

Capítulo 1

Introducción

Hoy en día, las enfermedades relacionadas con el sistema músculo-esquelético representan la causa más común de incapacidad física y afectan a cientos de millones de personas en todo el mundo. Algunos ejemplos que reflejan la importancia de este problema son (1):

- Los problemas articulares representan más de la mitad de las afecciones crónicas en personas de más de 65 años.
- Los problemas de espalda son la segunda causa de bajas laborales por enfermedad.
- El número de fracturas relacionadas con osteoporosis se ha duplicado en la última década. Se estima que 40% del total de mujeres con más de 50 años de edad sufrirá alguna fractura osteoporótica. Se estima que el número de fracturas de cadera aumentará de aproximadamente 1.7 millones en el año 1990 a 6.3 millones en el año 2050.
- Las lesiones causadas por accidentes de tráfico y por la guerra producen una elevada demanda de dispositivos para la regeneración y reparación ósea. De hecho, las lesiones por accidentes de tráfico están aumentando rápidamente y se calcula que para el año 2010 representarán un 25% de los gastos del sector salud en los países desarrollados.
- Existen algunas deformidades y enfermedades relacionadas con el sistema músculo-esquelético que dejan lisiados a muchos niños y les privan de un desarrollo normal.

Además, se estima que el número de personas mayores de 50 años se duplicará entre los años 1990 y 2020. En Europa, en el año 2010, habrán por primera vez más personas mayores de 60 años que menores de 20. Por lo tanto, las patologías y traumatismos relacionados con el hueso son un tema de gran impacto en la sociedad.

Los problemas antes mencionados plantean la necesidad de desarrollar diferentes sistemas para la regeneración y reparación de defectos óseos. Dentro de este contexto, la medicina regenerativa juega un papel fundamental en el desarrollo de nuevos materiales para la elaboración de implantes y para la regeneración de tejidos.

La presente Tesis Doctoral es una aportación más en el desarrollo de estos nuevos materiales y sistemas que buscan dar solución a los numerosos problemas del sistema esquelético. En este capítulo se introducen los conceptos y el marco teórico que servirán de base para un mejor entendimiento de los estudios presentados a lo largo de la Tesis.

1.1. EL HUESO

El hueso es un tejido vivo compuesto por minerales, proteínas, agua, células y otras macromoléculas. Aunque las propiedades del hueso varían punto a punto y la proporción de las diversas sustancias varía de acuerdo a las diferentes partes del esqueleto, edad del individuo o presencia de alguna enfermedad, el tejido óseo contiene en forma general dos tercios de sustancias inorgánicas y un tercio de sustancias orgánicas. La fase inorgánica o mineral representa entre un 60 y un 70% en peso del tejido óseo, contiene además entre un 5 y un 8% de agua y el resto está constituido por la matriz orgánica la cual está compuesta en un 90% por colágeno y un 5-8% por otras proteínas (2).

Según la localización del hueso dentro del esqueleto y el grado de madurez del mismo, la proporción y distribución de las fibras y fase mineral dentro de la matriz varía, difiriendo en la forma del arreglo de las fibras, en el tamaño y en la densidad. Debido a esto, el tejido óseo puede dividirse en varios tipos dependiendo del grado de madurez y de la estructura macroscópica del mismo (ver Figura 1.1).

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

de colágeno estén desorientadas le confiere a este tipo de hueso isotropía con respecto a las características mecánicas del tejido.

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

Según la estructura macroscópica del tejido, existen dos tipos de hueso, el esponjoso o trabecular y el compacto o cortical. El hueso esponjoso, como su nombre lo indica, se asemeja a una esponja, con una porosidad interconectada de entre un 50 y un 90%. Este tipo de hueso se encuentra principalmente en la epífisis, es decir, en los extremos de los huesos largos, pero también se encuentra en huesos cuboides como las vértebras.

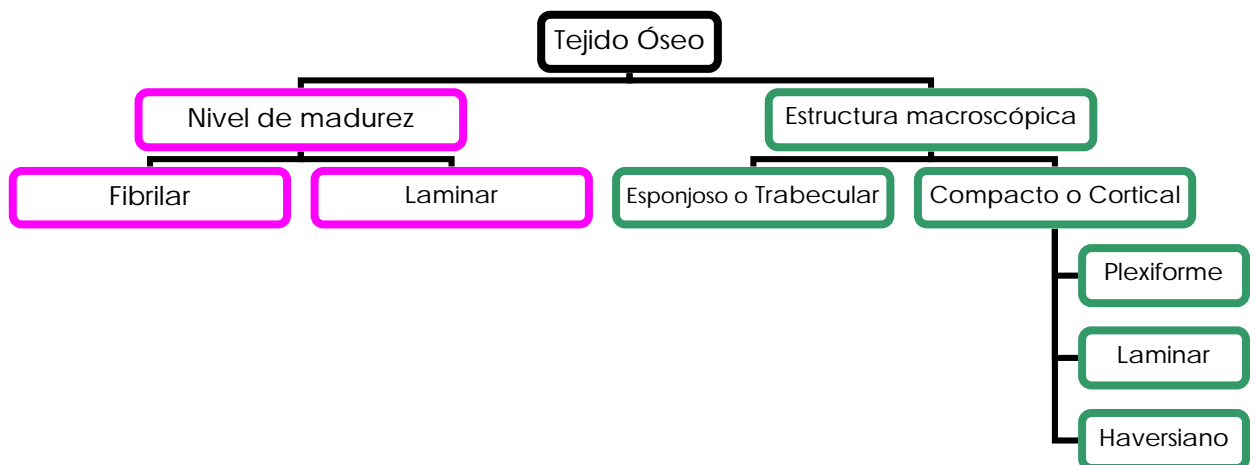


Figura 1. 1. Esquema de los tipos de tejido óseo.

El hueso cortical se encuentra en la parte superficial de los huesos y es homogéneo macroscópicamente. Su grosor varía de acuerdo al segmento de la diáfisis o zona entre los extremos del hueso y según su localización en el esqueleto. Este tipo de hueso es el

que soporta las diferentes cargas, y fuerzas de torsión y compresión que recaen sobre el hueso. Desde el punto de vista microscópico, el hueso cortical se divide en tres tipos: laminar, plexiforme y haversiano.

El hueso plexiforme está constituido por diferentes capas de hueso laminar y de hueso fibrilar, donde se encuentran localizados los canales vascularizados en su mayoría.

El hueso haversiano es el más complejo de los tipos de hueso cortical. Está compuesto por canales vascularizados que están rodeados de forma circunferencial por hueso laminar. Este complejo arreglo de hueso alrededor de un canal es conocido como osteona. Las osteonas se encuentran normalmente orientadas a lo largo del eje longitudinal del hueso y representan la principal unidad estructural del hueso cortical. El canal central de la osteona es llamado canal haversiano y contiene células, vasos y ocasionalmente nervios y los llamados canales de Volkmann (Figura 1.2) que son los canales que interconectan a las osteonas.

Como ya hemos dicho anteriormente, el hueso es un material compuesto formado por una fase inorgánica y una fase orgánica. La fase mineral o inorgánica es la fase mayoritaria y está compuesta principalmente por un fosfato de calcio análogo a la hidroxiapatita cristalina. Esta apatita está presente como pequeños cristales en forma de láminas, de 20 a 80 nm de longitud y 2 a 5 nm de espesor. Las diferentes modificaciones que pueda tener la hidroxiapatita, es decir, las sustituciones de los grupos fosfato o hidroxilo por grupos carbonato, o las sustituciones de los grupos hidroxilo por fluoruros o cloruros, así como las sustituciones de los iones Ca^{2+} por otros cationes como Na^+ , K^+ y Mg^{2+} , pueden alterar algunas propiedades físicas de los cristales como por ejemplo su solubilidad.

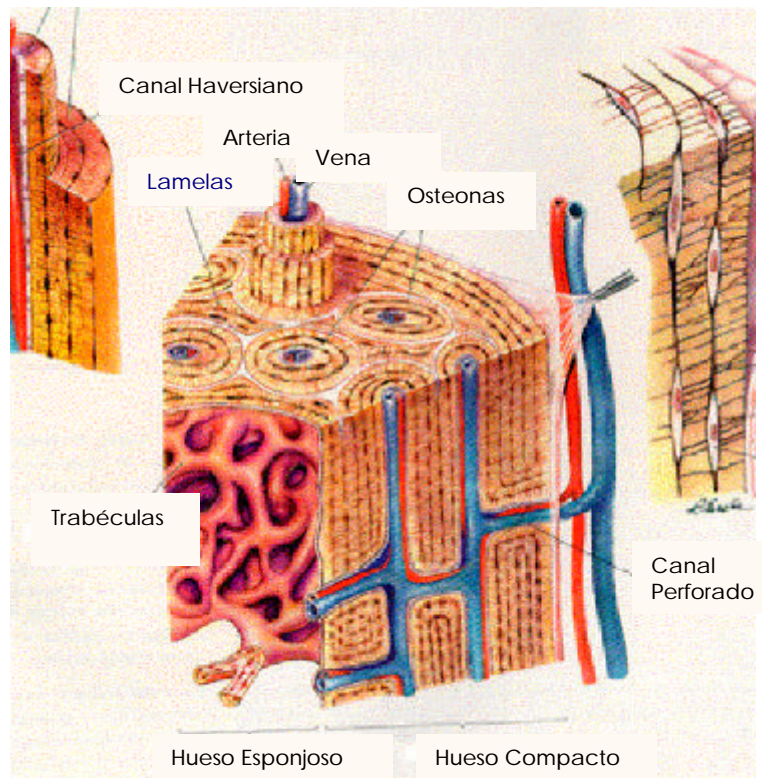


Figura 1. 2. Esquema de las partes constitutivas de un hueso [Adaptado de (3)].

La fase orgánica de la matriz extracelular del hueso determina la estructura y las propiedades mecánicas y bioquímicas de éste. Aproximadamente el 90% de la fase orgánica está formada por colágeno tipo I y el 10% restante está formado por proteínas no-colagénicas, otros tipos de colágeno, lípidos y otras macromoléculas. Las proteínas no-colagénicas como los factores de crecimiento y citoquinas, proteínas osteoinductivas, osteonectina, osteopontina, osteocalcina, sialoproteína, los proteoglicanos y otras fosfoproteínas y fosfolípidos, representan una pequeña cantidad en cuanto al volumen total del hueso pero contribuyen enormemente a las funciones biológicas de éste.

El colágeno es una proteína de muy baja solubilidad y es el componente estructural principal de la matriz ósea. Algunas de las principales proteínas y otros factores que contribuyen en el metabolismo óseo se describen en la Tabla 1.1.

El hueso es un tejido conectivo muy específico y se desarrolla mediante un proceso llamado osteogénesis. Durante la formación del hueso, ciertas células denominadas osteoblastos segregan sustancias que forman estructuras que inicialmente son amorfas, conocidas como tejido osteoide, que posteriormente se convierten en densas y fibrosas. Los cristales de fosfato de calcio son depositados en el tejido osteoide, cambiando así la matriz ósea. Los osteoblastos tienden a ser atrapados por las estructuras antes mencionadas y al endurecerse se transforman en osteocitos, dando lugar a la

osteogénesis. La secreción de los osteoblastos no se convierte totalmente en fibras, sino que también hay una especie de cemento entre las fibras. Ambos, cemento y fibras, se combinan con los cristales de fosfato de calcio y los osteoides, formándose así el hueso.

Tabla 1.1

Proteínas y factores que regulan el metabolismo celular óseo (2).

Proteína/Factor	Función
Osteopontina	Unión celular, regulación de la mineralización
Sialoproteína	Unión celular, iniciación de la mineralización
Osteonectina	Unión al Ca, interacción fase mineral-colágeno, regulación de la forma de la célula, regulación de la migración celular
Tetranectina	Regulación de la deposición mineral
Trombospondina	Modulación del metabolismo celular, unión al colágeno
Osteocalcina	Regulación de la maduración mineral
Fibromodulina	Interactúa con el colágeno de tipo I y II, unión a factores de crecimiento
Osteoglicanos	Unión a TGF- β
Trombomodulina	Interactúa con el colágeno de tipo I y II, unión a factores de crecimiento
Fibrilina	Anclaje de fibras de elastina
Vitronectina	Adhesión
Tenacina	Diferenciación temprana de la mesenquima
Fibronectina	Interacciones matriz-célula
Prostaglandina	Reabsorción
TGF- α y β	Diferenciación y síntesis de proteínas
BMP 2-7	Diferenciación y Maduración
Calcitonina	Formación y reabsorción
Vitamina A	Diferenciación
Vitamina D	Diferenciación, reabsorción, síntesis de proteínas

El tejido óseo está bastante vascularizado. Un hueso largo recibe sangre de las arterias que lo nutren y de otros vasos. Dentro del hueso la sangre fluye desde lo más profundo hacia las capas superficiales. La médula ósea es el medio de cultivo de las células precursoras de las diferentes células óseas. El flujo venoso es el vehículo de la

información bioquímica para los precursores dentro de la médula, mientras que el flujo arterial es el vehículo que transporta las células nuevas donde sean necesarias.

1.1.1. Fisiología del hueso

Las propiedades físicas y físico-químicas de las sustancias orgánicas e inorgánicas que forman el hueso, juegan un rol considerable en su funcionamiento. Sin embargo, su distribución y arreglos estructurales están en continua evolución y sujetos a ser reestructurados por las células que conforman el tejido óseo. Los principales tipos de células que conforman el tejido óseo son los osteoblastos, osteocitos y osteoclastos, de los cuales se hablará con más detalle a continuación.

Osteoblastos

Los osteoblastos son las células responsables de la formación de tejido óseo. Un osteoblasto se define como una célula capaz de producir osteoide o matriz ósea. Este tipo de células produce colágeno de tipo I, osteocalcina y sialoproteína, además de proteínas constitutivas de la matriz extracelular ósea. Los osteoblastos son sensibles a las hormonas paratiroideas (PTH).

Los osteoblastos se caracterizan por ser células polarizadas, es decir, su núcleo se encuentra en el extremo de la célula. Su alta capacidad de síntesis protéica se observa por la presencia de un retículo endoplasmático bien desarrollado, uniforme y granular lo cual es común en aquellas células que sintetizan proteínas para su exportación.

Otro de los rasgos que caracterizan a los osteoblastos es la considerable actividad de la fosfatasa que en ellos se encuentra, tanto la ácida como la alcalina. Estudios histoquímicos han demostrado que la fosfatasa alcalina está distribuida sobre la superficie externa de la membrana celular.

La morfología de un osteoblasto está sujeta a variaciones, dependiendo de su estado funcional. Por ejemplo, en áreas donde está presente un cuerpo extraño, la superficie del hueso está limitada por células achatadas, las cuales corresponden quizás a osteoblastos inactivos (4).

Los osteoblastos están localizados particularmente en el periosteo, una membrana que envuelve la parte externa de los huesos medianos y grandes (excepto en zonas particulares) y en la membrana endosteal, la cual se desarrolla sobre la pared interna del canal medular.

