

Capítulo 1

Introducción

Los materiales porosos existen en una amplia variedad de aplicaciones ingenieriles, fundamentalmente debido a sus buenas propiedades mecánicas, flexibilidad de diseños y elevada reproducibilidad. Se pueden encontrar, por ejemplo, en la industria química como filtros, en edificaciones formando parte de intercambiadores de calor o como materiales aislantes, o incluso, más recientemente, dentro del cuerpo humano como parte de huesos o como *scaffolds* (pequeñas piezas porosas) típicos de la ingeniería de tejidos. Los materiales porosos se pueden definir como una matriz sólida que contiene vacíos o huecos.

Uno de los últimos campos de aplicación de los materiales porosos, como se ha dicho, lo constituye la ingeniería de tejidos. Materiales porosos, los denominados *scaffolds*, con células adheridas gracias a un proceso previo de cultivo y crecimiento de las mismas, son usados como implantes para, por ejemplo, lograr la curación de grandes huesos catastróficamente dañados.

Para este tipo de materiales porosos con aplicaciones biológicas, se requiere un perfecto equilibrio entre propiedades mecánicas y compatibilidad biológica. Existen diferentes tipos de materiales que podrían ser usados para satisfacer estos requerimientos. El trabajo que se presenta a continuación abordará los estudios realizados con *scaffolds* fabricados con dos de estos materiales: una aleación de titanio, Ti6Al4V, y un polímero, PCL (policaprolactona).

Acerca de las técnicas de fabricación de *scaffolds*, las de fabricación de sólidos de formas libres (SFF, *solid free-form*) o, comúnmente llamadas, de prototipado rápido (RP, *rapid prototyping*) son las más utilizadas. La principal ventaja que ofrece esta familia de técnicas es la posibilidad de obtener la geometría deseada de la pieza porosa, tanto interna como externa, controlando la morfología de los poros así como las propiedades macro-estructurales más importantes. De entre las diferentes técnicas RP existentes, los *scaffolds* de Ti6Al4V fueron fabricados con la técnica de fusión selectiva con láser (SLM, *selective laser melting*), y los *scaffolds* de PCL con la técnica de modelado por deposición de fundidos (FDM, *fuse deposition modelling*). Como se ha comentado, las técnicas RP ofrecen un elevado control sobre la morfología de las estructuras porosas, no así sobre las propiedades superficiales de las mismas. Puesto que tanto el tamaño de superficie disponible en los *scaffolds* como la rugosidad superficial de los mismos son dos de los parámetros más importantes que van a permitir a las células anclarse y proliferar en torno a los *scaffolds*, se desarrollaron diferentes procedimientos de modificación de la rugosidad superficial de los mismos, y se buscó un control robusto de los efectos que dichas modificaciones iban a provocar. De esta manera, si se puede caracterizar el efecto que sobre la propia rugosidad y las propiedades morfológicas y mecánicas tiene la modificación de la rugosidad superficial de los *scaffolds*, se podrá dar un importante paso para lograr un protocolo de modificación de rugosidad superficial que permita poder conseguir *scaffolds* con las propiedades morfológicas, mecánicas y de rugosidad deseadas.

Capítulo 2

Materiales

En el presente trabajo se utilizaron dos tipos de materiales para fabricar los *scaffolds* típicos de la ingeniería de tejidos: una aleación de titanio, Ti6Al4V, y el polímero policaprolactona, PCL.

2.1 *Scaffolds* de aleación de titanio, Ti6Al4V

Los *scaffolds* de Ti6Al4V, como ya se dijo, fueron fabricados con la técnica de fusión selectiva con láser, SLM. Esta técnica consiste en ir construyendo capa a capa la estructura diseñada fundiendo selectivamente los polvos de metal por la acción de un láser y CO₂.

Tres variaciones diferentes de diseño de *scaffolds* se han estudiado en el presente trabajo, teniendo todas la misma celda unidad pero diferente diámetro de las barras, a saber, 100 µm (serie 100), 140 µm (serie 140) y 180 µm (serie 180), respectivamente.

2.2 *Scaffolds* de policaprolactona, PCL

Los *scaffolds* de PCL, como ya se comentó, fueron reproducidos con otra técnica RP, la de modelado por deposición de fundidos, FDM. Con esta técnica se van depositando series de barras paralelas de material fundido previamente extruido que, tras sucesivos cambios en la dirección de deposición del material, van formando la estructura previamente diseñada.

Dos diseños diferentes de *scaffolds* de PCL se han implementado y estudiado, unos con una secuencia de apilamiento 0-45-90-45' (serie A) y otros con una secuencia de apilamiento 0-90 (serie B).

Capítulo 3

Medios empleados

3.1 Modificación de la rugosidad superficial

3.1.1 *Scaffolds* de aleación de titanio, Ti6Al4V

Con el objeto de eliminar las heterogeneidades en los *scaffolds* de Ti6Al4V procedentes de fábrica y de conseguir estructuras que permitan un mejor anclaje y proliferación de las células, se siguió un procedimiento en dos etapas para la modificación de la rugosidad superficial de las piezas: (i) ataque químico y (ii) pulido electrolítico.

3.1.1.1 Ataque químico

El proceso de modificación de rugosidad superficial conocido como ataque químico se usó para eliminar todos aquellos granos y demás impurezas superficiales que no se habían fundido y que se habían quedado adheridos a la superficie de las barras durante el proceso de fabricación de la estructura.

3.1.1.2 Pulido electrolítico

Como resultado del ataque químico llevado a cabo sobre los *scaffolds*, su superficie quedó libre de polvos sin fundir, pero contenía micro-picaduras y estrías, tanto más cuanto más grande había sido su concentración de impurezas y granos sin fundir. El objetivo del pulido electrolítico fue conseguir una superficie más homogénea y controlada.

En la figura 3.1 se muestran imágenes SEM de una barra de *scaffold* de Ti6Al4V después de ser fabricada, con granos no fundidos adheridos a su superficie, la misma barra después de haber sido sometida al proceso de pulido químico donde se observa que los granos adheridos han sido eliminados pero han aparecido micro-picaduras y estrías y, finalmente, después de los procesos de pulido químico y electrolítico que dan lugar a una superficie suave y homogénea.

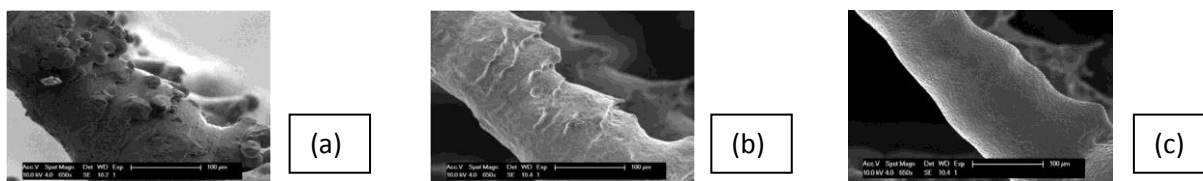


Figura 3.1. Imágenes SEM de: (a) barra de scaffold de Ti6Al4V recién salida de fábrica, (b) la misma barra después del proceso de pulido químico y (c) la misma barra después de los procesos de pulido químico y electrolítico

3.1.2 Scaffolds de policaprolactona, PCL

Para los *scaffolds* fabricados con PCL, las modificaciones de rugosidad superficial fueron llevadas a cabo con dos tratamientos alcalinos diferentes: un grupo de *scaffolds* se trató con NaOH y otro grupo de *scaffolds* con KOH. El propósito fue la obtención de propiedades superficiales más controladas y una mejor adhesión y proliferación de las células. La figura 3.2 ilustra los cambios en la morfología superficial que aparecieron debido a los dos tratamientos llevados a cabo.

