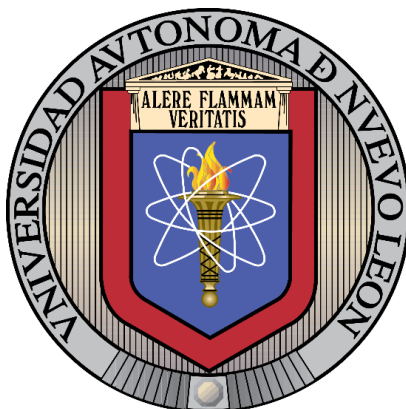


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA**



**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MODIFICACIÓN  
SUPERFICIAL CON TEXTURIZADO LÁSER SOBRE Ti6Al4V  
PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS**

POR  
**YOAN VALENTÍN PÉREZ RODRÍGUEZ**

TESIS EN OPCIÓN AL GRADO DE  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA CON ORIENTACIÓN  
EN MATERIALES**

JUNIO, 2020

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA**  
**SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MODIFICACIÓN  
SUPERFICIAL CON TEXTURIZADO LÁSER SOBRE Ti6Al4V  
PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS**

**POR**  
**YOAN VALENTÍN PÉREZ RODRÍGUEZ**

**TESIS EN OPCIÓN AL GRADO DE**  
**MAestrÍA EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA CON ORIENTACIÓN**  
**EN MATERIALES**

**JUNIO, 2020**



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA**  
**SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Los miembros del Comité de Tesis recomendamos que la tesis titulada "EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MODIFICACIÓN SUPERFICIAL CON TEXTURIZADO LASER SOBRE Ti6Al4V PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS" realizada por el Ing. Yoan Valentín Pérez Rodríguez con número de matrícula 1983187, sea aceptada para su defensa como opción al grado de Maestría en Ciencias de la Ingeniería con Orientación en Materiales.

El Comité de Tesis

Dr. Marco A. L. Hernández Rodríguez  
Director de Tesis

Dr. Josué A. Aguilar Martínez  
Codirector de Tesis

Dr. Alberto J. Pérez Unzueta  
Revisor

Dr. Edgar Omar García Sánchez  
Revisor

Vo. Bo.

Dr. Simón Martínez Martínez  
Subdirector de Estudios de Posgrado



008

Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, Junio del 2020

# Agradecimientos

A México por su internacionalidad, en especial a la UANL por darme la oportunidad de crecer como profesional.

Al Dr. Marco A. L. Hernández Rodríguez, “el doc”, por permitirme el enorme placer de contar con su asesoría en ámbito investigativo y personal, siempre estaré muy agradecido

Al Dr. Demófilo Maldonado por todo su apoyo en la realización de este proyecto.

Al Dr. Josué A. Aguilar Martínez, por permitirme la confianza y ayuda en el desarrollo experimental de esta investigación.

A la Ing. Jeidy Negrin González por la comprensión y ayuda en este trabajo.

Al MSc. Ernesto Lorenzo y MSc. Osmel Pérez por su ayuda y orientación.

A los profesores de FIME que tuvieron participación en mi formación y por ende en la realización de este trabajo de tesis.

Al CONACYT por su apoyo económico durante mis estudios de maestría.

## **Dedicatoria**

*A mi mamá y mi papá, que sin duda son la piedra angular de lo que soy y de los logros que he obtenido. Son la base de mi personalidad...*

## Resumen

En la actualidad aumentan cada vez más las exigencias por desarrollar prótesis e implantes con menores tiempos de osteointegración. Para lograr tal resultado es de vital importancia una adecuada estabilidad primaria. Existen diversos métodos de modificación superficial. En esta investigación se estudia el efecto de la modificación superficial mediante el método de texturizado láser en la respuesta bioactiva de la superficie de la aleación de Ti6Al4V para una adecuada estabilidad primaria de implantes, como parte del proceso de osteointegración. Para el texturizado se utilizó un láser de Fibra JPT Photonics. Para crear la textura sobre la superficie fue empleada un arreglo geométrico de líneas horizontales y verticales. Se variaron parámetros como la potencia y número de pasadas en la incidencia del láser. Para el estudio de bioactividad se empleó una solución de fluido biológico simulado (SBF) y una solución de calcificación sobresaturada (SCS). De acuerdo con los resultados obtenidos hubo un incremento de oxígeno en la superficie tratada, logrando obtener una capa de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) en fase anatasa. En el proceso de texturizado láser se generaron cambios en la rugosidad superficial, aumentando ésta a medida que aumenta la potencia y número de pasadas. Se logró un aumento de la humectabilidad en todas las muestras texturizadas experimentando un comportamiento hidrofílico; sin embargo, las variantes de 2 pasadas con cualquier potencia presentaron un comportamiento super hidrofílico. La mejor respuesta bioactiva fue para la variante de 100% con 2 pasadas, evidenciando la gran relación que existe con la humectabilidad. Las nucleaciones y crecimientos de la Hidroxiapatita en algunos casos tuvieron una distribución en forma dendrítica sobre la superficie de las muestras texturizadas, además las muestras inmersas en la SCS presentaron crecimientos de fosfato de calcio en la superficie texturizada, principalmente en las zonas porosas, comprobando la capacidad bioactiva del texturizado láser en la aleación Ti6Al4V.

**Palabras claves:** Texturizado láser, hidrofilidad, bioactividad, aleación Ti6Al4V

# Índice

Capítulo 1 .....	1
Introducción.....	1
Problema científico .....	3
Hipótesis .....	3
Objetivo.....	3
Objetivos específicos .....	4
Justificación .....	4
Capítulo 2.....	6
Antecedentes .....	6
2.1.- Titanio y sus aleaciones .....	6
2.2.- Proceso de osteointegración .....	10
2.3.- Modificación Superficial de las aleaciones de Titanio.....	13
2.3.1- Texturizado láser en la superficie.....	14
2.3.2.- Recubrimientos bioactivos .....	16
Capítulo 3.....	19
Materiales y métodos .....	19
3.1.- Preparación de muestras.....	19
3.2.- Proceso de texturizado .....	20
3.3.- Caracterización de la superficie texturizada .....	22
3.3.1.- Caracterización topográfica y morfológica .....	22
3.3.2.- Caracterización química.....	22
3.3.3.- Caracterización de la humectabilidad y la rugosidad .....	23
3.4.- Ensayo de bioactividad.....	24
3.5.- Caracterización de las pruebas de inmersión en SBF .....	25

3.5.1.- Caracterización morfológica.....	25
3.5.2.- Caracterización química.....	25
Capítulo 4.....	26
Resultados y discusión.....	26
4.1.- Caracterización superficial del texturizado .....	26
4.1.1.- Caracterización topográfica y morfológica .....	26
4.1.2.- Caracterización química.....	30
4.1.3.- Comportamiento de la rugosidad superficial y del ángulo de contacto de la gota .....	35
4.2.- Caracterización bioactiva de la superficie.....	42
4.2.1.- Caracterización morfológica.....	43
4.2.2.- Caracterización química.....	46
Capítulo 5.....	49
Conclusiones y Recomendaciones .....	49
5.1.- Conclusiones .....	49
5.2.- Recomendaciones .....	50
Referencias bibliográficas .....	51



# Capítulo 1

## Introducción

Desde hace años los biomateriales metálicos han sido ampliamente empleados en la sustitución de articulaciones, tejidos duros (huesos) y funciones básicas y necesarias de los organismos vivos. Estos llevan la tarea de restaurar el movimiento y la funcionalidad, a la pérdida o deterioro de componentes y tejidos del cuerpo humano. Dentro de la gama de biomateriales metálicos, se seleccionan indistintamente de acuerdo con el tipo de aplicación, y de la función que desempeña dentro del mismo dispositivo biomédico.

Las aleaciones de titanio han sido ampliamente usadas en implantología, específicamente la aleación Ti6Al4V, debido principalmente a su alta estabilidad química, propiedades mecánicas, su alta relación resistencia / peso, excelente resistencia a la corrosión, excelente biocompatibilidad y buen rendimiento biológico con el tejido óseo [1-3]. Su buen rendimiento biológico está ligado íntimamente a las propiedades que se presenten en su volumen y en la superficie. De las propiedades volumétricas presentan elevado esfuerzo de fluencia, elevada resistencia a la fatiga, un bajo módulo elástico en comparación al resto de los biomateriales metálicos como aleaciones base cobalto y aceros inoxidables, y por otra parte las propiedades de superficie como la rugosidad superficial, la química y la mojabilidad [4, 5].

En los implantes metálicos pueden existir diferentes fallas, las cuales pueden estar asociadas a una diferencia entre la rigidez del implante y el hueso circundante, provocando un fenómeno conocido como apantallamiento de tensiones, donde la distribución de los esfuerzos o tensiones al hueso no son de forma homogénea. Otro tipo de fallas ocurren en los recubrimientos, debido a una unión débil entre el sustrato y el recubrimiento, provocando delaminación de este y por ende la exposición del material base al medio fisiológico. Además de las fallas planteadas con anterioridad, también existen otros factores que conllevan a elevados tiempos de osteointegración. Tales casos ocurren en implantes o prótesis que en sus superficies no presenten

rugosidades adecuadas, así como características estructurales a escala nano y micro que puedan aumentar la adsorción de proteínas y estimular la proliferación y diferenciación de células osteogénicas que traen como resultado una aceleración en el proceso de osteointegración [6].

Varios estudios han demostrado que al modificar la superficie del implante, la tasa de osteointegración y el porcentaje de contacto hueso-implante pueden mejorarse significativamente [1, 7-9]. Además, se ha resaltado que las propiedades más relevantes de la superficie del implante que afectan la adhesión y la supervivencia de las células son la composición química (de ahí que la superficie sea bioactiva o no), la energía superficial, la hidrofiliidad (superficie hidrofóbica / hidrofílica, donde una superficie con características de hidrofiliidad permite una correcta mojabilidad por parte de los fluidos que contiene el tejido óseo), la rugosidad, la topografía y la morfología de la superficie (características superficiales que ayudan a la vascularización, la unión y proliferación celular) [10].

Uno de los métodos de modificación superficial que viene teniendo auge en los años más recientes, es el tratamiento de superficies con láser de diferentes fuentes de generación. Entre ellos se emplean láser Nd YAG, de CO<sub>2</sub>, de Fibra nanopulsado y picopulsado, entre otros. Con el empleo de este tipo de tratamientos con láser es posible obtener micropatrones creando texturas en la superficie de la aleación. Los texturizados superficiales con determinadas geometrías tienen una influencia beneficiosa sobre la hidrofiliidad de los biomateriales, lo que influye en la adhesión, proliferación y diferenciación celular. También aumenta la adsorción y la propagación de fluidos biológicos en las superficies de biomateriales en las primeras etapas de la formación ósea, logrando una gran estabilidad primaria en el proceso de osteointegración. [5, 10, 11]

En los últimos años, el tiempo de osteointegración ha sido el foco de atención de los avances tecnológicos en implantología. Con respecto al tiempo promedio de curación ósea, varios autores han descrito tiempos de osteointegración como es el caso de la mandíbula y el maxilar superior que son de 3 y 6 meses respectivamente [12-14]. Se han estudiado las superficies nano y micro estructuradas de los implantes para acortar

el tiempo de osteointegración, pudiendo encontrar una mejoría en la adhesión celular [6, 15, 16]. La modificación de la estructura de la superficie del implante a escala micro y nano ha demostrado una mejora de la integración del titanio en el tejido óseo.

Con bases a lo planteado con anterioridad este trabajo de investigación se enfoca en el estudio de mejorar la estabilidad primaria de implantes o prótesis biomédicas, mediante la modificación de la superficie de la aleación Ti6Al4V empleando tecnología láser, para crear un arreglo topográfico y morfológico en la superficie con ciertas composiciones elementales, que logren inducir el crecimiento óseo y por ende reducir los tiempos de osteointegración. Para ello se empleará un arreglo geométrico para el texturizado láser, donde se utilizan diferentes potencias de incidencia del láser. Esto se logra con el apoyo de un láser de fibra óptica JPT Photonics.

## **Problema científico**

La estabilidad primaria de un implante o prótesis cuando es insertado en el tejido óseo se ve afectada por una deficiente adhesión, proliferación y diferenciación celular, debido a bajas propiedades bioactivas de la superficie, así como bajas rugosidades y elevados ángulos de contacto en estudios de hidrofiliadad, lo que conlleva a una tardía osteointegración. Esta situación provoca elevados tiempos de recuperación y en muchos de los casos se convierte en una implantación fallida.

## **Hipótesis**

La modificación superficial obtenida por el método de texturizado láser en la aleación de Ti6Al4V mejorará el comportamiento bioactivo de la superficie permitiendo ser empleada en diferentes aplicaciones médicas.

## **Objetivo**

Obtener una superficie modificada empleando el método de texturizado láser para mejorar propiedades bioactivas sobre superficies protésicas.

## Objetivos específicos

- ❖ Obtener sobre la superficie de la aleación Ti6Al4V diferentes micropatrones empleando el método de texturizado láser.
- ❖ Caracterizar los diferentes micropatrones en la superficie texturizada
- ❖ Evaluar la influencia de la potencia del láser y número de pasadas en la superficie texturizada.
- ❖ Evaluar el comportamiento de la humectabilidad en la superficie texturizada a partir de las variables potencia y número de pasadas.
- ❖ Evaluar la superficie modificada con texturizado láser mediante ensayos de bioactividad.

## Justificación

Con el paso del tiempo se incrementa aún más la cantidad de pacientes necesitados de dispositivos biomédicos tales como prótesis de cadera, de rodilla, implantes dentales, por mencionar algunos. Tal causa es aflorada en mayor medida por el aumento y mejora de la esperanza de vida de los ciudadanos a nivel mundial. Tal aumento trae consigo debilitamiento del sistema óseo, provocando fracturas espontáneas donde la única vía de solución es una intervención quirúrgica con inserción de una prótesis para reestablecer las funciones básicas del paciente afectado. Por otra parte, existen enfermedades degenerativas en componentes articulares, así como traumatismos óseos por causas accidentales que también requieren del uso de la implantología.

De acuerdo con lo especificado con anterioridad un sector de los investigadores e instituciones a nivel mundial se ha dado a la tarea de estudiar, desarrollar e innovar en ciertos tipos de modificaciones superficiales y volumétricas sobre los biomateriales que se han investigado y aplicado como prótesis e implantes por décadas. Los implantes una vez que son insertados se encuentran en contacto íntimo con el tejido óseo circundante. Muchas de las investigaciones lanzadas en este campo son destinadas a un adecuado proceso de osteointegración entre el implante y el hueso huésped. De

casos de estudios clínicos se ha confirmado, que a pesar del gran avance en prótesis e implantes, aún los tiempos de osteointegración carecen de optimización y en algunos de los casos han fracasado.

En el presente trabajo de investigación se lleva a cabo un tratamiento de modificación superficial con un texturizado láser, con el fin de obtener una superficie funcional, con topografía, morfología, composición química, grado de hidrofiliidad (superficie hidrofílica) en niveles adecuados que conlleven a un buen proceso de osteointegración.

# Capítulo 2

## Antecedentes

### 2.1.- Titanio y sus aleaciones

El titanio comercialmente puro (CP) (ASTM F67) y la aleación Ti6Al4V intersticial extra bajo (ELI) son los dos biomateriales de implante a base de titanio más empleados [14].

La aleación Ti6Al4V ELI tiene una composición química de 6% de aluminio, 4% de vanadio, 0.25% (máximo) de hierro, 0.2% (máximo) de oxígeno, y el resto de titanio. En la Tabla 1 se muestra la composición de dicha aleación comercial según la Norma ASTM F136.

Tabla 1. Composición química de la aleación Ti6Al4V, según ASTM F136. [14, 17, 18]

<b>Elementos</b>	<b>% en peso</b>
Titanio	88.3-90.8
Aluminio	5.5-6.5
Vanadio	3.5-4.5
Nitrógeno	máx 0.05
Carbón	máx 0.08
Hidrógeno	máx 0.0125
Hierro	máx 0.25
Oxígeno	máx 0.13

Con la aleación Ti6Al4V ELI, los diagramas de fase individuales de Ti-Al y Ti-V sugieren los efectos de las adiciones de aleación en la aleación ternaria. Es decir, dado que el Al es un estabilizador de fase alfa con estructura cristalina hexagonal compacta (HCP) mientras que el V es un estabilizador de fase beta con estructura cristalina cúbica centrada en el cuerpo (BCC), resulta que la aleación Ti6Al4V utilizada para implantes es una aleación alfa-beta. Las propiedades de la aleación dependen de tratamientos previos.

En esta aleación alfa-beta, su microestructura depende del tratamiento térmico y el trabajo mecánico. Si la aleación se calienta en el campo de la fase beta (por ejemplo, por encima de 1000°C, la región donde solo BCC beta es termodinámicamente estable) y luego se enfría lentamente a temperatura ambiente, se produce una estructura Widmanstätten de dos fases como se puede observar en la micrografía de la Figura 1. La fase HCP alfa (que es rica en Al y agotada en V) se precipita como placas o agujas que tienen una orientación cristalográfica específica dentro de los granos de la matriz beta (BCC). Alternativamente, si el enfriamiento desde el campo de la fase beta es muy rápido (como en el enfriamiento rápido en aceite), se desarrollará una microestructura de "tejido de cesta", debido a transformaciones de estado sólido martensíticas o bainíticas (cizalladuras no difusionales). Con mayor frecuencia, la aleación F136 se calienta y trabaja a temperaturas cercanas, pero no superiores a la de transformación beta, y luego se da un tratamiento de recocido para dar una microestructura de alfa de grano fino con beta como partículas aisladas en los límites de grano como se aprecia en la Figura 2. Curiosamente, las tres microestructuras recién señaladas en la aleación Ti6Al4V conducen a aproximadamente el mismo rendimiento y las resistencias últimas a la tracción, pero la condición de recocido en el molino es superior en la fatiga de alto ciclo (Tabla 2), que es un factor significativo a tener en consideración.[14]

Al igual que las aleaciones basadas en cobalto (Co), los aspectos microestructurales anteriores para los sistemas de Ti deben tenerse en cuenta al evaluar las relaciones estructura-propiedad de los implantes con revestimiento poroso o con plasma. Nuevamente, como en el caso de las aleaciones a base de cobalto, existe el problema técnico de unir con éxito el recubrimiento al sustrato metálico aun manteniendo las propiedades adecuadas tanto del recubrimiento como del sustrato. La optimización de las propiedades de fatiga de los implantes con recubrimiento poroso Ti6Al4V se convierte en un problema de diseño interdisciplinario que involucra no solo la metalurgia sino también las propiedades de la superficie y la mecánica de la fractura.