Osteocitos

Los osteoblastos rodeados por osteoide (matriz ósea demineralizada), una vez que han alcanzado el final de su actividad y la matriz ósea se mineraliza, se convierten en

osteocitos. Estas células se caracterizan por tener una relación núcleo/citoplasma mucho mayor que los osteoblastos, es decir, contienen menos orgánulos que los osteoblastos.

Los osteocitos representan la población de células vivientes estables y tienen la tarea de mantener al hueso como un tejido vivo. Están orientados uniformemente con respecto a los ejes longitudinal y radial de las laminillas que lo conforman. Son alimentados por vía linfática con los líquidos fisiológicos presentes dentro del hueso y establecen la comunicación entre los osteocitos adyacentes y los canales centrales de osteonas por medio de uniones comunicantes.

Una de las funciones más importantes de los osteocitos es mantener constante el equilibrio entre la fracción mineral y la orgánica. Se supone que los osteocitos favorecen, por medio de sus canales, el cambio de materiales entre fluidos, tejidos y la matriz del hueso, para que esta última se mantenga viva y tenga cierta consistencia en su parte mineral.

Osteoclastos

Son los principales causantes de la reabsorción ósea. Se caracterizan por ser células de gran tamaño (20 a 100 μm de diámetro) y su multiplicidad de núcleos. Los osteoclastos se derivan de células pluripotenciales de la médula ósea, las cuales son precursoras hematopoyéticas que también dan origen a los monocitos y macrófagos.

La capacidad de reabsorción ósea y la expresión de ciertos marcadores superficiales celulares, así como la actividad de la fosfatasa alcalina que presentan los osteoclastos, son las principales características que los diferencian de los macrófagos.

Los osteoclastos se encuentran en regiones de reabsorción ósea llamadas lagunas de Howship. Estas células se unen a la superficie del hueso mediante proteínas encargadas de la unión celular llamadas integrinas. Aislan una zona del hueso a la cual se han unido y bajan el pH localmente mediante la producción de protones a través del sistema de anhidrasa carbónica. El bajo pH incrementa la solubilidad de los cristales de hidroxiapatita, y una vez que la fase mineral ha sido eliminada, los componentes orgánicos de la matriz son hidrolizados por medio de la digestión de ácidos proteolíticos.

1.1.2. Propiedades Mecánicas del Hueso

El hueso constituye el primer elemento estructural del cuerpo humano; sirve de protección a los órganos vitales internos, además de servir como un almacén para los recursos minerales del organismo. El sistema esquelético soporta cargas de diferentes

tipos debido a las diversas actividades de un individuo, tanto compresivas como de tracción o de cizalladura (5).

Las propiedades elásticas del hueso cortical humano aplicando la carga en el plano transversal al eje longitudinal son aproximadamente isotrópicas, y a su vez son substancialmente diferentes a aquellas obtenidas al aplicar cargas en la dirección longitudinal, la cual es paralela al eje de las osteonas (a lo largo del eje longitudinal de la diáfisis). Por lo tanto, el hueso cortical humano es considerado como un material ortotrópico (6).

En el caso de la resistencia mecánica del hueso, ésta depende también de la dirección en la cual es cargado el hueso. Al igual que en el caso anterior, se considera como un material ortotrópico. La resistencia mecánica depende también de si el hueso es cargado a flexión, compresión o tracción.

Por todo esto, no es posible especificar la resistencia o las propiedades elásticas del hueso cortical con un único valor. Las propiedades mecánicas del hueso cortical ensayado a tracción y a compresión en la dirección transversal y longitudinal, así como la resistencia a la cizalladura se presentan en la Tabla 1.2 (5;7). Los valores mostrados en ella son sólo indicativos del orden de magnitud de cada propiedad, dependiendo mucho cada una de las condiciones de ensayo, y pudiendo variar en cada dirección del espacio, según el tipo de simetría presente.

Además de la anisotropía del hueso ya mencionada, el hueso presenta un comportamiento viscoelástico, ya que sus propiedades mecánicas son sensibles tanto a la velocidad de deformación como al tiempo de aplicación de la carga.

Tabla 1.2

Propiedades mecánicas del hueso (5;7)			
Longitudinal		Transversal	
Resistencia a tracción (MPa)	78,8-151	Resistencia a tracción (MPa)	51-56
Resistencia a compresión (MPa)	131-224	Resistencia a compresión (MPa)	106-133
Módulo de Young (GPa)	17-20	Módulo de Young (GPa)	6-13
Resistencia a cizalladura (MPa)		53,1-70	
Módulo a cizalladura (GPa)		3,3	

Las propiedades del hueso trabecular no han sido estudiadas con la profundidad con la que lo han sido las del hueso cortical. Las propiedades de este tipo de hueso dependen altamente de la densidad del mismo (8). Aunque el rango de variación es muy amplio, se ha visto que los valores referentes al módulo elástico se encuentran entre los 50 y 100 MPa, mientras que los valores relativos a la resistencia a la compresión están entre 5 y 10 MPa.

1.2. MECANISMOS BIOLÓGICOS DE REGENERACIÓN ÓSEA

La regeneración de defectos en el tejido óseo está influenciada por diferentes factores entre los cuales se pueden mencionar el tipo de hueso, es decir, si se trata de hueso cortical o trabecular, el lugar y el grado de severidad de la fractura o defecto, el grado de fijación durante el período de curación, la especie y la edad del individuo. A continuación se describen las diferentes etapas que tienen lugar durante la consolidación de los diferentes defectos óseos.

La primera etapa se conoce como *hemostasis* y se refiere a la hemorragia debida a la ruptura del hueso causada por la fractura, o por algún procedimiento de implantación, la cual resulta en la formación de un coágulo de sangre o hematoma, que conlleva a la formación de un coágulo de fibrina y permanece usualmente por pocos días pero en algunos casos puede prolongar su presencia hasta dos semanas (9).

Además de la formación del coágulo de sangre, existen otros mecanismos que tienen lugar durante la etapa de la hemostasis. Inicialmente, se lleva a cabo la vasoconstricción transitoria en los extremos de los vasos sanguíneos que han sido dañados durante el trauma, limitando la cantidad de sangre que entra en el tejido dañado. A continuación se da la retracción del coágulo, la cual condensa el tapón hemostático y reduce el lugar de la herida. Esta retracción es causada por las fuerzas de tracción generadas por las plaquetas activadas, lo cual resulta en la condensación de las fibras de fibrina en el coágulo (10).

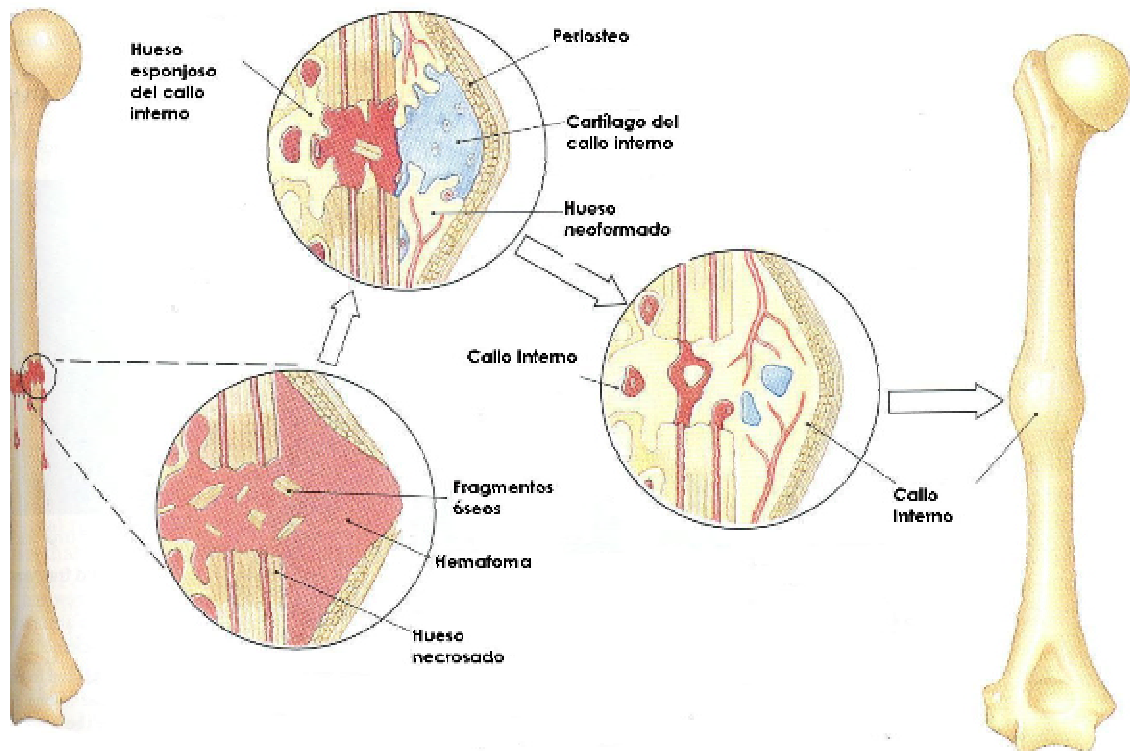


Figura 1. 3. Esquema representativo del mecanismo de restauración del hueso [Adaptado de (3)].

Estos primeros eventos son de gran importancia en el proceso de reparación ósea en presencia de un biomaterial, principalmente por tres razones:

- (a) En primer lugar, se debe considerar que los primeros componentes biológicos que interactúan con el material implantado son las proteínas y macromoléculas, antes que las células. Las células acudirán posteriormente e interactuarán con las proteínas adheridas al implante.
- (b) En segundo lugar, se ha visto que la liberación de citoquinas y factores de crecimiento provenientes de las plaquetas que conforman el hematoma, tienen un efecto estimulante en la regeneración de fracturas (11). De hecho, los factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF) han demostrado ser mitogénicos para las células óseas (12) y los factores de transformación de crecimiento β (TGF- β) han demostrado estar presentes en el trombo formado por la fractura y promueven la formación de colágeno tipo I en las células óseas (13).
- (c) En tercer lugar, en caso de haber implantado un material, se ha visto que la rugosidad del substrato influye sobre el número y grado de activación de las plaquetas (14) y que la topografía de la superficie del substrato influye sobre la aglomeración de los glóbulos rojos.

Como consecuencia de la hemostasis, la circulación se revierte hacia aquellos vasos que no hayan sido estropeados y se anastomosan con partes de vasos intactos. Esto ocurre a través de los canales de Volkman (15;16). Al cesar la circulación hay una falta de oxígeno y se da la necrosis del tejido circundante. La necrosis es un fenómeno bastante complejo, que involucra una serie de señales (químicas, mitogénicas, etc.) que conllevan a la destrucción del coágulo por medio de leucocitos. Inicialmente son los neutrófilos los más numerosos y luego se unen los macrófagos. Ambos tipos de células llevan a cabo la destrucción del coágulo sanguíneo y del tejido necrosado a través de mecanismos de fagocitosis intracelulares y extracelulares.

El proceso de hemostasis es seguido por la *formación de un tejido granulado*. Esta etapa típicamente dura aproximadamente unas 3 semanas (17). A medida que los macrófagos se aproximan al centro de la herida (ya sea fractura o lugar de implantación), el sistema de vascularización en desarrollo actúa como drenaje para los metabolitos y productos de degradación. La demanda de O₂ se incrementa dentro del coágulo, donde aún no se ha establecido la vascularización suficiente, y esto resulta en un incremento local de la concentración de lactato. El aumento de la concentración de lactato, junto con los ácidos y enzimas lisosomales liberadas durante la destrucción del tejido necrosado, disminuyen notablemente el pH del entorno. La disminución en el gradiente de concentración de O₂ provee la señal quemotáctica para las células endoteliales y mesenquimales, las cuales dan lugar a la angiogénesis.

La angiogénesis se inicia predominantemente a partir de las vénulas postcapilares, donde las células endoteliales degradan la membrana subendotelial y migran y proliferan para formar así nuevos brotes. Las células fibroblásticas segregan matriz reticular, la cual provee el soporte mecánico suficiente al nuevo sistema vascular. Finalmente, el hematoma inicial desaparece y es reemplazado por un tejido fibroso vascularizado.

Una vez que se ha comenzado a formar el tejido fibroso vascularizado, se inicia la *osteoconducción* o migración de células con potencial osteogénico. La migración de las células genera tracción en la incipiente matriz extracelular. Esta fuerza de tracción, generada por el contacto adhesivo célula-matriz, conlleva una reorganización y deformación de la matriz fibrosa, trayendo como consecuencia el encogimiento de las fibras de colágeno y fibrina, y por lo tanto una contracción y disminución de la herida.

La formación del nuevo hueso requiere la diferenciación de las células maduras y secretorias. Las células migrarán hasta alcanzar los bordes rotos del hueso o el implante en el lugar de la herida. Una vez que las células han alcanzado la superficie sólida, se inicia el proceso de síntesis de matriz extracelular en la superficie alcanzada. Las células que se diferencian antes de llegar al destino final segregan matriz y dejan

de migrar formando nódulos de mineralización, por lo que se da una progresión de estos nódulos hasta el lugar de la herida y se van colocando hasta formar una pared. Algunos de los nódulos quedan enterrados, originando los osteocitos.

Finalmente se inicia el proceso de *mineralización* a partir de las proteínas adsorbidas en la superficie sólida, el cual es continuado por el crecimiento de cristales de fosfato de calcio, y el ensamblaje de las capas de matriz colagínica con las mineralizadas, dando como resultado el nuevo hueso.

1.3. TÉCNICAS DE REGENERACIÓN Y REPARACIÓN ÓSEA

El objetivo de las distintas técnicas de restauración de defectos óseos y fracturas es conseguir la regeneración y consolidación de los mismos, respetando la anatomía original lo más posible y recuperando al mismo tiempo el máximo de funcionalidad del hueso.

Las técnicas utilizadas para regeneración ósea abarcan tanto la utilización de injertos de origen animal o humano, como de materiales sintéticos (polímeros y cerámicas principalmente) en forma de cementos, gránulos o estructuras tridimensionales para ingeniería de tejidos.

Por otro lado, los defectos debidos a fracturas óseas requieren dispositivos de fijación elaborados a partir de materiales con mayores prestaciones mecánicas capaces de soportar cargas elevadas durante el período de consolidación del hueso.

A continuación se describen algunas de las técnicas más utilizadas para la regeneración y reparación del tejido óseo.

