

Métodos de fabricación de cuerpos porosos de hidroxiapatita, revisión del estado del arte

Methods for manufacturing hydroxyapatite porous bodies, art state review

Métodos de fabricação de corpos porosos de hidroxiapatita, revisão do estado da arte

Jazmín González Ocampo; Diana Marcela Escobar Sierra; Claudia Patricia Ossa Orozco*

Grupo de Investigación en Biomateriales, Programa de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 67 N° 53-108. Medellín, Colombia.

*cpossao@gmail.com

Fecha Recepción: 08 de abril de 2014

Fecha Aceptación: 26 de noviembre de 2014

Resumen

La hidroxiapatita (HA) ha sido ampliamente utilizada para reemplazo óseo en campos como la ortopedia y la odontología, debido a que posee alta biocompatibilidad. Recientes estudios se han enfocado en fabricar cuerpos porosos de HA que provean una plataforma de crecimiento celular, con el fin de tener más posibilidades de sitios de implantación. Este trabajo presenta una revisión de las técnicas utilizadas en la producción de cuerpos porosos de HA, exponiendo los resultados más relevantes reportados en diversas investigaciones tanto a nivel nacional como internacional; en cuanto a porosidad y resistencia mecánica. Concluyendo finalmente, cuales son las técnicas que cumplen con los factores óptimos para la regeneración ósea al momento de la implantación y además que existen múltiples posibilidades de fabricación de los cuerpos porosos, cuyo estudio permitiría abrir diferentes rutas de investigación en esta área, por cierto poco explorada en Colombia.

Palabras clave: *barbotina, gel-casting, hidroxiapatita, infiltración de espumas, liofilización, prototipado rápido.*

Abstract

Hydroxyapatite (HA) has been widely used for bone replacement in the orthopedic and dentistry fields, due to it has a high biocompatibility. Recent studies have focused on developing HA porous bodies that provide a cell growth cellular scaffold, with the goal to have more possibilities of local implantation. This paper presents a review about the different methods for manufacturing porous HA bodies, it exposes the most relevant results obtained in nationally and internationally researches; related with porosity and mechanical strength. It is possible to conclude, which are the technical that present optimal factor to induce bone regeneration, and also there are many possibilities for producing porous HA bodies, their study will allow to opening different routes of investigation in this field, which are underdeveloped in Colombia.

Keywords: *slip-casting, gel-casting, hydroxyapatite, foam Infiltration, freeze casting, rapid prototyping.*

Resumo

A hidroxiapatita (HA) tem sido muito utilizada para a substituição óssea na ortopedia e odontologia, porque ela tem uma elevada biocompatibilidade. Estudos recentes têm seu objetivo foco em fazer corpos porosos de HA que fornecem plataforma para o crescimento celular, a fim de ter maior possibilidade de locais de implantação. Este artigo apresenta uma revisão das técnicas utilizadas na produção de corpos porosos de HA, expondo os resultados mais relevantes relatados em diversas pesquisas a nível nacional e internacional; em termos de porosidade e resistência mecânica. Concluindo, finalmente, quais são as técnicas que apresentam os fatores ideais para a regeneração óssea no momento da implantação e também que existem várias possibilidades para a fabricação de corpos porosos, cujo estudo pode permitir abrir diferentes caminhos de pesquisa nesta área, a qual certamente tem sido pouco explorada na Colômbia.

Palabras-chave: *barbotina, gel-casting, hidroxiapatita, infiltração de espumas, liofilização, prototipagem rápida.*

Introducción

En el mundo, más de cincuenta millones de personas tienen implantado algún tipo de prótesis [1] lo que evidencia la gran demanda para el desarrollo de implantes y la necesidad de implementar nuevas alternativas en materiales que permitan la reconstrucción, sustitución y regeneración de órganos o partes del cuerpo humano.

Una de las técnicas utilizadas para sustitución de tejido, es el uso de injertos de tejido autólogo, no obstante, se presentan inconvenientes en cuanto a la morbilidad que se da en el sitio de extracción, cantidades insuficientes de material y reabsorción incontrolada [2,3]. Es por lo anterior que se han buscado alternativas en materiales aloplásticos (biomateriales sintéticos), que suplan las necesidades existentes.

En la búsqueda por desarrollar técnicas que permitan la utilización de estos nuevos materiales, surgió una disciplina denominada Ingeniería de Tejidos (IT), en la cual se utilizan células y materiales de diversa naturaleza para la reconstrucción de tejidos y órganos [2,4]. Una de las líneas de investigación es la regeneración ósea, que emplea plataformas que proveen la base para el crecimiento del nuevo tejido del hueso. En este sentido, éstas deben poseer suficiente porosidad y una resistencia mecánica que permita la adhesión, migración, crecimiento y proliferación celular; resultando en una buena integración con el tejido circundante [4]. Además deben ser biocompatibles, biodegradables y bioactivas [5,6]; asegurar la osteointegración y un tamaño de poro adecuado [7–10].

El tamaño de poro juega un papel importante en el diseño de implantes, puesto que según sea su valor, la regeneración del hueso será directamente

afectada, de tal manera que poros de 5µm permiten la nueva vascularización, poros entre 15 y 40µm permiten el crecimiento de fibroblastos, poros entre 40 y 100µm favorecen el crecimiento de osteoide (matriz ósea), poros entre 200 y 350µm permiten un significativo crecimiento de los huesos y poros mayores a 500µm permiten la rápida vascularización, a lo que se suma una mayor penetración de tejido óseo si los poros se encuentran interconectados [4].

Por otro lado, la disposición de los poros y su interconectividad son un factor importante que contribuye a la buena integración del tejido óseo en el cuerpo poroso; Bohner *et al.* [11] indicaron que el crecimiento del hueso es directamente afectado si hay una interconexión a través de ventanas con tamaños mayores de 50µm. Esta interconectividad entre los poros es la que promueve la circulación del fluido corporal y la migración celular al núcleo del implante [5] y según Mastrogiacomo *et al.* [12] la interconectividad incompleta puede representar una limitación del sistema sobre todo biológico, restringiendo la invasión de vasos sanguíneos. El grado de interconectividad puede ser determinado por medio de algoritmos incorporados al análisis de micro tomografía computarizada (micro CT) [4] o por medio de la relación entre la porosidad abierta y la porosidad total presente en la muestra, como lo reporta Liu y Miao [13]. Buscando aprovechar la interconectividad para beneficiar la liberación de medicamentos Chou *et al.* [14] trabajaron con la especie coralina Foraminífera, que es considerada como la más importante de los grupos de microfósiles presentes en los sedimentos marinos y que se distingue de otras especies marinas por su interconectividad y su estructura esférica.