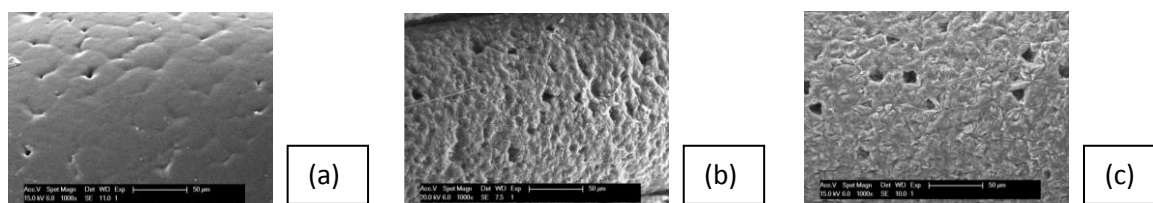


Figura 3.2. Imágenes SEM de: (a) barra de un scaffold de PCL recién salida de fábrica, (b) barra de scaffold de PCL después del tratamiento con KOH, (c) barra de scaffold de PCL después del tratamiento con NaOH

3.2 Técnicas de caracterización

3.2.1 Principio de Arquímedes

Con el objeto de determinar la densidad y la porosidad de todos los *scaffolds*, el test de Arquímedes fue llevado a cabo. La densidad de un *scaffold* puede ser fácilmente obtenida si la densidad del líquido en el que está sumergido, en este caso etanol, es conocida. Para calcular la porosidad de los *scaffolds*, basta restar el volumen que ocuparía el cilindro macizo con las dimensiones del *scaffold* y el volumen real que ocupa el *scaffold*.

3.2.2 Tomografía computerizada de microfoco de rayos X (micro-CT)

La tomografía computerizada de microfoco de rayos X (micro-CT, *microfocus X-ray Computed Tomography*) es una técnica de caracterización no destructiva que permite llevar a cabo un estudio preciso de las propiedades internas y externas del

material. El escáner con micro-CT se realizó con todos los *scaffolds* para caracterizarlos morfológicamente antes y después de los cambios de rugosidad superficial introducidos y para calcular, a sí mismo, la rugosidad superficial de los mismos. El objetivo fue investigar el efecto que las modificaciones en la rugosidad superficial introducían en los parámetros morfológicos más importantes de las piezas como el porcentaje de volumen objeto, superficie objeto, ratio superficie/volumen objeto, espesor de la estructura, separación en la estructura y porcentaje total de porosidad. Además, la micro-CT de alta resolución se utilizó para determinar la rugosidad superficial de las barras internas de la estructura.

3.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La técnica de caracterización de materiales conocida como microscopía electrónica de barrido (SEM, *Scanning Electron Microscopy*) reproduce imágenes de la superficie del material con una alta precisión y elevada definición bombardeando a la pieza con un haz de electrones acelerados. Al contrario que la técnica de micro-CT, SEM puede estudiar únicamente el exterior del material, pero es muy útil para caracterizar su morfología superficial y para calcular la rugosidad de las barras del *scaffold* que se localizan en la zona exterior del mismo. Las imágenes SEM de los *scaffolds* de Ti6Al4V fueron tomadas antes y después del ataque químico y después del pulido electrolítico para dos lados opuestos de cada una de las piezas y para tres barras localizadas en diferentes zonas de las mismas (zona superior, media e inferior del *scaffold*).

3.2.4 Ensayos mecánicos

Para los ensayos mecánicos sobre los *scaffolds* se utilizó una plataforma de carga con cabezales adaptados a un ensayo de compresión. Los *scaffolds* de los diferentes diseños y materiales fueron comprimidos de manera continua hasta que fallaron y, de esta forma, se obtuvieron las principales propiedades mecánicas: el módulo elástico, la tensión máxima de compresión y la deformación máxima de compresión. Además de esto, nuevos ensayos de compresión se llevaron a cabo sobre los *scaffolds* de Ti6Al4V que habían sufrido alguna modificación superficial con el objeto de estudiar el efecto de dichas modificaciones superficiales sobre las principales propiedades mecánicas. Para los *scaffolds* de PCL, únicamente se llevaron a cabo ensayos de compresión para las piezas antes de que sufrieran cualquier modificación superficial. Los ensayos se hicieron para una carga fija.

Capítulo 4

Experimentos previos

El presente trabajo se inició con la caracterización y comparación de dos series de *scaffolds* de Ti6Al4V con un espesor de barras teórico de 100 μm , con el objeto de estudiar el efecto que la reducción de la rugosidad superficial podía tener en la proliferación de las células biológicas ancladas a la estructura porosa. Una de las series de *scaffolds* se llamó “de fábrica” y la otra “modificados superficialmente”. Todos los *scaffolds* fueron caracterizados morfológica y mecánicamente antes de sufrir cualquier modificación superficial. Para los *scaffolds* “modificados superficialmente” un procedimiento en tres etapas fue llevado a cabo para reducir su rugosidad superficial, y una nueva caracterización morfológica y mecánica fue llevada a cabo buscando encontrar los efectos de dichas modificaciones superficiales. Tres *scaffolds* de cada serie (“de fábrica” y “modificados superficialmente”) fueron cortados por la mitad y se sometieron a experimentos de proliferación de células in vitro.

Las tres etapas de modificación de la rugosidad superficial que se llevaron a cabo sobre los *scaffolds* “modificados superficialmente” fueron las siguientes:

- 1) Ataque químico: eliminación de los polvos no fundidos durante el proceso de fabricación de los *scaffolds*.
- 2) Pulido electrolítico: obtención de una superficie más suave y homogénea.
- 3) Ataque químico: etapa extra para introducir micro- o nano-picaduras y surcos para mejorar el anclaje y proliferación de las células biológicas. Esta etapa no estaba incluida en el procedimiento estándar de modificación de la rugosidad superficial, pero se pensó que podía ser interesante también el estudio del efecto que podía tener en la mejora del comportamiento de las células en la estructura.

Las principales propiedades morfológicas derivadas de los estudios con micro-CT para los *scaffolds* de ambas series, es decir, para los *scaffolds* “de fábrica” y para los *scaffolds* “modificados superficialmente” fueron obtenidas. El porcentaje de volumen objeto para los *scaffolds* “modificados superficialmente” disminuyó cuando las modificaciones de rugosidad superficial fueron hechas, lo cual es lógico puesto que se está buscando la eliminación de material para dejar las piezas más suaves y más homogéneas en sus superficies. Por consiguiente, tanto la superficie objeto como el espesor de la estructura también disminuyeron para esta serie, mientras que el porcentaje de porosidad total se incrementó.

Se intuyó que la densidad de corriente aplicada durante la etapa de pulido electrolítico iba a jugar un importante papel en las propiedades morfológicas de los *scaffolds* de Ti6Al4V. Se define como la corriente dividida por la superficie objeto. Para el pulido electrolítico, una corriente constante de 1,2 A fue usada para todos los *scaffolds*. De acuerdo con la definición de densidad de corriente, cuanto más pequeño sea el espesor de la estructura, más pequeña será la superficie objeto y, por tanto, mayor será la densidad de corriente. La figura 4.1 muestra los valores de densidad de corriente en función del espesor de la estructura. Se observa una relación lineal, como se había intuido, y una tendencia decreciente, como era de esperar.