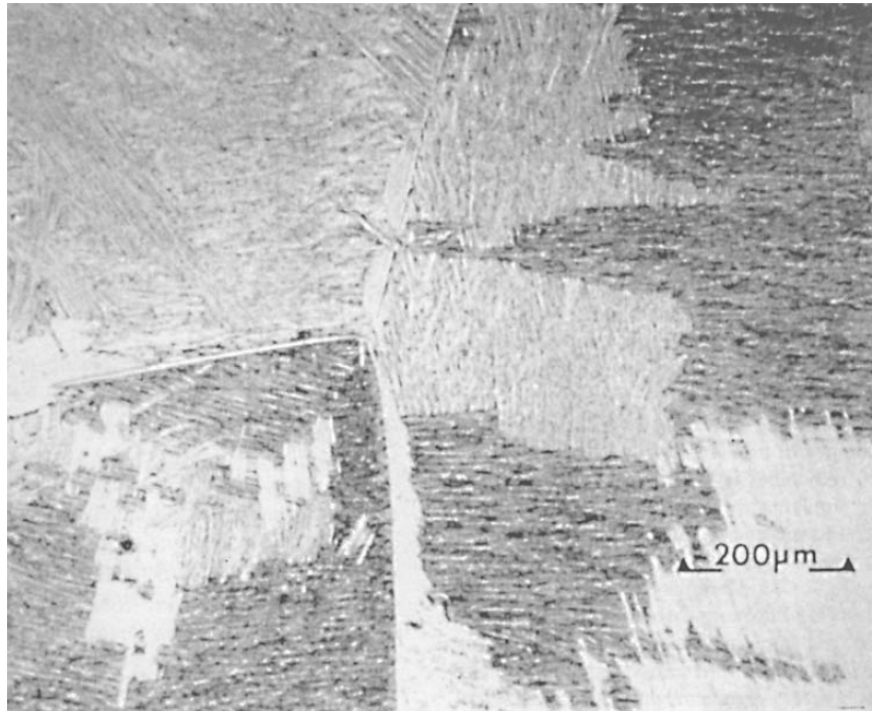


Figura 1. Estructura Widmanstätten en fundición Ti6Al4V, ASTM F136. Tenga en cuenta los granos beta anteriores (se muestran tres granos grandes en la foto) y la estructura alfa de plaquetas dentro de los granos.[17]

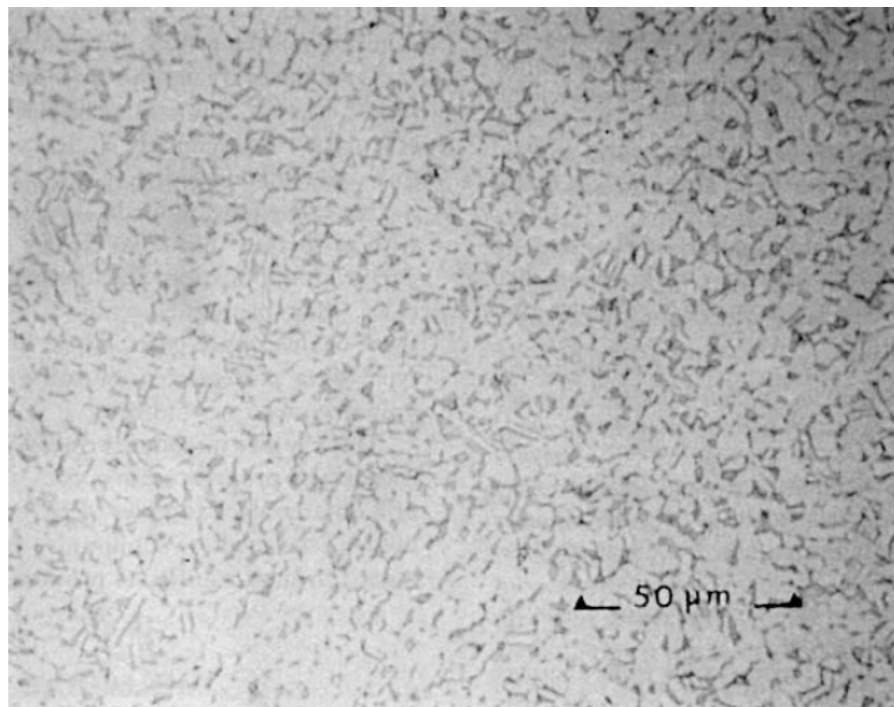


Figura 2. Microestructura de Ti6Al4V forjado y recocido, que muestra pequeños granos de alfa (claro) y beta (oscuro).[17]



La aleación Ti6Al4V (según norma ASTM F136) de tipo  $\alpha/\beta$  es muy empleada como material estructural debido a sus excelentes propiedades mecánicas y de resistencia a la corrosión, y en la actualidad se utiliza preferentemente como material para la fabricación de prótesis de cadera, de rodilla, de hombro, implantes dentales, entre otros, por su excelente biocompatibilidad [19, 20].

Esta aleación  $\alpha/\beta$ , puede presentar diferentes relaciones entre las fases  $\alpha$  y  $\beta$ , dependiendo del tratamiento térmico y del contenido en elementos intersticiales. Los parámetros típicos de red para la fase  $\alpha$  (HCP) en el Ti6Al4V son  $a = 2,925\text{Å}$ ,  $c = 4,670\text{Å}$ . Estos parámetros pueden variar ligeramente, pues dependen de la composición química de la fase  $\alpha$ . La fase  $\beta$  es estable a temperatura ambiente sólo si está enriquecida con más de un 15 % en peso de vanadio. Este enriquecimiento se obtiene al enfriar lentamente por debajo de  $750^\circ\text{C}$ , y se suele conseguir un 10% de fase  $\beta$ . El parámetro de red para la fase  $\beta$  (BCC) en condiciones estables es  $a = 3,190\text{Å}$ . Al igual que la fase  $\alpha$ , este parámetro varía con el contenido de elementos aleantes.[21, 22]

Generalmente la aleación Ti6Al4V se utiliza en aplicaciones de hasta  $400^\circ\text{C}$ . Tiene una densidad de aproximadamente  $4420\text{ kg/m}^3$ , un módulo de Young de  $110\text{-}116\text{ GPa}$ , y resistencia a la tracción de alrededor de  $1000\text{ MPa}$ , como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Propiedades mecánicas de la aleación Ti6Al4V. [14, 17, 23, 24]

<b>Propiedades</b>	<b>Ti6Al4V</b>
Resistencia a la tracción (MPa) (forjado recocido - forjado tratado térmicamente)	965-1103
Esfuerzo de fluencia (MPa) (forjado recocido - forjado tratado térmicamente)	896-1034
Resistencia a la fatiga (MPa) (forjado recocido - forjado tratado térmicamente)	620-689
Dureza (HB)	320-360
Módulo de Elasticidad (MPa)	113000
Coficiente de Poisson	0.33
Conductividad térmica ( $W/mK$ )	21.4

La baja densidad del titanio y sus aleaciones impulsó la investigación sobre sus aplicaciones como implantes desde hace varias décadas. Las aleaciones de titanio se utilizan cada vez más como materiales de implantes en odontología y ortopedia debido a su excelente biocompatibilidad, que se atribuye a una capa pasiva de  $TiO_2$  en la superficie. Una capa pasiva la deja inactiva cuando se coloca en un entorno fisiológico [25].

El titanio es un metal compatible con los tejidos del organismo humano que toleran su presencia sin reacciones alérgicas del sistema inmunitario. Esta propiedad de biocompatibilidad del titanio unido a sus cualidades mecánicas de dureza, baja densidad, resistencia a la corrosión, resistencia al desgaste y relativa baja rigidez lo ha convertido en líder indiscutible en una gran cantidad de aplicaciones en el campo biomédico [26, 27].

Este metal biocompatible tiene la ventaja de presentar una buena resistencia mecánica, en comparación con su peso, lo cual resulta apropiado para su uso como implantes óseos.

## **2.2.- Proceso de osteointegración**

El concepto de osteointegración se desarrolló por primera vez para los implantes dentales para abordar el crecimiento del tejido óseo al interior y sobre la superficie de los implantes dentales de titanio. Gradualmente, esta ventaja biológica de crecimiento óseo hacia el interior y sobre la superficie de los implantes, se abordó para el desarrollo del resto de implantes ortopédicos y para la evaluación de los aspectos de bioactividad del implante o prótesis. En la mayoría de los casos de implantación, la osteointegración del implante es muy beneficiosa; sin embargo, habría algunos casos en los que se desea una pobre osteointegración. En general, una mejor osteointegración de la prótesis podría mejorar la implantación del dispositivo en el hueso, lo que da como resultado un mejor tratamiento de las lesiones óseas. Reportes clínicos han informado que una integración deficiente del hueso y el implante causaría el aflojamiento del implante o incluso la reabsorción del hueso al implante.[28]

En la década de 1950 el profesor e investigador Branemark fue el primero en introducir el término de osteointegración, definiéndolo como la unión de las células óseas a la superficie de implantes o prótesis.

En la actualidad, el concepto de osteointegración se usa ampliamente en el desarrollo de nuevos implantes y prótesis ortopédicas para promover el crecimiento óseo. La osteointegración puede comenzar con la reabsorción ósea en la interfaz del hueso-implante, luego sigue la formación de nuevas células osteoblásticas de tejido óseo en la superficie del implante o a través del cuerpo del implante, y finalmente la integración del hueso y el implante en las superficies de contacto.

Los dispositivos médicos, específicamente las prótesis e implantes endoóseos deben poseer excelente biocompatibilidad y buenas propiedades mecánicas como alta resistencia a la fatiga, elevada resistencia a la corrosión y baja rigidez, entre otros. Además, se debe garantizar un vínculo o enlace entre el nuevo dispositivo y el tejido huésped, para que exista un adecuado proceso de osteointegración. Para lograr tal proceso es necesario que existan determinadas características superficiales en el implante, como elementos o materiales como parte de recubrimientos que permitan un enlace químico y/o físico con el hueso huésped.

El tejido óseo es inherentemente una estructura bioactiva inteligente en la cual la alteración de su arquitectura, la densidad, el tamaño y la composición cambian permanentemente en función de las señales mecánicas, químicas, físicas, hormonales y de estimulación para la proliferación y diferenciación celular [28-30]. Por otra parte, la mayoría de los implantes y prótesis son fabricados con materiales bioinertes, los cuales no presentan características bioactivas. La inserción de prótesis e implantes con materiales bioinertes en el tejido óseo pueden causar alteraciones sobre el proceso de remodelación ósea en la interfaz hueso-implante y si se continúa esta bioactividad anormal de este tejido, se verá afectada una mayor profundidad del tejido óseo en el área de contacto hueso-implante. De hecho, esta anormalidad puede aumentar la reabsorción de tejido óseo por osteoclastos, lo que resulta en una integración débil o nula del hueso a través de la superficie del implante [28]. La

integración ineficaz del implante al hueso afectaría significativamente los resultados clínicos y resultar en una implantación sin éxito.

En el caso específico del titanio y sus aleaciones tienen la característica de formar inmediatamente una capa de óxido de titanio en la superficie, compuesta generalmente de  $\text{TiO}_2$  [31, 32]. También se ha reportado la presencia de  $\text{TiO}$ ,  $\text{TiO}(\text{OH})$  o  $\text{Ti}_2\text{O}_3$  en dicha capa de óxido, que al entrar en contacto el  $\text{Ti}_2\text{O}_3$  con agua se convierte en  $\text{TiO}(\text{OH})_2$  y posteriormente en  $\text{TiO}_2$  luego de reaccionar con las moléculas  $\text{H}_2\text{O}$  (agua) [6]. Esta capa de óxido de titanio es conocida como una película pasiva que le confiere al material una elevada resistencia a la corrosión cuando está en contacto con los fluidos biológicos [33-35]. La Hidroxiapatita (HA) es un mineral de fosfato de calcio y es el principal componente inorgánico del tejido óseo. La HA se emplea como un compuesto previo para mejorar la bioactividad [36] y en otros casos como medida de bioactividad superficial. El calcio (Ca) y el fósforo (P) se incorporan por afinidad química a la capa de óxido cuando el implante de titanio es insertado en el sitio quirúrgico y está en contacto con la sangre, el cual acelera el proceso de osteointegración [6, 32, 36]. Las moléculas de sangre y las células, como las plaquetas y los osteoblastos, interactúan fisicoquímicamente con la capa de óxido de titanio. La composición química y los aspectos topográficos y morfológicos de la superficie de la aleación de Ti estimulan la activación de las plaquetas sanguíneas, la reticulación de la fibrina y la migración de células osteogénicas [37-39]. La primera fase del proceso de osteointegración se denomina osteoconducción, que consiste en el reclutamiento y la migración de células osteogénicas a la superficie del implante como un efecto de la activación de las plaquetas sanguíneas y la presencia de factores de crecimiento. La segunda fase comprende la formación de "hueso nuevo" por la mineralización de la matriz en la interfaz, similar a la formación de la capa de cemento del tejido óseo. La última fase del proceso osteointegración es el lento proceso de remodelación ósea el cual requiere de un adecuado proceso mecanobiológico.

Actualmente el tema de la osteointegración es el principal concepto de desarrollo para mejorar la efectividad de los implantes ortopédicos. Este tema se ha abordado como una preocupación crucial para reducir las complicaciones clínicas, sin embargo, un

implante o prótesis con altas características de osteointegración para el tratamiento de implantación interna no está disponible comercialmente.

### **2.3.- Modificación Superficial de las aleaciones de Titanio**

Hoy en día existen muchas investigaciones enfocadas al tratamiento de superficies de implantes o prótesis, con el único fin de acortar los tiempos de osteointegración. La literatura científica plantea diversos métodos de modificación superficial de diferentes materiales en especial las aleaciones metálicas, específicamente la aleación Ti6Al4V de acuerdo con sus propiedades mecánicas y biocompatibles.

La superficie del implante Ti6Al4V puede modificarse física y/o químicamente. Los métodos físicos incluyen rutas mecánicas como mecanizado, molienda, arenado, etc., y las rutas químicas incluyen procesos como tratamiento ácido, tratamiento alcalino, tratamiento con peróxido de hidrógeno, métodos sol-gel, entre otros procesos. También son posibles aplicaciones de diferentes tipos de recubrimientos como hidroxiapatita, fosfato de calcio, entre otros.[40]

La alteración de la topografía de la superficie de los implantes de titanio se ha visto como un método para acelerar el proceso de curación ósea. La superficie de titanio arenada y grabada con ácido (AGA) es uno de métodos más populares de activación superficial, que ha tenido aplicación clínica durante muchos años. Según los resultados experimentales y los estudios clínicos, los implantes AGA necesitan al menos 6 semanas antes de iniciar la carga. Sin embargo, las terapias de implantes desean una carga más temprana y una mejor osteointegración. Se desea mejorar la bioactividad de la superficie AGA para reducir el tiempo de curación y carga.[41]

El tratamiento con láser de Ti6Al4V también se está examinando como una posible forma de mejorar la biocompatibilidad de la superficie del implante. La irradiación con láser en la superficie de Ti6Al4V da como resultado la fusión y/o ablación del metal. Cuando se solidifica, la microestructura de la superficie cambia, junto con la rugosidad y otros parámetros de la superficie [40, 42, 43]. El tratamiento superficial con láser también ayuda a mejorar las propiedades de resistencia al desgaste y a la corrosión [44-46]. Como los iones de aleación de Al y V tienen sus propios efectos a largo plazo

como la anemia y la enfermedad de Alzheimer en el cuerpo humano, y se sabe que el ambiente corporal es altamente corrosivo debido a la presencia de cloruros y otros iones, el tratamiento con láser de la superficie de Ti6Al4V es una salida potencial ya que aumenta la resistencia al desgaste y la corrosión, lo que la hace ventajosa sobre la mayoría de los otros métodos.

De acuerdo con la revisión del estado del arte se ha logrado una mejora en la humectabilidad y bioactividad de las superficies de implantes de titanio combinando la modificación y funcionalización a escala micro y nano con la adición de proteínas, péptidos y compuestos bioactivos. Dicha modificación topográfica, morfológica y química de las superficies en las aleaciones de titanio induce la migración y diferenciación de las células osteogénicas, seguido de una mejora de la formación de la matriz mineral que acelera el proceso de osteointegración.

### **2.3.1- Texturizado láser en la superficie**

El uso del láser para estructurar las superficies de los implantes proporciona ventajas distintas en comparación con los métodos de modificación de superficies comunes [25]. El tratamiento de estructuración con láser ha recibido atención especial de científicos e ingenieros como una herramienta poderosa y versátil para mejorar aún más la respuesta biológica a los implantes de titanio. En la Figura 3 se puede apreciar un esquema representativo del proceso de tratamiento con láser, donde en la imagen (a) se observa la transferencia de energía a la superficie del material en las posiciones de máxima intensidad, en la (b) la temperatura aumenta por encima del punto de fusión/vaporización, en (c) se produce la resolidificación del material fundido sobre la superficie original y en (d) para pasos más largos, la cantidad de masa fundida no es suficiente para cubrir las áreas intrínsecas, mientras que, a pasos menores, se pueden formar estructuras cerradas. La principal ventaja que presenta este método de modificación superficial es la alta capacidad de controlar la textura que se induce sobre la superficie, produciendo poros, pilares, ranuras, ondulaciones, como se observa en el resto de las imágenes de la Figura 3, así como otras topografías y morfologías detalladas más adelante durante el transcurso de esta investigación.

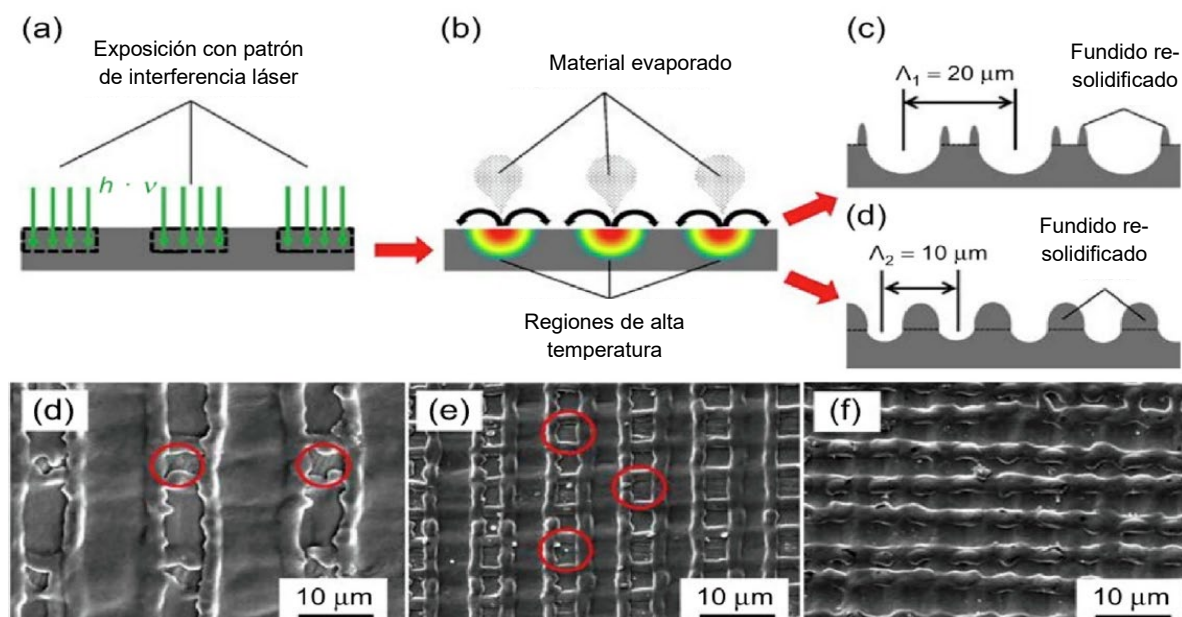


Figura 3. Esquema representativo del proceso de texturizado superficial con láser. [6]

La modificación del grosor de la capa del óxido de titanio y la composición química se pueden coordinar mediante la selección adecuada de los parámetros de procesamiento con láser [6, 10].