El porcentaje de porosidad también es importante en el momento de diseñar cuerpos porosos para regeneración ósea, debido a que valores superiores

al 10% de porosidad en los materiales cerámicos, indica interconectividad [15], además, ésta se deduce directamente de altos niveles de porosidad [16,17], por tanto entre más alta sea la porosidad mayor será la probabilidad de interconexión entre los poros. Los valores de porosidad presentes en el hueso trabecular varían entre el 30 y 90% [18], con una porosidad interconectada entre el 50 y 90% [19].

La rugosidad es otro de los factores fundamentales que influyen en la regeneración de los tejidos, puesto que está ligada con la adhesión y anclaje celular [20], teniendo incidencia en la disminución del tiempo necesario para el crecimiento del nuevo hueso y la formación de tejido [21]. La rugosidad de la superficie afecta la diferenciación, proliferación y producción de la matriz de osteoblastos, así como la producción de factores de crecimiento y de citoquinas [22], además influye sobre el número y grado de activación de las plaquetas y en la aglomeración de los glóbulos rojos [19]. En el caso específico de los cuerpos porosos, al existir microporosidad en la pared de los macroporos se puede aumentar aún más la rugosidad de la superficie y por lo tanto beneficiar la absorción de proteínas y la adhesión celular [23]. No obstante, la rugosidad no es una característica que se determine en los diversos estudios sobre cuerpos porosos de hidroxiapatita, por lo tanto no será una de las variables analizadas en este artículo.

La hidroxiapatita (HA), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es un fosfato de calcio, cuya composición química es muy similar a la del hueso, es bioestable, biocompatible, bioactiva y osteoconductora; propiedades que la convierten en la mejor opción como sustituto óseo [8,20–24], además, ha surgido como un material apto para la fabricación de plataformas de crecimiento para IT óseo y cirugía reconstructiva [2]. Desafortunadamente sus propiedades mecánicas son bajas, lo que ha reducido sus aplicaciones; no obstante por su alta biocompatibilidad se han generado técnicas de procesamiento innovadoras que han mejorado las propiedades mecánicas del producto final.

En este artículo se hace referencia específica a las propiedades de los cuerpos porosos cuyo único componente es la HA, es por esto que se ha planteado como objetivo mostrar de manera global, una revisión de las técnicas de fabricación de cuerpos porosos de HA, presentando los resultados más relevantes obtenidos por diferentes investigadores en cuanto a porosidad y resistencia mecánica, concluyendo finalmente

cuales son las técnicas que ofrecen más ventajas desde su similitud con las propiedades del hueso trabecular, tejido que se espera sustituir con su implementación.

La hidroxiapatita como biocerámico

Entre las primeras fuentes de HA reportadas están las naturales, tales como corales [25,26] y animales [30], comúnmente procesados por el método hidrotermal, que consiste en la transformación química mediante una reacción de intercambio hidrotermal en un reactor a presión y temperatura controlada, en presencia de precursores de calcio como $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaCO_3 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaCl_2 o CaSO_4 y de fósforo como $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, H_3PO_4 , K_2HPO_4 , respondiendo a las diferentes reacciones descritas por Villora *et al.* [31].

En la actualidad se han reportado diversas técnicas para la síntesis de HA partiendo de reactivos químicos, entre las que sobresalen las técnicas de precipitación, sol-gel, hidrólisis, sonoquímicas e hidrotermales; las cuales son ampliamente descritas por Villora *et al.* [31], quienes concluyen que las propiedades termoquímicas de la HA generan una amplia posibilidad de alternativas de síntesis.

Utilizando las técnicas anteriormente mencionadas se obtiene HA en polvo, que posibilita su transformación tanto en formas densas como porosas y da lugar a diversas aplicaciones en áreas como la ortopedia y la odontología [32], producción de recubrimientos [33], plataformas para crecimiento de tejido [27] y como refuerzo de materiales compuestos [34].

Teniendo la necesidad de conocer mejor la cristalografía de la HA, Gómez *et al.* [35] elaboraron una representación esquemática de su estructura cristalina, la cual ha sido usada en varios estudios para conocer las posibles sustituciones de los iones presentes en la estructura. También Londoño *et al.* [36] analizaron las propiedades cristalocómicas de la HA sintética tratada a diferentes temperaturas y sumergida en solución fisiológica de Ringer, obteniendo mayor solubilidad en las muestras más cristalinas, además se evidenció la presencia de mecanismos tanto de disolución como de precipitación durante la inmersión.

Algunos investigadores reportan la influencia no sólo de los diversos parámetros de fabricación como pH, temperatura, tiempo de adición, agitación, maduración y tratamiento térmico; sobre las propiedades finales de la HA [34,35],

sino también de las diferentes rutas de síntesis de la HA, sobre las características estructurales, morfológicas y de tamaño de partícula [39].

Un gran avance en Colombia ha sido la obtención de una HA, con características comparables con la HA comercial, tal como lo reporta Marín [32], quien obtuvo HA microporosa por el método de precipitación, la cual fue comparada con una HA comercial, mostrando que tienen propiedades similares en cuanto a estructura cristalina, composición química y adsorción de especies; sin embargo, se evidenciaron diferencias morfológicas en cuanto a forma y tamaño de partícula.

Ramírez *et al.* [28] y Jaramillo *et al.* [3], han realizado estudios de biocompatibilidad *in vivo* del polvo de HA implantado en conejos, mostrando excelentes propiedades osteoconductoras y gran potencial de uso de la HA fabricada en Colombia para odontología. Ambos encontraron que tanto la HA por ellos fabricada como la comercial, tuvieron el mismo resultado respecto a la osteoconducción y osteointegración del tejido óseo.

También han sido utilizados los cuerpos porosos de HA que permiten el crecimiento celular al interior del implante, lo cual ayuda a mejorar la adhesión. No obstante, por ser piezas de mayor tamaño y porosas presentan baja resistencia mecánica; es por ello que para su fabricación se hace necesaria la utilización de nuevas técnicas, que mejoren significativamente las propiedades mecánicas de la HA y que permitan la conformación de piezas con geometrías complejas [20,23].

Cuerpos porosos de hidroxiapatita

Los cuerpos porosos son materiales con cavidades esféricas abiertas e interconectadas entre si y separadas por una pared denominada puntal [15,37]. A manera de ejemplo, en la Figura 1 se presentan imágenes de cuerpos porosos de HA producidos por la técnica de gel-casting e infiltración, donde es posible observar la morfología e interconectividad de los poros, las paredes que los conforman y la superficie rugosa.