1.3.1. Injertos

Autoinjertos

Un autoinjerto se define como el trasplante de tejido que se realiza de un sitio a otro dentro del mismo individuo. Las mayores tasas de éxitos dentro del área de los injertos óseos se han alcanzado con autoinjertos, ya que éstos son esencialmente tejidos vivos con sus células intactas y no hay reacción de tipo inmunológico o de rechazo ya que pertenecen al mismo individuo. La mayor desventaja que presenta esta técnica es que el procedimiento para la extracción del tejido a injertar, requiere de intervenciones quirúrgicas bastantes complejas y costosas, además del largo período de recuperación y la exposición a infecciones por parte del paciente. Dentro de esta metodología

encontramos técnicas como el uso de la médula ósea para estimular la formación de hueso en defectos del sistema esquelético y desuniones o fracturas, y el uso de factores de crecimiento como lo son principalmente las proteínas osteogénicas OP-1, BMP-2 y 4 (*Bone Morphogenetic Proteins*) las cuales han sido estudiadas ampliamente.

Aloinjertos

El término aloinjerto, también conocido como homoinjerto, se refiere al trasplante de tejidos u órganos entre individuos de la misma especie. En el caso de los injertos óseos, se utilizan tejidos de donantes que hayan muerto recientemente. Los aloinjertos son utilizados para la reconstrucción de defectos óseos después de haber sufrido una lesión o trauma, extirpado un tumor o una artroplastia.

Antes de ser implantados estos tejidos deben ser sometidos a una serie de tratamientos con el fin de evitar reacciones inmunológicas o la contaminación cruzada debida a cualquier enfermedad alojada en el tejido a implantar. Estos tratamientos incluyen irradiación, *freeze-drying*, lavado en ácido y otros tratamientos de tipo químico.

A pesar de que la tecnología utilizada para los trasplantes a mejorado notablemente en las últimas décadas debido al desarrollo de nuevos fármacos que disminuyen las reacciones de rechazo, la disponibilidad de un donante continúa siendo un gran obstáculo para esta técnica.

Xenoinjerto

Se define como el trasplante de tejidos entre dos especies diferentes. Un ejemplo de esta técnica es el uso de hueso de origen bovino. Muchos bancos de tejidos prefieren trabajar con este tipo de tejidos ya que con esta técnica es posible obtener mayores cantidades de hueso (en relación con el hueso humano) con una microestructura determinada, lo cual es un factor muy importante para el crecimiento del hueso. Sin embargo, este tipo de injertos presenta una gran limitación debida al riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas.

1.3.2. Ingeniería de Tejidos

Las limitaciones presentadas por las técnicas antes señaladas, han conllevado al desarrollo de materiales sintéticos para la regeneración del tejido óseo. Dentro de esta categoría encontramos una gran variedad de materiales, cerámicos y poliméricos principalmente, de los cuales hablaremos con más detalle más adelante.

De forma general, lo ideal sería obtener un biomaterial que sea biocompatible y no presente ningún tipo de reacción biológica adversa, que sea reabsorbible y se degrade

de forma paulatina a medida que se forma el nuevo tejido, transfiriendo así las cargas de forma progresiva. Un material cuyos productos de degradación sean de fácil eliminación y no-tóxicos, y que sea osteoinductivo e induzca la formación de tejido óseo.

Durante los años 60 y 70, tuvo lugar la primera generación de biomateriales. En este período de tiempo, la meta era obtener materiales cuyas propiedades físicas se adaptaran lo mejor posible a las del tejido a reemplazar, y que reaccionaran mínimamente con el tejido circundante, es decir, materiales inertes. A partir de los años 80, surge una segunda generación de biomateriales. Esta vez, el objetivo era crear materiales que indujeran una reacción controlada por parte del tejido vivo, es decir, materiales bioactivos como los vidrios bioactivos de silicio y la hidroxiapatita principalmente. Durante esta segunda generación, también tienen lugar los materiales bioabsorbibles, como los polímeros biodegradables principalmente (18).

Actualmente nos encontramos en la tercera generación de biomateriales. Los materiales diseñados en esta generación, buscan interactuar con el tejido de forma específica, mediante estímulos a nivel celular y molecular, y combinan las propiedades de bioabsorbibilidad y bioactividad dentro del mismo material. Por lo que cada vez, los criterios se van acercando más a lo que sería el biomaterial ideal.

La ingeniería de tejidos es una de las áreas con más potencial dentro de la medicina regenerativa. La utilización de esta metodología implicaría la disminución de muchos de los problemas relacionados con otras técnicas como lo son: intervenciones costosas y dolorosas para la extracción del tejido en el caso de los autoinjertos; la disponibilidad de donantes y las reacciones de rechazo, en el caso de los aloinjertos, y el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas en el caso de los xenoinjertos.

La ingeniería de tejidos se basa en la utilización de biomateriales con las características mencionadas para los materiales de tercera generación, es decir, bioactivos y bioabsorbibles, y capaces de estimular la respuesta celular y molecular de forma controlada, para que actúen como soportes temporales en la reparación de defectos óseos. Dentro de esta área existen dos tendencias principalmente, la primera consiste en el desarrollo de andamios tridimensionales acelulares, que servirán para alojar las diferentes células una vez implantados *in vivo*. La segunda tendencia consiste en el desarrollo de andamios tridimensionales, que inicialmente son colonizados por las células progenitoras bajo condiciones *in vitro*, y luego son implantados en el paciente para reemplazar el tejido dañado.

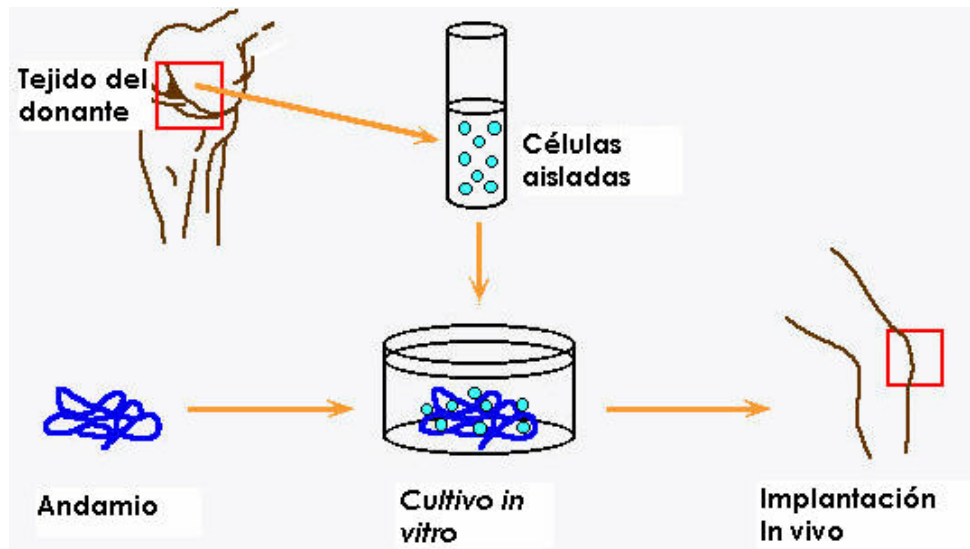


Figura 1. 4. Esquema ilustrativo de una de las tendencias en Ingeniería de Tejidos [Adaptado de (19)].

Dentro del contexto de esta Tesis Doctoral, la ingeniería de tejidos se basa principalmente, en el desarrollo y estudio de diferentes andamios tridimensionales los cuales proveen a las células el soporte necesario para proliferar y establecerse como células funcionales diferenciadas.

En el caso del tejido óseo, los materiales más utilizados para el desarrollo de las estructuras tridimensionales, son las hidroxiapatita, los poly (α -hidroxi ácidos), y algunos polímeros de origen natural como el colágeno o la quitina. En muchos casos las superficies de los materiales son modificadas con diferentes proteínas y factores de crecimiento que estimulan la respuesta celular, y activan los genes responsables de la diferenciación y mineralización del tejido (20-22).

1.3.3. Reparación de fracturas

En el caso de las fracturas óseas no pueden utilizarse sistemas como los explicados anteriormente para la regeneración ósea, ya que se requiere un soporte mecánico adicional para la fijación del hueso. En estos casos, se utilizan dispositivos especiales para la consolidación de fracturas. Estos dispositivos tienen desde un punto de vista biomecánico, dos funciones fundamentales para que el hueso pueda curar sin complicaciones. Estas funciones son: el mantenimiento de la continuidad y de la alineación de las partes fracturadas, y la transmisión de la fuerza durante la formación del callo óseo (23). Existen diversos tipos de medios de osteosíntesis y pueden dividirse en dispositivos de fijación externa y dispositivos de fijación interna (Figura 1.5).

Los fijadores externos consisten en clavos o tornillos metálicos de una longitud tal que puedan atravesar el hueso fracturado y los tejidos muscular y cutáneo. Después de ser alineados uniendo los extremos fracturados, los clavos o tornillos son fijados por medio de una barra externa. Este sistema permite variar, según sea el caso, la rigidez de la fijación durante el período de consolidación de la fractura. Sin embargo, implica el mantenimiento de un acceso a través del tejido cutáneo, lo cual implica el riesgo de infecciones.

Los fijadores internos, tal como su nombre lo indica, son implantados en contacto con el hueso del paciente. A continuación se describen algunos de los principales fijadores de este tipo.

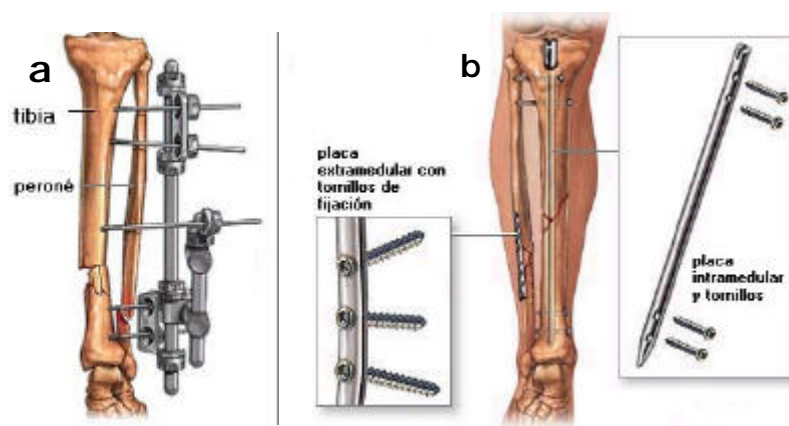


Figura 1. 5. Sistemas de fijación ósea, (a) externo, (b) interno [Adaptado de (24)].

Clavos Intramedulares

Senn en 1893 (25) y luego Hey-Groves (26) en 1919, reportaron los primeros casos relacionados a la fijación intramedular para el tratamiento de fracturas. Sin embargo, fueron los hermanos Rush (27) en Europa los conocidos como los verdaderos pioneros de la fijación mediante clavos intramedulares.

Esta técnica consiste en la unión de los fragmentos óseos colocando un clavo en el canal medular de los huesos largos. Desde el punto de vista biomecánico, tal colocación le confiere al hueso una buena resistencia a la flexión, mientras que a torsión no. Con esta técnica, el paciente puede frecuentemente aplicar cargas más rápidamente que con otro tipo de implantes. La inserción de los clavos no requiere de la disrupción de una gran área del tejido blando local, con lo cual disminuye la posibilidad de infecciones e incrementa la incidencia de consolidación del hueso. Sin embargo, en el caso de que surjan complicaciones, frecuentemente son muy difíciles de manejar. Además, extraer

un clavo que se haya roto, generalmente requiere abrir la zona donde se encuentra la rotura.

Placas de Osteosíntesis

Las placas de osteosíntesis fueron el primer método desarrollado para la fijación quirúrgica de fracturas y son actualmente el sistema más usado (28). Se dice que Hansmann (29) en 1886 fue el primero en estabilizar una fractura usando una placa. Desde entonces se han realizado diversas modificaciones en el diseño de este tipo de placas, con el fin de optimizar la función de las mismas.

Este método consiste en la utilización de placas, como su nombre indica, y tornillos para la fijación de la misma. La finalidad de la placa es servir como guía para el alineamiento de la fractura durante el período de consolidación de la misma.

Las placas de osteosíntesis tienen diferentes diseños, dependiendo de la zona del hueso en la cual serán implantadas. Existen placas rectas para la diáfisis, placas especiales para la epífisis y metáfisis y placas en ángulo para el fémur proximal y distal, entre otras. Además, difieren según la configuración mecánica del sistema placa/hueso y la función que desarrollan. La Figura 1.6 muestra algunos de los modelos de placas de osteosíntesis comúnmente utilizadas para fijación ósea.

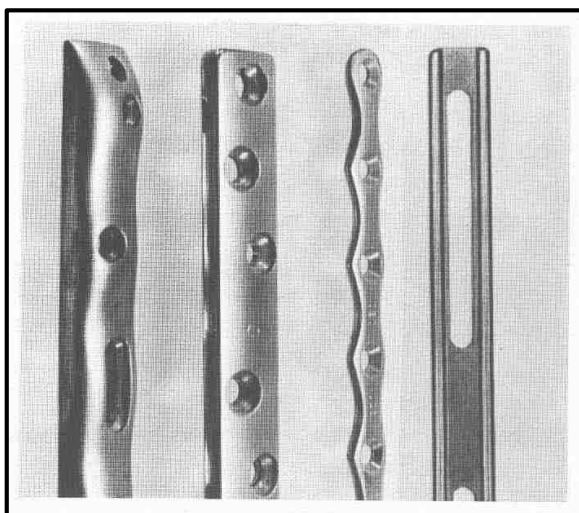


Figura 1. 6. Placas de osteosíntesis comúnmente utilizadas en reparaciones óseas (30).

1.4. BIOMATERIALES PARA REPARACIÓN Y REGENERACIÓN ÓSEA

El término *biomaterial* acompaña a todos aquellos materiales utilizados para aplicaciones médicas principalmente, aunque también se encuentran bajo esta clasificación otros materiales de uso extracorporal.

Hoy en día existen diferentes concepciones de lo que realmente es un biomaterial, por una parte, tenemos que un biomaterial es “un material ideado para interactuar con los sistemas biológicos para evaluar, tratar, aumentar o substituir cualquier tejido, órgano o función del cuerpo” según la *Second Consensus Conference on definitions in Biomaterials, Chester, U.K, 1992*. Por otro lado, hay quienes definen a los biomateriales como “aquellos materiales de origen natural o sintético que se utilizan para dirigir, suplementar o reemplazar alguna función de un tejido vivo” (31) o como “una sustancia sistemáticamente y farmacológicamente inerte diseñada para implantación dentro de un sistema vivo o su incorporación a éste” (32).

Entre las sustancias más importantes utilizadas como biomateriales para la regeneración ósea se encuentran algunos metales y aleaciones, cerámicas, vidrios biológicos, polímeros naturales y sintéticos, los cuales se aplican entre otras, en las especialidades médicas mostradas en la Tabla 1.3.

Tabla 1.3.

Biomateriales para regeneración ósea

Materiales	Aplicaciones
Polímeros	Liberación de fármacos, ingeniería de tejidos
Metales	Placas de osteosíntesis, clavos y tornillos, implantes dentales
Cerámicas y Biovidrios	Relleno de cavidades y defectos óseos, prótesis de cadera

Cualquier material aplicable en implantes quirúrgicos tiene un amplio espectro de posibilidades de reaccionar bioquímicamente al estar dentro del cuerpo. Este espectro de posibilidades puede dividirse en las siguientes categorías (33):

- 1.- Materiales casi inertes, con una mínima reactividad química.
- 2.- Materiales bioactivos.
- 3.- Materiales reabsorbibles.