Las superficies de los implantes Ti comercialmente puro (cp) en forma de tornillo se han modificado con láser mediante la producción de una matriz de micropatrones (compuesta de fosas hemisféricas de 19  $\mu\text{m}$  de diámetro, 8  $\mu\text{m}$  de profundidad y espaciadas a 20  $\mu\text{m}$ ) utilizando un láser Nd: YAG. [6]

Un estudio anterior reportó un aumento en la hidrofiliidad al producir ondas, nanopilares y microranuras en superficies de titanio utilizando el tratamiento con láser [5]. Las estructuras de superficie periódicas inducidas por láser (ESPIL) consisten en ondulaciones paralelas (rejillas de superficie) o características de superficie onduladas que pueden producirse por onda continua o por irradiación pulsada bajo la selección correcta de los parámetros de procesamiento del láser. Se ha demostrado que la anisotropía en los ESPIL controla la alineación de los osteoblastos en las superficies de titanio o CoCr, lo que induce la orientación de una matriz extracelular de colágeno/apatita [6, 47]. Por lo tanto, el ESPIL puede aplicarse para aumentar y guiar

la adsorción de proteínas de adhesión responsables del crecimiento óseo, apropiando estructuralmente la construcción de la microestructura anisotrópica del tejido óseo.

Estudios previos reportan el efecto de la fusión por láser sobre la osteointegración de implantes de titanio [6, 48]. Los implantes de titanio mecanizados o arenados en forma de tornillo se fundieron usando un láser de vidrio Nd con una duración de pulso de 30 ns y una energía de pulso de 0.5-3 J. La superficie reveló cráteres parcialmente superpuestos dentro de un patrón de panal debido al cambio en la forma del punto de fusión libre de líquido seguido de una cristalización rápida [48]. El material fundido se empuja hacia los mínimos de intensidad debido a la convección de Marangoni, como resultado de un gradiente de alta temperatura entre las posiciones máximas y mínimas de interferencia como se puede apreciar en la Figura 3. Otro estudio reportó un aumento en la humectabilidad de la superficie de la aleación Ti6Al4V tratada con un láser de diodo de alta potencia [49]. Además, la proliferación y la viabilidad de los osteoblastos fetales fue mayor en las superficies tratadas con láser en comparación con las no tratadas [49]. También se han reportado métodos de deposición de recubrimiento de HA sobre titanio usando un método de revestimiento por láser basado en un láser de Nd: YAG pulsado y alimentación lateral de polvo.

### **2.3.2.- Recubrimientos bioactivos**

Como se ha comentado anteriormente, a pesar del avance de la ciencia y la investigación en el estudio y síntesis de nuevos materiales poliméricos, cerámicos y composites, se continúan utilizando materiales metálicos para el diseño y manufactura de dispositivos médicos endoóseos. Éstos son candidatos esenciales por sus propiedades mecánicas y biocompatibles, siendo apropiados para proporcionar una adecuada estabilidad y resistencia a la hora de sustituir una articulación biológica o raíz dental.

Ahora bien, a pesar de las características antes mencionada, generalmente los materiales metálicos tienen propiedades bioinertes, o sea, que no inducen o solo inducen una respuesta mínima del sistema inmunológico del organismo receptor y está dada por su estabilidad química y mecánica en el medio biológico. Por tales motivos se hace necesario buscar y emplear métodos alternativos para lograr crear o modificar



la superficie de un implante con la capacidad de inducir una actividad biológica específica y permitir un enlace fuerte y directo con el tejido vivo.

Los implantes bioactivos se distinguen de los implantes inertes porque desencadenan la unión química con el tejido vivo. Numerosos materiales cerámicos se describen como bioactivos debido a su capacidad para formar enlaces químicos con el tejido duro. La interfaz cerámica-hueso resultante puede ser más fuerte que el hueso mismo. El tejido duro se estimula desde esa interfaz debido a la composición de la biocerámica, que contiene elementos que normalmente se encuentran en el tejido duro, como el calcio, el fósforo y el silicio. Las biocerámicas se describen ocasionalmente como biocompatibles porque generalmente no muestran efectos tóxicos siempre que el material del implante sea lo suficientemente puro. La interfaz fuerte generada entre el implante y el tejido huésped representa una fijación adherente que impide el movimiento del implante o la separación del tejido huésped. En consecuencia, las cargas mecánicas y otras tensiones pasan a través de la interfaz. De hecho, la bioactividad no está restringida por la formación del enlace químico con el tejido duro. La bioactividad puede incluir la fusión con el hueso o el tejido blando, especialmente con cerámica no cristalina. Este proceso puede dar como resultado la reforma del tejido óseo perdido y la reconstrucción ósea debido a la existencia del elemento necesario en la interfaz del implante con la concentración adecuada. [50]

La química de la superficie y la topografía del titanio están interrelacionadas y es extremadamente difícil aislar los efectos de ambos. Cuando las muestras de titanio con diferente morfología de superficie se comparan en la literatura científica, se observa que estas muestras implican inevitablemente una química de superficie diferente. Por ejemplo, cuando las superficies de titanio mecanizadas se tratan con ácido, sus superficies pueden ser rugosas y su química superficial se altera de manera concomitante [51]. Una comparación de estas superficies mecanizadas y grabadas con ácido no equivale a examinar solo el efecto de la rugosidad de la superficie. Varios protocolos de procesamiento térmico y químico alteran la química de la superficie de los sustratos de titanio al modular el espesor y las propiedades cristalinas de la capa de óxido superficial [25, 41, 51, 52]. Incluso un procedimiento físico de rugosidad de la

superficie, como la técnica de arenado y texturizado láser, implica cambios inevitables en la química de la superficie.

Autores han informado que la creación de una capa microporosa y nanoestructural de  $\text{TiO}_2$  mejora la unión celular y la deposición de HA en la superficie metálica de implantes basados en Ti [36, 51, 52]. Además, se ha fabricado una capa de óxido de titanio poroso a escala micro-nano empleando métodos de grabado ácido y anodización para mejorar la bioactividad de los implantes de Ti y sus aleaciones [36, 51, 53]. En estas investigaciones los autores nos brindan ideas excepcionales para promover e inducir la formación de capas de HA en la superficie de los implantes mediante la construcción de estructuras combinadas a escala micro/nano. Sin embargo, puede llevar una o varias semanas formar una capa densa y homogénea de HA en un implante de aleación de Ti en fluidos biológicos simulados (SBF), lo que podría indicar una baja bioactividad ósea *in vivo* [54]. Además, la humectabilidad de los fluidos biológicos en la superficie del implante como un paso clave para la adhesión celular y la deposición de HA, se ha estudiado en raros casos hasta el momento [36]. Por lo tanto, aún se necesitan más estudios sobre los mecanismos de optimización de las propiedades fisicoquímicas de la superficie y la construcción precisa de la morfología y topografía de la superficie para obtener mejores interacciones entre el implante y el tejido.

# Capítulo 3

## Materiales y métodos

En este capítulo se expone todo lo referido al procedimiento experimental llevado a cabo en esta investigación. En la Figura 4 se muestra un diagrama que expresa un resumen de toda la etapa de experimentación.

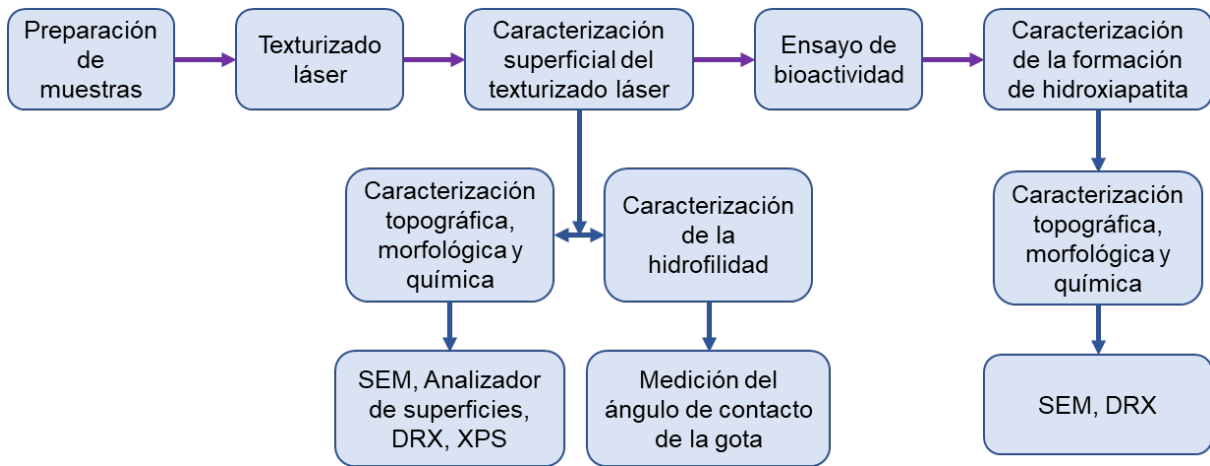


Figura 4. Diagrama del procedimiento experimental.

### 3.1.- Preparación de muestras

Para la preparación de muestras fue empleada una barra de Ti6Al4V de sección circular y diámetro de 19.05mm, la cual fue seccionada en discos de 3 mm de espesor para obtener las muestras. Para el tratamiento de modificación superficial se empleó solo una de las caras de la muestra. Las muestras fueron desbastadas gradualmente con papel abrasivo de carburo de silicio (SiC), partiendo del número 320 hasta la granulometría de 800. Posteriormente las muestras fueron sometidas a un lavado ultrasónico, llevado a cabo primero en agua destilada por 10 minutos y luego en alcohol etílico por otros 10 minutos. Este paso es muy importante puesto que remueve las partículas sobrantes del procesado anterior, así como otras suciedades como polvo entre otras. Por lo que antes de cualquier experimento o análisis se realizó tal condición de limpieza.

### 3.2.- Proceso de texturizado

El proceso de texturizado láser de modificación superficial se realizó con un láser de fibra ubicado en el Laboratorio Nacional de Materiales Avanzados, FIME, UANL como se puede apreciar en la Figura 5. Este láser de fibra cuenta con una potencia de 30 Watts (W). Los parámetros a la cual se realizó el tratamiento de modificación por láser se muestran en la Tabla 3.



Figura 5. Láser de fibra para grabado, modelo SM-2030.

Tabla 3. Especificaciones empleadas para el tratamiento de texturizado láser.

<b>Parámetros del texturizado láser</b>	
Potencia (W)	30
Velocidad de escaneo (mm/s)	500
Frecuencia (kHz)	100
Ancho del pulso (ns)	60
Diámetro del haz ( $\mu\text{m}$ )	39
Distancia focal (mm)	31.5
Longitud de onda (nm)	1064

El proceso de texturizado láser fue empleado para crear una geometría caracterizada por micropatrones sobre la superficie de la aleación Ti6Al4V, de forma tal que pueda permitir la adhesión ósea y proliferación celular. De ahí la importancia de escoger el tipo de geometría, con el objetivo de crear microcanales que permitan o no interfieran en la vascularización de fluidos corporales una vez realizada la implantación. El diseño geométrico empleado consta de líneas a lo largo del eje X e Y, a una distancia de 100  $\mu\text{m}$  (paso) y a una disposición entre ellas de 90°, como se observa en la Figura 6.

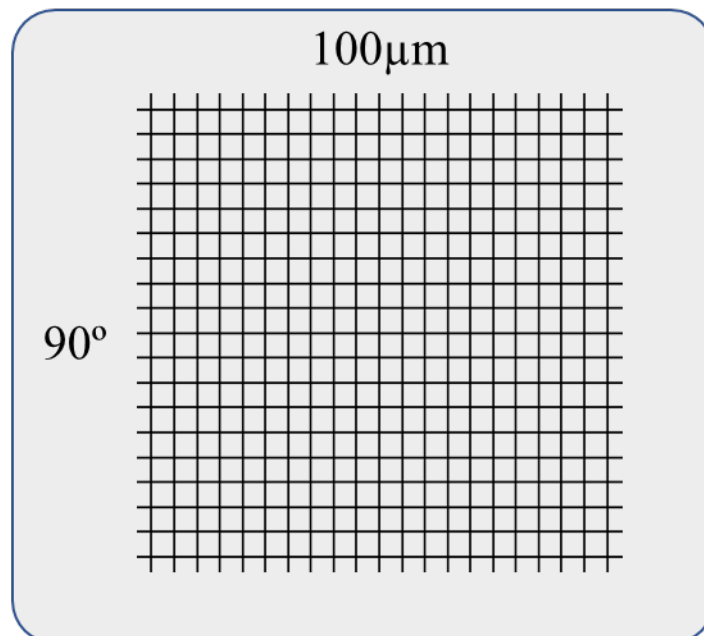


Figura 6. Geometría empleada para el texturizado láser.

Para el texturizado láser se emplearon 3 variantes de potencia y para cada una de las variantes se realizaron 3 pasadas del láser, como se aprecia en la Tabla 4. La variación de la potencia se realizó en el programa del equipo láser (EzCAD 3.0) donde se establecieron tres porcentajes de la potencia nominal de 30W. Respecto al número de pasadas que se llevó a cabo, consiste en la repetición de la geometría a texturizar sobre la superficie del material.

Tabla 4. Variables empleadas en el texturizado láser.

Potencia (30W) %	Potencia (W)	Pasadas del láser	Variantes
100	30	1	100-1
		2	100-2
		3	100-3
80	24	1	80-1
		2	80-2
		3	80-3
60	18	1	60-1
		2	60-2
		3	60-3

### 3.3.- Caracterización de la superficie texturizada

Las muestras texturizadas se analizaron por diferentes técnicas de caracterización, para evaluar la topografía, morfología, fases, composición elemental, estados químicos, así como la rugosidad e hidrofiliidad superficial.

#### 3.3.1.- Caracterización topográfica y morfológica

Las modificaciones superficiales en la aleación, por el texturizado láser con las diferentes variables empleadas fueron caracterizadas topográfica y morfológicamente mediante el microscopio electrónico de barrido (SEM) de emisión de campo de ultra alta resolución (Hitachi SU8020) del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico (CIDET) de FIME, UANL. Para estas caracterizaciones se emplearon los detectores de electrones secundarios (SE), a un voltaje de aceleración de 2kV y una corriente de 10 $\mu$ A, las imágenes se tomaron a altas y bajas magnificaciones.

#### 3.3.2.- Caracterización química

Los análisis químicos para determinar composición elemental se llevaron a cabo mediante el microscopio electrónico de barrido (SEM) JEOL JSM-6510LV del Centro de Investigación e Innovación en Ingeniería Aeronáutica (CIIIA) de FIME, UANL, haciendo uso de los detectores de espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDXS). Los análisis de fase de las superficies texturizadas se investigaron mediante

un difractómetro de rayos X (DRX) marca PANalytical-Empyrean del CIIIA, FIME, UANL con radiación de Cu-K $\alpha$  de longitud de onda 1.54059 Å. El análisis se hizo a rasante y fue llevado a cabo a un voltaje de 45 kV y una corriente de 40 mA a temperatura ambiente. Los espectros de DRX se adquirieron en un rango de  $2\theta$  de 20°–80° usando una velocidad de escaneo de 2°/min, un tamaño de paso de escaneo de 0.01°, un tiempo por paso de 3 segundos y un ángulo a rasante entre el haz y la superficie de la muestra de 0.8°. Para el estudio de la composición elemental, así como el estado químico de los elementos presentes en la superficie modificada fue empleada la técnica de espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS-Thermo Scientific K-Alpha).

### **3.3.3.- Caracterización de la humectabilidad y la rugosidad**

La humectabilidad de las muestras se midió mediante la técnica de la gota sésil estática utilizando una cámara de 48 megapíxeles y el software de procesamiento de imagen digital ImageJ para la medición del ángulo de contacto. El experimento se llevó a cabo con agua destilada y con fluido biológico simulado (SBF). Las muestras se limpiaron por ultrasonido en agua destilada durante 15 minutos a una temperatura de 30°C y posteriormente en etanol empleando el mismo tiempo y temperatura, luego se procedió al secado con un soplador de aire caliente. Se colocaron gotas de agua destilada y SBF de aproximadamente 3 mm de diámetro en las muestras con una jeringa hipodérmica. El ángulo de contacto se midió tomando la imagen de la gota usando una cámara y luego analizando la imagen usando el software ImageJ de código abierto para encontrar el ángulo entre la tangente dibujada en la gota y la superficie de la muestra, como se puede apreciar en la Figura 7. La prueba se realizó a temperatura ambiente, y se tomó un mínimo de tres lecturas de ángulo de contacto en cada muestra. El ángulo de contacto se tomó como una medida de la humectabilidad de la superficie.

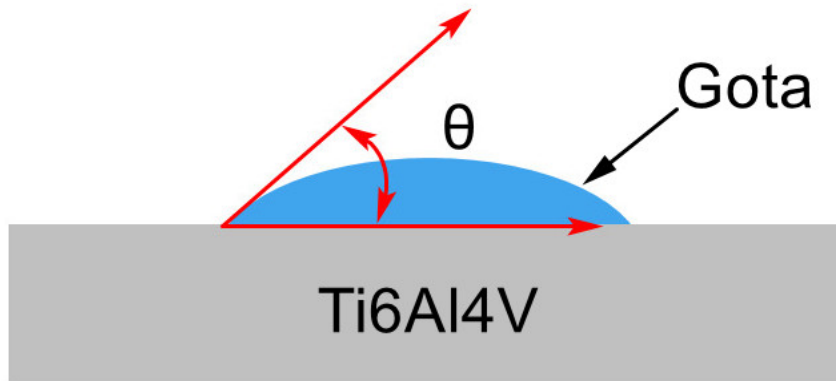


Figura 7. Diagrama esquemático para la medición del ángulo de contacto entre la gota del líquido y la superficie del sólido.

Para la medición de la rugosidad y el perfil topográfico de la superficie, se empleó un analizador de superficies 3D Alicona Edgemaster, ubicado en el Laboratorio de Tribología de la Facultad de Mecánica de la Universidad de Monterrey (UEM). Las mediciones fueron hechas a una magnificación de 10X.