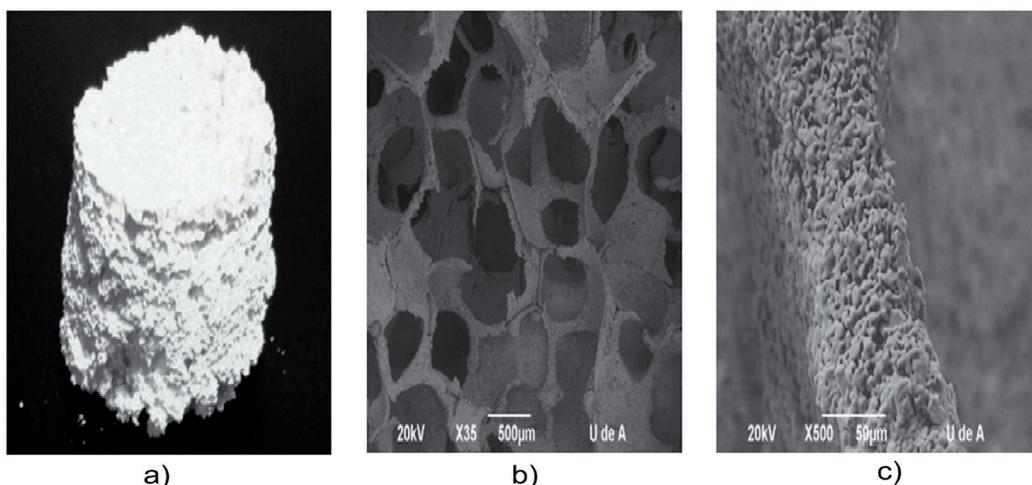


Figura 1. a) bloque poroso producido por gel-casting. b) micrografía SEM de un bloque producido por infiltración, mostrando la porosidad interconectada. c) micrografía SEM de un bloque producido por infiltración, mostrando la pared de los poros. Fuente: Cortesía Grupo de Biomateriales de la Universidad de Antioquia.

Existen diversos métodos para fabricar cuerpos porosos de HA, los cuales presentan diferencias en factores como el tamaño de los poros obtenidos, interconectividad de los mismos, porcentaje de porosidad y resistencia mecánica.

A continuación se describen algunas de las técnicas utilizadas y los resultados más relevantes de cada una.

Utilización de corales y/o esponjas marinas

En esta técnica se aprovecha la estructura de los corales y esponjas marinas, la cual es similar a la del hueso esponjoso o trabecular, puesto que exhibe poros abiertos e interconectados. El método consiste en primer lugar en la preparación de los corales eliminando impurezas y materia orgánica, para luego someterlos a un proceso de

transformación química mediante una reacción de intercambio hidrotérmal, en un reactor a presión y temperatura controlada, en presencia de una disolución de iones fosfatos [41]. Un esquema de este proceso puede observarse en la Figura 2.

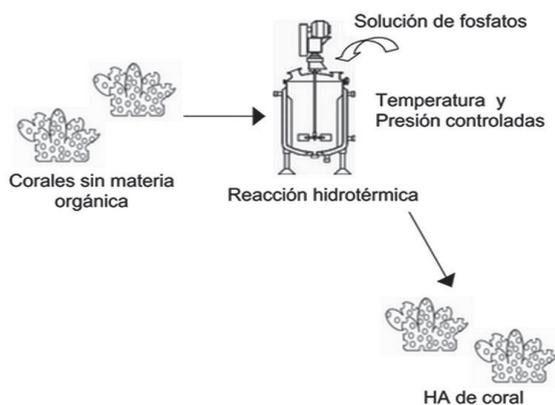


Figura 2. Esquema de fabricación de cuerpos porosos de HA usando corales y/o esponjas marinas.

Algunos autores han trabajado esta técnica, como González *et al.* [41] que obtuvieron HA porosa a partir de corales marinos, cuyos cuerpos conservaban la porosidad inicial de los corales, exhibiendo poros con tamaño promedio de 200 μ m, y una resistencia mecánica de 14MPa, resultado por encima del reportado para el hueso trabecular 5 y 10MPa [18], sin embargo, los autores no reportan porcentajes de porosidad, por lo cual no es posible realizar una comparación de manera certera con cuerpos porosos obtenidos por otras técnicas.

Pollick *et al.* [42] han utilizado esta técnica y determinaron la tasa de reabsorción de implantes cerámicos porosos de carbonato de calcio obtenidos directamente de corales y cubiertos seguidamente con una capa delgada de HA; demostrando que los implantes colocados en tejidos suaves se degradan más rápidamente que los implantes colocados en tejidos duros como el hueso. Así mismo, Cunningham *et al.* [4] consiguieron porosidades entre 56 y 61%, poros con tamaño de 100 a 500 μ m e interconectividad del 99,92%.

Wang *et al.* [29] partieron de corales de aragonita, y usaron un mineralizador, en presencia del cual

se observó la conversión total de aragonita en HA, pasando por una transformación de fases de carbonato de calcio a fosfato tricálcico y finalmente a HA, además éste acelera el proceso de conversión y conserva la microestructura de interconexión de los poros; mientras que sin la presencia del mineralizador la conversión es parcial.

Hamza *et al.* [43] tomaron muestras de coral y nácar, las molieron y compactaron para obtener materiales con porosidad y dureza controlada, estudiaron la influencia de la porosidad en el comportamiento mecánico de las muestras, mostrando microdurezas de 138-167HV para el coral y 261-340HV para el nácar, valores superiores a los reportados para hueso bovino (55-70HV). Además evaluaron la resistencia a la compresión encontrando valores de 32,82MPa para el coral y 37,06MPa para el nácar con porosidad del 50%.

Chou *et al.* [14] partieron de exoesqueletos de foraminíferos que se encuentran generalmente como carbonato de calcio fosilizado en forma de aragonita o calcita, que pueden ser convertidos hidrotérmicamente a HA manteniendo la relación Ca/P, conservando la porosidad e interconectividad; pudiendo ser usados como materiales liberadores de fármacos.

Bloques con porosidad inducida

Para la producción de los cuerpos porosos por esta técnica es necesario que el agente porogénico pueda incorporarse a la solución precursora de la HA. Investigadores como López *et al.* [44] y Rincón *et al.* [23] lograron sintetizar cuerpos porosos de HA, introduciendo el agente microporogénico durante el proceso de mezclado de los precursores en el método de precipitación, posteriormente al proceso de centrifugación introdujeron un agente macroporogénico y realizaron el moldeo manual de los bloques, para finalmente tratarlos térmicamente. Las etapas de esta técnica se pueden observar en la Figura 3.

Jaramillo [45] fue uno de los pioneros en Colombia en cuanto al desarrollo de esta técnica y en su trabajo elaboró bloques con una porosidad inducida del 16% con celulosa, a los cuales les determinó el módulo de ruptura obteniendo valores promedio 9,42MPa.