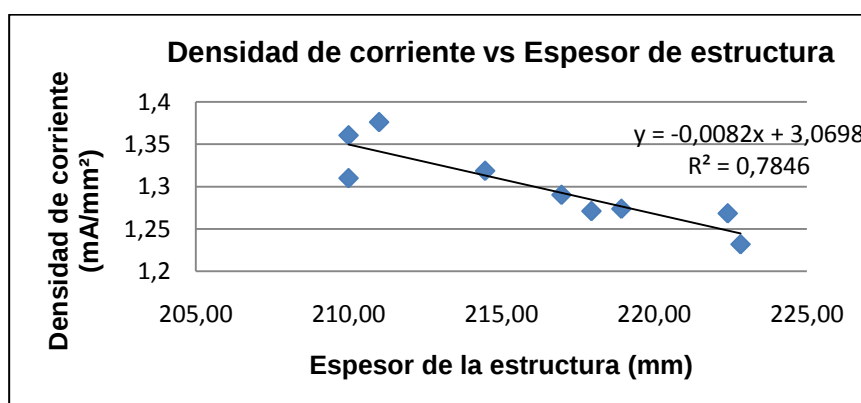


Figura 4.1. Densidad de corriente en función del espesor de la estructura

Incluso con diferencias de menos de 15 μm en el espesor de la estructura, una pequeña disminución en la densidad de corriente puede ser observada. Por tanto, parece interesante para pruebas posteriores estudiar en profundidad la relación entre densidad de corriente y el espesor de la estructura.

Para estudiar la respuesta biológica de los *scaffolds* ante el cultivo de células en ellos, fueron llevadas a cabo medidas de ADN. Se trató de cuantificar el total de células (osteogénicas) derivadas del periosteo humano (hPDCs, *human periosteum derived cells*) capaces de sobrevivir sobre los *scaffolds* para diferentes rugosidades superficiales. Los diferentes experimentos desarrollados revelaron diferencias en el comportamiento de las células osteogénicas cultivadas en los *scaffolds* de Ti6Al4V con diferentes rugosidades superficiales. Los análisis de ADN indicaron una mejor proliferación de las células a lo largo de las barras de los *scaffolds* que habían sufrido una modificación superficial, incluso habiendo disminuido la superficie disponible debido a la reducción de masa. Esto implicó asumir que los cambios en la rugosidad superficial de las barras de los *scaffolds* pueden ser determinantes para controlar el anclaje y proliferación de las células. Por estas razones y, buscando estudiar el papel que la densidad de corriente puede jugar en la etapa de pulido electrolítico, se recomendó a continuación la realización de experimentos que incluyeran modificaciones superficiales sobre *scaffolds* con diferentes diseños.

Capítulo 5

Objetivos

Uno de los principales objetivos de la ingeniería de tejidos es el de optimizar el diseño de los *scaffolds* porosos para obtener mejores propiedades biológicas sin perder las características mecánicas. Después de analizar los resultados de la primera parte del presente trabajo, resulta claro que los procedimientos de modificación superficial no están del todo controlados y necesitan, por tanto, ser optimizados.

Es, por tanto, el objetivo del presente proyecto desarrollar una caracterización en profundidad del efecto que sobre las propiedades morfológicas y mecánicas, así como sobre la propia rugosidad superficial, tiene la modificación de dicha rugosidad superficial de los *scaffolds* porosos, para que, de este modo, el propio procedimiento de modificación pueda ser optimizado y llevado a cabo de una manera más controlada y robusta con la finalidad última de obtener *scaffolds* con las propiedades deseadas.

Capítulo 6

Caracterización morfológica y mecánica

Con el objeto de caracterizar en profundidad el efecto que los procedimientos de modificación de la rugosidad superficial en los *scaffolds* de Ti6Al4V tienen sobre las propiedades morfológicas y mecánicas de los mismos, así como sobre su propia rugosidad superficial, tres diseños de *scaffolds* fueron analizados: serie 100, serie 140 y serie 180 (con espesores de barras teóricos de 100 μm , 140 μm y 180 μm , respectivamente). Así mismo, se trató de relacionar los resultados obtenidos en la parte de caracterización con algunas de las propiedades concernientes a la modificación de la rugosidad superficial más determinantes, como la densidad de corriente.

6.1 Densidad y porosidad

Se utilizó el test de Arquímedes para calcular la densidad y porosidad de todos los *scaffolds* de Ti6Al4V del presente trabajo, antes de cualquier modificación de rugosidad superficial. Se obtuvieron valores similares de densidad para las tres series, lo cual es lógico puesto que el material del que están hechos todos los *scaffolds* es el mismo. Sin embargo, los valores de porosidad disminuyen desde la serie 100 hasta la 180, puesto que el espesor de las barras va en aumento.

6.2 Medidas de masa

La masa de cinco *scaffolds* porosos de Ti6Al4V de cada una de las series fue medida, antes de cualquier modificación de la rugosidad superficial, después del ataque químico (CH, *Chemical Etching*) y después del pulido electrolítico (EP, *Electrochemical Polishing*). Los resultados reflejaron que había habido una reducción

de masa tras los dos procesos de modificación de la rugosidad superficial, especialmente tras el ataque químico, puesto que la mayor parte de los granos no fundidos y otras impurezas fueron eliminados.

6.3 Caracterización morfológica basada en micro-CT

Uno de los parámetros morfológicos más importantes que tuvieron que ser evaluados en función de la modificación de la rugosidad superficial para la optimización de los propios procesos de modificación superficial con vistas a posteriores experimentos biológicos fue el espesor de las barras para las tres series de *scaffolds* de Ti6Al4V y después de cada una de las etapas de la modificación. Intrínsecamente, este parámetro puede dar información acerca de la eficiencia de cada una de las etapas de modificación de la rugosidad superficial. Se utilizó el análisis de imágenes de micro-CT para llevar a cabo la caracterización morfológica de todas las series de *scaffolds*. La densidad de corriente obtenida tras el estudio fue entonces relacionada con los cambios en masa y espesor de barras resultantes para así poder buscar el mejor valor que pudiera implementarse en experimentos futuros.

Las figuras 6.1, 6.2 y 6.3 representan las distribuciones de espesor de barras para cada serie de *scaffolds* antes de cualquier modificación superficial, después del ataque químico y después del pulido electrolítico.