Debido a que ningún material es completamente inerte dentro del cuerpo, es decir, todos generan una respuesta del tejido vivo aunque en algunos casos ésta sea muy leve, la primera categoría corresponde a materiales casi inertes y no completamente

inertes. Estos son materiales considerados muy poco reactivos debido a que son muy poco solubles cuando están dentro del cuerpo humano. Esencialmente la reacción fisiológica que toma lugar en los alrededores de la prótesis compuesta por este tipo de materiales es la formación de cápsulas de tejido fibroso.

Los materiales de tipo **(2)** son los llamados bioactivos, este tipo de materiales recibe una respuesta biológica específica en la interfase, teniendo como resultado la formación de hueso entre el tejido y el material (34). Bajo este concepto se han incluido un gran número de materiales con un amplio rango de velocidades de enlace con el tejido óseo y grosores de las capas de enlace interfaciales, entre ellos se encuentran algunas cerámicas, vitro-cerámicas y biovidrios principalmente. Todos estos materiales forman enlaces o uniones interfaciales con el tejido adyacente, sin embargo, el tiempo en el cual se crea el enlace, la fuerza del enlace, los mecanismos de enlace y el grosor de la capa formada, difieren de un material a otro.

Con respecto a los materiales de la categoría **(3)**, son llamados reabsorbibles o simplemente bioabsorbibles ya que representan al grupo de biomateriales que tienen la capacidad de ser compatibles con el tejido y de degradarse cierto tiempo después de ser implantados dando lugar a productos que no son tóxicos y pueden ser eliminados por el organismo o metabolizados por éste. Generalmente, este grupo está representado por los polímeros biodegradables, aunque existen ciertos materiales cerámicos los cuales también son reabsorbibles.

La importancia de la bioabsorbibilidad fue notada por algunos de los primeros cirujanos como es el caso de Joseph Lister quien se fundamentó en el hecho de que los materiales para suturas, que para ese momento no eran absorbibles, actuaban como nidos de infección (35).

En las dos últimas décadas los materiales bioabsorbibles han sido utilizados y experimentados en diferentes aspectos de la cirugía ortopédica como alternativas para la fijación de fracturas, artrodesis, osteotomías y daños en los ligamentos y meniscos (36-39). Este tipo de materiales fueron desarrollados para eliminar la necesidad de una segunda intervención quirúrgica debida a la remoción del implante ya que los mismos tienen la finalidad de proveer la rigidez suficiente para que el hueso comience a sanar, mantener sus propiedades mecánicas mientras que el hueso forma el callo óseo y luego iniciar su degradación o período de reabsorción.

Los materiales bioabsorbibles son la mejor alternativa para el soporte temporal de diferentes tipos de tejido por las siguientes razones (37):

- En la etapa de reparación de un tejido (como el hueso, tendones, músculo, piel, etc.), los implantes absorbibles mantienen las propiedades mecánicas

requeridas por el tejido. Con el tiempo, el implante se desintegra gradualmente y las tensiones son transferidas en forma gradual al tejido en cuestión.

- No requieren una segunda intervención quirúrgica para retirar el implante.
- Después de la reabsorción del implante, los riesgos o complicaciones a largo plazo relacionadas con el implante, pueden ser reducidos.

Además de las propiedades y exigencias propias de cada material según su destino y aplicaciones particulares, éstos deben cumplir un número de requisitos que son comunes a todos los biomateriales. El principal requisito es la biocompatibilidad, esto es, el material no debe producir ninguna reacción de inflamación en los tejidos. De acuerdo con una definición que ha sido aprobada por consenso (32): “Biocompatibilidad es la capacidad de un material de llevar a cabo su función, junto con una respuesta biológica apropiada, ante una situación específica”.

1.4.1. Biocerámicas

Como ya se ha visto en las secciones anteriores, diferentes materiales son utilizados en el campo de la implantología ortopédica para la reparación del tejido óseo. En particular los metales han sido ampliamente utilizados debido a sus propiedades mecánicas. Sin embargo, los implantes metálicos presentan una resistencia mucho mayor a la del hueso, lo cual conlleva al estado de apantallamiento de tensiones antes mencionado, otra desventaja de los materiales metálicos para aplicaciones de osteosíntesis es su gran facilidad para corroerse, lo cual también afecta el comportamiento biológico. Por lo tanto se hace necesaria la utilización de materiales que posean tanto propiedades mecánicas como una composición química más cercanas a las del hueso.

La utilización de cerámicas para la reconstrucción ósea se basa en su semejanza estructural respecto a la fase mineral del hueso. A pesar de la alta fragilidad de los materiales cerámicos, algunos de ellos poseen propiedades físicas iguales o mejores que algunas aleaciones metálicas como por ejemplo resistencia al calor, corrosión, desgaste y una gran dureza entre otras. En forma general las biocerámicas pueden ser clasificadas de acuerdo al esquema que mostrado en la Figura 1.7.

Figura 1. 4. Esquema de la clasificación general de las biocerámicas.

En ortopedia, las cerámicas han sido utilizadas en diferentes aplicaciones como las prótesis articulares en forma de piezas de cerámica densas. Es el caso de la alúmina y la zirconia, las cuales son inertes y muy resistentes al desgaste inclusive más que los metales. Otras aplicaciones de las cerámicas incluyen los cementos óseos para el relleno de pequeños defectos, los materiales reabsorbibles para la estimulación de la regeneración ósea y los recubrimientos de implantes metálicos entre otras.

En las últimas décadas, la atención se ha enfocado hacia aquellos materiales cerámicos que tienen un gran parecido con la fracción mineral del hueso, como es el caso de la apatitas, y más específicamente la hidroxiapatita debido a su potencial bioactivo.

1.4.1.1. Cerámicas de Fosfato de Calcio

Las cerámicas basadas en fosfatos de calcio, especialmente sales de calcio, son particularmente interesantes en el campo de los substitutos óseos. El comportamiento *in vivo* de los implantes constituidos por fosfatos de calcio depende de una variedad de factores, entre ellos están la relación Ca/P, la estructura cristalográfica y la porosidad.

El excelente comportamiento histológico de los fosfatos de calcio no es una sorpresa, ya que la hidroxiapatita es el principal mineral constituyente de los huesos. Por esta razón este compuesto en particular fue usado en el pasado para hacer implantes cerámicos con la finalidad de ser implantados en el sistema óseo. Es la similitud de esta cerámica con la fracción mineral del hueso lo que explica que se dé una reacción bioquímica positiva en la interfase cerámica-hueso.

Las cerámicas basadas en fosfatos de calcio han sido utilizadas en medicina desde hace aproximadamente 30 años. Dependiendo de la aplicación, se utilizarán cerámicas bioactivas o bioabsorbibles, para lo cual se usarán diferentes fases de estas cerámicas de fosfato de calcio.

Las fases estables de estas biocerámicas dependen considerablemente de la temperatura y de la presencia de agua, tanto durante el procesamiento como en el medio donde luego se utilizarán. Es importante entender la relación existente entre la relación Ca/P, pH y solubilidad. Así tenemos que, mientras menor sea la relación Ca/P, el nivel de pH disminuirá y la solubilidad aumentará. Termodinámicamente, a la temperatura del cuerpo humano, sólo dos fosfatos de calcio son estables en contacto con el medio acuoso, como los fluidos corporales, a $\text{pH} < 4,2$ la fase estable es $\text{Ca}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (fosfato dicálcico dihidratado o brushita), mientras que a un $\text{pH} \geq 4,2$ la fase estable es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (hidroxiapatita). Sin embargo, por razones cinéticas pueden precipitar más fácilmente otras fases como OCP (Fosfato octacálcico, $\text{pH} 5-7$) o CDHA a valores de pH mayores. Algunas fases se encuentran deshidratadas y se hidrolizan en presencia de los fluidos corporales a 37°C y de esta forma se convierten en hidroxiapatita (34;40;41).

El comportamiento mecánico de las cerámicas de fosfato de calcio influye enormemente en sus aplicaciones como implantes. Tanto la resistencia a tensión como a compresión y a fatiga dependen del volumen total de porosidad del material, la cual puede venir dada en forma de microporos ($< 1 \mu\text{m}$ en diámetro) o en forma de macroporos ($> 100 \mu\text{m}$ en diámetro). En general, las biocerámicas son utilizadas en el campo clínico como: gránulos, implantes pequeños que no tengan que soportar cargas como los implantes para el oído medio, recubrimientos, sobre metales que las refuercen como el caso de los implantes dentales, como implantes porosos sin cargas, para estimular el crecimiento de hueso dentro del implante, o como cementos, que se implantan en estado pastoso y fraguan *in vivo*.

1.4.1.2. Biovidrios

Dentro del grupo de los materiales cerámicos tenemos las vitrocerámicas y los biovidrios, los cuales han demostrado ser buenos candidatos para aplicaciones biomédicas relacionadas con la regeneración del tejido óseo. Los llamados biovidrios, han ocupado un lugar importante en el área de la medicina regenerativa ósea, principalmente a partir de los años 80, época que coincide con la segunda generación de biomateriales mencionada anteriormente. De forma general los biovidrios se dividen en vidrios de base SiO_2 y vidrios de base P_2O_5 . Los biovidrios de silicio fueron desarrollados en los años 70 por Hench principalmente (42;43), y han demostrado ser altamente bioactivos, sin embargo su tasa de reabsorción resulta ser muy baja para algunas aplicaciones. Por otro lado, el desarrollo de los vidrios de fosfato para aplicaciones biomédicas, se remonta a principio de los años 80, cuando fueron introducidos por Burnie y Gilchrist (44;45). Estos vidrios pueden ajustarse a la composición de la fase mineral del hueso, y además presentan un amplio rango de velocidades de degradación, que puede ser modificado dependiendo de la

composición química del sistema vítreo (46). Por lo que , es posible obtener vidrios con disolución a largo o corto plazo, según la aplicación requerida (47).

Vidrios Bioactivos

Algunos vidrios con composiciones basadas típicamente en combinaciones de SiO_2 - CaO - NaO - P_2O_5 han demostrado la formación de uniones con el hueso. La característica principal de estos materiales es que desarrollan en su superficie una capa biológicamente activa de hidroxiapatita carbonatada (HCA) la cual provee la interfase de unión con el tejido. Estos materiales reaccionan en contacto con el fluido formando una especie de gel hidratado en la superficie el cual es rico en iones Ca y P . La cristalización de esta capa conlleva a la formación de apatita y por lo tanto a la unión con el hueso. Por lo que esta capa formada en la superficie del implante es similar tanto químicamente como estructuralmente a la fase mineral del hueso, y es por esto que se da la unión interfacial hueso-implante (34).

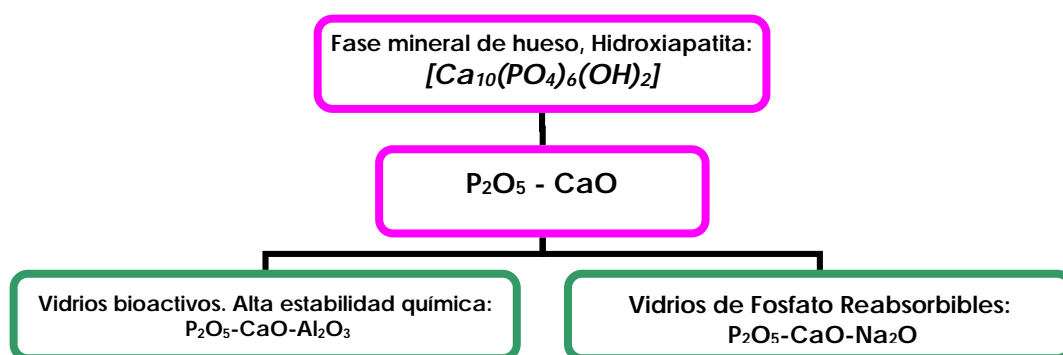


Figura 1. 5. Líneas de desarrollo de los vidrios de fosfato para aplicaciones biomédicas (46).

Vidrios de Fosfato

Los vidrios de fosfato fueron desarrollados principalmente para elementos acromáticos, hace 100 años por Schott y colaboradores (48), debido a su bajo índice de dispersión y alto índice de refracción en comparación con los vidrios de base Si . Sin embargo, la baja estabilidad química de estos vidrios, inicialmente creados para el área de la óptica, conllevó a una limitación en sus aplicaciones y a un retraso temporal en el desarrollo de los mismos. Hoy en día, los vidrios de base fosfato son utilizados en diferentes aplicaciones, sobre todo en el campo de la industria optoelectrónica (49). La Tabla 1.4 resume algunas de las aplicaciones de estos vidrios, entre ellas se encuentran las aplicaciones biomédicas.

En las últimas décadas, los vidrios de fosfato, específicamente los de fosfato de calcio, han sido ampliamente estudiados no sólo por su composición química, la cual se asemeja a la de la fase mineral ósea como se comentó anteriormente, sino también por

su solubilidad, la cual varía según la composición del vidrio (44;45). La elevada solubilidad de algunas composiciones, que inicialmente fue causa del rechazo de este tipo de vidrios, puede ser de gran provecho en el campo biomédico, ya que le confiere al material la propiedad de ser biodegradable y servir así de soporte en las primeras etapas del proceso de reparación ósea y de disminuir sus propiedades mecánicas gradualmente mientras el tejido óseo se regenera. Debido a la solubilidad, este tipo de vidrios puede ser considerado como un material reabsorbible o biodegradable.

Tabla 1.4

Algunas propiedades y aplicaciones tecnológicas de los vidrios de fosfato

Propiedades	Aplicaciones	Referencia
Baja temperatura de elaboración	Lentes y otros elementos ópticos, preparación de mezclas vidrio/polímero orgánico	(50)
Estabilidad química	Medios de almacenamiento de residuos nucleares	(51)
Alta expansión térmica	Sellado entre vidrio y metal	(52)
Propiedades ópticas	Aplicaciones ópticas	(52)
Transparencia a luz UV	Fibras ópticas para comunicación	(52)
Emisión estimulada	Láseres, colectores de energía solar	(52)
Biocompatibilidad, solubilidad controlada, bioactividad	Aplicaciones biomédicas	(44;46;53-55)

Entre las potenciales aplicaciones clínicas de este tipo de vidrios, se encuentran la liberación de iones antibacterianos como el cobre o la plata (53), reparación neural (54;56), liberación de flúor para aplicaciones odontológicas (57;58), hemocompatibilidad, evitando la formación de trombos (55) y aplicaciones veterinarias, como medio para la liberación de suplementos de iones como zinc, cobre y cobalto (59;60).