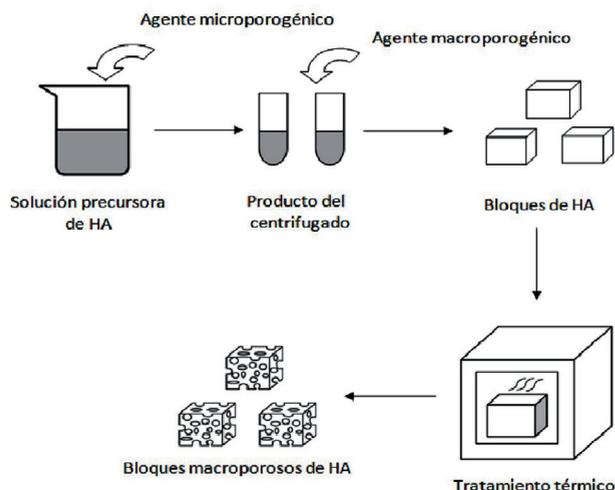


Figura 3. Esquema de fabricación de cuerpos porosos de HA usando la técnica de porosidad inducida.

López *et al.* [44] obtuvieron bloques macroporosos, cuya porosidad fue inducida con dos agentes porogénicos: *zea mays* y celulosa (madera), donde el que mejores propiedades presentó fue el preparado con *zea mays*, que tuvo una porosidad del 85%, un tamaño de poro de 1048 μ m y un módulo de ruptura de 0,62MPa, mientras que el fabricado con madera presentó una porosidad del 71,6%, un tamaño de poro de 1593 μ m y una resistencia mecánica de 0,09MPa.

Rincón *et al.* [23] indujeron macroporosidad con *zea mays* y la microporosidad con celulosa, obteniendo un diámetro de poro entre 300 y 500 μ m, una porosidad de 35,8 a 45,6% y una resistencia a la compresión de 1,06MPa. La resistencia mecánica de los bloques obtenidos por esta técnica es aún muy baja comparada con la del hueso esponjoso. Otro agente porogénico utilizado es la seda, McNamara *et al.* [46] la han utilizado no solo como aglutinante para mejorar las propiedades mecánicas, sino, como polímero de sacrificio que al sinterizar la muestra induce porosidad, encontrando que según la técnica empleada, este polímero puede generar porosidades entre 2,7 y 50%.

Infiltración de espumas poliméricas

Esta técnica consiste en impregnar completamente una espuma polimérica utilizada como base con una suspensión cerámica, una vez impregnada, se retira el exceso de suspensión y se lleva a secado en horno para eliminar el exceso de humedad, posteriormente se realiza un tratamiento térmico en el que se elimina la matriz polimérica y por

último se sinteriza la pieza para la consolidación de la estructura; de tal manera que el material cerámico toma la forma de la espuma polimérica, siendo posible controlar el tamaño del poro con las dimensiones que tengan las paredes de dicha espuma [15,17]. El esquema que describe este proceso es mostrado en la Figura 4.

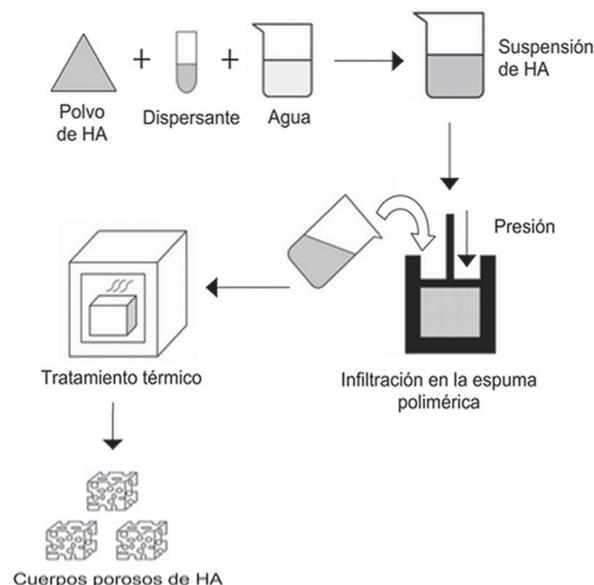


Figura 4. Esquema de fabricación de cuerpos porosos de HA usando infiltración de espumas poliméricas.

Investigadores como Saiz *et al.* [17] sinterizaron cuerpos que presentaron poros entre 100 y 200 μ m, cuya interconectividad se da a través de poros con tamaños que van de 10 a 80 μ m. Teixeira *et al.* [15] obtuvieron cuerpos con porosidad interconectada con un tamaño de poro promedio de 200 μ m, con una resistencia a la compresión de 0,07MPa, concluyendo que las estructuras colapsaron debido al reducido espesor de las paredes, demostrando la influencia que posee el tipo de espuma polimérica usada y la distribución de poros que ésta posea.

Sopyan *et al.* [20] estudiaron los efectos del sinterizado, el porcentaje de porosidad, la resistencia a la compresión sobre cuerpos porosos de HA; encontrando que para una porosidad del 34,3% la resistencia a la compresión alcanzaba valores de 10,5MPa, y demostrando que el adecuado control de los parámetros en esta técnica logra mejorar las propiedades mecánicas, llevándolas a valores cercanos al valor del hueso trabecular reportado por Black *et al.* [18] y Navarro [19].

Gel-casting

Esta técnica, que está basada en la generación de una espuma desde una suspensión acuosa de polvo cerámico y la subsecuente estabilización de la estructura por la polimerización *in situ* de monómeros orgánicos [22,23,45], presenta la ventaja de poder fabricar piezas complejas y de alta precisión dimensional [46,47]. El esquema que representa dicha técnica es mostrado en la Figura 5.

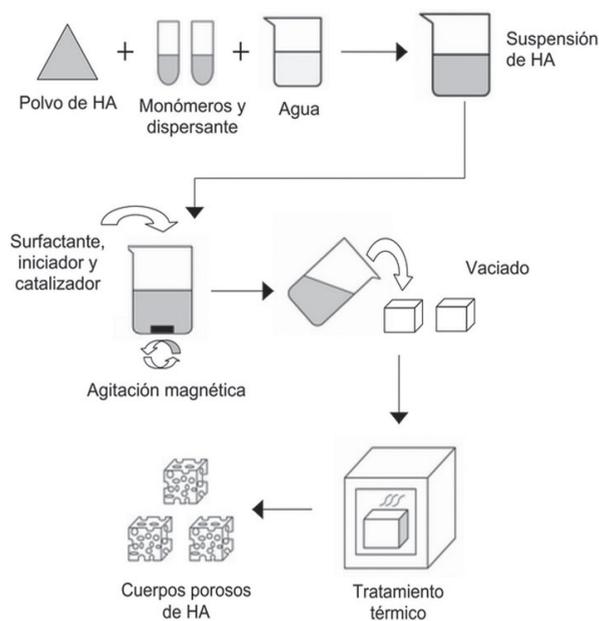


Figura 5. Esquema de fabricación de cuerpos porosos de HA usando gel-casting.