### 3.4.- Ensayo de bioactividad

Para el ensayo de bioactividad se empleó el fluido biológico simulado (SBF). La solución SBF es un fluido acelular que tiene concentraciones de iones inorgánicos similares a las del fluido extracelular humano (plasma sanguíneo). Este fluido se utiliza para evaluar la bioactividad de materiales artificiales *in vitro* y crear condiciones biomiméticas. El SBF fue preparado de acuerdo con el método propuesto por Kokubo y Takadama en el 2006 [54]. Para evaluar la bioactividad de la superficie preparada, las muestras se remojaron en SBF a 36.5°C por 14 días. El SBF se renovó cada dos días para mantener su composición. Luego, las muestras se lavaron por ultrasonido con agua desionizada durante 5 minutos y se secaron con un desecador para caracterización adicional.

Además de la preparación y empleo del SBF, se utilizó una solución de calcificación sobresaturada (SCS). Se empleó una SCS propuesta por Li y colaboradores [55]. Esta solución permite obtener crecimientos de apatita en mucho menos tiempo, y es más simple su preparación. Con esta solución se hace innecesaria la renovación de la solución metaestable ya que presenta mayor concentración iónica, y acelera



significativamente el proceso de crecimiento. La experimentación se realizó introduciendo las muestras en la SCS bajo agitación a 80rpm y 37°C por un tiempo de 18 horas. Una vez vencido el tiempo las muestras se limpiaron por 5 minutos en agua destilada y secadas a 60°C por 2 horas.

### **3.5.- Caracterización de las pruebas de inmersión en SBF**

#### **3.5.1.- Caracterización morfológica**

Para detectar la morfología de la capa o nucleación de apatita (HA) se empleó nuevamente la técnica de microscopía electrónica de barrido, usando el SEM de emisión de campo de ultra alta resolución (Hitachi SU8020) del CIDET. Para estas caracterizaciones se emplearon los detectores de electrones secundarios (SE), a un voltaje de aceleración de 2kV y una corriente de 10 $\mu$ A. Las imágenes de SEM se tomaron tanto con altos aumentos (alrededor de 10000X) como con bajos aumentos (alrededor de 1000X).

#### **3.5.2.- Caracterización química**

El ensayo de bioactividad fue caracterizado químicamente por difracción de rayos X haciendo un análisis normal, permitiendo detectar la formación de capas de apatita. El rango de medición en  $2\theta$  fue de 25°C a 60°C utilizando radiación CuK $\alpha$  ( $\lambda = 0,15405\text{nm}$ ) como fuente, a una velocidad de 2°/min, un paso de escaneo de 0.013° y un tiempo por paso de 8.67 segundos. El análisis también fue llevado a cabo a un voltaje de 45 kV y una corriente de 40 mA a temperatura ambiente.

Las muestras sumergidas en SCS fueron caracterizadas por EDXS, empleando un equipo ubicado en el Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMA-V). Para detectar la composición elemental, se realizó un análisis puntual y mapeo en la superficie.

## Capítulo 4

### Resultados y discusión

#### 4.1.- Caracterización superficial del texturizado

Este capítulo está dirigido a la presentación e interpretación de los resultados obtenidos en el estudio de la modificación superficial de la aleación de Ti6Al4V por el método de texturizado láser una vez realizada la metodología descrita en el epígrafe 3.2. De las caracterizaciones realizadas se extrajo la información de interés para esta investigación, como son morfología y topografía de la superficie, composición química, estados de oxidación, nuevas fases presentes luego del tratamiento con láser, así como análisis de la rugosidad y humectabilidad de la superficie.

##### 4.1.1.- Caracterización topográfica y morfológica

De acuerdo con lo planteado en el capítulo anterior se emplearon 9 condiciones de texturizado variando la potencia del láser y la cantidad de pasadas (Pot-#). En la Figura 8 se pueden apreciar las micrografías obtenidas por SEM de las muestras texturizadas correspondientes a todas las variantes estudiadas (100-1, 100-2, 100-3, 80-1, 80-2, 80-3, 60-1, 60-2 y 60-3).

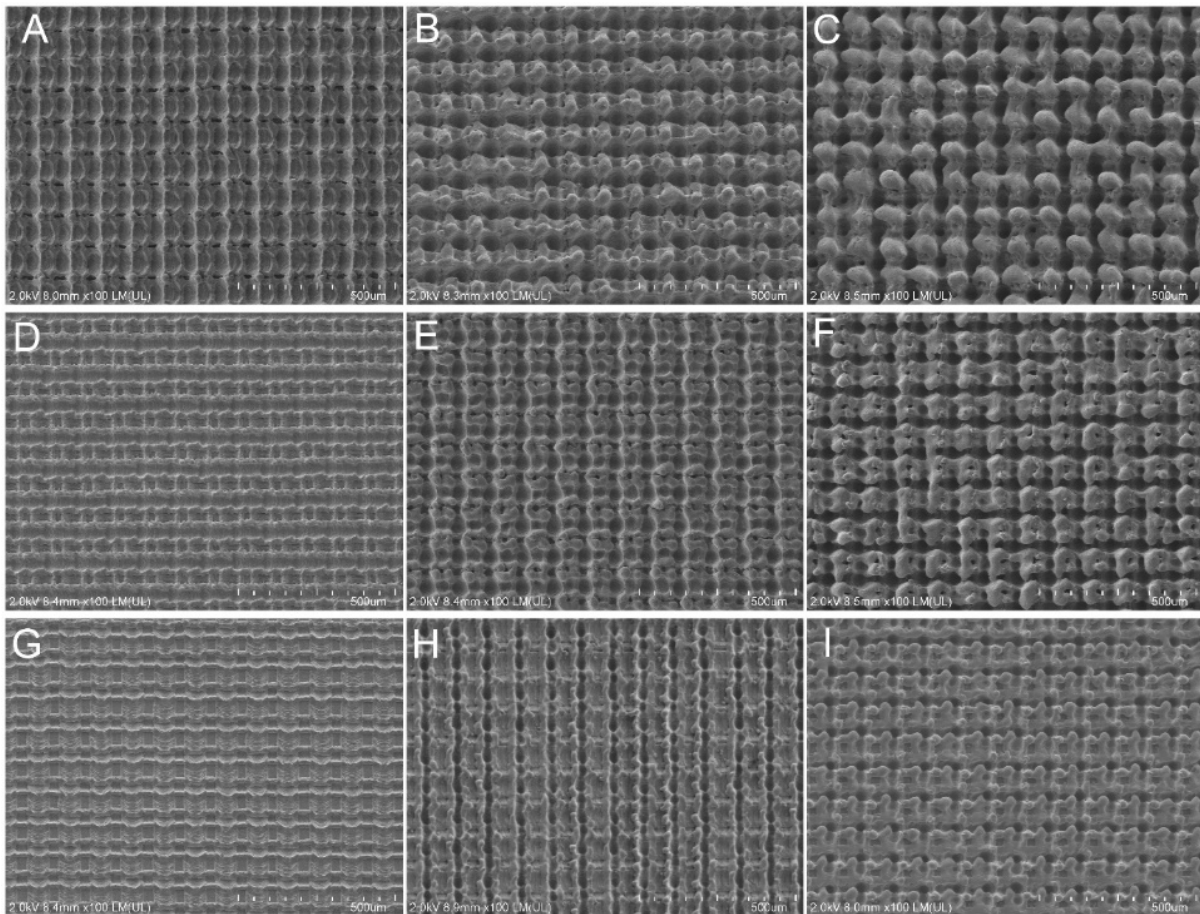


Figura 8. Micrografía de SEM a una magnificación de 100X de las muestras A: 100-1, B: 100-2, C: 100-3, D: 80-1, E: 80-2, F: 80-3, G: 60-1, H: 60-2, I: 60-3.

Se puede apreciar de forma general una diversidad de texturas, dónde a medida que aumenta la potencia del láser se observa una creciente transformación de la superficie en surcos y pilares. De forma similar ocurre cuando aumenta el número de pasadas para un mismo valor de potencia. Pudiendo destacar las variantes de 100% de potencia para 2 y 3 pasadas como las variantes que mayor formación de micropilares presentan. Siendo las variantes de 60% y 80% para 1 pasada las que menores formaciones de micropilares presentan. En la medida que se formen estos micropilares le daría al tejido óseo una mayor capacidad de poder anclarse a esta topografía, permitiendo su crecimiento al interior de las socavaciones formadas debido a la fusión violenta durante el proceso.

La textura de la superficie se compone de pequeñas gotas de material condensado, que es un signo de comportamiento explosivo durante el proceso. Durante la solidificación, a menudo aparecen formas fractales que generan una textura jerárquica en la superficie a escalas de micro a nano con una forma caótica [44, 56].

Las estructuras superficiales observadas en la Figura 9, Figura 10 y Figura 11 dan una idea de las diferencias topográficas en la interacción de las variantes de estudio con el material base. La distinción más obvia se observa en los picos o pilares que se encuentran ubicados en los bordes de las intersecciones por donde incidió el haz del láser para el caso de las imágenes A, B y C, siendo los sitios donde incidió los valores mínimos de intensidad. Las imágenes D, E y F son un aumento de las imágenes A, B y C de las figuras mencionadas con anterioridad, en las cuales se logra apreciar superficies con determinadas irregularidades estando presentes para cada una de las variantes estudiadas. Estas irregularidades están atribuidas a la formación de pequeñas nanoestructuras como se puede observar en la Figura 12, a una magnificación mucho mayor (100kX).

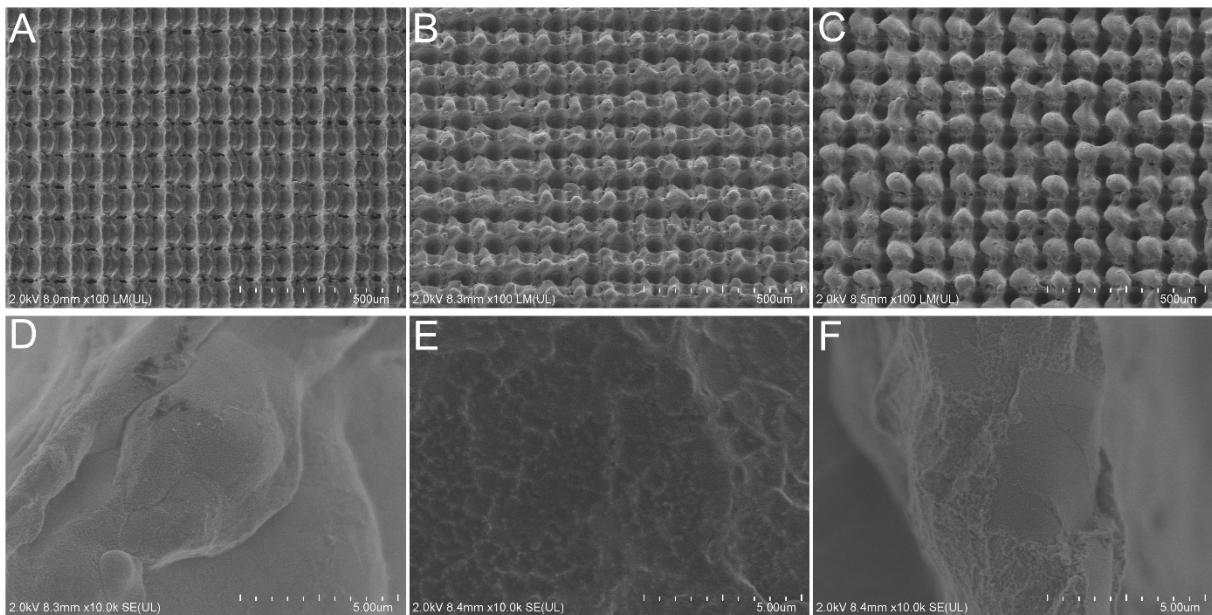


Figura 9. Micrografía de SEM de las muestras texturizadas para las variantes de 100% con sus tres números de pasadas, (A 100-1, B 100-2, C 100-3). D, E y F corresponde a los respectivos aumentos de A, B y C.

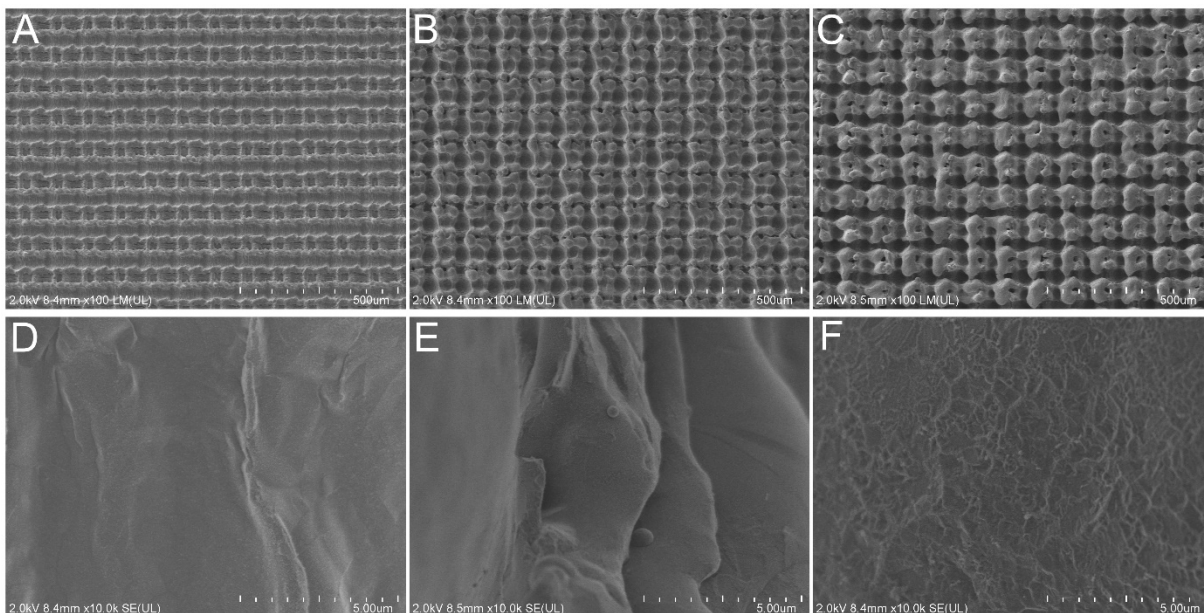


Figura 10. Micrografía de SEM Micrografía de SEM de las muestras texturizadas para las variantes de 80% con sus tres números de pasadas, (A 80-1, B 80-2, C 80-3). D, E y F corresponde a los respectivos aumentos de A, B y C.

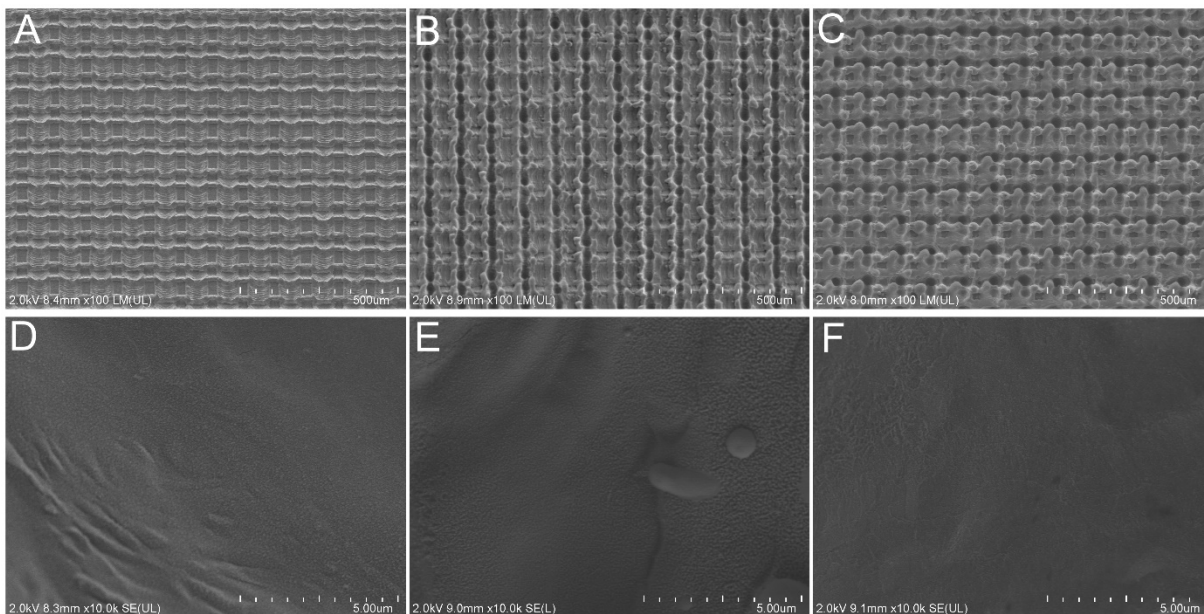


Figura 11. Micrografía de SEM Micrografía de SEM de las muestras texturizadas para las variantes de 60% con sus tres números de pasadas, (A 60-1, B 60-2, C 60-3). D, E y F corresponde a los respectivos aumentos de A, B y C.

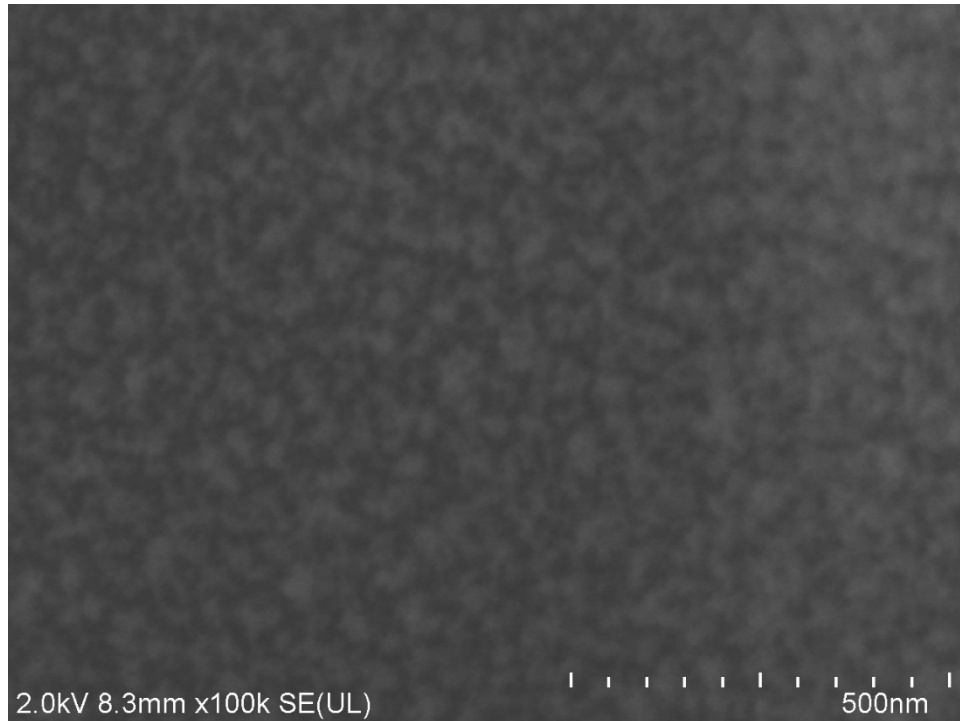
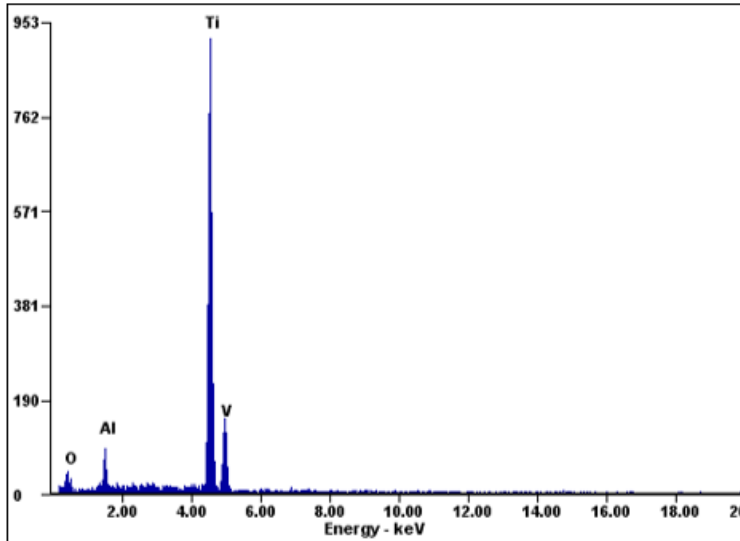


Figura 12. Micrografía de SEM de la variante 100-1, a mayor magnificación 100kX.