Estructura de los vidrios de Fosfato

Existen numerosas definiciones de lo que es un vidrio en la literatura. Sin embargo, de forma general todas coinciden en que un vidrio es un material amorfo cuya estructura vítrea se produce uniendo los tetraedros de algún grupo iónico determinado para formar una estructura reticular no cristalina, es decir, no existe periodicidad alguna a largo alcance dentro de la red.

A pesar de que el óxido de Si (SiO_2) es el más conocido como óxido formador de red, el P_2O_5 es también uno de los 4 óxidos formadores de vidrio clásicos propuestos por Zacharisen, que son: SiO_2 , GeO_2 , B_2O_3 y P_2O_5 . Al igual que los vidrios de Si, los vidrios de fosfato están formados básicamente por configuraciones tetraédricas de fósforo (PO_4), los cuales se unen por enlaces covalentes a través de los oxígenos puentes formando largas cadenas que conllevan a la formación de la red vítrea.

En el caso del P_2O_5 , estos grupos (PO_4), se conectan con otros grupos adyacentes mediante tres de sus cuatro vértices, mientras que el vértice restante debido a la pentavalencia del fósforo, es ocupado por un átomo de oxígeno mediante un enlace tipo π , formando así un oxígeno terminal (O_T , ver Figura 1.9). Al agregar un óxido metálico, se lleva a cabo la depolimerización de la red y el rompimiento por parte de los oxígenos de los enlaces P-O-P (61).

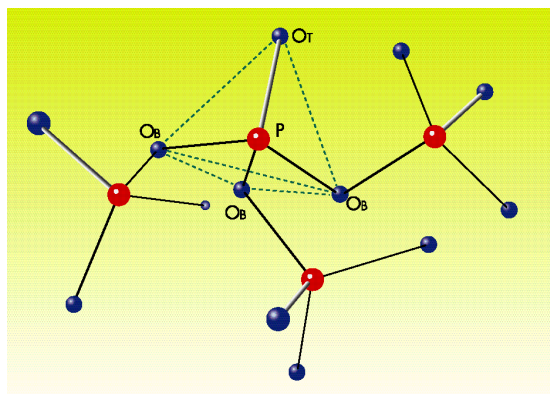


Figura 1. 6. Esquema representativo de una sección de la red vítrea formada por tetraedros de fosfato (61).

Para un mejor entendimiento de la estructura de los vidrios varias teorías han sido propuestas, siendo las de Zacharisen y la de Van Wazer las que mejor se adaptan a los vidrios de fosfato.

Teoría de Zacharisen-Warren

La teoría de Zacharisen (62), también llamada la teoría del retículo al azar “*Random Network*” está basada en los resultados previos de investigaciones realizadas por medio de rayos X que demostraron que la unidad básica formadora de las estructuras cristalinas de silicato eran los tetraedros constituidos por Si-O. Dentro de las estructuras cristalinas, estos tetraedros se repetían en un arreglo tridimensional donde se unían compartiendo el átomo de oxígeno de los vértices.

Partiendo del hecho de que tanto los cristales como los vidrios de igual composición tienen propiedades mecánicas similares, Zacharisen postuló que un vidrio al igual

que un cristal, estaba formado también por estos tetraedros de Si, siendo la principal diferencia entre estos dos, la presencia de simetría y periodicidad en la red cristalina y la ausencia de dichas características en la red vítrea. Posteriormente Warren estudió diferentes vidrios usando la técnica de rayos X y un método de análisis matemático basado en series de Fourier, y llegó a la conclusión de que el postulado de Zachariasen era correcto.

Esta teoría sugiere la formación de una red tridimensional continua a partir de los tetraedros de Si-O, donde el Si es llamado formador de red y el resto de los átomos provenientes de óxidos metálicos que lo conforman son llamados modificadores de red. Estos últimos van a ocupar posiciones centrales en los intersticios de la red vítrea y son rodeados por átomos de oxígenos (63;64). Según esta teoría, entre los tetraedros de Si-O existen enlaces fuertes de tipo covalente, sin embargo, en el caso de los modificadores de red, estos átomos están unidos por enlaces débiles de tipo iónico.

Teoría de Van Wazer

Cuando la cantidad de átomos modificadores de red presentes en el vidrio es relativamente baja, la teoría de Van Wazer y la de Zachariasen-Warren son equivalentes. En el caso de los vidrios de fosfato, a medida que aumenta la proporción de átomos modificadores, la teoría de Van Wazer describe un comportamiento diferente de las cadenas P-O. Esta teoría está basada en el estudio de los polímeros orgánicos lineales (63) y según ella, al aumentar la cantidad de modificadores de red, las cadenas formadas por tetraedros de fosfato se reorganizan alineándose de forma parecida a los polímeros lineales.

Van Wazer propuso su teoría de la reorganización o "*Reorganization Theory*" en función de la relación atómica entre el modificador de red (M) y el fósforo (P). A relaciones M/P muy elevadas ($M/P = 2,7$ aproximadamente), predomina la formación de cadenas cortas formadas por los tetraedros P-O cargadas negativamente y unidas al metal (M). A medida que la relación M/P se aproxima a la unidad, la longitud media de las cadenas se aproxima a valores infinitos, llegando a aparecer anillos constituidos por tetraedros PO_4 . Por último, para relaciones M/P aún más bajas, las cadenas se ramifican llegando a una estructura similar a la enunciada por Zachariasen-Warren.

Teoría de los grupos Q^i

Como ya hemos dicho en la sección anterior, la unidad estructural fundamental para las estructuras de fosfato tanto cristalinas como amorfas son los tetraedros PO_4 que se unen por medio de los oxígenos puentes formando así cadenas de fosfato que crean una red vítrea en nuestro caso. Estos tetraedros formadores de red se clasifican según el número de oxígenos que tengan libres para la formación de nuevos enlaces, para ello

se utiliza la terminología de los grupos Q^i , donde i corresponde al número de oxígenos puente por cada tetraedro.

Lippma *et al* (65) propusieron el modelo de los grupos Q^i en el caso de los vidrios de silicio para describir en detalle la estructura de dichos vidrios. Van Wazer (66) propuso un modelo similar adaptado a los vidrios de fosfato.

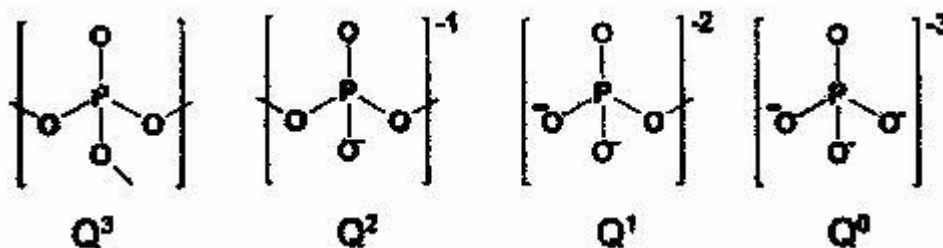


Figura 1. 7. Representación de los posible tipos de unidades estructurales (grupos Q^i) existentes en los vidrios de fosfato [Adaptado de (48)].

Q^3 : representa a un grupo PO_4 en el cual los tres oxígenos puentes se encuentran enlazados a otros tetraedros. El grupo Q^3 actúa como “punto de ramificación” dentro de la estructura vítrea, es decir, forma interconexiones entre las cadenas.

Q^2 : Representa un grupo PO_4 con una sola carga negativa y donde solo dos de los oxígenos puentes se comparten con otros dos tetraedros. Este grupo actúa como “grupo medio”, es decir, como unidad de una cadena lineal.

Q^1 : Representa a un grupo PO_4 con dos cargas negativas, en este caso, solo uno de los oxígenos está enlazado con otro tetraedro. Este grupo actúa como “grupo terminal”, es decir, como el grupo final de la cadena.

Q^0 : Corresponde al grupo PO_4 con 3 cargas negativas. Representa un tetraedro aislado, llamado ortofosfato o monofosfato.

Los vidrios de fosfato pueden tener diferentes estructuras. Comenzando por aquellos que poseen una red reticulada formada por grupos Q^3 , es decir, P_2O_5 vítreo, pasando por aquellos con estructura similar a la polimérica y cadenas de metafosfato formados por grupos Q^2 , y los vidrios llamados inversos basados en pequeñas cadenas de pirofosfato, grupos Q^1 , y ortofosfatos (grupos Q^0). La estructura vítrea dependerá entonces de la relación $[O]/[P]$ determinada por la composición del vidrio.

La adición de óxidos modificadores al P_2O_5 vítreo conlleva a la depolimerización de la red de fosfatos, esta situación puede ser descrita con esta pseudo-reacción (66):



Dependiendo de la composici\u00f3n molar del \u00f3xido met\u00e1lico, $xR_2O(1-x)P_2O_5$ presente en la composici\u00f3n del vidrio, podemos obtener principalmente tres tipos de vidrios, los de ultrafosfato, los de metafosfato y los de pirofosfato.

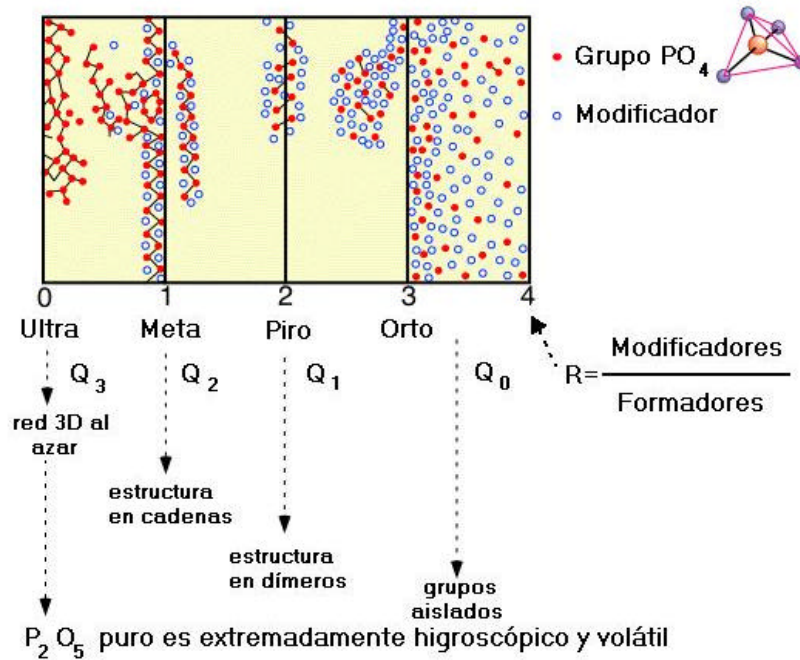


Figura 1. 8. Diversos tipos de estructuras v\u00edtreas de fosfato seg\u00fan su composici\u00f3n [Adaptado de (66)].

a) Vidrios de Ultrafosfato

Este tipo de vidrios corresponde a aquellos vidrios con un porcentaje de P_2O_5 molar mayor al 50% y tienen una relaci\u00f3n $[O]/[P]$ tal que $2,5 \leq [O]/[P] < 3$. A pesar de sus limitadas aplicaciones tecnol\u00f3gicas debido a que son vidrios muy reactivos y solubles en agua, han sido ampliamente estudiados en la \u00faltima d\u00e9cada por diferentes investigadores (48;61;67;68) quienes por medio de t\u00e9cnicas como la espectroscop\u00eda FT-Raman, espectroscop\u00eda fotoelectr\u00f3nica de rayos X (XPS) y resonancia magn\u00e9tica nuclear principalmente, han podido caracterizar la estructura de estos vidrios.

Estos vidrios presentan una estructura basada en una combinaci\u00f3n entre tetraedros entrecruzados de grupos Q^3 y de cadenas formadas por grupos Q^2 . En la regi\u00f3n de los vidrios de ultrafosfato, la fracci\u00f3n de grupos Q^2 y Q^3 viene dada por las siguientes relaciones (66):

$$F(Q^2) = x / (1 - x)$$

$$F(Q^3) = (1 - 2x) / (1 - x)$$

Además son vidrios de difícil elaboración ya que son muy higroscópicos y el P_2O_5 es muy volátil, por lo que deben elaborarse en ampollas selladas.

b) Vidrios de Metafosfato

Los vidrios de metafosfato están constituidos por un 50% molar de P_2O_5 , sin embargo, debido a la dificultad de obtener vidrios con una composición estequiométrica exacta, se considera que aquellos vidrios con un porcentaje molar de P_2O_5 entre 40 y 55% aproximadamente, se encuentran en el grupo de los vidrios de metafosfato. En estos vidrios, la relación $[O]/[P]$ es tal que $3 < [O]/[P] < 3,5$.

Estos vidrios están formados por cadenas y anillos basados en tetraedros del grupo Q^2 y terminadas por grupos Q^1 . Las cadenas y anillos están unidas por enlaces de tipo iónico entre varios cationes metálicos y los oxígenos que no son puentes. Los vidrios de metafosfato tienen una estructura similar a los polímeros lineales formada por largas cadenas de polifosfatos (48;65;69;70).

Este tipo de vidrios es mucho menos reactivo que los vidrios de ultrafosfato con un alto contenido de P_2O_5 ya que la presencia de un mayor número de modificadores de red le confiere una estructura más reticulada, con reticulaciones entre las cadenas de fosfato que pueden ser más o menos fuertes dependiendo de la carga y del radio iónico del catión modificador.

c) Vidrios de Pirofosfato

Los vidrios de pirofosfato, también conocidos como vidrios inversos, corresponden a aquellos vidrios con un contenido en P_2O_5 inferior al 30% molar y por lo tanto, con un alto porcentaje de óxidos modificadores de red. Estos vidrios tienden a cristalizar espontáneamente en sistemas simples, por lo que este tipo de vidrios generalmente es elaborado dentro de sistemas bastante complejos, con la adición de óxidos metálicos como el MgO (47;48;71-74). La estructura de este tipo de vidrios consiste únicamente de grupos Q^1 y Q^0 , es decir, están compuestos por unidades P_2O_7 y PO_4 (71;75;76), y se caracterizan por tener una relación $[O]/[P]$, tal que $3,5 < [O]/[P] < 4$.

Los vidrios de pirofosfato se caracterizan por poseer una elevada estabilidad química, además este tipo de estructura permite elaborar vidrios con una relación Ca/P muy cercana a la de la fase mineral del hueso (47;72), lo cual es muy interesante en el caso de las aplicaciones biomédicas ya que esto implica la obtención de vidrios bioactivos. Esta última propiedad abre nuevas perspectivas tanto en el campo de la cirugía ortopédica como en el de la ingeniería de tejidos (77).

1.4.2. Polímeros

Los materiales poliméricos tienen una amplia variedad de aplicaciones en el campo de la implantología médica ya que presentan propiedades físicas, químicas y mecánicas más cercanas a las de los tejidos vivos, que en su mayor parte están formados por polímeros naturales, como las proteínas y los polisacáridos. Además, son de fácil procesado y pueden obtenerse en diversas formas.