Sepúlveda *et al.* [50] exploraron esta técnica para la fabricación de cuerpos altamente porosos, en sus primeras experimentaciones consiguieron poros entre 20 y 1000 μ m, con resistencia a la compresión de 4,7MPa para una porosidad del 80,7%, lo cual es un resultado óptimo, ya que en la literatura correspondiente a la patente del método de gel-casting [51], se reporta una resistencia a la compresión de 2,5MPa para una porosidad del 70%. También fue evaluada la citotoxicidad de los cuerpos [50], siendo demostrado que la técnica utilizada no comprometió el grado biomédico de la HA. Estos mismos autores en otro trabajo [52], evaluaron la distribución de tamaño de poro, el área superficial, la permeabilidad, la resistencia a la compresión y el módulo elástico. Los bloques obtenidos presentaron poros interconectados con diámetros entre 17 y 122 μ m, con resistencia a la compresión entre 1,6 y 5,8MPa y un módulo elástico entre 3,6 y 21GPa.

Ortega *et al.* [53] evaluaron el efecto del tipo de monómero sobre la cinética de la reacción de polimerización y las propiedades mecánicas de los cuerpos porosos, encontrando que las propiedades finales del cuerpo tanto en verde como sinterizados dependen del tipo de monómero usado.

Padilla *et al.* [26] analizaron las propiedades requeridas del polvo de HA como precursor en la consecución de bloques porosos con mejores propiedades. Además realizaron estudios enfocados en la reología de la suspensión de HA, determinando la viscosidad óptima para un excelente comportamiento de la suspensión en el proceso de conformado y para la obtención de cuerpos con buenas propiedades mecánicas y microestructurales.

González *et al.* [24] utilizaron un porcentaje de sólidos del 50% y obtuvieron una estructura porosa con tamaño promedio de poro de 100 μ m y resistencia a la compresión de 3,2MPa. Mientras que Padilla *et al.* [54] encontraron que para 55% de sólidos, los cuerpos obtenidos adquieren una resistencia en verde muy superior a las reportadas por otras técnicas, con resistencia a la flexión superior a 45MPa, no obstante, la porosidad es inferior a 10%.

Chen *et al.* [8] evaluaron la influencia del tratamiento térmico de sinterización en la microestructura, pureza de las fases y propiedades mecánicas. El mayor valor de resistencia a la flexión fue de 84,6MPa alcanzado a una temperatura de 1250 $^{\circ}$ C, no obstante este resultado no puede ser comparado con los reportados en la literatura, puesto que no se presenta el porcentaje de porosidad obtenido.

El tipo de monómeros usado en esta técnica influye en la resistencia mecánica, según lo reportado por Cardona [55], quien evaluó la incidencia del tipo de monómero sobre propiedades como tamaño de poro y resistencia mecánica. La espuma que presentó mejor comportamiento fue la fabricada con N-metilol acrilamida con poros de diámetro menor a 1 μ m, no obstante, el valor de resistencia a la compresión sólo alcanzó valores de 0,063MPa. También Mejía *et al.* [56] obtuvieron espumas de HA con diferentes tipos de monómeros evaluando su influencia en la morfología de los bloques, los resultados mostraron que las espumas tenían poros con diferentes geometrías con tamaño entre 100 y 500 μ m y porcentajes de porosidad entre el 76 y 84%; concluyeron que los monómeros utilizados que contienen grupos amida generan una mayor resistencia mecánica en verde, lo que indica que lograron que las partículas de HA se distribuyeran

adecuadamente en el reticulado formado por el monómero.

Algunas variaciones a esta técnica han sido reportadas por Sánchez *et al.* [57] quienes combinaron gel-casting con vaciado en capas, mezclando HA con fosfato tricálcico y obteniendo tamaños de poros entre 150 y 300 μm , y una resistencia a la flexión de 1,87MPa. Posterior al proceso de sinterizado de los bloques se presentaron agrietamientos, debido a que la técnica utilizada presenta la desventaja del alto porcentaje de contracción, lo que genera baja resistencia mecánica por la presencia de defectos y piezas muy frágiles.

Ramay *et al.* [27] combinaron gel-casting e infiltración de espumas poliméricas, con el objetivo de combinar la alta resistencia mecánica ofrecida por el gel-casting y la estructura altamente porosa, interconectada y de tamaño de poro uniforme ofrecida por la técnica de infiltración. Obtuvieron una estructura con tamaño de poro entre 200 y 400 μm y una resistencia a la compresión de 5MPa, equivalente al hueso trabecular [18,19] y un módulo elástico de compresión de 8GPa. Entre los más recientes trabajos reportados utilizando la anterior combinación de técnicas, está el desarrollado por Tripathi *et al.* [58], quienes obtuvieron poros entre 100 y 300 μm y resistencia a la compresión de 1,3MPa; en cuyos cuerpos sembraron osteoblastos humanos, mostrando que dichas células eran capaz de proliferarse y migrar hacia el interior del cuerpo poroso con mayor funcionalidad celular en términos de absorción de proteínas, en comparación con cuerpos densos de HA.

Yang *et al.* [59] combinaron gel-casting, liofilización e infiltración, y obtuvieron cuerpos con estructura reticulada, con porosidad del 50% y un tamaño promedio de poro entre 180 y 360 μm , que proporcionaron resistencia a la compresión de 6,6MPa. Los poros fueron generados a partir de la espuma de poliuretano y poseían en sus paredes canales con tamaños entre 2 y 4,5 μm de diámetro, formados durante los procesos de eliminación del solvente.

Zhao *et al.* [47] combinaron gel-casting, lixiviación de partículas y extrusión; utilizando quitina para dispersar las partículas de HA y esferas de cera como agente porogénico. Los resultados mostraron que los cuerpos preparados con diferentes tamaños de esferas de cera, presentaron poros interconectados con porosidad volumétrica

aproximada del 86%, mientras que la resistencia a la compresión disminuyó a medida que el tamaño de poro aumentó.

Liofilización

El proceso consiste en el vaciado a moldes de una suspensión del material que se desea obtener, para el posterior congelamiento y sublimación del solvente presente, dando como resultado la formación de una estructura laminar, con poros orientados paralelamente y alineados en la dirección de movimiento del frente de congelamiento [58,59]. Para el caso de los materiales cerámicos debe realizarse una etapa final de sinterización, con el objetivo de consolidar la estructura del bloque obtenido. La porosidad, el espesor de pared, el tamaño y la orientación del poro están fuertemente correlacionados con los parámetros del proceso, incluyendo la reología de la suspensión y las condiciones de congelamiento [60]. En la Figura 6 se observa el esquema de este proceso.