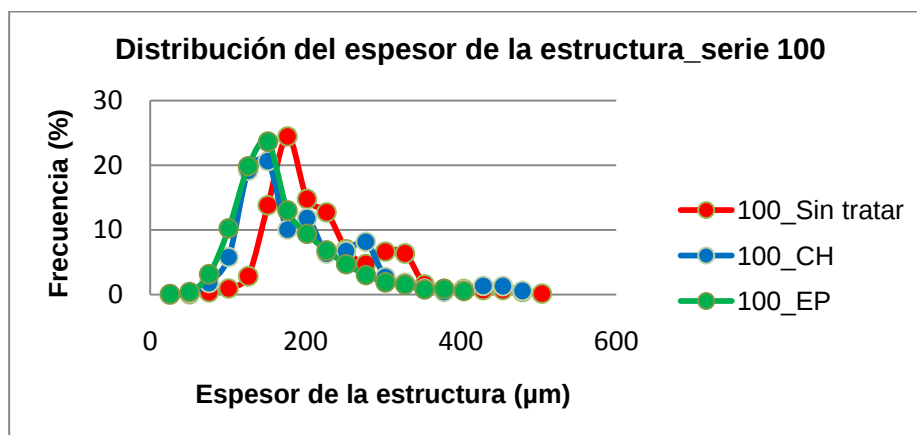


Figura 6.1. Distribución del espesor de barras para la serie 100 antes de cualquier modificación superficial, después del ataque químico y después del pulido electrolítico

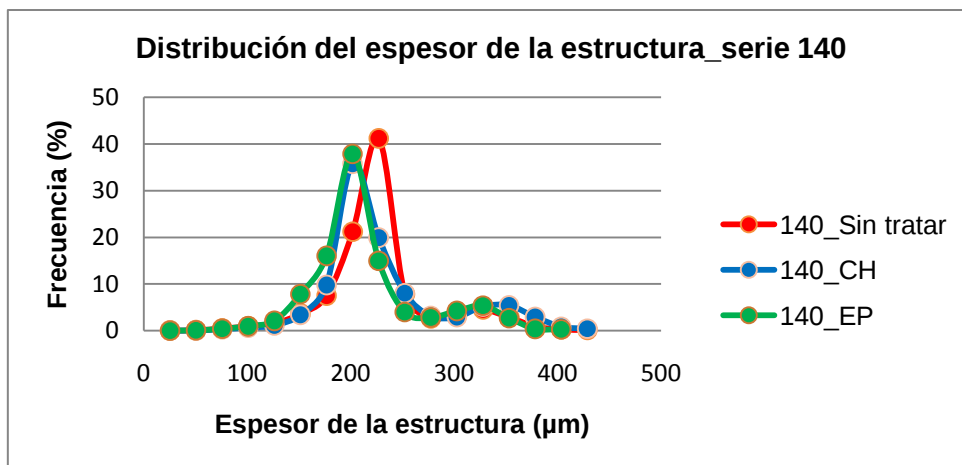


Figura 6.2. Distribución del espesor de barras para la serie 140 antes de cualquier modificación superficial, después del ataque químico y después del pulido electrolítico

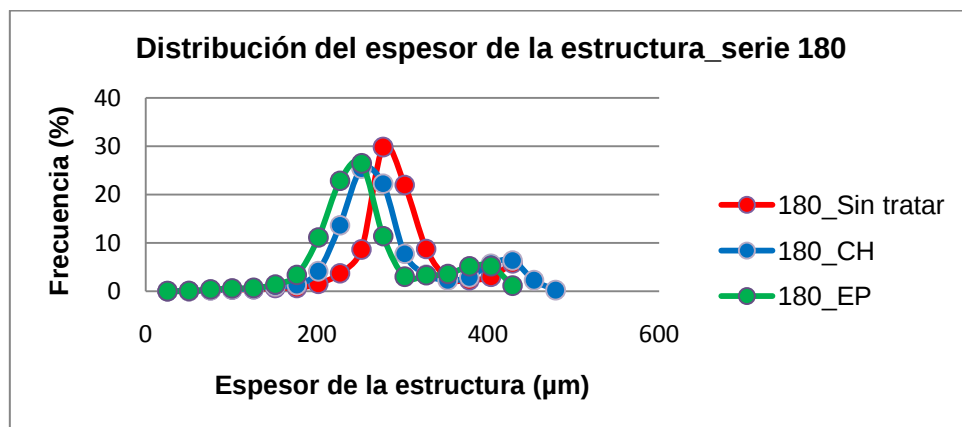


Figura 6.3. Distribución del espesor de barras para la serie 180 antes de cualquier modificación superficial, después del ataque químico y después del pulido electrolítico

La reducción en el espesor de barras medio se puede apreciar en las figuras 6.1, 6.2 y 6.3, donde los picos de las curvas representan los espesores principales de las estructuras. El pico principal de la curva de después del pulido electrolítico no se mueve respecto a la curva de después del ataque químico en ninguna de las series de *scaffolds*, indicando que el espesor global de barras no se reduce significativamente debido a esta última etapa. La curva de después del pulido electrolítico muestra, sin embargo, una reducción en los otros picos o incluso un desplazamiento de dichos picos hacia valores menores de espesor, indicando que la rugosidad de las barras se reduce debido a dicha etapa.

6.4 Correlaciones con la densidad de corriente

Como se descubrió en la primera parte del presente trabajo, la densidad de corriente cambia incluso con diferencias ínfimas de los espesores de las barras de la estructura, y esto puede acarrear diferentes efectos del pulido electrolítico sobre el espesor de barras. Tras representar de nuevo la densidad de corriente frente al espesor de barras de los

scaffolds, la pendiente de la recta ajustada a los valores salió negativa. Debido a que la densidad de corriente se define como la corriente dividida por la superficie objeto, cuando el espesor de las barras aumenta y, por tanto, también la superficie disponible, la densidad de corriente disminuye. Por consiguiente, se concluyó que se había aplicado una densidad de corriente distinta para los diferentes espesores de barras durante la etapa de pulido electrolítico y, por tanto, una reducción de masa y de espesor diferentes tras dicha etapa se esperaron para cada una de las tres series de *scaffolds*.

Se estudió también la relación entre la reducción de masa después de la etapa de pulido electrolítico y la densidad de corriente y se descubrió que existía una relación lineal entre el porcentaje de reducción de masa y la densidad de corriente. Como era de esperar, mayores valores de densidad de corriente provocaron mayores reducciones de masa.

También se analizó la relación entre la reducción del espesor medio de barras y la densidad de corriente, y se obtuvo que a mayores valores de densidad de corriente corresponden mayores reducciones en el espesor promedio de barras. Por tanto, un mayor valor de porcentaje de reducción del espesor de la estructura sería esperado para las series con menores espesores de barras.

6.5 Módulo elástico, tensión máxima y deformación bajo tensión máxima

Las propiedades mecánicas de las tres series de *scaffolds* fueron calculadas antes de cualquier modificación de la rugosidad superficial y después de la etapa de pulido electrolítico para cuantificar el efecto de las modificaciones en la rugosidad superficial sobre el comportamiento mecánico de las piezas. Se observó un descenso tanto en el módulo de elasticidad como en la tenacidad, tras las modificaciones de rugosidad superficial. Esto fue debido a que, tras el pulido electrolítico, el espesor de la estructura se redujo y, por tanto, una menor área transversal estuvo disponible para soportar la carga de compresión lo que conllevó a una disminución en los valores de las propiedades mecánicas antes referidos. Por otro lado, se apreció que las modificaciones de rugosidad superficial sólo tenían un efecto limitado en la deformación bajo tensión máxima.

Así mismo se estudió la relación entre la reducción de las propiedades mecánicas y el espesor de la estructura obteniéndose una relación lineal tanto del porcentaje de reducción del módulo elástico como de la máxima tensión con el espesor de la estructura. Esto significa que cuanto mayor es el espesor de las barras del *scaffold*, menor será la reducción de las propiedades mecánicas. Relacionando estos resultados con los valores de densidad de corriente obtenidos anteriormente, valores bajos de densidad de corriente se van a corresponder con pequeñas reducciones de espesores y también con pequeñas reducciones en las propiedades mecánicas.