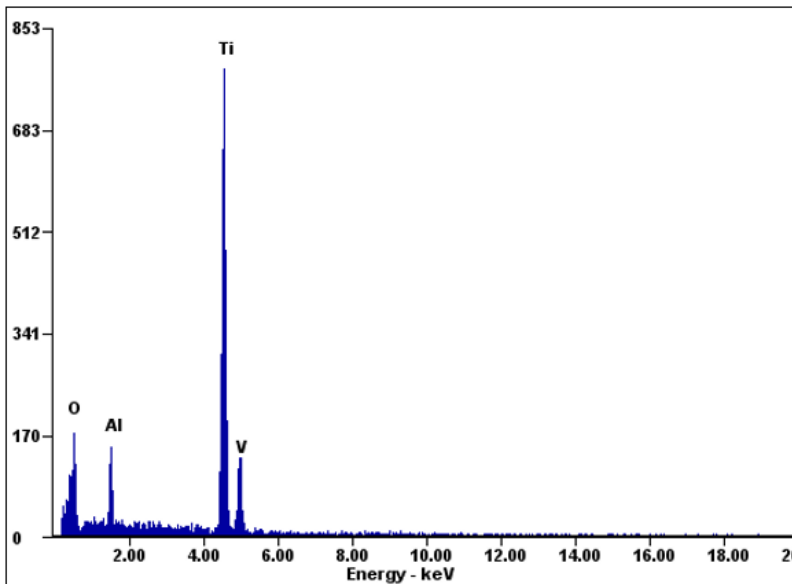
#### **4.1.2.- Caracterización química**

Como bien fue especificado en el capítulo anterior la composición elemental de las muestras, después de realizar el proceso de texturizado láser se realizó por la técnica de caracterización EDXS. En la Figura 13 y Figura 14 correspondientes a las variantes 100-1 y 100-3 respectivamente, se puede observar el espectro correspondiente a las señales de los elementos titanio, aluminio, vanadio y oxígeno en la aleación estudiada. La presencia del elemento oxígeno puede estar asociado a la formación de una capa de óxido en la superficie. Como parte del proceso de texturizado se puede apreciar que para el caso de la variable 100-1 y 100-3 hubo un aumento del contenido de oxígeno de 26.84wt% a 37wt% respectivamente; lo cual puede ser atribuido al proceso reiterado de irradiación láser, donde ocurren fenómenos de fusión y solidificación en cortos períodos de tiempo y de manera reiterada debido al número de pasadas. De acuerdo con este fenómeno ocurre una difusión del oxígeno en la superficie tratada.



<i>Element</i>	<i>Wt%</i>	<i>At%</i>
<i>OK</i>	26.84	50.84
<i>AlK</i>	05.98	06.72
<i>TiK</i>	65.51	41.45
<i>VK</i>	01.68	01.00
<i>Matrix</i>	Correction	ZAF

Figura 13. Espectro de EDXS de la composición elemental para la variante de texturizado 100-1.



<i>Element</i>	<i>Wt%</i>	<i>At%</i>
<i>OK</i>	37.00	62.19
<i>AlK</i>	05.75	05.74
<i>TiK</i>	55.25	31.02
<i>VK</i>	02.00	01.05
<i>Matrix</i>	Correction	ZAF

Figura 14. Espectro de EDXS de la composición elemental para la variante de texturizado 100-3.

En los resultados obtenidos por la técnica de difracción de rayos X se evidencia en las superficies texturizadas la presencia de picos correspondientes a la formación de óxido en diferentes variedades. En la Figura 15 se puede observar el difractograma de la aleación sin tratamiento de modificación por láser y las muestras texturizadas

empleando diferentes potencias para un número de 3 pasadas cada uno, ordenadas de abajo hacia arriba comenzando por la muestra control. Los patrones de difracción confirman el surgimiento de una capa de óxido de titanio en la superficie. Dicha capa está formada por óxido de titanio en la fase Anatasa y también se encontró la presencia de  $TiO_x$ , según las cartas PDF 04-016-2837 y 04-006-4341 respectivamente.

Por otro lado, podemos apreciar que el empleo de diferentes potencias en el tratamiento de modificación superficial por texturizado láser tuvo una influencia significativa en la formación de óxidos. Donde se puede apreciar que para la muestra control solo están presentes los picos característicos a la aleación bifásica alfa-beta, y a medida que aumenta la potencia del láser aumenta los picos de difracción del óxido de titanio fase Anatasa y  $TiO_x$  formados en la superficie. Además, se aprecia que existen aumentos y disminuciones en los picos correspondientes a las fases alfa-beta, esto puede estar dado por la generación de direcciones preferenciales producto del proceso en sí. La formación de dichas fases correspondientes al  $TiO_2$  garantiza un aumento de la resistencia a la corrosión de las superficies y paralelamente debe influir positivamente en su bioactividad [36].



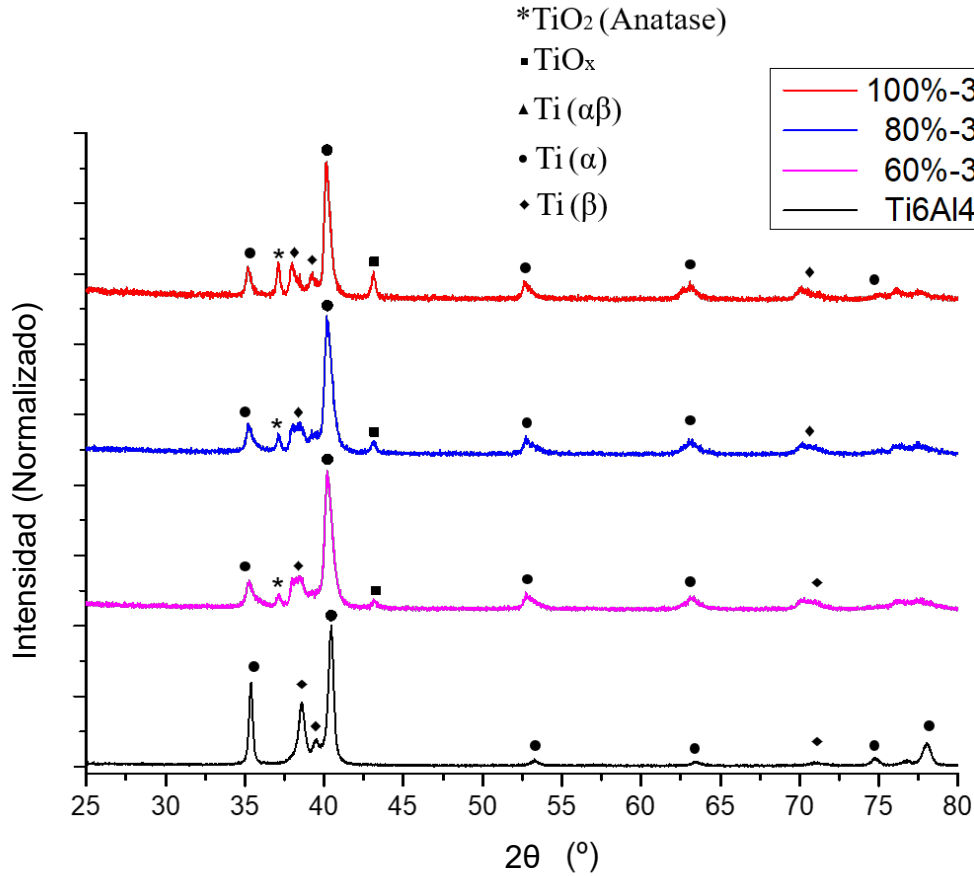


Figura 15. Difractograma de DRX de las muestras texturizadas para las 3 variantes de potencia con 3 pasadas.

Para corroborar la presencia de TiO<sub>2</sub> sobre la superficie de las muestras texturizadas fue empleada la técnica de caracterización de XPS. En la Figura 16 y Figura 17 se pueden apreciar luego de procesar los resultados y realizar las convoluciones, la presencia de los picos característicos del TiO<sub>2</sub> de acuerdo con su energía de enlace. Se analizaron las condiciones límites de las variantes en estudio (100-1, 100-3 y 60-1, 60-3) y se pudo comprobar que para todos los espectros analizados existe TiO<sub>2</sub> en la superficie. Además, existe la presencia del TiO<sub>x</sub> pero en menor magnitud atómica.

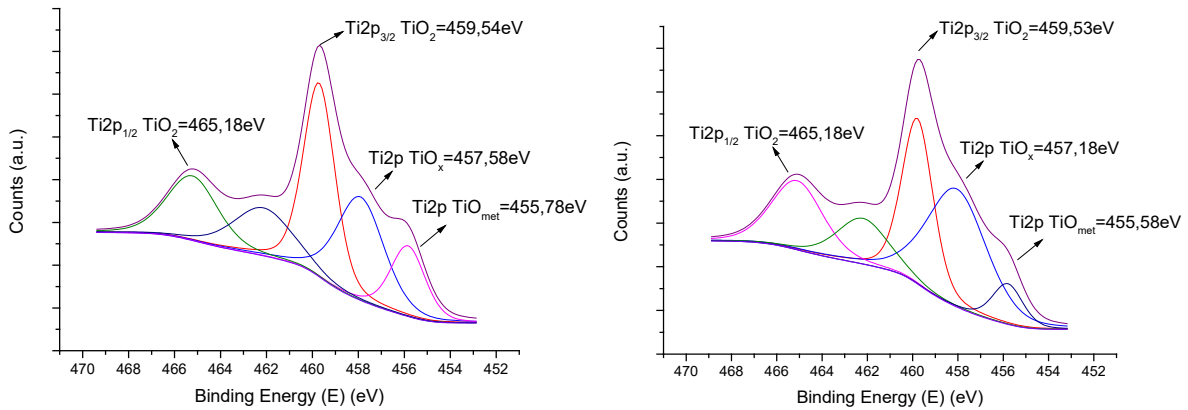


Figura 16. Espectro de XPS para las muestras texturizadas para las condiciones de A: 100-1 y B: 100-3

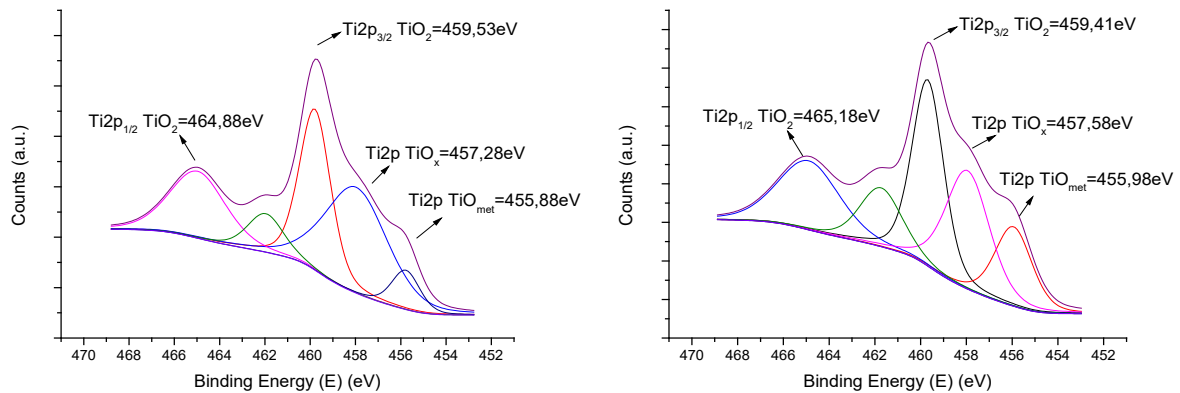


Figura 17. Espectro de XPS para las muestras texturizadas para las condiciones de A: 60-1 y B: 60-3

Se muestra en la Tabla 5 las diferentes composiciones de los óxidos de titanio formados. Se puede apreciar que para la formación de  $\text{TiO}_2$  para 1 y 3 pasadas del láser hubo mayor concentración atómica detectada para una potencia de 60%, mientras que de forma general en ambas potencias para 3 pasadas fue superior al de 1 pasada. De forma contraria ocurre para el  $\text{TiO}_x$ , detectando una disminución en el porcentaje atómico cuando aumenta el nivel de pasadas (de 1 a 3) para una misma potencia de 60%, sin embargo, para una potencia de 100% se ve claramente que el aumento de pasadas incrementa la formación de  $\text{TiO}_x$ . Esto puede deberse a que las

condiciones de la variante de mayor potencia están caracterizadas por un comportamiento más caótico que su variante comparativa, lo cual induce óxidos de otra índole ( $TiO_x$ ). Por otra parte, se puede apreciar claramente que para las variantes analizadas hay mayor presencia de  $TiO_2$  que de  $TiO_x$ , puesto que en la relación calculada todos los valores son mayores que la unidad.

Tabla 5. Resultado de XPS sobre la oxidación y composición en % atómico para el titanio.

Potencia (%)	$TiO_2$ (%)		$TiO_x$ (%)		$TiO_2/TiO_x$ (%)	
	1	3	1	3	1	3
60	13.1	15.2	5.76	3.59	2.27	4.23
100	12.5	13.7	3.11	5.97	4.02	2.29

#### 4.1.3.- Comportamiento de la rugosidad superficial y del ángulo de contacto de la gota

Para un análisis cuantitativo de la topografía de la superficie modificada por láser, como fue descrito con anterioridad se empleó un analizador de superficies (Alicona). En la Figura 18 se muestra la distribución de las alturas y profundidades de los picos y valles respectivamente. Analizando tal distribución se aprecia como a medida que aumenta el porcentaje de potencia para un mismo número de pasadas se incrementan los valores máximos correspondientes a los picos y valles. De forma similar ocurre para un mismo porcentaje de potencia un incremento de las alturas y profundidades cuando aumenta la cantidad de pasadas del láser.

De forma general se observa un incremento de los valores en alturas y profundidades cuando se irradia con más potencia y mayor número de pasadas. También da la medida de que ciertas combinaciones de las variantes empleadas hacen un mayor efecto o modificación topográfica que otras de menor energía, pero mayor número de pasadas como es el caso de 80% con 2 pasadas y de 60% con 3 pasadas, donde el gradiente energético tiene mayor significancia.

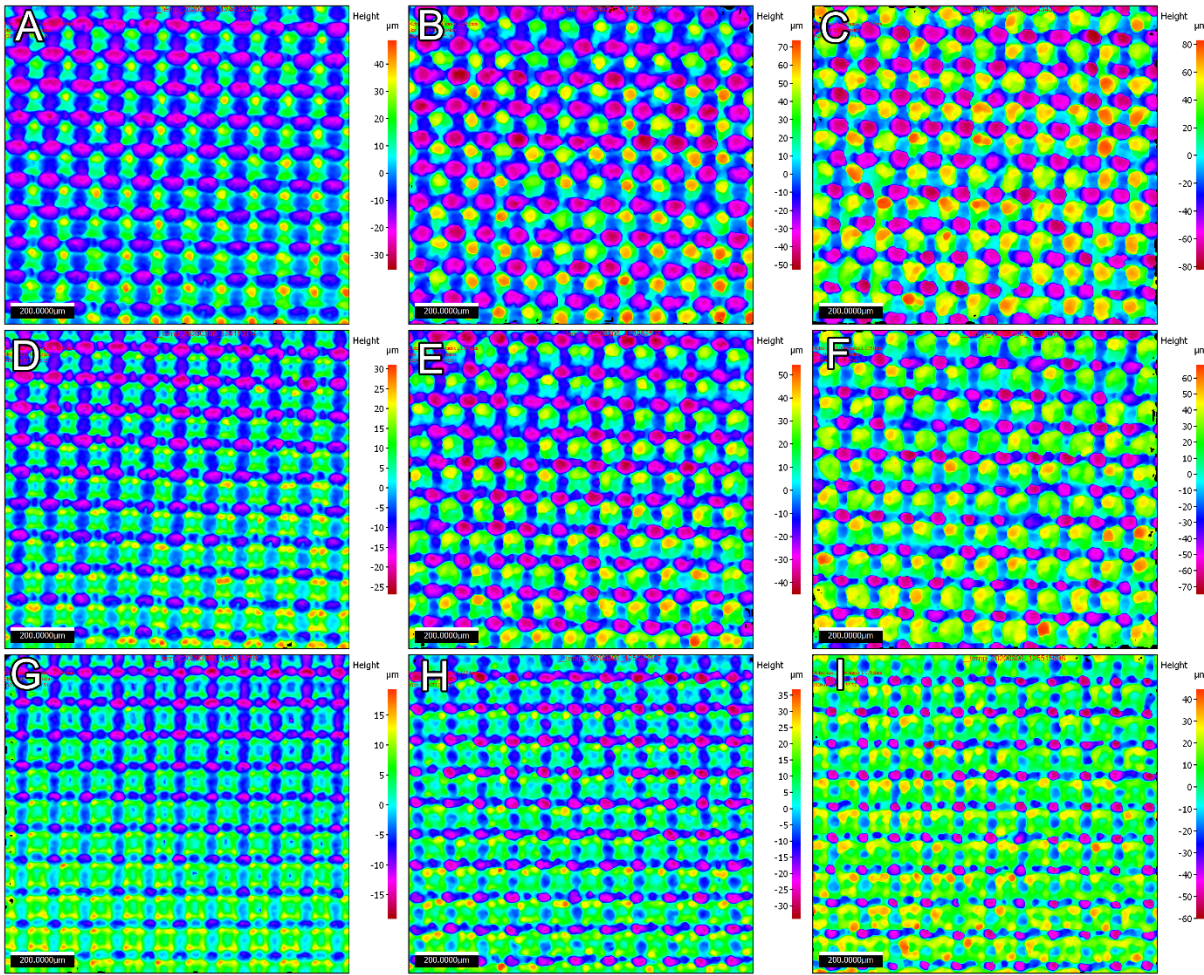


Figura 18. Mapa de colores de la distribución de alturas y profundidades de los picos y valles en el proceso de texturizado.