Deville *et al.* [61] analizaron los parámetros que afectan la porosidad y en consecuencia la resistencia mecánica, tales como la concentración inicial de la suspensión, la velocidad de congelamiento y las condiciones de sinterización. Lograron concluir que debido a la arquitectura laminar y a la forma anisotrópica de los poros obtenidos, los bloques porosos presentaron elevada resistencia a la compresión, así, para un 47% de porosidad obtuvieron 145MPa y para un 56% la resistencia fue de 65 MPa; además que el tamaño de poro puede ser controlado con la tasa de enfriamiento y la concentración de la suspensión.

Zhao *et al.* [21] evaluaron la influencia de los parámetros de enfriamiento sobre la morfología de los cuerpos porosos, encontrando que al incrementar la tasa de congelamiento la distancia entre las lamelas formadas disminuye, al igual que se genera un cambio en la geometría de los poros pasando de ser canales alineados a tener una estructura parcialmente dendrítica. Por otro lado Zhou *et al.* [60] obtuvieron cuerpos porosos de HA, evaluando la influencia del porcentaje de sólidos y la porosidad en la resistencia a la compresión, y encontraron que para una variación de 10 a 40% de sólidos, la resistencia a la compresión aumentó de 1,3 a 5,6MPa respectivamente, no obstante la porosidad disminuyó.

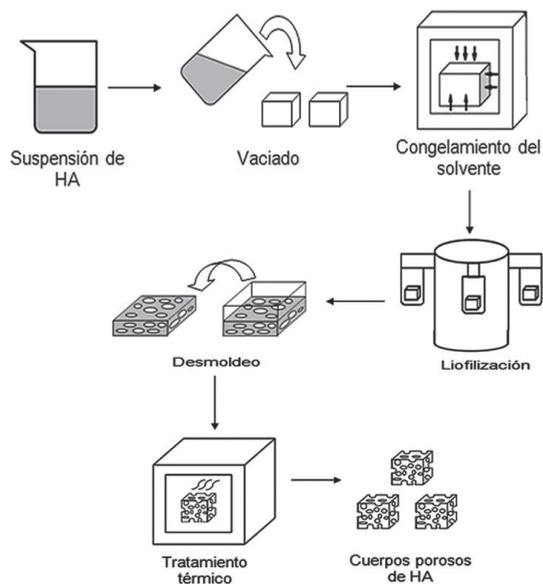


Figura 6. Esquema de fabricación de cuerpos porosos de HA usando liofilización.

Lee *et al.* [62] fabricaron cuerpos porosos de HA utilizando como solvente el canfeno ($C_{10}H_{16}$) ya que este componente puede ser congelado fácilmente y sublimado cerca de la temperatura ambiente, ofreciendo mayor simplicidad en el proceso. Entre los resultados obtenidos se destaca que para una porosidad del 56% se alcanzó una resistencia a la compresión de 17MPa, mientras que para el 75% de porosidad la resistencia fue de 0,94MPa. Zhang *et al.* [63] prepararon HA porosa adicionando gelatina para modificar la morfología y microestructura de los poros, y encontraron que con el aumento de la concentración de la gelatina los poros pasan de ser planos en dos dimensiones y sin interconexión, a ser tridimensionales e interconectados.

McNamara *et al.* [46] evaluaron cuerpos porosos de HA usando la seda como aglutinante asumiendo que ésta imparte porosidad por su volatilización al sinterizar la muestra, además que ayuda a mejorar las propiedades mecánicas; encontrando que existe una relación entre la cantidad de seda y las propiedades mecánicas alcanzadas. Para el método de liofilización se lograban 152,4MPa de resistencia a la compresión, valor que disminuía con el aumento del contenido de seda, mientras que el porcentaje de porosidad era inversamente proporcional a la cantidad de ésta.

Moldeo por barbotina

Esta técnica consiste en la preparación de una suspensión cerámica, que es vertida en moldes fabricados de un material que absorbe la humedad; por lo cual el cerámico queda adherido a las paredes del molde hasta formarse el espesor deseado, luego se someten a un tratamiento térmico de secado a temperatura ambiente y por último de sinterización. Una de las desventajas del moldeo por barbotina es que sólo permite la obtención de piezas huecas. Generalmente se consiguen cuerpos en verde muy débiles y densos, permitiendo alcanzar porcentajes de porosidad máximo del 63% [64]; buscando atenuar estos inconvenientes, se ha variado la técnica mediante la adición de agentes porogénicos a la suspensión antes del vaciado. En la Figura 7, se presenta un esquema de la técnica de moldeo por barbotina con la adición de agentes porogénicos.

Liu [65] trabajó esta técnica mezclada con polvo de butiral de polivinilo (agente porogénico), los resultados mostraron un buen control del tamaño de poro, encontrándose entre 160 y 200 μ m y con porcentajes de porosidad desde 32 hasta 78%, mientras que Cyster *et al.* [5] modificaron la suspensión cerámica con la incorporación de agentes espumantes y metilcelulosa como estabilizador de la estructura. Estos investigadores obtuvieron bloques con alta interconectividad de los poros, con un tamaño promedio entre 200 y 500 μ m, para una porosidad del 85%; sin embargo, la resistencia mecánica fue baja respecto a la del hueso trabecular, reportándose valores entre 1,09 y 1,76MPa.

Algunos investigadores han combinado el moldeo con barbotina e infiltración de espumas poliméricas, buscando influenciar el tamaño y la distribución de los poros. Zhang *et al.* [66] por ejemplo, estudiaron el efecto de diferentes tamaños de partículas en la resistencia a la flexión de cuerpos porosos de HA, encontrando mayor resistencia a la flexión en la espuma fabricada con el polvo de mayor área superficial, debido a que este material era más fácilmente sinterizable y produjo una estructura más firme y densa.

Por su parte Zhao *et al.* [64] lograron mejorar la interconectividad de los poros con la preparación de la espuma polimérica de partida usando NaCl como agente porogénico de diferentes tamaños de

partícula. Obteniendo como resultado un tamaño de poro entre 200 y 400µm, para una porosidad entre 50,2 y 73,1%. Además concluyeron que el factor clave para mantener la interconectividad de los poros es una apropiada selección de la relación entre los tamaños de partícula del agente porogénico y los pellets del polímero de la espuma.



Figura 7. Esquema de fabricación de cuerpos porosos de HA usando la técnica de moldeo por barbotina.

Prototipado rápido

Consiste en la elaboración secuencial de capas superpuestas que finalmente conforman una pieza tridimensional. Para la elaboración de cuerpos porosos de HA se parte de una matriz construida por prototipado rápido a partir de materiales poliméricos en estado líquido, la cual es diseñada usando Diseño Asistido por Computador (CAD), teniendo en cuenta que sus paredes proporcionarán el tamaño de poro y la interconectividad necesarios para que se genere la proliferación celular. Posteriormente, la matriz polimérica es infiltrada por la suspensión cerámica de HA, haciendo que ésta penetre por los canales generados en el prototipado rápido, y luego de los procesos de secado y sinterización, se logra consolidar la estructura deseada [67]. El esquema correspondiente a esta técnica es mostrado en la Figura 8.