Capítulo 7

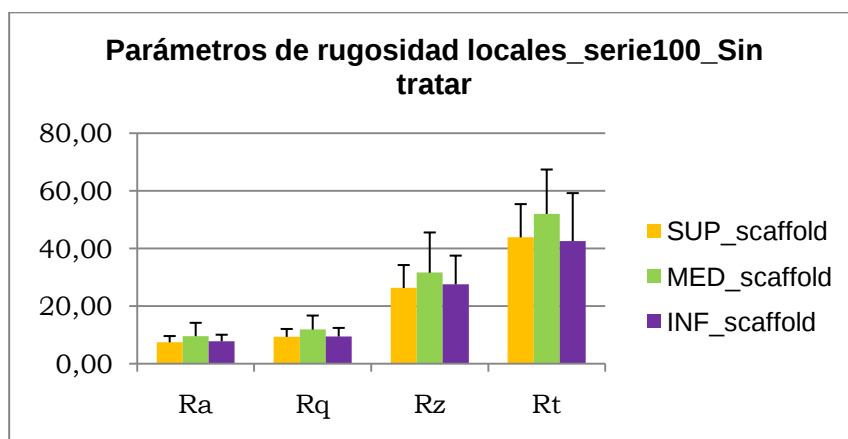
Técnicas de medida de la rugosidad

Puesto que la rugosidad, como se ha visto, juega un papel crucial en el comportamiento de las células sobre los *scaffolds* de Ti6Al4V, uno de los principales objetivos del presente trabajo consistió en cuantificar la rugosidad superficial de la manera más precisa posible. Con esta intención, se usaron y compararon dos técnicas diferentes: (i) técnica basada en imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) y (ii) técnica basada en imágenes de tomografía computerizada de microfoco de rayos X (micro-CT) de alta resolución. Mientras que la técnica basada en imágenes SEM permite cuantificar la rugosidad superficial tan sólo en la parte exterior del *scaffold*, la técnica basada en micro-CT de alta resolución va más allá estudiando incluso la rugosidad de barras que se encuentran en el interior de la pieza, sin necesidad de cortar o dañar a la misma.

7.1 Medidas de rugosidad basadas en imágenes SEM

Para el estudio de la rugosidad basado en imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM), seis partes superiores e inferiores de barras en tres zonas (superior, media e inferior) de dos caras opuestas de cinco *scaffolds* de cada una de las series fueron analizadas, tanto antes de llevar a cabo ninguna modificación de la rugosidad, como después de la etapa de ataque químico y después de la de pulido electrolítico. Se estudiaron los siguientes parámetros de rugosidad: R_t , que se conoce como el máximo pico de rugosidad, R_a , que es la rugosidad promedio, R_q , que se calcula como la raíz cuadrada del promedio de rugosidad, y R_z , que se define como la separación media entre 10 picos y 10 valles.

La figura 7.1 refleja las diferencias en rugosidad medidas en las zonas superior, media e inferior de los *scaffolds* de Ti6Al4V para la serie 100. Tómese esta serie como ejemplo de medición de la rugosidad superficial.



(a)

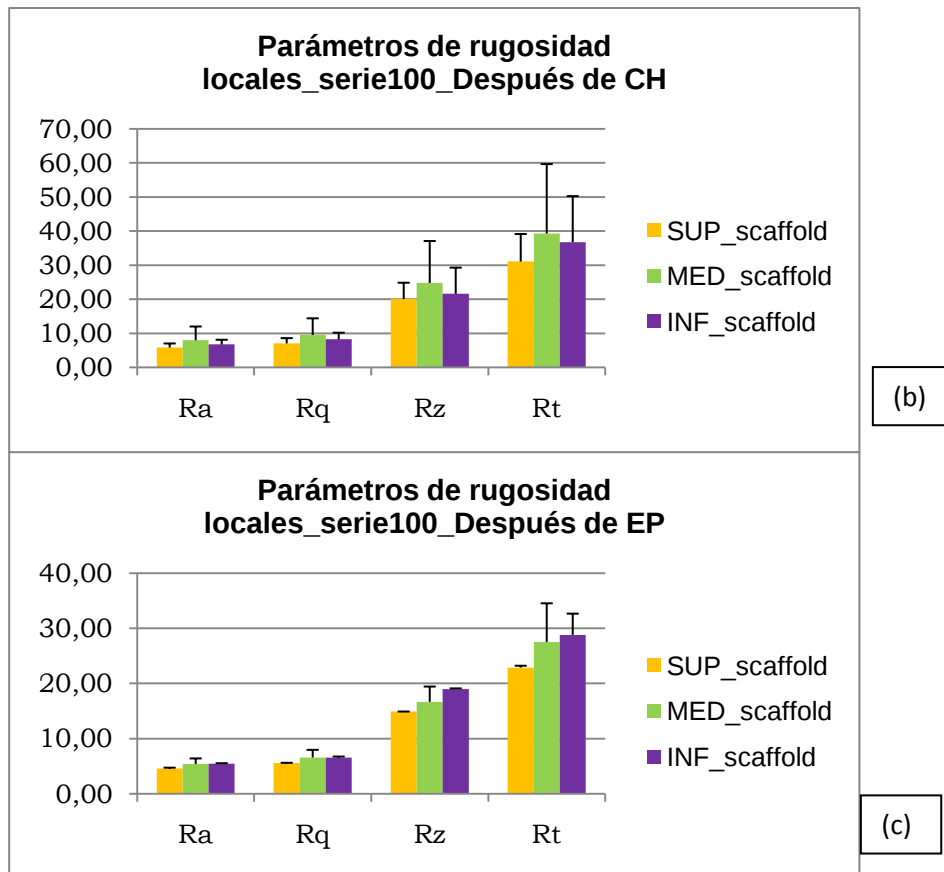


Figura 7.1. Parámetros de rugosidad basados en imágenes SEM de las zonas superior (SUP), media (MED) e inferior (INF) de los scaffolds de la serie 100 para las tres etapas de modificación de la rugosidad superficial: (a) antes de cualquier modificación superficial, (b) después de la etapa de ataque químico (CH) y (c) después de la etapa de pulido electrolítico (EP)

Para los *scaffolds* de Ti6Al4V de la serie 100 antes de cualquier modificación de la rugosidad superficial, los mayores valores de los cuatro parámetros de rugosidad se encontraron en la zona media de los *scaffolds*, mientras que en las zonas superior e inferior los valores fueron similares, si bien estas diferencias pueden considerarse no significativas. Por tanto, pequeñas heterogeneidades en la distribución de la rugosidad se encontraron en los *scaffolds* de Ti6Al4V recibidos de fábrica. Después de la etapa de ataque químico, la misma tendencia fue observada pero para valores de rugosidad menores. Por tanto, puede considerarse que dicha etapa se desarrolló de manera homogénea. Tras la última etapa de modificación de la rugosidad superficial, el pulido electrolítico, esta tendencia cambió ya que los mayores valores de los cuatro parámetros de rugosidad se localizaron en la zona inferior de los *scaffolds*, y los menores en la zona superior. Es asumible, por consiguiente, un proceso de pulido electrolítico heterogéneo puesto que la reducción de rugosidad fue mayor en las zonas superior y media de los *scaffolds*.