Actualmente existen numerosos polímeros utilizados en el campo biomédico. Algunos de ellos son estables, y son utilizados para aplicaciones permanentes, como el polimetilmetacrilato (PMMA), o el polietileno (PE). En los últimos años se han ido introduciendo los polímeros biodegradables, para aplicaciones temporales. Kulkarni *et al.* Introdujeron en los años 60, el concepto de material bioabsorbible (78;79) y en las dos últimas décadas, dispositivos bioabsorbibles han sido utilizados en muchos aspectos de la cirugía ortopédica, incluyendo la fijación de fracturas, reemplazo óseo, reparación de hombro, cartílago y menisco, fijación de ligamentos y liberación de fármacos. Estos materiales han sido usados en forma de tornillos, clavos, y placas para cirugía ortopédica, oral y craneofacial (80;81).

Existen algunas características que deben presentar los materiales biodegradables para poder ser utilizados como implantes en el organismo humano, por ejemplo, los materiales y sus sub-productos no deben ser mutagénicos, carcinogénicos, antigénicos, tóxicos y, lógicamente deben ser antisépticos, esterilizables, compatibles con el tejido receptor, de fácil procesado y capaz de conformarse en distintas formas entre otros requisitos. Hoy en día, una gran parte de la investigación en el área de los polímeros para aplicaciones biomédicas se encuentra dirigida sobretodo al desarrollo de polímeros sintéticos.

En la Figura 1.12 se describen los polímeros biodegradables de uso más generalizado.

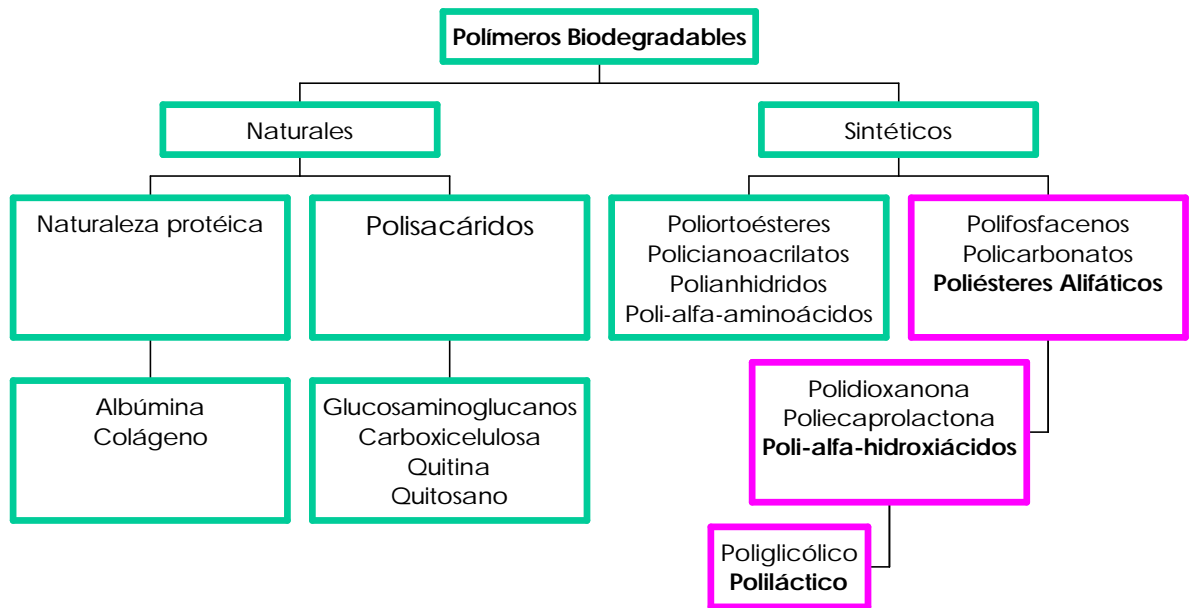


Figura 1. 9. Polímeros biodegradables utilizados en aplicaciones biomédicas (82).

Desde la aparición de los polímeros sintéticos hace aproximadamente 60 años, los profesionales de la medicina se percataron de que estos materiales podían ser de gran interés en aplicaciones terapéuticas. Desde entonces un gran número de polímeros han sido desarrollados gracias a su gran variedad de composiciones y propiedades que cubren un amplio rango de aplicaciones tanto bioestables como biodegradables (83;84).

Dependiendo del tipo de polímero y la constitución del mismo, estos materiales biodegradables pueden ser creados para proveer el soporte mecánico suficiente durante las primeras etapas de la reparación del hueso, mantener este soporte durante un período determinado y luego degradarse poco a poco.

Los primeros polímeros degradables desarrollados y los más comúnmente utilizados son los obtenidos a partir del ácido poliglicólico (PGA) y del ácido poliláctico (PLA), los cuales han encontrado una multitud de usos en la industria médica, comenzando con las suturas biodegradables que fueron aprobadas en 1960 (85). Desde entonces numerosos dispositivos basados en PGA y PLA han sido desarrollados, así como también otros materiales, como la polidioxanona, politrimetilen-carbonato en forma de copolímeros y homopolímeros y copolímeros de poli(ϵ -caprolactona), los cuales han sido aceptados como materiales de uso biomédico (86). Adicionalmente a estos materiales, se encuentran los polianhidridos (87), los polioctoésteres (88) y otros (89;90) que actualmente se encuentran bajo investigación.

Los estudios realizados en la primera mitad del siglo 20 en cuanto a los polímeros sintetizados a partir del ácido glicólico y otros α -hidroxiácidos, fueron abandonados

temporalmente debido a que los polímeros resultantes eran muy inestables para aplicaciones industriales que requerían materiales estables a largo plazo. Sin embargo, paradójicamente, esta inestabilidad ha demostrado ser muy importante en aplicaciones médicas durante las tres últimas décadas.

A continuación profundizaremos un poco más en el polímero obtenido a partir del ácido láctico ya que éste será el polímero utilizado en este estudio.

1.4.2.1. Ácido Poliláctico (PLA)

El ácido poliláctico, PLA, es un polímero termoplástico, amorfo o semicristalino, que ha sido ampliamente estudiado en aplicaciones como la liberación controlada de fármacos (91-93), suturas biodegradables y diferentes implantes para la fijación de fracturas y para la elaboración de dispositivos vasculares.

Síntesis

La síntesis del ácido poliláctico fue estudiada por Carothers en 1932 (94). Aunque el ácido láctico puede ser sintetizado directamente en ácido poliláctico, se puede alcanzar un mayor peso molecular si primero se transforma el ácido en un diéster cíclico conocido como “polilactide”. Generalmente se lleva a cabo la polimerización por apertura de anillo del diéster cíclico. Diferentes compuestos metálicos, organometálicos e inorgánicos de Zn y estaño han sido usados como iniciadores (95). Sin embargo, Tetrafenil de estaño, Cloruro estañoso y Octato estañoso son los más efectivos. Entre éstos, el preferido y más usado es el octato estañoso debido a que está aceptado por la FDA (Food and Drug Administration) como un aditivo alimenticio (96;97).

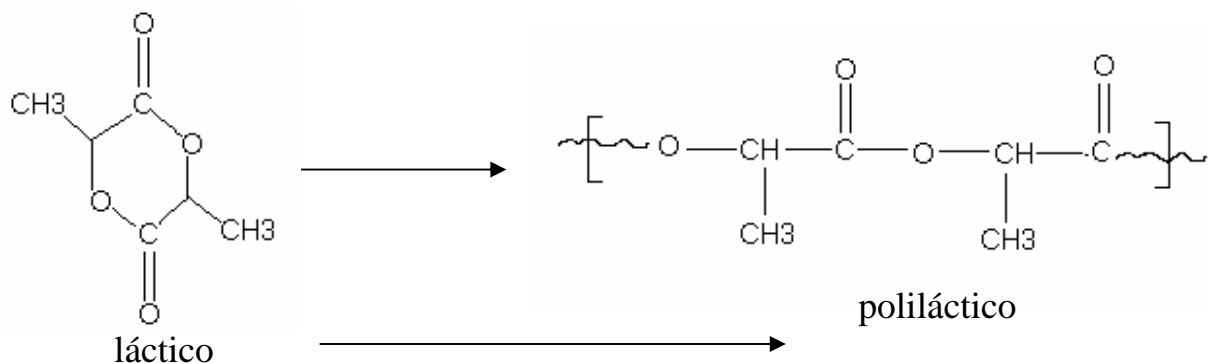


Figura 1. 10. Síntesis del ácido poliláctico.

Isomerismo Óptico

Ya que el ácido poliláctico es una molécula quiral, existe en dos formas estereoisómeras que dan lugar a cuatro polímeros morfológicamente diferentes: dos polímeros estereorregulares, D-PLA y L-PLA (ver Figura 1.14), la forma racémica D,L-PLA y una cuarta forma morfológica, meso-PLA, que puede obtenerse a partir de la D,L-lactona, pero se usa muy poco en la práctica.

El isomerismo óptico del ácido láctico tiene una gran influencia sobre el metabolismo del monómero y las propiedades del polímero resultante. Este tipo de isomerismo resulta del hecho de que uno de los átomos de carbono (el centro asimétrico) tiene cuatro grupos que no son idénticos unidos a él y por lo tanto no son superponibles en su imagen especular.

Tanto el ácido láctico D como el L son física y químicamente idénticos en todos los aspectos excepto en que cada uno rota en dirección opuesta, D, dextrorrotación a la derecha y L, levorrotación a la izquierda.

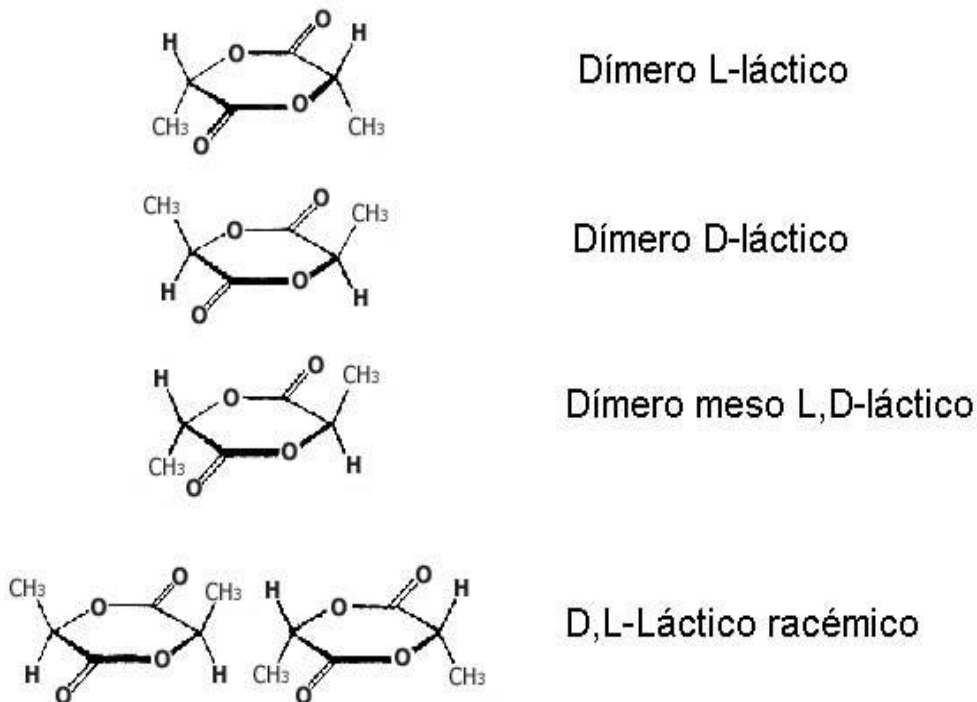


Figura 1. 11. Estereoisómeros del ácido láctico.

Propiedades

Los polímeros pueden ser semicristalinos o amorfos como ya se introdujo previamente. En los polímeros semicristalinos las cadenas se doblan formando regiones ordenadas más densas llamadas dominios cristalinos. Esto actúa como una especie de enlaces cruzados que confieren al polímero una resistencia a la tracción mayor y un módulo elástico más elevado ya que le provee una mayor rigidez en comparación con el polímero amorfo.

Los polímeros derivados de los monómeros D y L del ácido poliláctico son materiales semicristalinos, mientras que el D,L-PLA es siempre amorfo. Las diferencias en cristalinidad de D,L-PLA y L-PLA tienen importantes implicaciones tanto en las propiedades mecánicas como en el tiempo de degradación del polímero.

Tanto las zonas amorfas del D y el L-PLA como el D,L-PLA presentan una T_g (temperatura de transición vítrea) por debajo de la cual el polímero se comporta más como un sólido vítreo y por encima de la cual el polímero tiene un comportamiento de tipo gomoso. Un polímero con una T_g cercana a la temperatura corporal, será más dúctil al ser implantado que a la temperatura ambiente, por lo que la T_g es un parámetro que influye en el comportamiento final del material. Por otro lado, tenemos la influencia del peso molecular, el cual especialmente en el caso del PLA, puede variar considerablemente con algunos métodos de procesado y esterilización (98;99). Todas estas propiedades pueden afectar tanto las propiedades mecánicas del material como el tiempo de degradación del implante. Aunque las propiedades de estos materiales son altamente dependientes del peso molecular, en general se pueden ilustrar algunas de sus propiedades en la tabla siguiente:

Tabla 1.5.

Algunas propiedades del ácido poliláctico en comparación con el acero y el hueso cortical (100).

Material	T_m (°C)	T_g (°C)	E (GPa)	Tiempo Degradación(meses)
L-PLA	173-178	60-65	2,7	> 24
DL-PLA	Amorfo	55-60	1,9	12-16
Hueso			10-20	
Acero			210	

Procesado

En cuanto al procesado de los polímeros degradables en general, podemos decir, que pueden ser procesados siguiendo las mismas técnicas utilizadas para los

termoplásticos, es decir, las piezas poliméricas pueden ser obtenidas por extrusión, inyección, moldeadas por compresión o por disolución en un solvente y colada. La complicación principal durante el procesado es la pérdida de peso molecular sufrida por el polímero debido a la sensibilidad hidrolítica y térmica de los enlaces del polímero, lo que puede llevar a pérdidas importantes del peso molecular durante el conformado del material. Por tanto, la técnica de procesado también influirá en las propiedades mecánicas finales de la pieza obtenida.

Las técnicas de esterilización también juegan un papel importante con respecto a las propiedades finales del material. El PLA no debe ser esterilizado mediante el uso del autoclave ya que el vapor de agua desprendido durante el proceso degradará el material. Por lo tanto, las técnicas más utilizadas para esterilizar estos polímeros son la radiación γ , óxido de etileno, o la irradiación con un haz de electrones (89;101). Tanto la radiación γ como el óxido de etileno tienen algunas desventajas, por lo que deben ser usadas con algunas precauciones. La radiación puede conllevar a la degradación de las cadenas del polímero cuando se aplican dosis por encima de 2 Mrad. Esta degradación implica un cambio en el peso molecular, lo cual influye en las propiedades mecánicas finales del material así como en el tiempo de degradación (90;102;103).