Para una mayor comprensión de lo descrito en el párrafo anterior y facilitar el análisis se construyeron los gráficos de la Figura 19 y Figura 20 correspondientes a la altura de los picos y la profundidad de los valles máximos respectivamente.

Según la gráfica de la Figura 19 se aprecia con claridad un aumento general de los picos y valles a medida que se obtiene una superficie más caótica debido al incremento de la potencia y cantidad de pasadas. De la misma forma ocurre para el número de pasadas, esto se debe a que una vez que se obtiene un surco de ablación crea valles y picos producto a la energía del proceso, y cuando este se repite (otra pasada) el haz del láser vuelve a incidir en las mismas zonas, dejando pistas de ablación más

profundas y picos más altos. El haz es capaz de incidir en las mismas zonas debido a la alta precisión de repetitividad del haz, el cual solo incurre en un error de  $\pm 1\mu\text{m}$ .

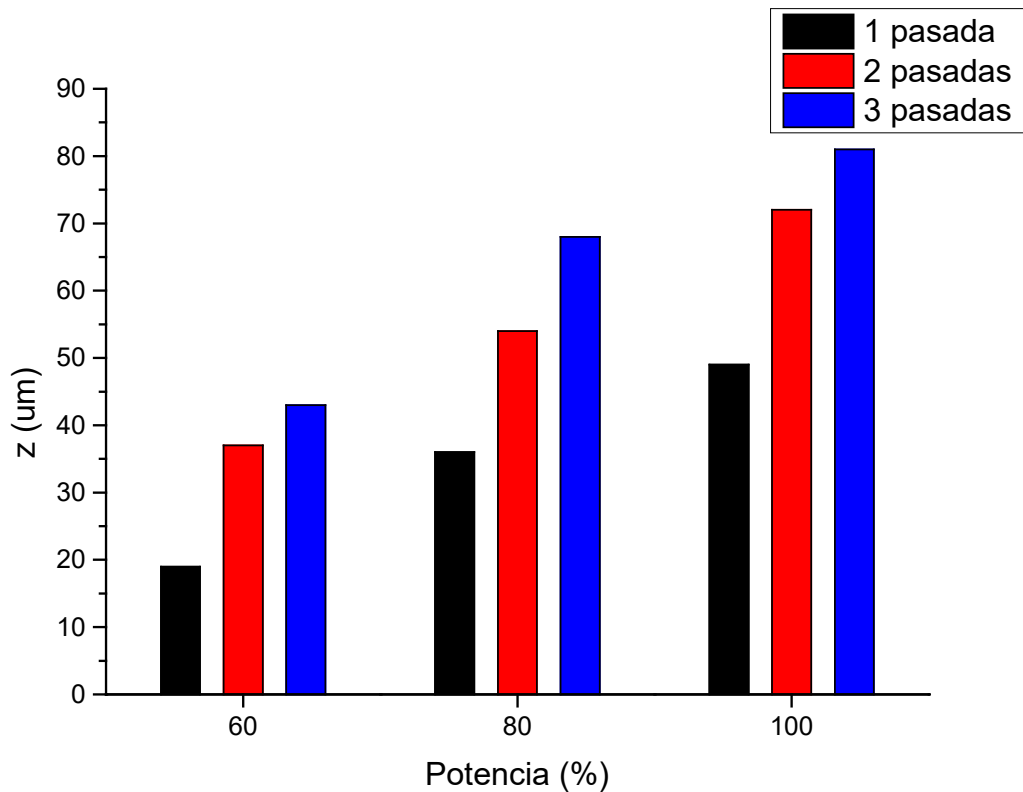


Figura 19. Altura de los picos máximos de las variantes de texturizado estudiadas.

Por otra parte, en la Figura 20 tenemos un comportamiento muy similar a la gráfica anterior, esto es debido a la interrelación que presentan. Ahora bien, se puede apreciar en este caso que para los valores de profundidades van sufriendo un incremento a medida que aumentan la potencia y el número de pasadas, lo que, para un mismo número de pasadas a diferentes potencias, la diferencia no es tan abrupta como para una potencia y diferentes números de pasadas.

Tales resultados demuestran que la variación de potencia gobierna los cambios en la altura de los picos, mientras que el número de pasadas rige el comportamiento de los valores de la profundidad de los valles.

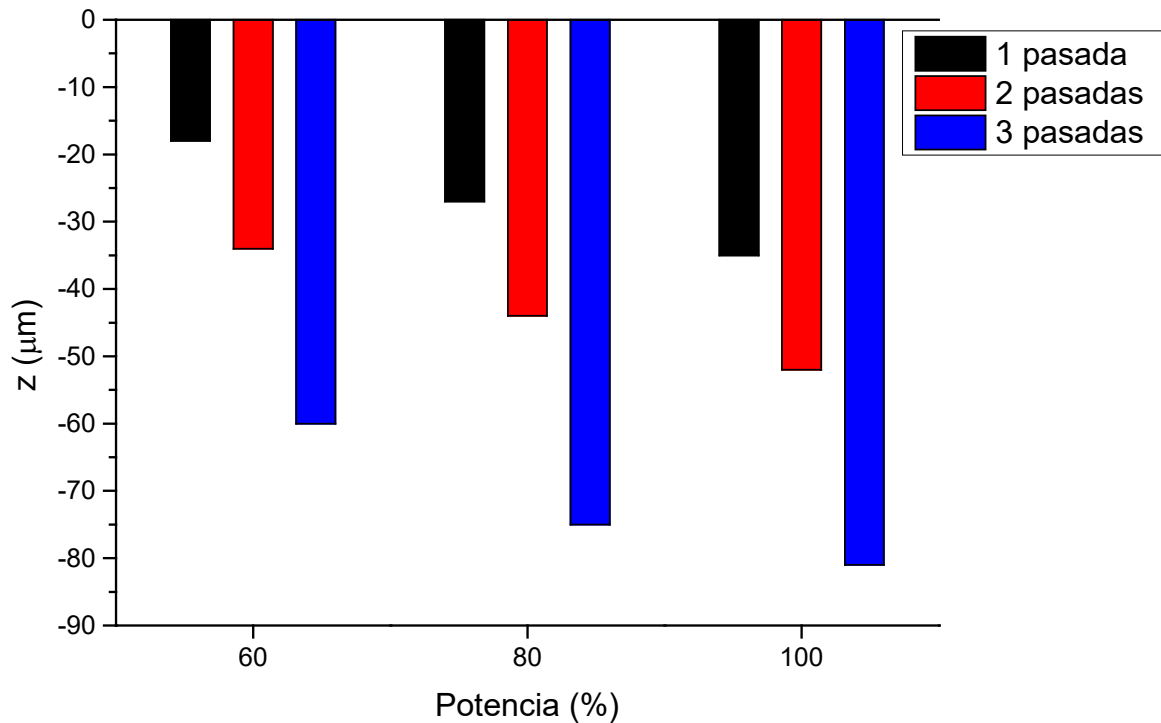


Figura 20. Profundidad máxima de los valles en las variantes de texturizado estudiadas.

Una de las características superficiales con mayor influencia en el comportamiento de la osteointegración de un implante o prótesis es la rugosidad superficial. Diversos investigadores han modificado superficies en aras de lograr determinados valores de rugosidades. En la Figura 21 se puede apreciar los resultados de rugosidad superficial que presentan las variantes estudiadas. Se observa claramente que las variantes asociadas a 60% de potencia son las que menores rugosidades presentan, por debajo de 20µm. Comportamiento muy similar presentan las variantes de 80% las cuales no superan los 30 µm. Por otro lado, y con una conducta bien diferente a las variantes analizadas están las muestras de 100% de potencia, donde se puede apreciar un aumento sustancial en los valores de rugosidad superficial. Esto está dado por los altos valores energéticos de ablación y de repetitividad del proceso.

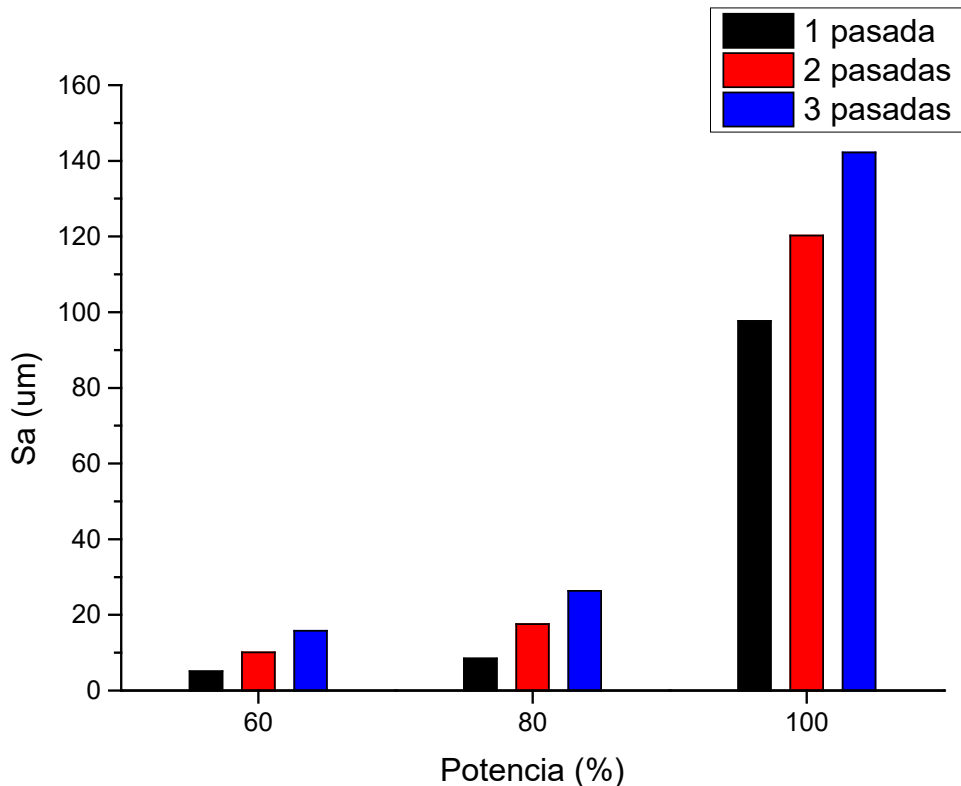


Figura 21. Rugosidad superficial de las muestras texturizadas

Como bien se especificó en el capítulo anterior, para evaluar el comportamiento de la mojabilidad se depositó sobre la superficie de cada muestra una gota de agua destilada y de SBF, la cual dio una medida del comportamiento hidrofílico de las superficies obtenidas. Los resultados de los análisis fueron graficados para una mejor comprensión de los datos obtenidos. En la Figura 22 se puede observar el comportamiento del ángulo de contacto entre la gota de agua y la superficie de las muestras analizadas.

Se puede apreciar que para todas las variantes los resultados obtenidos dan la medida de un comportamiento hidrofílico (ángulos de contacto menor a 90°) ya que todos los ángulos de contacto obtenidos quedan por debajo de las mediciones obtenidas del ángulo para la muestra control, y para algunos casos más específicos se obtuvo una super hidrofiliidad en la superficie (ángulos de contacto menor a 5°). De forma general para todas las potencias estudiadas con 2 pasadas presentaron los ángulos de contacto más bajo, siendo 80% para la gota de agua y 100% para la gota de SBF.

Los rasgos característicos topográficos y morfológicos de las variantes de 100% de potencia para 1 y 3 pasadas presentan un comportamiento menos super hidrofílico. Esto puede estar dado porque tienen valles más profundos y picos puntiagudas bien definidos, torres y paredes laterales que pueden causar atrapamiento de aire y fijación del borde de la gota. Mientras que para la variante 100-2 al parecer en la segunda pasada la modificación que provocó afectó de manera positiva la distribución de la gota por toda la superficie, logrando un ángulo de contacto por debajo de 5°.

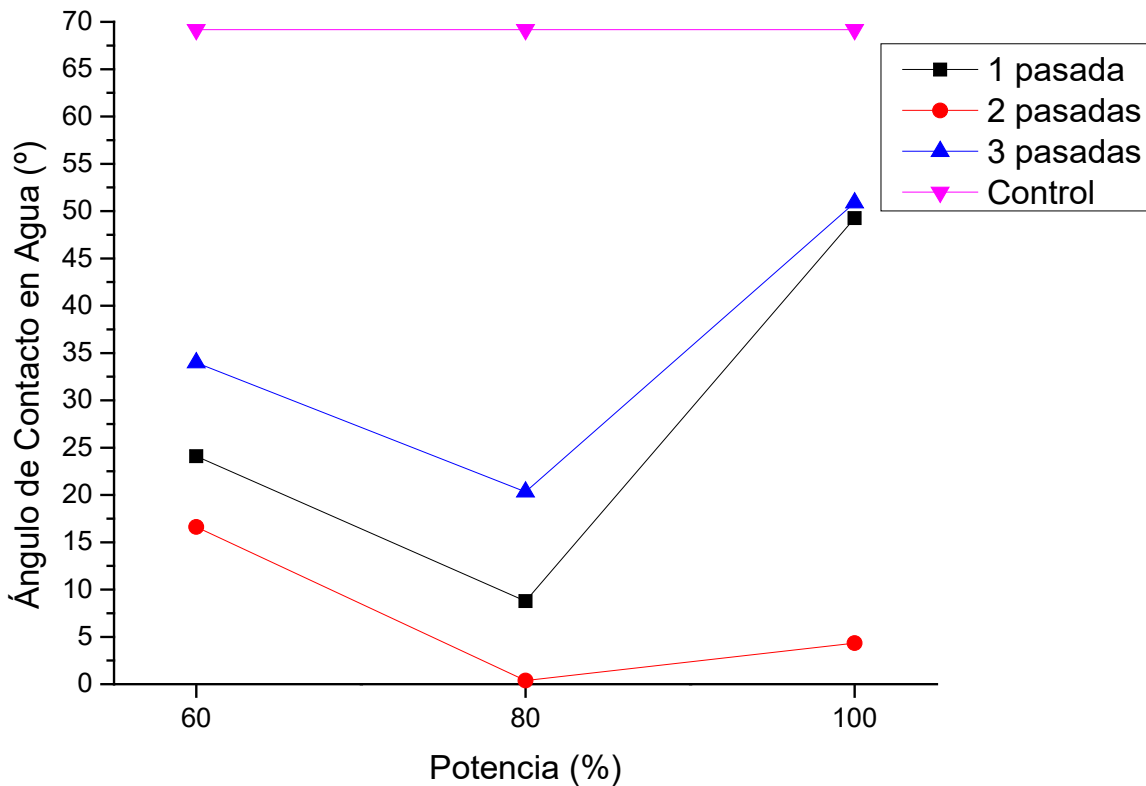


Figura 22. Medición del ángulo de contacto entre la gota de agua y la superficie de la muestra.

En la Figura 23 se puede apreciar el comportamiento del ángulo de contacto de la gota de SBF respecto a la superficie. En la misma se puede observar un comportamiento muy similar al de la gota de agua, pero en menor magnitud, diferencia favorable para superficies que estarían en contacto con la sangre. Al igual que en caso anterior todas las muestras texturizadas presentaron ángulos de contacto inferiores a la muestra control, dejando al descubierto la gran influencia del tratamiento con láser sobre la



hidrofilidad de la superficie. Para esta gráfica en particular en el caso de 2 pasadas a medida que aumenta la potencia se va obteniendo una superficie aún más super hidrofílica hasta que prácticamente el ángulo de contacto se hace cero. De forma general e independientemente del número de pasadas, los menores ángulos de contacto fueron obtenidos para las variantes de 80% de potencia. De esta manera se obtiene un resultado claro de cuanta humectabilidad o mojabilidad presentan las superficies modificadas.

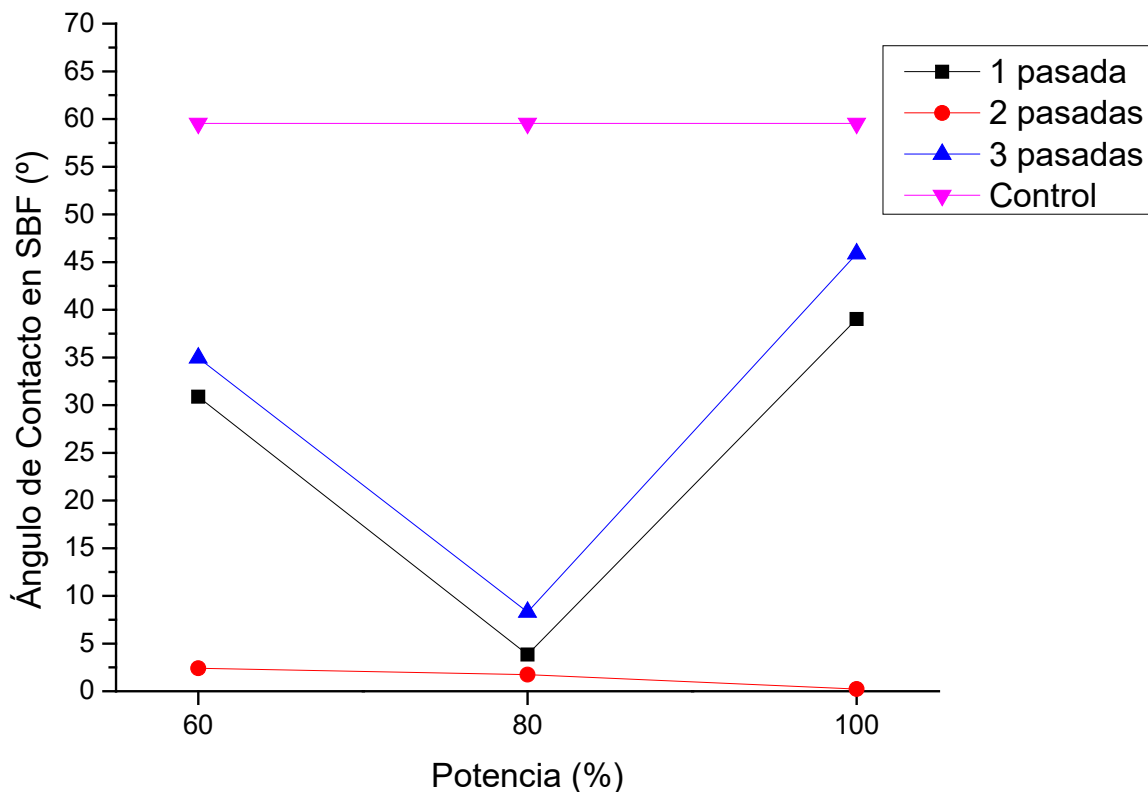


Figura 23. Medición del ángulo de contacto entre la gota de SBF y la superficie de la muestra.