La figura 7.2 muestra de nuevo diferencias en las medidas de rugosidad cuando se analizan las zonas superior e inferior de las barras de los *scaffolds*, para la serie 100. Tendencias similares se observan en el resto de las series.

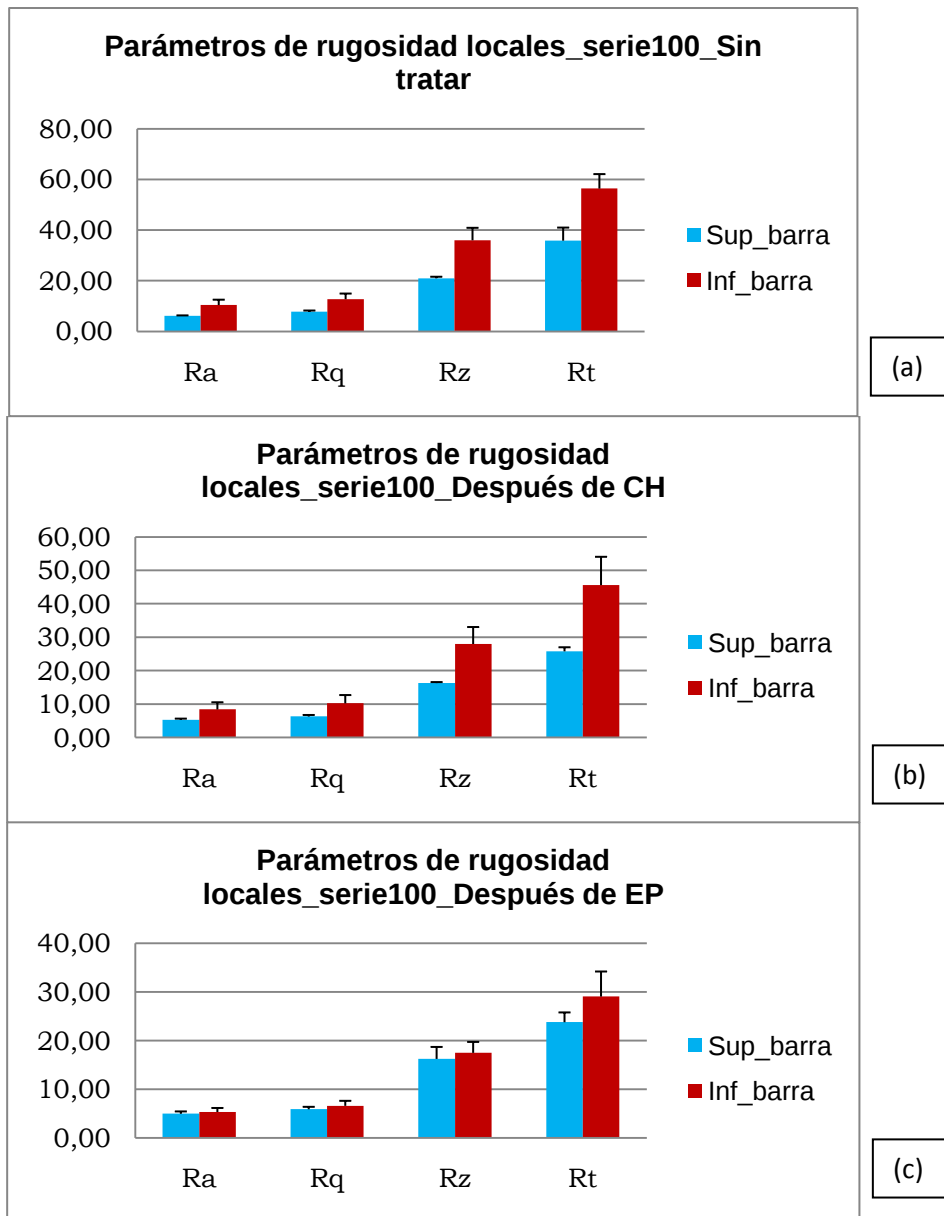


Figura 7.2. Parámetros de rugosidad basados en imágenes SEM de las zonas superior (Sup) e inferior (Inf) de las barras de los scaffolds de la serie 100 para las tres etapas de modificación de la rugosidad superficial: (a) antes de cualquier modificación superficial, (b) después de la etapa de ataque químico (CH) y (c) después de la etapa de pulido electrolítico (EP)

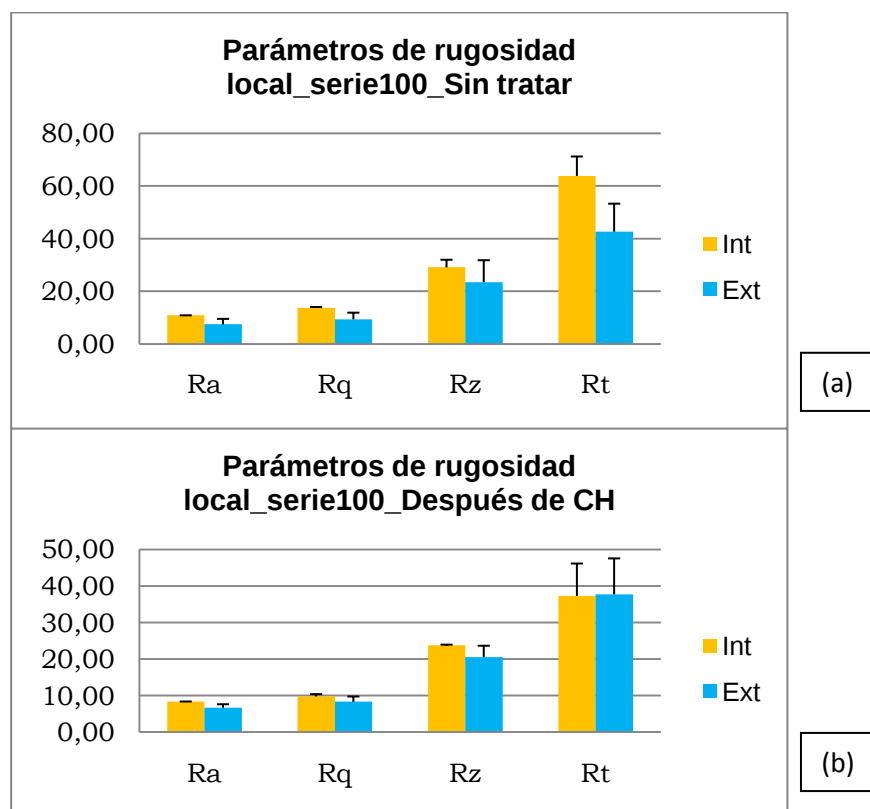
Los valores de todos los parámetros de rugosidad analizados son mayores en la zona inferior de las barras de los scaffolds. Mientras que en los scaffolds sin tratar y en los modificados tras el ataque químico las diferencias entre la zona inferior y superior eran considerables, en los scaffolds después del pulido electrolítico dichas diferencias se redujeron.

Se llevó a cabo una comparación de las medidas globales de rugosidad para los scaffolds de Ti6Al4V de las tres series, y se observó una tendencia decreciente conforme se iban desarrollando las diferentes etapas de modificación de la rugosidad superficial.