Por otro lado, el óxido de etileno es altamente tóxico, por lo que debe tenerse mucho cuidado y asegurar que todo el gas sea eliminado de los dispositivos poliméricos antes de ser empaquetados (89) lo cual implica que los dispositivos deben ser aireados en vacío por un largo período de tiempo.

Otro factor que debe ser tomado en cuenta además de la humedad es la temperatura a la cual se esterilizan, ya que deben permanecer por debajo de la T_g del material en todo momento para evitar cambios en la geometría de la pieza.

Biocompatibilidad

Debido a que el ácido láctico es un intermediario común en el metabolismo de los carbohidratos en nuestro organismo, el uso de este hidroxácido es generalmente visto como la situación ideal desde el punto de vista toxicológico.

Los poliésteres alfa, como el PLA se degradan inicialmente por hidrólisis y su degradación puede ser acelerada in vivo por la presencia de enzimas (104), lo cual conlleva a la liberación de sus respectivos monómeros (ácido láctico en este caso). Estos monómeros son incorporados dentro de los procesos fisiológicos a nivel celular, donde continúa su degradación y da inicio a la ruta metabólica .

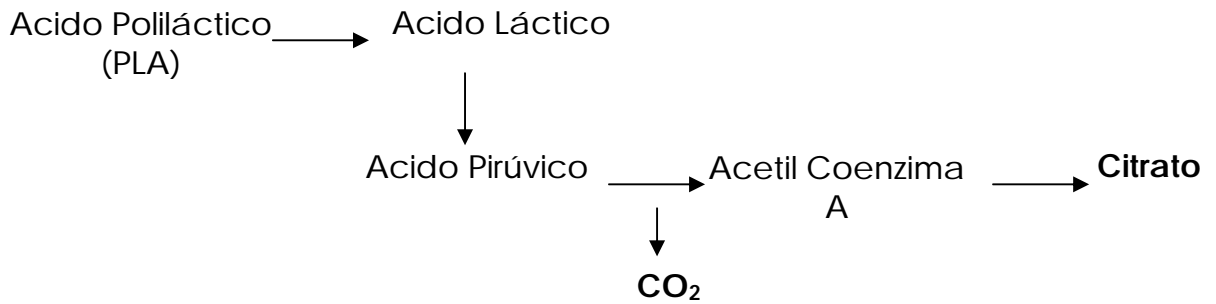


Figura 1. 12. Esquema simplificado de la degradación del PLA por el metabolismo.

La ruta metabólica del ácido láctico comienza con la transformación de lactato a piruvato por la acción de la enzima lactato deshidrogenasa, una vez convertido en piruvato, éste sufre una descarboxilación oxidativa para producir Acetilcoenzima A (Figura 1.15). Esta molécula puede entrar en el ciclo del ácido tricarbónico (o ciclo del ácido cítrico), el cual se lleva a cabo a nivel mitocondrial obteniéndose como resultado ATP por fosforilación oxidativa más agua y dióxido de carbono, los cuales son eliminados en la respiración y excretados por los riñones (ver Figura 1.16) (105;106).

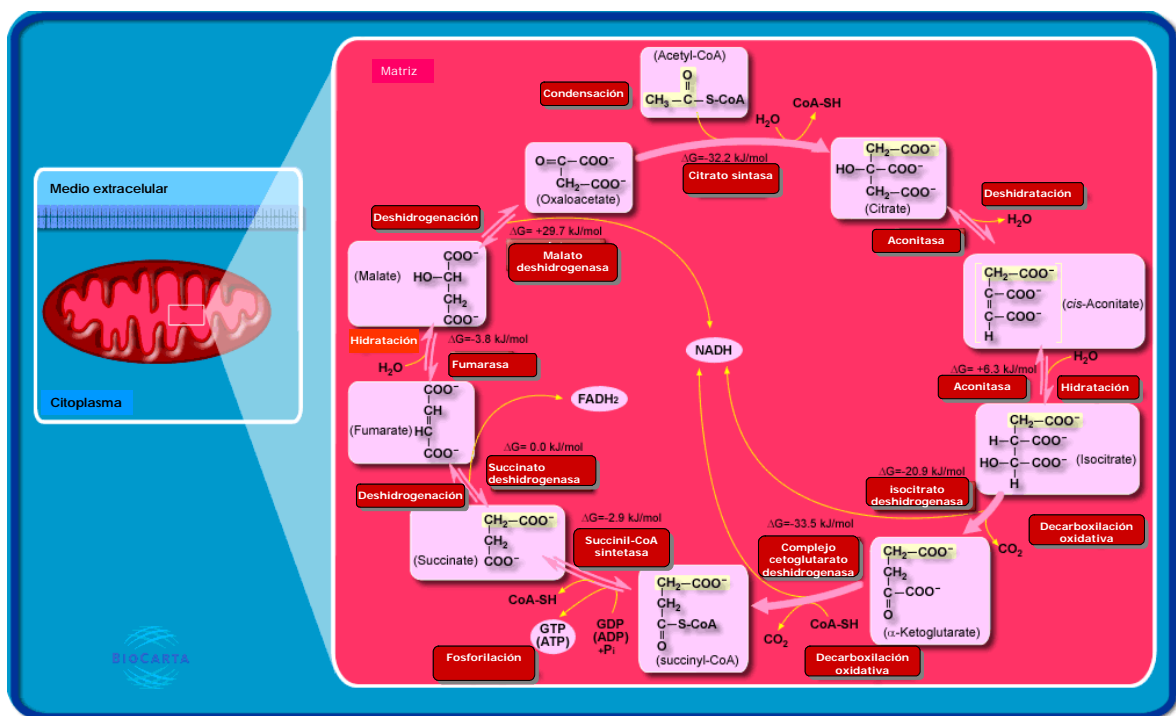


Figura 1. 13. Esquema detallado del ciclo del ácido tricarbónico [Adaptado de (107)].

Aplicaciones

El PLA es uno de los polímeros aprobados por la FDA desde 1995 (108). La principal ventaja del PLA y los polímeros degradables sobre los implantes metálicos en ortopedia es que los primeros transfieren las cargas a el área dañada a través del tiempo, permitiendo así la reparación de los tejidos y eliminando la necesidad de una segunda operación para retirar el implante. El PLA es actualmente utilizado en aplicaciones que no requieran altas prestaciones mecánicas como clavos para la unión de ligamentos y reparación de meniscos, suturas, tornillos y clavos para la fijación de fracturas y cirugía maxilofacial, liberación de fármacos y stents para cirugía cardiovascular (109;110).

El PLA no ha sido comercializado como placas de osteosíntesis para el soporte de huesos largos debido a los altos requerimientos mecánicos que esto supondría. Sin embargo, en la actualidad existen numerosos estudios dirigidos al desarrollo de polímeros con mayor resistencia y rigidez que puedan ser usados como placas de osteosíntesis, para esto se están estudiando materiales compuestos con matriz polimérica reforzados con fibras o partículas generalmente cerámicas o vítreas y en algunos casos, reforzados con fibras del mismo polímero (111).

Una de las aplicaciones más recientes del PLA es en el campo de la Ingeniería de Tejidos, la cual se basa en generar tejidos a partir de células del mismo paciente cuyo crecimiento es guiado in situ mediante andamios reabsorbibles (112-115). Este tipo de terapia ha sido estudiada para la regeneración de diferentes tejidos como lo son el tejido cutáneo, hepático, cardiovascular y más recientemente, el cartilaginoso y el tejido óseo (116-118). Hoy en día se encuentran en el mercado productos basados en ingeniería de tejidos para la reparación de tejido cutáneo. Otros tejidos como el óseo y el cartílago se encuentran todavía en fase de estudio (119;120;120;121).

El criterio de selección del tipo de PLA dependerá entonces de la aplicación. Así tenemos que, para aplicaciones que requieran mayores prestaciones mecánicas o una degradación del material a largo plazo, la forma semicristalina del PLA (L-PLA) será la indicada. Mientras que para aquellas aplicaciones donde las prestaciones mecánicas no sean lo más importante, pero si una reabsorción a tiempos menores, la forma amorfa del polímero (DL-PLA), será la indicada. También se pueden utilizar los copolímeros de L/DL-PLA para graduar tanto las propiedades mecánicas como la velocidad de degradación.

1.5. REFERENCIAS

- (1) The bone and joint decade. www.boneandjointdecade.org . 2005.
- (2) Bostrom M, Boskey A, Kaufman J, Einhorn TA. Form and Function of Bone. In: Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR, editors. Orthopaedic Basic Science, Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System. American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2000: 320-369.
- (3) Martini F. Osseus Tissue and Skeletal Structure. Fundamentals of Anatomy & Physiology. USA: Prentice Hall International, 1998: 172-194.
- (4) Bourne G. The Biochemistry and Physiology of Bone. New York: Academic Press, 1972.
- (5) Cowin SC. The mechanical properties of cortical bone tissue. In: Cowin SC, editor. Bone Mechanics. Philadelphia: CRC Press, 1991: 181.
- (6) Ontañón.M, Aparicio.C, Ginebra MP, Planell JA. Structure and Mechanical Properties of Bone. In: Elices M, editor. Structural Biological Materials. Amsterdam: Pergamon, 2000: 31-71.
- (7) Cowin SC, Van Burskirk WC, Ashman RB. Properties of bone. In: Shalak R, Chien S, editors. Handbook of Bioengineering. USA: Mc Graw Hill, 1987: 21.
- (8) Comín M, Peris JL. Comportamiento mecánico del tejido óseo. In: Instituto de Biomecánica de Valencia, editor. Biomecánica de la fractura ósea y técnicas de reparación. Valencia: 1999: 35.
- (9) Cormack DH. Bone. Ham's Histology. Philadelphia: Lippincott, 1987: 273-323.
- (10) Chao FC, Shepro D, Tullis JL, Belamarich FA, Curby WA. Similarities Between Platelet Contraction and Cellular Motility During Mitosis - Role of Platelet Microtubules in Clot Retraction. Journal of Cell Science 1976; 20(3):569-588.
- (11) The production of cytokines by fractures. Anheim, California: 1991.
- (12) Canalis E. Effect of Growth-Factors on Bone Cell Replication and Differentiation. Clinical Orthopaedics and Related Research 1985;(193):246-263.
- (13) Joyce ME, Jingshi S, Bolander ME. Transforming Growth Factor-Beta in the Regulation of Fracture Repair. Orthopedic Clinics of North America 1990; 21(1):199-204.
- (14) Park JY, Davies JE. Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. Clinical Oral Implants Research 2000; 11(6):530-539.
- (15) Ham AW. Some Histophysiological Problems Peculiar to Calcified Tissues. Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume 1952; 34-A(3):701-728.
- (16) Harris W, Ham AW. The mechanism of nutrition in bone and how it affects its structure, repair and transplantation. In: J&A Churchill, editor. Ciba Foundation Symposium on Bone Structure and Metabolism. London: 1956: 135.

- (17) Braun W, Ruter A. Fracture healing. Morphological and physiological aspects. *Unfallchirurg* 1996; 99(1):59-67.
- (18) Hench LL, Polak JM. Third-generation biomedical materials. *Science* 2002; 295(5557):1014-+.
- (19) Tissue Engineering. www.bme.utexas.edu/faculty/schmidt/research/TissEng/index.html . 2004.
- (20) Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 2000; 21:2529-2543.
- (21) Agrawal CM, Ray RB. Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research* 2001; 55(2):141-150.
- (22) Zhang Y, Zhang MQ. Synthesis and characterization of macroporous chitosan/calcium phosphate composite scaffolds for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research* 2001; 55(3):304-312.
- (23) Zardiackas LD, Dillon LD. Failure Analysis of Metallic Orthopaedic Devices. *Encyclopaedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering Part B*. New York: Marcel Dekker Inc., 1998.
- (24) Fracture Fixation systems. www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/visualFile . 2004.
- (25) Senn N. A new method of direct fixation of the fragments in compound and ununited fractures. *Trans Am Surg Assoc* 1893; 11:125-151.
- (26) Hey-Grooves E. Ununited fractures, with special reference to gunshot injuries and the use of bone grafting. *Br J Surg* 1918; 6:203-247.
- (27) Rush LV, Rush H.L. A reconstructive operation for comminuted fractures of the upper third of the ulna. *American journal of surgery* 1937; 38:332-333.
- (28) Latour RA. Fiber-Reinforced Composite Biomaterial for Orthopaedic Implant Applications. *Encyclopaedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering Part B*. New York: Marcel Dekker Inc., 1998.
- (29) Hansmann H. Eine neue methode der fixirung der fragmente bei complicirten fracturen. *Verhandl Deutsches Gesellsech F Chir* 1886; 15:332-333.
- (30) Park JB, Lakes RS. *Biomaterials. An Introduction*. 2nd ed. USA: Plenum Press, 1992.
- (31) Black J. *Biocompatibility: Definitions and Issues en Biological Performance of Materials*. New York: Dekker, 1992: 3.
- (32) Williams D. *Definitions in Biomaterials*. Amsterdam: Elsevier, 1987.
- (33) Ravaglioli A, Krajewski A. *Bioceramics*. Londres: Chapman & Hall, 1992.
- (34) Hench LL. Bioceramics: From concept to clinic. *Journal of the American Ceramic Society* 1991; 74(7):1487-1510.

- (35) Fisher RB. Joseph Lister. New York: Stein and Day, 1977.
- (36) Böstman O. Current concepts review. Absorbable implants for fracture fixation. *Journal of Bone Joint Surgery* 1991; 73A:148-153.
- (37) Törmälä P, Pohjonen T, Rokkanen P. Bioabsorbable Polymers: materials technology and surgical applications. *Proc Inst Mech Engrs* 1998; 212(H):101-111.
- (38) Rokkanen P. Bioabsorbable fixation in orthopaedic surgery and traumatology. *Biomaterials* 2000; 21:2607-2613.
- (39) An Y, Woolf SFR. Pre-clinical in vivo evaluation of orthopaedic bioabsorbable devices. *Biomaterials* 2000; 21:2635-2652.
- (40) Vallet-Regi M. Ceramics for medical applications. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* 2001;(2):97-108.
- (41) Driessens FCM, Verbeeck RMH. *Biomaterials*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1990.
- (42) Hench LL, Paschall HA. Direct Chemical Bond of Bioactive Glass-Ceramic Materials to Bone and Muscle. *Journal of Biomedical Materials Research* 1973; 7(3):25-42.
- (43) Piotrowski G, Hench LL, Allen WC, Miller GJ. Mechanical Studies of Bone Bioglass Interfacial Bond. *Journal of Biomedical Materials Research* 1975; 9(4):47-61.
- (44) Burnie J, Gilchrist T. Controlled release glasses (C.R.G.) for biomedical uses. *Biomaterials* 1981; 2:244.
- (45) Burnie J, Gilchrist T. Controlled release glass(C.R.G.) a new biomaterial. *Ceramics in Surgery* 1983; 17:169.
- (46) Vogel P, Wange P, Hartmann P. Phosphate glasses and glass-ceramics for medical applications. *Glasstech Ber Glass Sci Tech* 1997; 70(7):220.
- (47) Vogel P, Hartmann P, Schulze K. Resorbable, porous glasses and glass-ceramics. In: Vicenzini P, editor. *Materials in Clinical applications*. Techna,Srl., 1995: 59.
- (48) Brow RK. Review: the structure of simple phosphate glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids* 2000; 263-264:1-28.
- (49) Knowles JC. Phosphate based glasses for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry* 2003; 13(10):2395-2401.
- (50) Shaw CM, Shelby JE. The Effect of Stannous Oxide on the Properties of Stannous Fluorophosphate Glasses. *Physics and Chemistry of Glasses* 1988; 29(3):87-90.
- (51) Sales BC, Boatner LA. Physical and Chemical Characteristics of Lead Iron Phosphate Nuclear Waste Glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids* 1986; 79(1-2):83-116.
- (52) Loong CK, Suzuya K, Price DL, Sales BC, Boatner LA. Structure and dynamics of phosphate glasses: from ultra-to-orthophosphate composition. *Physica B* 1998; 241-243:890.
- (53) Mulligan AM, Wilson M, Knowles JC. The effect of increasing copper content in phosphate-based glasses on biofilms of *Streptococcus sanguis*. *Biomaterials* 2003; 24(10):1797-1807.