Chu *et al.* [68] usaron prototipado rápido para fabricar la matriz polimérica de partida en resina epóxica, la cual infiltraron con la suspensión cerámica de HA preparada empleando *gel-casting*. En este estudio demostraron que el uso de la técnica de prototipado para la fabricación de la matriz, garantiza un diseño específico de los poros

y sus dimensiones, los cuales se reflejan en el cuerpo poroso final.

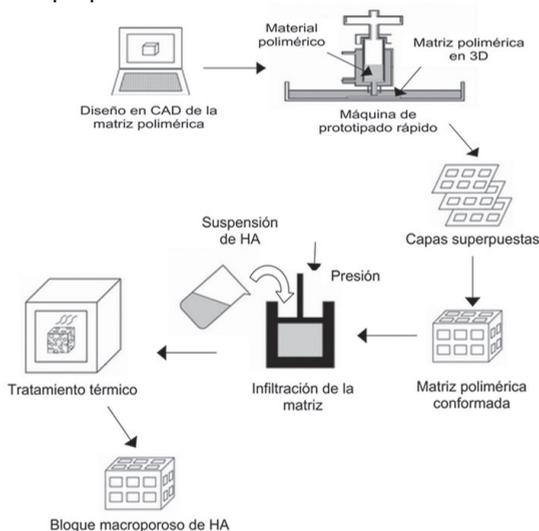


Figura 8. Esquema de fabricación de cuerpos porosos de HA usando la técnica de prototipado rápido.

Dutta *et al.* [67] realizaron estudios *in vivo* en dos tipos de cuerpos porosos, el primero obtenido a partir de una matriz polimérica diseñada por prototipado rápido con poros macroscópicos y otro usando una matriz de estructura porosa convencional; evaluando la ventaja de la arquitectura controlada proporcionada por la técnica. Concluyeron que el bloque con poros macroscópicos presentó mayor neoformación ósea, en comparación con el otro tipo de bloque. Como hallazgo importante encontraron cantidades significativas de nuevo hueso en los poros con un tamaño menor a 100µm. Este comportamiento es inusual y puede deberse al proceso de fabricación y al uso de un material como la HA que es osteoconductor.

Wilson *et al.* [69] utilizaron matrices fabricadas con cera, encontrando ventajas como el bajo coeficiente de expansión térmica de este material, que minimiza el riesgo de fractura durante el tratamiento térmico. Los análisis histológicos evidenciaron adhesión de hueso mineralizado principalmente en las superficies interiores de los poros, además que la textura de la superficie interna de los poros parece ser importante para inducir la formación del hueso. Años más tarde estos mismos investigadores [70] desarrollaron cuerpos porosos de varios fosfatos de calcio, incluida la HA, encontrando porcentajes de porosidad variables dependiendo de la temperatura de sinterización, así para 1150°C se obtuvo un porcentaje de porosidad de 72,39% y

para 1250°C de 49,65%. Además observaron que la morfología de los bloques exhibe una textura en la dirección del eje z, proveniente del proceso de elaboración por multicapas de la matriz polimérica que generó el cuerpo cerámico.

Woesz *et al.* [71] infiltraron con una suspensión cerámica que contenía monómeros (*gel-casting*), una matriz polimérica obtenida por prototipado con resina fotosensible. En las pruebas de biocompatibilidad *in vitro* con células provenientes de ratones, encontraron que las células osteoblásticas cubrieron toda la superficie interna y externa del material poroso, resultado atribuido a la elevada interconectividad de los poros conseguidos con la técnica de prototipado.

Inzana *et al.* [72] adicionaron a la solución de partida colágeno y un aglutinante a base de ácido fosfórico al 8,75% en peso, con los cuales se logró mejorar la citocompatibilidad, viabilidad celular y la resistencia mecánica, específicamente la resistencia a la flexión que alcanzó valores de 76kPa en los cuerpos porosos tanto de HA como de fosfato tricálcico α . Adicionalmente encontraron que los implantes fueron osteoconductivos observando la formación de nuevo hueso y a su vez la degradación de los cuerpos porosos.

La Tabla 1 resume las técnicas mostradas anteriormente y los resultados reportados por los autores.

Tabla 1. Resumen de las técnicas y los resultados reportados por algunos de los autores citados.

Técnica /Autor de referencia	Tamaño de Poro (μm)	Porosidad (%)	Propiedades Mecánicas
Corales			
González <i>et al.</i> (1993) [41]	200	NR	Resistencia a compresión de 14MPa
Cunningham <i>et al.</i> (2010) [4]	100 – 500	56 – 61 interconectividad 99,92%	NR
Hamza <i>et al.</i> (2013) [43]	NR	50%	Microdureza para el coral de 138 – 167HV y para el nácar 261 – 340HV Resistencia a la compresión para el coral de 32,82MPa y para el nácar de 37,06MPa
Porosidad inducida			
Jaramillo (2000) [45]	200	16	Módulo de ruptura 9,42MPa
López <i>et al.</i> (2003) [44]			
Con zea mays	1048	85	Módulo de ruptura 0,62MPa
Con madera	1593	71,6	Módulo de ruptura 0,09MPa
Rincón <i>et al.</i> (2007) [23]	300 – 500	35,8 – 45,6	Resistencia a compresión de 1,06MPa
Infiltración			
Saiz <i>et al.</i> (2007) [17]	100 – 200	NR	NR
Teixeira <i>et al.</i> (2009) [15]	200	NR	Resistencia a la compresión de 0,07MPa
Sopyan <i>et al.</i> (2009) [20]	NR	34,3	Resistencia a la compresión de 10,5MPa
Gel-casting			
Sepúlveda <i>et al.</i> (a, 2000) [50]	20 – 1000	80,7	Resistencia a la compresión de 4,7MPa
Sepúlveda <i>et al.</i> (b, 2000) [52]	17 – 122	NR	Resistencia a la compresión 1,6 -5,8MPa
Padilla <i>et al.</i> (2005) [54]	NR	< 10	Resistencia a la flexión de 45MPa
González <i>et al.</i> (2008) [24]	100	NR	Resistencia a la compresión de 3,2MPa
Cardona (2008) [55]	< 1	NR	Resistencia a compresión de 0,063MPa
Mejía <i>et al.</i> (2009) [56]	100 – 500	84 – 76	NR
Sánchez <i>et al.</i> (2008) [57]	150 – 300	NR	Resistencia a la Flexión de 1,87MPa
Con vaciado en capas			
Ramay <i>et al.</i> (2003) [27]			
Con infiltración de espumas poliméricas	200 – 400	71	Resistencia a la compresión de 5MPa Módulo elástico de 8GPa
Tripathi <i>et al.</i> (2012) [58]			
Con infiltración de espumas poliméricas	100 – 300	NR	Resistencia a la compresión de 1,3MPa