Los gráficos de la Figura 24 se construyeron para una mejor comprensión de la relación existente entre la rugosidad superficial y la mojabilidad de la superficie con respecto a la variación de potencia en las muestras procesadas con 1, 2 y 3 número de pasadas respectivamente. En primer lugar, los ángulos de contacto disminuyeron cuando la potencia es de 80%.

En particular, para un número de pasadas de 2, los ángulos de contacto fueron mínimos, especialmente a una potencia de 100%. Sin embargo, como se muestra en la Figura 24, el efecto de la rugosidad superficial sobre el ángulo de contacto de la superficie parece ser irregular para un número de pasadas de 1 y 3, mientras que, para un número de pasadas de 2, el ángulo de contacto tiene un comportamiento descendente a medida que aumenta la rugosidad superficial.

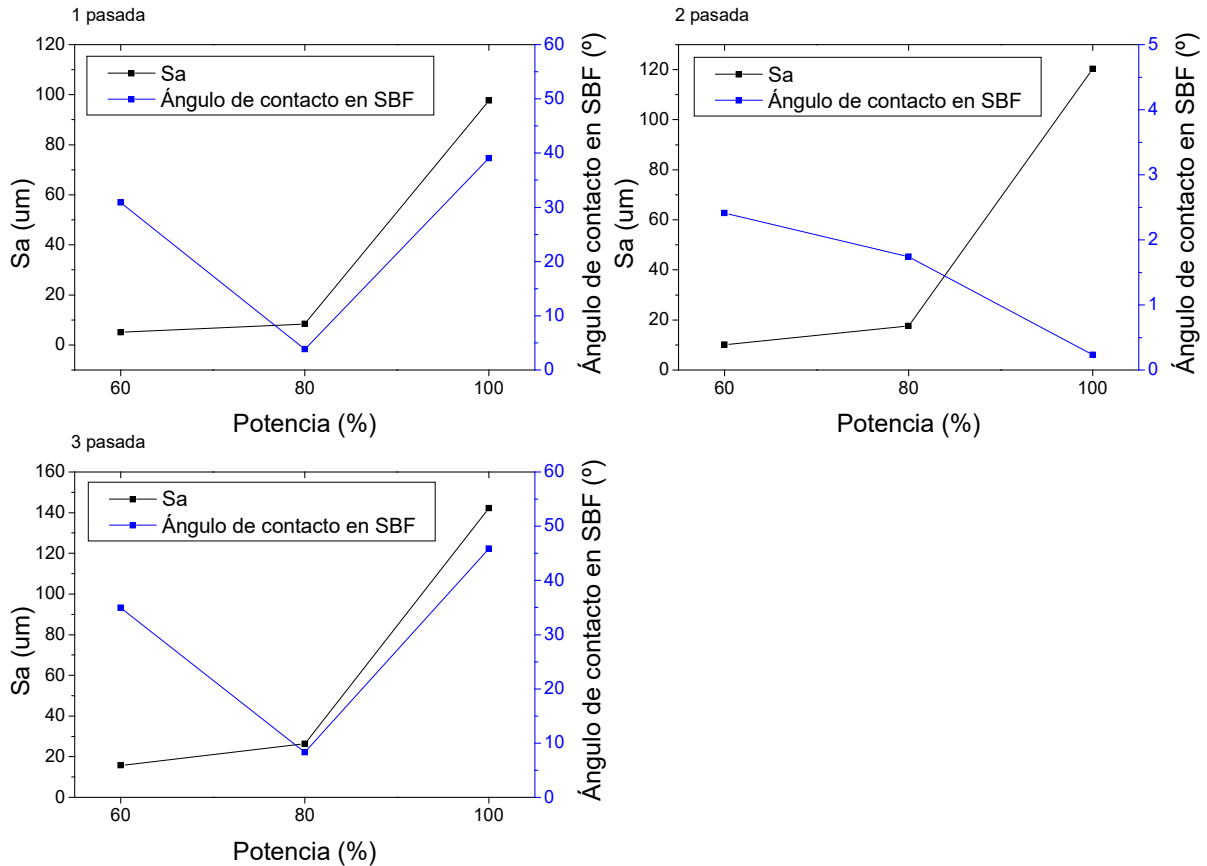


Figura 24. Efecto de la potencia sobre la rugosidad superficial y mojabilidad de las muestras texturizadas con diferentes pasadas (1, 2 y 3).

## 4.2.- Caracterización bioactiva de la superficie

La respuesta bioactiva de la superficie modificada fue evaluada por el ensayo *in vitro* propuesto por Kokubo y colaboradores en el 2006 y también por la Norma ISO 23317:2007. En la Tabla 6 se pueden apreciar los reactivos químicos que se emplearon según la fuente bibliográfica de la norma de bioactividad. Los reactivos fueron pesados según la cantidad establecida y mezclados en 1000mL de agua

destilada según el orden establecido. El pH fue monitoreado durante toda la preparación hasta alcanzar el valor de 7.40 a 36.5°C al final de la preparación.

Tabla 6. Reactivos empleados para preparar 1000mL de SBF.[54]

Orden	Reactivo	Cantidad	Contenedor	Pureza (%)
1	NaCl	8.035 g	Papel de pesaje	99.5
2	NaHCO <sub>3</sub>	0.355 g	Papel de pesaje	99.5
3	KCL	0.225 g	Botella de pesaje	99.5
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 3H <sub>2</sub> O	0.231 g	Botella de pesaje	99.0
5	MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.311 g	Botella de pesaje	98.0
6	1.0M-HCl	39 mL	Probeta	-
7	CaCl <sub>2</sub>	0.292 g	Botella de pesaje	95.0
8	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.072 g	Botella de pesaje	99.0
9	Tris	6.118 g	Papel de pesaje	99.0
10	1.0M-HCl	0-5 mL	Jeringa	-

En el caso de la solución de calcificación sobresaturada se puede apreciar en la Tabla 7 la composición en peso empleada para la otra prueba de bioactividad.

Tabla 7. Concentración de masa de sales en 1L de solución (SCS)

CaCl <sub>2</sub> (mg)	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (mg)	NaHCO <sub>3</sub> (mg)
555	600	126

#### 4.2.1.- Caracterización morfológica

Luego de haber realizado el ensayo de bioactividad para un tiempo de inmersión de 14 días en la solución de SBF se procedió a analizar la topografía y morfología de la capa de precipitados obtenida en la superficie. Los análisis por SEM por electrones secundarios (SE) arrojaron diferentes resultados del crecimiento y distribución de los precipitados. En la Figura 25 se puede apreciar una distribución del crecimiento de los precipitados de la supuesta capa de apatita. Tales precipitados tienen una distribución característica de crecimiento en forma dendrítica. Este tipo de crecimiento puede estar

asociado a la geometría nanoestructurada que se obtiene por el tratamiento de texturizado láser.

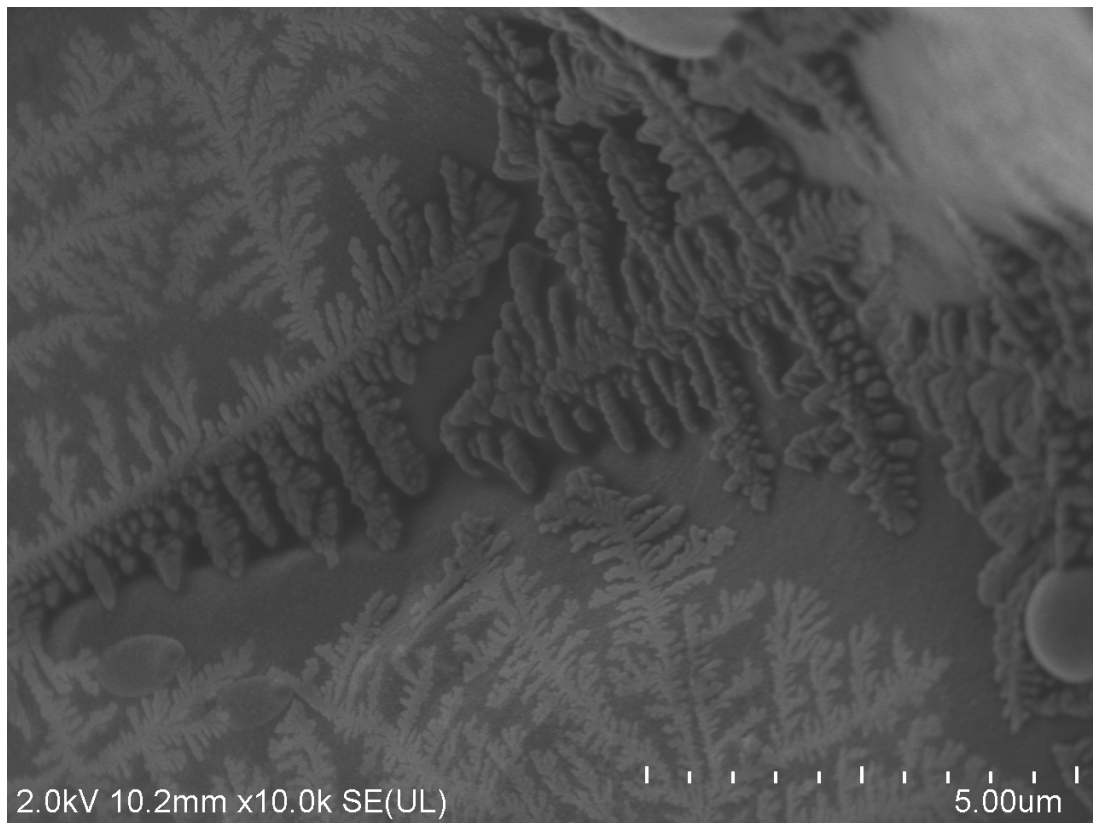


Figura 25. Micrografía de SEM de la variante 100-2 después de 14 días en SBF.

De las muestras sumergidas en la SCS se puede apreciar que existe una formación característica de Ca-P como se puede observar en la Figura 26 . Su morfología está caracterizada de barras o agujas que parten de un punto de nucleación como se aprecia las micrografías A, C y E de la Figura 26. Además, se aprecian otras formas como láminas con características de crecimiento similares al anterior pudiendo observarlas en las imágenes B, D y F de la Figura 26. Este tipo de crecimiento es muy usual en los fosfatos de calcio. En la mayoría de los casos la mayor región de crecimiento corresponde a las zonas porosas en la superficie texturizada. Esto evidencia la capacidad que puede tener esta topografía de inducir el crecimiento óseo al interior de sus poros.

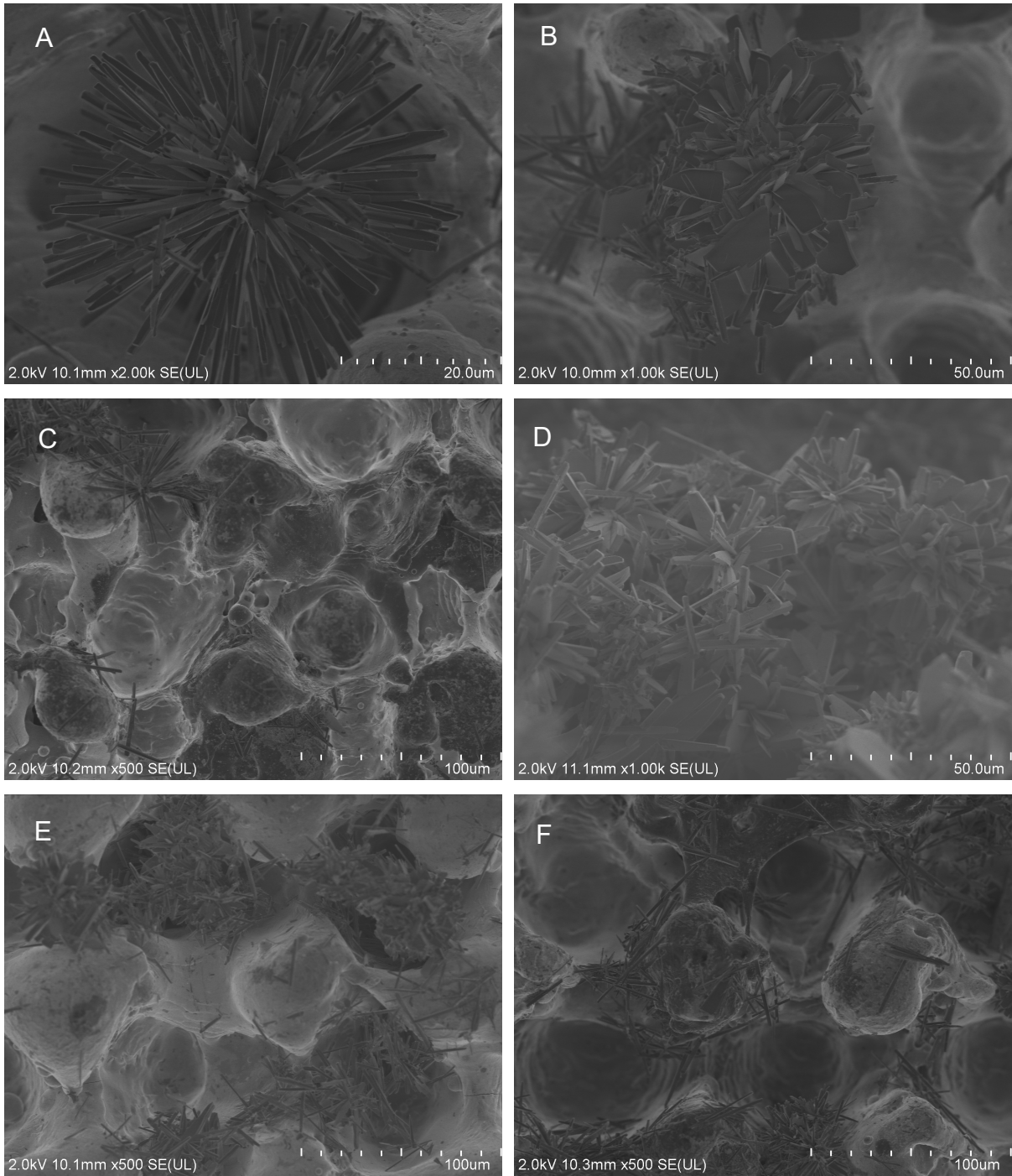


Figura 26. Micrográficas de SEM de las deposiciones después de 18 horas de inmersión en SCS, A-B 60-3, C-D 80-3 y E-F 100-3.

De acuerdo con las micrográficas obtenidas a altas magnificaciones se puede apreciar en la Figura 27 una capa depositada luego de la inmersión en SCS por 18 horas. Se pueden distinguir las zonas donde hay nucleación y propicia el crecimiento. Se puede

apreciar que para la variante 100-3 (B) hay mayor uniformidad en la deposición que en la variante 60-3 (A).

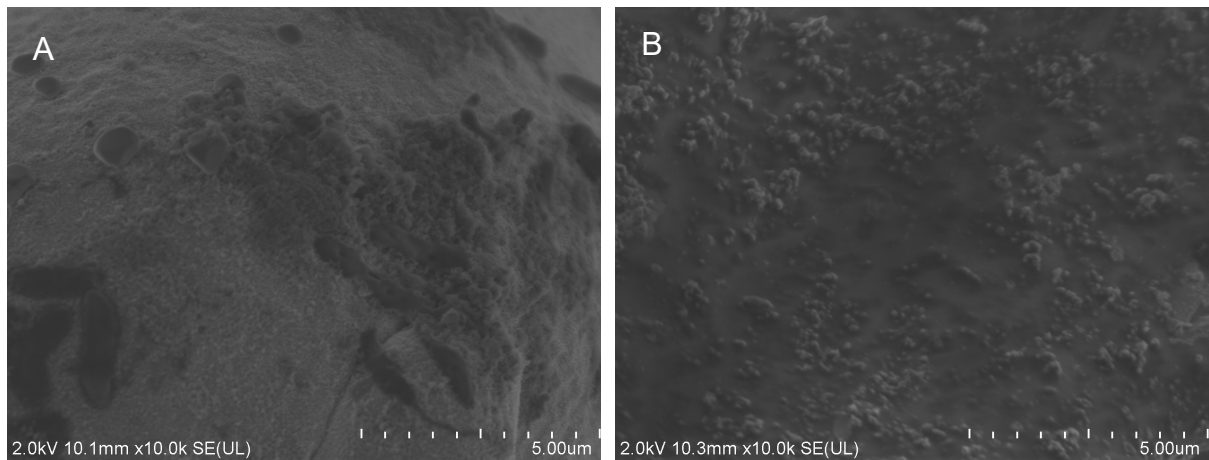


Figura 27. Micrografía de SEM después de 18 horas de inmersión en SCS, A 60-3 y B 100-3.

#### 4.2.2.- Caracterización química

Como bien fue especificado, la estructura cristalina del Ca-P depositado sobre la superficie texturizada producto al ensayo de bioactividad fue investigada mediante difracción de rayos X (DRX). La Figura 28 representa el espectro DRX de Ca-P depositado en las muestras texturizadas de Ti6Al4V, lo que indica que el Ca-P depositado es hidroxiapatita (HA), de acuerdo a la PDF 00-064-0738, coincidiendo los ángulos  $25.87^\circ$  y  $32.05^\circ$  con los índices de Miller (002) y (112) respectivamente, que a su vez corresponden con los picos de mayor intensidad de la carta de difracción. Como mineral, la HA es un fosfato complejo de calcio  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  que es el principal elemento estructural e inorgánico de los huesos humanos y animales.