- (54) Gilchrist T, Glasby MA, Healy DM, Kelly G, Lenihan DV, McDowall KL et al. In vitro nerve repair - in vivo. The reconstruction of peripheral nerves by entubulation with biodegradable glass tubes - a preliminary report. *British Journal of Plastic Surgery* 1998; 51(3):231-237.
- (55) Cartmell SH, Doherty PJ, Rhodes NP, Hunt JA, Healy DM, Gilchrist T. Haemocompatibility of controlled release glass. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* 1998; 9(1):1-7.
- (56) Mulligan AM, Wilson M, Knowles JC. The effect of increasing copper content in phosphate-based glasses on biofilms of *Streptococcus sanguis*. *Biomaterials* 2003; 24(10):1797-1807.
- (57) Lenihan DV, Sojitra NM, Glasby MA. Stimulated jitter measurement in the assessment of recovery after different methods of peripheral nerve repair. *Journal of Hand Surgery-British and European Volume* 1998; 23B(1):12-16.
- (58) Gilchrist T, Glasby MA, Healy DM, Kelly G, Lenihan DV, McDowall KL et al. In vitro nerve repair - in vivo. The reconstruction of peripheral nerves by entubulation with biodegradable glass tubes - a preliminary report. *British Journal of Plastic Surgery* 1998; 51(3):231-237.
- (59) Toumba KJ, Curzon MEJ. Cost-effectiveness and benefit-cost of a slow fluoride releasing device. *Journal of Dental Research* 1997; 76:964.
- (60) Toumba KJ, Curzon MEJ. Slow-Release Fluoride. *Caries Research* 1993; 27:43-46.
- (61) Cartmell SH, Doherty PJ, Rhodes NP, Hunt JA, Healy DM, Gilchrist T. Haemocompatibility of controlled release glass. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* 1998; 9(1):1-7.
- (62) Allen WM, Sansom BF, Mallinson CB, Stebbings RJ, Drake CF. Boluses of Controlled Release Glass for Supplementing Ruminants with Cobalt. *Veterinary Record* 1985; 116(7):175-177.
- (63) Allen WM, Sansom BF, Gleed PT, Mallinson CB, Drake CF. Boluses of Controlled Release Glass for Supplementing Ruminants with Copper. *Veterinary Record* 1984; 115(3):55-57.
- (64) Hoppe U. A structural model for phosphate glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids* 1996; 195:138.
- (65) Zachariesen WH. *Journal of the American Chemical Society* 1932; 54:3841.
- (66) Westman AE, Crowther J. Constitution of soluble phosphate glasses. *Journal of the American Ceramic Society* 1954; 37(9):420.
- (67) Murthy MK, Smith MJ, Westman AE. Constitution of mixed-alkali phosphate glasses:I, constitution of constant lithium variable sodium potassium phosphate glasses. *Journal of the American Ceramic Society* 1961; 44(3):97.
- (68) Martin S. Review of the structures of phosphate glasses. *European journal of solid state inorganic chemistry* 1991; 28:163.
- (69) Van Wazer JR. Phosphorous and its compounds. New York: Interscience Publishers, Inc, 1958.

- (70) Hoppe U, Walter G, Kranold R, Stachel D, Barz A, Hannon A. Short-range order in ultraphosphate glasses. *Physica B* 1997; 234-236:388.
- (71) Suzuya K, Price DL, Loong CK, Martin S. Structure of vitreous P₂O₅ and alkali phosphate glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids* 1998; 232-234:650.
- (72) Nelson BN, Exarhos GJ. Vibrational spectroscopy of cation-site interactions in phosphate glasses. *Journal of Chemistry and Physics* 1979; 71(7):27-39.
- (73) Westman AE. Constitution of phosphate glasses. In: Mackenzie JD, editor. *Modern aspects of the vitreous state*. Londres: Butterworths, 1960: 63.
- (74) Hartmann P, Vogel P, Schnabel B. NMR study of phosphate glasses and glass ceramic structures. *Journal of Non-Crystalline Solids* 1994; 176:157.
- (75) Kasuga T, Abe Y. Calcium phosphate invert glasses with soda and titania. *Journal of Non-Crystalline Solids* 1999; 243:70-74.
- (76) Kasuga T, Sawada M, Nogami N, Abe Y. Bioactive Ceramics prepared by sintering and crystallization of calcium phosphate invert glasses. *Biomaterials* 1999; 20:1415.
- (77) Crowder C.E., Otaigbe JU, Barger MA, Sammler RL, Monahan BC, Quinn CJ. Melt crystallization of zinc alkali phosphate glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids* 1997; 210:209.
- (78) Efimov AM. IR fundamental spectra and structure of pyrophosphate glasses along the 2ZnO.P₂O₅-2MeO.P₂O₅ join (Me being Na and Li). *Journal of Non-Crystalline Solids* 1997; 209:209.
- (79) Brow RK, Tallant DR, Myers ST, Phifer CC. The short range structure of zinc polyphosphate glass. *Journal of Non-Crystalline Solids* 1995; 191:45.
- (80) LeGeros R, editor. *Calcium phosphate glasses with or without fluoride support proliferation and expression of human osteoblast phenotype in vitro.: Key Engineering Materials*, 2000.
- (81) Kulkarni R, Moore RG, Hegyeli AF, Leonard F. Biodegradable poly(lactic acid) polymers. *Journal of Biomedical Materials Research* 1971; 5:169-181.
- (82) Kulkarni RK, Pani KC, Neuman C, Leonard F. Polylactic Acid for Surgical Implants. *Archives of Surgery* 1966; 93(5):839-&.
- (83) Barber FA. Resorbable fixation devices: a product guide. *Orthopaedic Special Edition* 4, 1111-1117. 1998.
- (84) Ciccone W, Motz C, Bentley C, Tasto J. Bioabsorbable Implants in Orthopaedics: New Developments and Clinical Applications. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons* 2001; 9:280-288.
- (85) Elvira C, Gallardo A, San Román J, López BA. Polímeros biodegradables en medicina: diseño estructural y desarrollo de materiales. *Revista de Plásticos Modernos* 1999; 77:511.
- (86) Hoffman A. Synthetic polymeric biomaterials. In: Gebelein GC, editor. *Polymeric Materials and Organs*. Washington DC: American Chemical Society, 1984: 13-29.

- (87) Rosato D. Polymers, processes and properties of medical plastics including markets and applications. In: Szycher M, editor. Biocompatible polymers, metals and composites. Lancaster,PA: Technomic Publ.Co.Inc, 1983: 1019-1067.
- (88) Gilding DK. Biodegradable polymers for use in surgery-poglycolic/poly(lactic acid) homo-and copolymers: I. Polymer 1979; 20:1459-1464.
- (89) Barrows T. Degradable implants materials: a review of synthetic absorbable polymers and their applications. Clinical Materials 1986; 1:233-267.
- (90) Dunn RL. Clinical applications and update on the poly(alpha-hydroxy acids). In: Hollinger JO, editor. Biomedical applications of synthetic biodegradable polymers. Boca Raton: CRC Press, 1995: 17-31.
- (91) Heller J, Daniels AU. Poly(orthoesters). In: Shalaby S, editor. Biomedical polymers designed to degrade systems. New York: Hanser, 1994: 35-68.
- (92) Kohn J, Langer R. Bioresorbable and bioerodible materials. In: Ratner BD, Hoffman A, Schoen F, Lemons J, editors. Biomaterials Science. New York: Academic Press, 1996: 64-72.
- (93) Shalaby S. Synthetic absorbable polyesters. In: Shalaby S, editor. Biomedical Polymers. New York: Hanser, 1994: 1-34.
- (94) Zwiers RJM, Gogolewski S, Pennings AJ. General Crystallization Behavior of Poly(L-Lactic Acid) Plla .2. Eutectic Crystallization of Plla. Polymer 1983; 24(2):167-174.
- (95) Greco P, Martuscelli E. Crystallization and Thermal-Behavior of Poly(D(-)-3-Hydroxybutyrate)-Based Blends. Polymer 1989; 30(8):1475-1483.
- (96) Eling B, Gogolewski S, Pennings AJ. Biodegradable Materials of Poly(L-Lactic Acid) .1. Melt-Spun and Solution-Spun Fibers. Polymer 1982; 23(11):1587-1593.
- (97) Carothers WH, Dorough GL, Van Natta FJ. Studies of Polymerization and Ring Formation. The Reversible Polymerization of Six-Membered Cyclic Esters. Journal of the American Chemical Society 1932; 54:761-772.
- (98) Kricheldorf HR, Burger R. New Polymer Syntheses .65. New Terephthalic Acids with Aromatic Substituents and Thermotropic Polyesters Derived from Them. Makromolekulare Chemie-Macromolecular Chemistry and Physics 1993; 194(8):2183-2198.
- (99) Kricheldorf HR, Lee SR. Polylactones .32. High-Molecular-Weight Polylactides by Ring-Opening Polymerization with Dibutylmagnesium Or Butylmagnesium Chloride. Polymer 1995; 36(15):2995-3003.
- (100) Leenslag JW, Pennings AJ. Synthesis of High-Molecular-Weight Poly(L-Lactide) Initiated with Tin 2-Ethylhexanoate. Makromolekulare Chemie-Macromolecular Chemistry and Physics 1987; 188(8):1809-1814.
- (101) Michaeli W. Injection moulding of biodegradable implants. Clinical Materials 1992; 10:21-28.
- (102) Odian G. Principles of polymerization. 2nd ed. New York: Wiley Interscience, 1981.

- (103) Middleton JC, Tipton AJ. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials* 2000; 21(23):2335-2346.
- (104) Athanasiou KA, Agrawal CM, Barber FA, Burkhart SS. Orthopaedic applications for PLA-PGA biodegradable polymers. *Arthroscopy* 1998; 14(7):726-737.
- (105) Wang EA, Rosen V, Dalessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T et al. Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein Induces Bone-Formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1990; 87(6):2220-2224.
- (106) Agrawal CM, Niederauer G, Micallef D, Athanasiou KA. The use of PLA-PGA polymers in orthopaedics. In: Wise D, Trantolo D, Altobelli D, Yaszemski M, Greser J, Schwartz E, editors. *Encyclopaedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering. Part A. Materials*. New York: Marcel Dekker, 1995: 1055-1089.
- (107) Williams DF. Some observation on the role of cellular enzymes in the in vivo degradation of polymers. In: Syrett BC, Acharya A, editors. *ASTM Special Technical Publication, Corrosion and Degradation of Implant Materials*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1979: 61-75.
- (108) Hollinger JO, Battistone GC. Biodegradable Bone Repair Materials - Synthetic-Polymers and Ceramics. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1986;(207):290-305.
- (109) Brady JM, Cutright DE, Miller RA, BATTISTO GC, Hunsuck EE. Resorption Rate, Route of Elimination, and Ultrastructure of Implant Site of Polylactic Acid in Abdominal-Wall of Rat. *Journal of Biomedical Materials Research* 1973; 7(2):155-166.
- (110) The Citric Acid Cycle. www.biocarta.com/pathfiles/KrebPathway.asp . 2004.
- (111) Pietrzak WS, Verstynen ML, Sarver DR. Bioabsorbable fixation devices: Status for the craniomaxillofacial surgeon. *Journal of Craniofacial Surgery* 1997; 8(2):92-96.
- (112) Cohen B, Tasto J. Meniscal arrow. *Tech Orthop* 1998; 13:164-169.
- (113) Warme WJ, Arciero RA, Savoie FH, Uhorchak JM, Walton M. Nonabsorbable versus absorbable suture anchors for open Bankart repair - A prospective, randomized comparison. *American Journal of Sports Medicine* 1999; 27(6):742-746.
- (114) Törmälä P, Rokkanen P, Laiho J. Material for osteosynthesis devices. patent 743. 1988 1988.
- (115) Ashammakhi N, Suuronen R, Tiainen J, Tormala P, Waris T. Spotlight on naturally absorbable osteofixation devices. *Journal of Craniofacial Surgery* 2003; 14(2):247-259.
- (116) Kellomäki M, Niiranen H, Puumanen K, Ashammakhi N, Waris T, Tormala P. Bioabsorbable scaffolds for guided bone regeneration and generation. *Biomaterials* 2000; 21(24):2495-2505.
- (117) Vacanti CA, Vacanti JP. The science of tissue engineering. *Orthopedic Clinics of North America* 2000; 31(3):351-+.
- (118) Ochoa E, Vacanti JP. An Overview of the Pathology and Approches to Tissue Engineering. *Annals New York Academy of Sciences* 2002; 979:10-26.

- (119) Potten CS, Booth C. Keratinocyte stem cells: a commentary. *Journal of Investigative Dermatology* 2002; 119(4):888-899.
- (120) Mooney DJ, Park S, Kaufmann PM, Sano K, Mcnamara K, Vacanti JP et al. Biodegradable Sponges for Hepatocyte Transplantation. *Journal of Biomedical Materials Research* 1995; 29(8):959-965.
- (121) Stock UA, Sakamoto T, Hatsuoka S, Martin DP, Nagashima M, Moran AM et al. Patch augmentation of the pulmonary artery with bioabsorbable polymers and autologous cell seeding. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2000; 120(6):1158-1167.
- (122) Marra K, Szem J, Kumta P, DiMilla P, Weiss L. In vitro analysis of biodegradable polymer blend/hydroxyapatite composites for bone tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research* 1999; 47:324-335.
- (123) Boccaccini A, Notingher I, Maquet V, Jerome R. Bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams filled with and coated by Bioglass particles for tissue engineering applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2003; 14:443-450.
- (124) Cancedda R, Dozin B, Giannoni P, Quarto R. Tissue engineering and cell therapy of cartilage and bone. *Matrix Biology* 2003; 22:81-91.