 se realiza de manera similar a la de los vidrios del sistema P_2O_5 - CaO - Na_2O . Así, los reactivos son fundidos, luego colados y seguidamente recocidos durante 30 minutos a su temperatura de transición, que para este material es de $532.90\text{ }^\circ\text{C}$. Luego los vidrios son guardados en un disecador hasta el momento de su utilización.

La adición de TiO_2 disminuye de manera importante la solubilidad de los vidrios de fosfato del sistema $\text{P}_2\text{O}_5\text{-CaO-Na}_2\text{O-TiO}_2$, de tal forma que a los 80 días la pérdida de peso del material es solamente de un 1.0 %, a diferencia del vidrio carente de TiO_2 que es de más de un 11.0 %. El estudio de las propiedades mecánicas ha determinado valores de $431.10 \pm 7.80 \text{ kg/mm}^2$ para la dureza de Vickers y $71.10 \pm 1.70 \text{ GPa}$ para el módulo de Young^{379,391}.

En cuanto a la respuesta de las células fibroblásticas en contacto directo con los vidrios, ésta presenta un menor nivel de absorbancia que el control. Los ensayos de citotoxicidad tanto con extractos puros, como con sus diluciones no resultan ser tóxicos, ya que los resultados de absorbancia tienen valores similares a los obtenidos para los controles¹⁹.

La incorporación de TiO_2 a los vidrios de base fosfato mejora la estabilidad química del biomaterial, aumentando sus propiedades mecánicas. Esto hace que los vidrios del sistema $\text{P}_2\text{O}_5\text{-CaO-Na}_2\text{O-TiO}_2$ ofrezcan nuevas posibilidades de materiales más estables frente a la disolución y más duraderos en relación con otros materiales vítreos de fosfato que poseen una mayor velocidad de degradación³⁷³.

En resumen, tanto los vidrios de fosfato del sistema $\text{P}_2\text{O}_5\text{-CaO-Na}_2\text{O}$ como los del sistema $\text{P}_2\text{O}_5\text{-CaO-Na}_2\text{O-TiO}_2$, tienen en común su condición de materiales bioactivos, bioabsorbibles y biodegradables. Los estudios realizados *in vitro* han demostrado que su solubilidad es el factor condicionante de la adhesión y proliferación celular, así como también de su potencial toxicidad^{19,24,354,368,369,372,376,379-381,391}.

La capacidad de los vidrios bioactivos de base silicio para actuar como sustitutivos óseos ha sido confirmada en diferentes trabajos de investigación, en cambio, los estudios actuales de los vidrios de base fosfato corresponden principalmente a ensayos de su biocompatibilidad *in vitro* e *in vivo*, encontrándose pendiente la valoración de su papel como sustitutivos óseos en animales de experimentación^{111,337-348}.

Por lo anterior, consideramos que este trabajo de tesis nos permitirá obtener una valiosa información relativa al comportamiento como potenciales sustitutivos óseos de estos dos vidrios bioactivos, especialmente al compararlos con el autoinjerto óseo esponjoso fresco, y relacionarlos con dos cementos basados en fosfatos de calcio que pertenecen a un grupo de materiales que ostenta numerosos estudios *in vivo* y algunas series clínicas preliminares, que han validado su condición de moldes osteoconductores.