7.2 Medidas de rugosidad basadas en imágenes de micro-CT de alta resolución

Para las medidas de rugosidad basadas en imágenes de tomografía computerizada de microfoco de rayos X (micro-CT) de alta resolución, debido a las restricciones de tiempo para la realización de dicho proyecto, únicamente una región (la superior) para un único *scaffold* de cada serie en cada una de las etapas de la modificación de la rugosidad superficial pudo ser analizada. La rugosidad se estudió en el interior y en el exterior de dicha zona, en dos direcciones. Adicionalmente, los parámetros de rugosidad de las superficies superior e inferior de dos barras tanto del interior como del exterior de la zona superior de los *scaffolds* también fueron analizados.

La figura 7.3 muestra las diferencias significativas que se encontraron al comparar los valores de los parámetros de rugosidad del interior y del exterior de los *scaffolds* de Ti6Al4V de la serie 100, antes de cualquier modificación de la rugosidad superficial, después de la etapa de ataque químico y después de la etapa de pulido electrolítico. Tómese esta serie como ejemplo de medición de la rugosidad superficial.



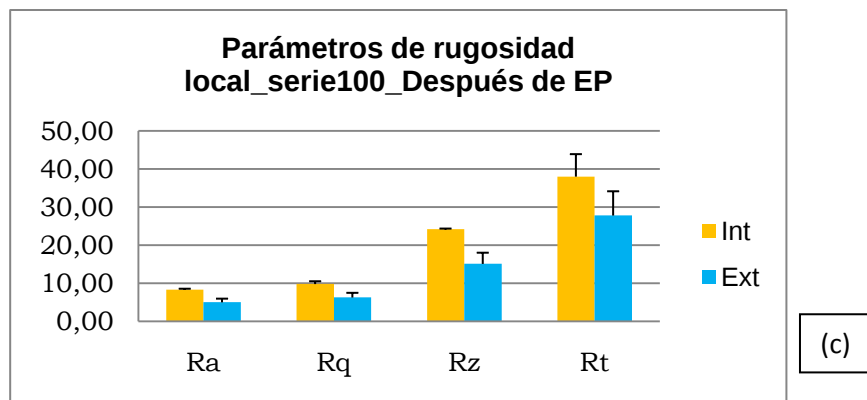


Figura 7.3. Parámetros de rugosidad medidos en base a imágenes de micro-CT de alta resolución en el interior (Int) y el exterior (Ext) de los scaffolds de la serie 100, para las tres etapas de modificación de la rugosidad superficial: (a) antes de cualquier modificación de la rugosidad superficial, (b) después de la etapa de ataque químico (CH) y (c) después de la etapa de pulido electrolítico (EP)

Diferencias significativas en los parámetros de rugosidad se observan entre el interior y el exterior de los scaffolds de Ti6Al4V. En todas las etapas de modificación de la rugosidad superficial, la rugosidad es mayor en el interior que en el exterior de los scaffolds, para la misma zona analizada, incluso para los scaffolds procedentes de fábrica. Por tanto, se asumió que el propio proceso de fabricación era heterogéneo. Tras la etapa de ataque químico, las diferencias entre el interior y el exterior disminuyen, por lo que se dedujo que la eficiencia de este proceso era elevada. Finalmente, las diferencias en los parámetros de rugosidad después de la etapa de pulido electrolítico entre el interior y el exterior vuelven a incrementarse, por lo que se concluyó que dicha etapa no se desarrolló de manera homogénea y tuvo más efecto sobre la zona exterior del scaffold que sobre la interior. Análogamente a lo que se observó en las medidas de rugosidad basadas en imágenes SEM, la rugosidad de las zonas superiores de las barras de los scaffolds fue menor que la de las zonas inferiores, para todas las etapas de modificación de la rugosidad superficial.

7.3 Comparación de las técnicas de medición de la rugosidad superficial

Una comparación de la técnica de medición de la rugosidad superficial basada en imágenes SEM con la técnica basada en imágenes de micro-CT de alta resolución se llevó a cabo para todas las series. Se descubrieron valores más altos para los parámetros de rugosidad cuando son medidos tomando como base las imágenes de micro-CT de alta resolución que cuando son medidos tomando como base las imágenes SEM, para todas las series de scaffolds y para todas las etapas de modificación de la rugosidad superficial. Esto puede ser debido a que cuando se hacen análisis de rugosidad respecto a las imágenes SEM, como éstas se ven en 3D, habrá granos sobre la superficie de las barras del scaffold que no se encuentren exactamente orientados en el mismo plano que la imagen propiamente dicha pero sí que se estén teniendo en cuenta a la hora de realizar los cálculos, por lo que los resultados de rugosidad obtenidos con esta técnica serán menores que los reales. En cualquier caso, fijándose en los valores de la

desviación media obtenidos, se pueden asumir como diferencias no significativas las obtenidas al comparar los parámetros de rugosidad entre ambas técnicas. Además, es importante señalar que los valores de la desviación media para las medidas de rugosidad basadas en las imágenes SEM son mayores, excepto para la serie 100, que en el caso de las medidas basadas en las imágenes de micro-CT de alta resolución, indicando que esta última técnica de medición tiene mayor facilidad de repetición y, por tanto, es más controlable.

7.4 Correlación entre la reducción de los parámetros de rugosidad y la densidad de corriente

Se descubrió que existía una relación lineal directa entre la reducción de los principales parámetros de rugosidad en el paso de la etapa de ataque químico a pulido electrolítico con la densidad de corriente aplicada, para las tres series de *scaffolds*. Esto significa que mayores valores de densidad de corriente conllevan mayores reducciones de rugosidad superficial. Es deseable, por tanto, valores altos de densidad de corriente aunque, como se concluyó en el capítulo anterior, las propiedades mecánicas y el espesor de los barras de los *scaffolds* disminuirían significativamente. Así pues, el equilibrio óptimo entre propiedades morfológicas y propiedades mecánicas será la clave para encontrar el *scaffold* más conveniente para una determinada aplicación. Por consiguiente, dependiendo de la densidad de corriente aplicada durante la etapa de pulido electrolítico, diferentes propiedades morfológicas, mecánicas y rugosidades superficiales podrán ser obtenidas una vez controlado el procedimiento de modificación de la rugosidad superficial en los *scaffolds* de Ti6Al4V.

Capítulo 8

Caracterización de los *scaffolds* de PCL

La tercera parte del presente trabajo consistió en la caracterización morfológica y mecánica de los *scaffolds* de policaprolactona (PCL), y en la evaluación cuantitativa preliminar de dos procedimientos de modificación de la rugosidad superficial. Como ya se comentó, dos series de *scaffolds* de PCL fueron fabricadas: una con una secuencia de apilamiento 0-45-90-45° (serie A) y otra con una secuencia de apilamiento 0-90 (serie B). Los *scaffolds* de PCL poseen gran interés en la actualidad ya que son biocompatibles, es decir, se degradan de una manera no tóxica.

8.1 Densidad y porosidad

El test de Arquímedes fue de nuevo la técnica empleada para la obtención de la densidad y la porosidad de todos los *scaffolds* de PCL. Como era de esperar, valores similares de densidad fueron obtenidos. Los valores de porosidad fueron diferentes dependiendo de la secuencia de apilamiento del *scaffold*. Los *scaffolds* de PCL presentan una porosidad menor que los *scaffolds* de Ti6Al4V.