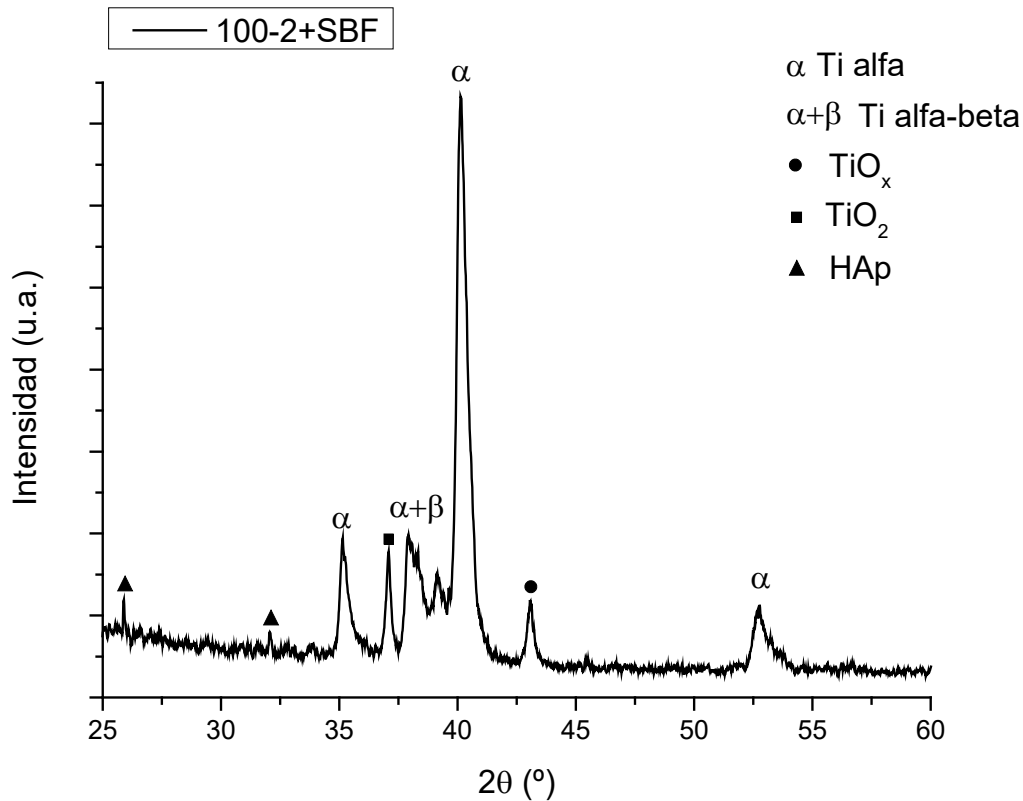


Figura 28. Patrón de difracción obtenido en la superficie de texturizada y sumergida en SBF por 14 días, correspondiente a la variante 100-2.

En el análisis químico por EDXS de las muestras sumergidas en SCS por 18 horas, se muestra una distribución de la composición elemental presente en la superficie de la muestra. Para una mayor apreciación de los resultados se realizó un mapeo de la superficie correspondiente a la variante 100-3, como se observa en la Figura 29. Se puede apreciar claramente según la distribución de colores asignado a cada elemento que las morfologías estudiadas anteriormente corresponden a la cerámica de fosfato de calcio. De esta forma se comprueba el posible crecimiento de HAp. De acuerdo con este análisis se pudo comprobar la capacidad bioactiva que presentan las variantes estudiadas, en un menor período de tiempo. Con el empleo de esta técnica se pudo constatar la formación de fosfato de calcio en la superficie, el cual podría influir en el crecimiento óseo, ya que se conocen como precursores de la formación de HAp.

Del sustrato metálico se observa la presencia de titanio y aluminio, mientras que el vanadio no fue detectado superficialmente.

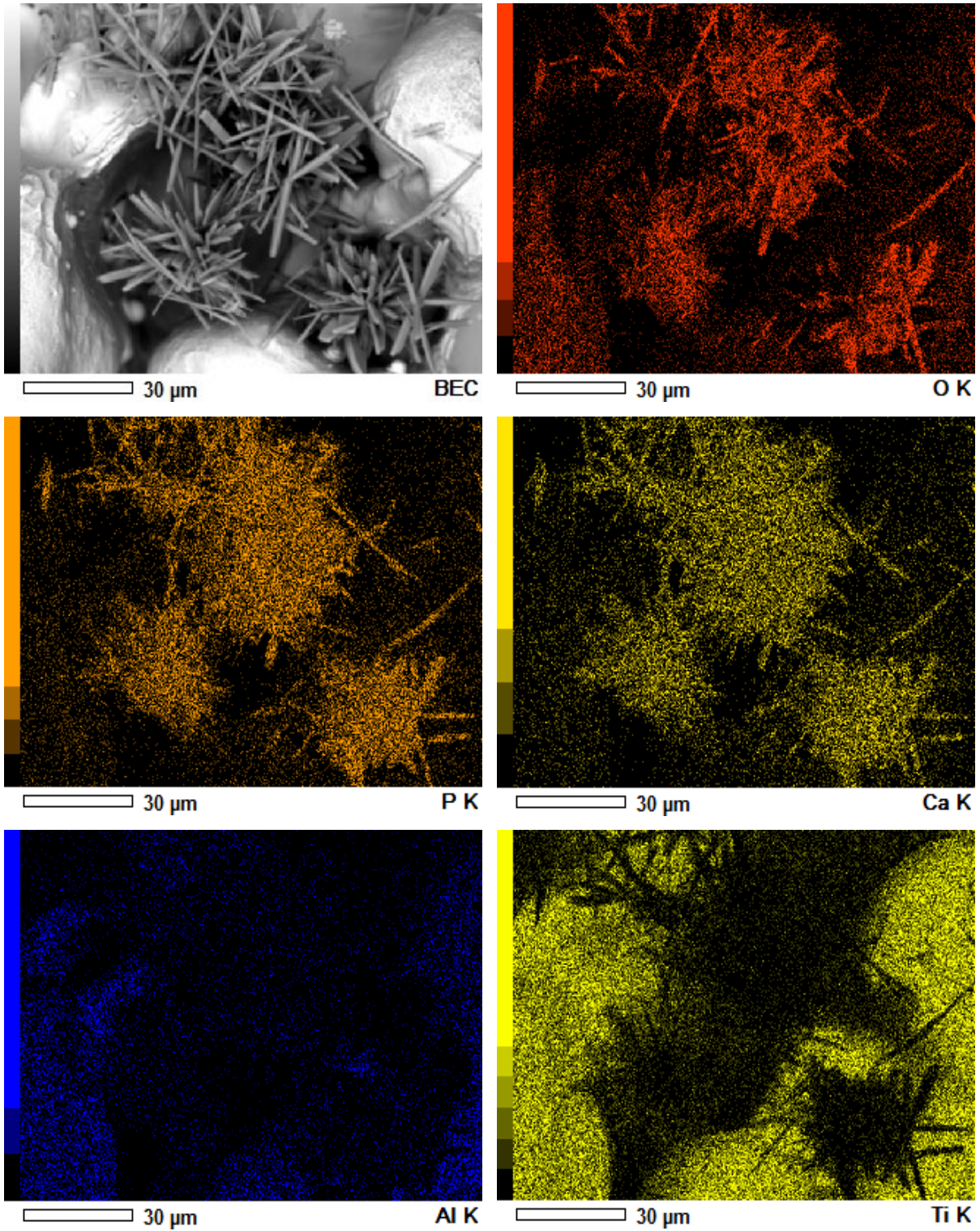


Figura 29. Mapeo de la superficie por EDXS de la variante 100-3.



## Capítulo 5

### Conclusiones y Recomendaciones

#### 5.1.- Conclusiones

- Con el proceso de texturizado láser se logró obtener micropatrones en la superficie modificada pudiendo comprobarlo por microscopía electrónica de barrido.
- El proceso de texturizado láser provocó un incremento de oxígeno en la superficie tratada, logrando obtener una capa de óxido de titanio (TiO<sub>2</sub>).
- El proceso de texturizado láser generó cambios en la rugosidad superficial, aumentando ésta a medida que aumenta la potencia y número de pasadas. Obteniendo rugosidades más bajas para 60% con 1 pasada y más altas para 100% con 3 pasadas.
- Todas las muestras texturizadas experimentaron un comportamiento hidrofílico. Sin embargo, las variantes de 2 pasadas con cualquier potencia, así como la de 80% con todas sus pasadas, presentaron un comportamiento super hidrofílico.
- La mejor respuesta bioactiva fue para las variantes de 100% con 2 pasadas. Evidenciando la gran relación que existe con la mojabilidad.
- Las nucleaciones y crecimientos de Ca-P tuvieron una distribución en forma dendrítica.
- El crecimiento de Hidroxiapatita sobre la superficie de la muestra texturizada comprobó la capacidad bioactiva del texturizado láser en la aleación Ti6Al4V.
- Las muestras inmersas en la solución de calcificación sobresaturada presentaron crecimientos de fosfato de calcio en la superficie texturizada, principalmente en las zonas porosas.

## 5.2.- Recomendaciones

- Realizar un análisis químico por difracción de rayos x por haz rasante en las muestras posterior al ensayo de bioactividad.
- Variar otros parámetros del láser como ancho de pulso, frecuencia y velocidad de escaneo, en aras de obtener un mejoramiento en las propiedades topográficas y morfológicas.
- Desarrollar una metodología de fabricación y obtención de probetas que presenten geometrías de implantes para así evaluar su comportamiento en condiciones más reales.
- Realizar pruebas de biocompatibilidad y citotoxicidad a las muestras texturizadas según normas y estándares de calidad.
- Desarrollar pruebas mecánicas como ensayos a fatiga para evaluar cuanto afecta o no la rugosidad superficial, así como las posibles microgrietas existentes de acuerdo al proceso.
- Realizar ensayos *in vivo* en animales para evaluar la capacidad de osteointegración.

## Referencias bibliográficas

1. Miranda, G., et al., *Surface design using laser technology for Ti6Al4V-hydroxyapatite implants*. Optics & Laser Technology, 2019. **109**: p. 488-495.
2. Biswas, S., et al., *Effect of ultrasonic vibration-assisted laser surface melting and texturing of Ti-6Al-4V ELI alloy on surface properties*. Journal of Materials Science & Technology, 2019. **35**(2): p. 295-302.
3. Kümme, D., et al., *Tribological behavior of nanosecond-laser surface textured Ti6Al4V*. Wear, 2019. **422-423**: p. 261-268.
4. Gittens, R.A., et al., *The roles of titanium surface micro/nanotopography and wettability on the differential response of human osteoblast lineage cells*. Acta Biomater, 2013. **9**(4): p. 6268-77.
5. Cunha, A., et al., *Wetting behaviour of femtosecond laser textured Ti-6Al-4V surfaces*. Applied Surface Science, 2013. **265**: p. 688-696.
6. Souza, J.C.M., et al., *Nano-scale modification of titanium implant surfaces to enhance osseointegration*. Acta Biomater, 2019. **94**: p. 112-131.
7. Faeda, R.S., et al., *Biological performance of chemical hydroxyapatite coating associated with implant surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibias*. J Oral Maxillofac Surg, 2009. **67**(8): p. 1706-15.
8. Kopf, B.S., et al., *The role of nanostructures and hydrophilicity in osseointegration: In-vitro protein-adsorption and blood-interaction studies*. J Biomed Mater Res A, 2015. **103**(8): p. 2661-72.
9. Moura, C.G., et al., *Effect of laser surface texturing on primary stability and surface properties of zirconia implants*. Ceramics International, 2017. **43**(17): p. 15227-15236.
10. Tiainen, L., et al., *Novel laser surface texturing for improved primary stability of titanium implants*. J Mech Behav Biomed Mater, 2019. **98**: p. 26-39.
11. Wang, Y., et al., *Nanosecond laser texturing with hexagonal honeycomb micro-structure on Titanium for improved wettability and optical properties*. Optik, 2019. **192**: p. 162953.
12. Albrektsson, T., et al., *Edentulousness—an oral handicap. Patient reactions to treatment with jawbone-anchored prostheses*. Journal of Oral Rehabilitation, 1987. **14**(6): p. 503-511.
13. Puleo, D. and A. Nanci, *Understanding and controlling the bone-implant interface*. Biomaterials, 1999. **20**(23-24): p. 2311-2321.
14. Ratner, B.D., et al., *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. 2004: Elsevier.
15. Nguyen, A.T., S.R. Sathe, and E.K. Yim, *From nano to micro: topographical scale and its impact on cell adhesion, morphology and contact guidance*. J Phys Condens Matter, 2016. **28**(18): p. 183001.
16. Lauria, I., et al., *Influence of nanoporous titanium niobium alloy surfaces produced via hydrogen peroxide oxidative etching on the osteogenic differentiation of human mesenchymal stromal cells*. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2019. **98**: p. 635-648.

17. Camarillo Castro, V., *Estudio in vivo de oseointegración en implantes dentales de Ti-6Al-4V con superficies modificadas*. 2013, Universidad Autónoma de Nuevo León.
18. Dobrzański, L., et al., *Selective laser sintering and melting of pristine titanium and titanium Ti6Al4V alloy powders and selection of chemical environment for etching of such materials*. Archives of Metallurgy and Materials, 2015. **60**(3A): p. 2040--2045.
19. Vera, M.L., et al., *Preparación y caracterización de recubrimientos de dióxido de titanio obtenidos por oxidación anódica de la aleación Ti-6Al-4V: primeros resultados*. 2008.
20. Rendón, M.E., et al., *Materiales y técnicas utilizadas en recubrimientos bioactivos para mejorar procesos de oseointegración*. Revista politécnica, 2012. **8**(15): p. 75-87.
21. Longuet, A., et al., *A multiphase mechanical model for Ti-6Al-4V: Application to the modeling of laser assisted processing*. Computational Materials Science, 2009. **46**(3): p. 761-766.
22. Armendia, M., et al., *Análisis de la influencia del tratamiento térmico en la maquinabilidad de aleaciones de titanio*. Advanced Manufacturing Research Centre with Boeing, 2010.
23. Carlos, R.R., et al., *CARACTERIZACIÓN MECÁNICA DE ESPUMA DE TITANIO (Ti-6Al-4V) MEDIANTE PAQUETERÍA DE ELEMENTO FINITO*. 2013.
24. Zakaria, M.Y., et al., *Incorporation of wollastonite bioactive ceramic with titanium for medical applications: An overview*. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2019. **97**: p. 884-895.
25. Kurella, A. and N.B. Dahotre, *Review paper: surface modification for bioimplants: the role of laser surface engineering*. J Biomater Appl, 2005. **20**(1): p. 5-50.
26. Torres, Y., et al., *Processing, characterization and biological testing of porous titanium obtained by space-holder technique*. Journal of Materials Science, 2012. **47**(18): p. 6565-6576.
27. Amigó, V., C. Tojal, and J.A. Calero, *Fabricación y caracterización de aleaciones porosas de Ti y Ti6Al4V producidas mediante sinterización con espaciador*. Revista de Metalurgia, 2013. **49**(1): p. 20-30.
28. Goharian, A., *Osseointegration of Orthopaedic Implants*. 2019: Academic Press.
29. Branemark, R., et al., *Osseointegration in skeletal reconstruction and rehabilitation: a review*. Journal of rehabilitation research and development, 2001. **38**(2): p. 175-182.
30. Birkhold, A.I., et al., *The influence of age on adaptive bone formation and bone resorption*. Biomaterials, 2014. **35**(34): p. 9290-301.
31. Ibris, N. and J.C.M. Rosca, *EIS study of Ti and its alloys in biological media*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2002. **526**(1-2): p. 53-62.
32. Hanawa, T., *A comprehensive review of techniques for biofunctionalization of titanium*. Journal of periodontal & implant science, 2011. **41**(6): p. 263-272.
33. Apaza-Bedoya, K., et al., *Synergistic interactions between corrosion and wear at titanium-based dental implant connections: A scoping review*. Journal of Periodontal Research, 2017. **52**(6): p. 946-954.

34. Souza, J.C., et al., *Wear and corrosion interactions on titanium in oral environment: literature review*. Journal of Bio-and Tribo-Corrosion, 2015. **1**(2): p. 13.
35. Souza, J., et al., *Simultaneous degradation by corrosion and wear of titanium in artificial saliva containing fluorides*. Wear, 2012. **292**: p. 82-88.
36. Zhang, Y., et al., *Fabrication of porous micro-nanostructured networks on Ti6Al4V for faster hydroxyapatite deposition in SBF*. Materials Letters, 2019. **256**: p. 126571.
37. Albrektsson, T. and C. Johansson, *Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration*. European spine journal, 2001. **10**(2): p. S96-S101.
38. Davies, J.E., *Understanding peri-implant endosseous healing*. Journal of dental education, 2003. **67**(8): p. 932-949.
39. Albrektsson, T. and A. Wennerberg, *Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them*. International Journal of Prosthodontics, 2004. **17**(5).
40. Mukherjee, S., S. Dhara, and P. Saha, *Enhancing the biocompatibility of Ti6Al4V implants by laser surface microtexturing: an in vitro study*. The International Journal of Advanced Manufacturing Technology, 2015. **76**(1-4): p. 5-15.
41. Zhang, E.W., et al. *Enhanced bioactivity of sandblasted and acid-etched titanium surfaces*. in *Advanced Materials Research*. 2009. Trans Tech Publ.
42. Maressa, P., et al., *Effect of Surface Texture on the Adhesion Performance of Laser Treated Ti6Al4V Alloy*. The Journal of Adhesion, 2014. **91**(7): p. 518-537.
43. Pou, P., et al., *Laser surface texturing of Titanium for bioengineering applications*. Procedia Manufacturing, 2017. **13**: p. 694-701.
44. Menci, G., et al., *Laser surface texturing of  $\beta$ -Ti alloy for orthopaedics: Effect of different wavelengths and pulse durations*. Applied Surface Science, 2019. **489**: p. 175-186.
45. Moura, C.G., et al., *Laser surface texturing of Ti-6Al-4V by nanosecond laser: Surface characterization, Ti-oxide layer analysis and its electrical insulation performance*. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2019. **104**: p. 109901.
46. Ramli, M.I., et al., *Effect of sintering on the microstructure and mechanical properties of alloy titanium-wollastonite composite fabricated by powder injection moulding process*. Ceramics International, 2019. **45**(9): p. 11648-11653.
47. Shan, H., et al., *Study on adhesion resistance behavior of sample with striated non-smooth surface by laser processing technique*. Journal of Materials Processing Technology, 2008. **199**(1-3): p. 221-229.
48. Petó, G., et al., *Surface treatment of screw shaped titanium dental implants by high intensity laser pulses*. Applied Surface Science, 2002. **186**(1-4): p. 7-13.
49. Hao, L., J. Lawrence, and L. Li, *Manipulation of the osteoblast response to a Ti-6Al-4V titanium alloy using a high power diode laser*. Applied Surface Science, 2005. **247**(1-4): p. 602-606.
50. Kokubo, T., *Bioceramics and their clinical applications*. 2008: Elsevier.
51. Sugita, Y., et al., *Effects of pico-to-nanometer-thin TiO<sub>2</sub> coating on the biological properties of microroughened titanium*. Biomaterials, 2011. **32**(33): p. 8374-8384.

52. Wu, S., et al., *A biomimetic hierarchical scaffold: natural growth of nanotitanates on three-dimensional microporous Ti-based metals*. Nano Letters, 2008. **8**(11): p. 3803-3808.
53. Jiang, P., J. Liang, and C. Lin, *Construction of micro–nano network structure on titanium surface for improving bioactivity*. Applied surface science, 2013. **280**: p. 373-380.
54. Kokubo, T. and H. Takadama, *How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?* Biomaterials, 2006. **27**(15): p. 2907-2915.
55. Li, F., et al., *A simple biomimetic method for calcium phosphate coating*. Surface and Coatings Technology, 2002. **154**(1): p. 88-93.
56. Catchpole-Smith, S., et al., *Fractal scan strategies for selective laser melting of 'unweldable' nickel superalloys*. Additive Manufacturing, 2017. **15**: p. 113-122.