8.2 Caracterización morfológica basada en micro-CT

Se analizaron los principales parámetros morfológicos de las dos series de *scaffolds* de PCL, en base a los experimentos realizados con la máquina de micro-CT sobre dichos *scaffolds*. El porcentaje de volumen objeto, la superficie objeto, el espesor de estructura medio y la separación media de estructuras fueron los parámetros estudiados. Valores similares de las principales propiedades morfológicas se obtuvieron para las dos series de *scaffolds* de PCL. Los *scaffolds* de PCL poseen barras más gruesas y más superficie disponible en comparación con los *scaffolds* de Ti6Al4V.

8.3 Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas fueron calculadas tras realizar un ensayo de compresión sobre los *scaffolds*. El módulo elástico, la tensión máxima y la deformación bajo tensión máxima fueron halladas para las dos series de *scaffolds* de PCL antes de ser sometidos a ninguna modificación de la rugosidad superficial. Se obtuvieron valores similares de módulo elástico para las dos series de *scaffolds* de PCL. Errores experimentales impidieron realizar los cálculos de tensión máxima y de deformación bajo tensión máxima para los *scaffolds* de la serie A. Las propiedades mecánicas de los *scaffolds* de PCL son mucho menores que las de los *scaffolds* de Ti6Al4V.

8.4 Modificación de la rugosidad superficial

Como ya se mencionó anteriormente, dos alternativas de modificación de la rugosidad superficial fueron implementadas para los *scaffolds* de PCL, buscando obtener propiedades superficiales controladas: tratamiento alcalino con NaOH y tratamiento alcalino con KOH. Una evaluación cualitativa y una comparación de ambos métodos de modificación de la rugosidad superficial fueron hechas basándose en imágenes SEM. La figura 8.1 recoge las imágenes SEM de los *scaffolds* de PCL nada más ser fabricados y tras sufrir una de las dos modificaciones de la rugosidad superficial vistas.

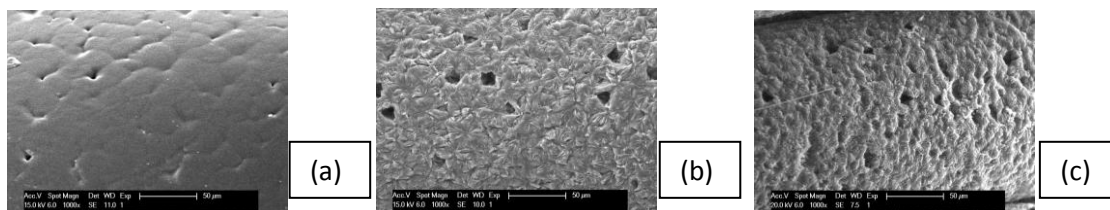


Figura 8.1. Imágenes SEM de scaffolds de PCL: (a) antes de sufrir cualquier modificación de la rugosidad superficial, (b) tras inmersión en NaOH durante 96 horas y (c) tras inmersión en KOH durante 96 horas

Micro-picaduras y agujeros mayores se observan en los *scaffolds* de PCL que han sufrido alguna modificación de la rugosidad superficial frente a los que no, que poseen una superficie muy suave con picaduras casi imperceptibles. Agujeros y micro-picaduras redondeadas pueden descubrirse sobre la superficie de los *scaffolds* de PCL que han sufrido el tratamiento con KOH. A diferencia de éstos, los *scaffolds* que han sido sometidos al otro tratamiento, con NaOH, se caracterizan por tener agujeros más profundos y una superficie menos abrupta que recuerda a la de una coliflor.

Capítulo 9

Conclusiones y sugerencias para trabajos futuros

9.1 Scaffolds de aleación de titanio, Ti6Al4V

Respecto a la primera etapa de modificación de la rugosidad superficial, el ataque químico, se observó que se produjo una reducción en la masa, en la superficie objeto, en el espesor de las barras y en la rugosidad de los *scaffolds* de Ti6Al4V. Además, dicha etapa sirvió para eliminar efectivamente los granos no fundidos y otras impurezas procedentes de la fabricación. Se concluyó que era una etapa bastante bien controlada y robusta.

En cuanto al proceso de pulido electrolítico, la segunda etapa en la modificación de la rugosidad superficial, provocó una nueva disminución en la masa, en el espesor de las barras y en la rugosidad de los *scaffolds*. Sin embargo, se descubrieron algunas heterogeneidades dentro de los propios *scaffolds* que hicieron concluir que se trataba de una etapa que necesitaba ser optimizada.

Hablando de las medidas de rugosidad, se descubrió que la técnica de medición de los principales parámetros de rugosidad basada en las imágenes de tomografía computerizada de microfoco de rayos X (micro-CT) de alta resolución era la más precisa y completa. Se descubrieron diferentes valores de rugosidad entre la zona interior y exterior de los *scaffolds*, incluso entre la zona superior e inferior de las barras, y se pensó que una posible solución para lograr una distribución más homogénea de rugosidades superficiales podría estar en incrementar el diámetro de la cestilla cilíndrica de platino, para así anular el efecto de la distancia ánodo-cátodo durante la etapa de pulido electrolítico.

En relación al papel clave que se pensaba iba a tener la densidad de corriente durante la etapa de pulido electrolítico, efectivamente se descubrió que así era. Se comprobó que si la densidad de corriente aumentaba, los porcentajes de reducción de masa, de espesor de barras y de los parámetros de rugosidad también aumentaban, a diferencia de las principales propiedades mecánicas, que disminuían.

Así pues, conociendo las ecuaciones de las relaciones lineales que ligan las propiedades morfológicas y mecánicas con la densidad de corriente y la reducción efectiva del espesor de las barras de los *scaffolds* debido a las modificaciones superficiales, restaría por averiguar si, aplicando exactamente la misma densidad de corriente a todas las series de *scaffolds*, se obtendrían los mismos valores de reducción de masa, de espesor de barras y de rugosidad para todos ellos. En caso de que la respuesta fuera afirmativa, se habría conseguido desarrollar un método de fabricación de *scaffolds* con las propiedades morfológicas y mecánicas deseadas, y tan sólo la rugosidad superficial necesitaría ser optimizada.

9.2 *Scaffolds* de policaprolactona, PCL

Comparados con los *scaffolds* de Ti6Al4V, los *scaffolds* de PCL poseen menor porosidad, barras más gruesas y mayor superficie disponible. Además, los *scaffolds* de PCL se caracterizan por tener unas propiedades mecánicas muy inferiores a las de los *scaffolds* de Ti6Al4V. En cuanto a la rugosidad, poseen superficies muy suaves con micro-picaduras y agujeros prácticamente imperceptibles, lo cual hace casi imposible el anclaje y proliferación de las células sobre ellos.

En relación a los dos métodos de modificación de la rugosidad superficial planteados, el tratamiento alcalino con KOH da como resultado *scaffolds* con micro-picaduras y agujeros más redondeados, mientras que el tratamiento con NaOH genera unas superficies muy parecidas en rugosidad a una coliflor, con agujeros de mayor tamaño.

Sin embargo, el análisis y caracterización de los *scaffolds* de PCL tan sólo pudo completarse en su etapa inicial. Experimentos biológicos de adhesión y proliferación de células sobre los *scaffolds* modificados superficialmente, así como una caracterización más exhaustiva del efecto de dichas modificaciones necesitarán ser estudiados con detenimiento en trabajos futuros.