Técnica /Autor de referencia	Tamaño de Poro (μm)	Porosidad (%)	Propiedades Mecánicas
Yang <i>et al.</i> (2010) [59] Con liofilización e infiltración de espumas poliméricas	180 – 360	50	Resistencia a la compresión de 6,6MPa
Liofilización			
Deville <i>et al.</i> (2006) [61]	NR	47 56	Resistencia al a compresión 145MPa 65MPa
Zhou <i>et al.</i> (2011) [60]	NR	NR	Resistencia a la compresión 1,3 – 5,6MPa
Lee <i>et al.</i> (2007) [62]	NR	56 75	Resistencia a la compresión 17MPa 0,94MPa
McNamara <i>et al.</i> (2014) [46]	39,1 -107,7	2,7 -50	Resistencia a la compresión 8,7MPa
Moldeo por barbotina			
Liu (1998) [65]	160 – 200	32 – 78	NR
Cyster <i>et al.</i> (2005) [5]	200 – 500	85	Resistencia a la compresión 8,7 - 152,4MPa
Zhao <i>et al.</i> (b 2011) [64]	200 – 400	50,2 – 7321	NR
Prototipado rápido			
Wilson <i>et al.</i> (2011) [70] Sinterizado a 1150°C Sinterizado a 1250°C	72,39 49,65	NR	NR
Inzana <i>et al.</i> (2014) [72]	20 – 50	NR	Resistencia a la flexión de 76kPa

NR: No reporta

Conclusiones

El amplio potencial de la HA como biomaterial para reemplazo óseo, llevó a que se realizara la revisión bibliográfica de las diferentes técnicas de procesamiento de cuerpos porosos presentada en este trabajo. Este estudio mostró que a nivel mundial existe un extenso recorrido en la fabricación de cuerpos porosos, no obstante se evidencia que en Colombia el desarrollo de éstos está aún en sus inicios, siendo un campo con muchas perspectivas de aplicaciones exitosas y que aún es bastante lo que se puede investigar en el área. Es importante usar las grandes bondades de este material y mejorar sus propiedades mecánicas por medio de las innovaciones en los métodos de fabricación, por ejemplo integrando estas técnicas; para conseguir cuerpos con las mejores características que permitan un avance significativo en el área de la ingeniería de tejidos. Todas las técnicas presentadas en este escrito ofrecen como ventaja el poder obtener variación en el porcentaje de porosidad y morfología de los poros, y no limitan su uso sólo a la HA, ya que también existe la posibilidad de desarrollar nuevos biomateriales que permitan su conformado a través de suspensiones.

Se demuestra que existe un camino recorrido tanto internacional como nacionalmente en cuanto a producción de HA sintética; sin embargo, sus aplicaciones se limitan a lugares de implantación donde la sollicitación mecánica sea mínima y donde el requerimiento de la forma del producto sea en gránulos o polvo, como es el caso de los recubrimientos de prótesis o de los rellenos para aumento de reborde alveolar.

La disposición, tamaño de los poros y su interconectividad, son factores importantes que contribuyen a la buena integración entre el tejido óseo y el cuerpo poroso, promoviendo la circulación del fluido corporal y la migración celular al núcleo del implante. En la literatura no se reportan los valores de interconectividad para los cuerpos porosos fabricados por medio de las técnicas que se exponen en esta revisión, a excepción del valor obtenido para la técnica de corales, que es correspondiente a los valores del hueso trabecular. Respecto a la porosidad todas las técnicas exhiben tamaños de poros dentro de los rangos establecidos para la regeneración ósea. La resistencia mecánica es clave para que el cuerpo poroso resista la manipulación y la invasión de células una vez implantado, por tanto se requiere que éstos tengan una resistencia mecánica del

mismo orden de la del hueso trabecular. Debido a que la porosidad es similar para todas las técnicas de procesamiento analizadas, es la resistencia mecánica quien se convierte en un parámetro primordial para la selección del mejor método de fabricación. En este sentido, las técnicas que presentan mejores resultados son las técnicas de corales, infiltración, *gel-casting*, *gel-casting* combinada con infiltración de espumas poliméricas y *gel-casting* combinada con liofilizado e infiltración de espumas poliméricas y liofilización. No obstante, se considera que las técnicas que usan corales deben entrar en desuso debido a los efectos ambientales que generan, puesto que los arrecifes coralinos son ecosistemas que albergan un gran número de especies marinas y ayudan en la regulación de algunos procesos que se dan a nivel de las costas.

Agradecimientos

Las autoras agradecen al Comité para el Desarrollo de la Investigación-CODI- de la Universidad de Antioquia por la financiación del proyecto que dio lugar a esta publicación.

Referencias bibliográficas

- [1] Regí MV. Biomateriales para sustitución y reparación de tejidos. *Rev Farm Univ Complut.* 1999;15(4):10–14.
- [2] Estrada C, Paz AN, López LE. Ingeniería de tejido óseo: Consideraciones básicas. *Rev EIA.* 2006;(5):93–100.
- [3] Jaramillo CD, Rivera JA, Echavarría A, O'byrne J, Congote D, Restrepo LF. Comparación de las propiedades de osteoconducción y osteointegración de una hidroxiapatita reabsorbible comercial con una hidroxiapatita reabsorbible sintetizada. *Rev Colomb Ciencias Pecu.* 2009;22:117–30.
- [4] Cunningham E, Dunne N, Walker G, Maggs C, Wilcox R, Buchanan F. Hydroxyapatite bone substitutes developed via replication of natural marine sponges. *J Mater Sci Mater Med.* 2010;21(8):2255–61.
- [5] Cyster LA, Grant DM, Howdle SM, Rose FR, Irvine DJ, Freeman D, *et al.* The influence of dispersant concentration on the pore morphology of hydroxyapatite ceramics for bone tissue engineering. *Biomaterials.* 2005;26:697–702.
- [6] Ganta SR, Piesco NP, Long P, Gassner R, Motta LF, Papworth GD, *et al.* Vascularization and tissue infiltration of a biodegradable polyurethane matrix. *J Biomed Mater Res Part A.* 2003;64:242–8.
- [7] Chen G, Ushida T, Tateishi T. Development of biodegradable porous scaffolds for tissue engineering. *Mater Sci Eng C.* 2001;17(1):63–9.
- [8] Chen B, Zhang Z, Zhang J, Dong M, Jiang D. Aqueous gel-casting of hydroxyapatite. *Mater Sci Eng A.* 2006;435-436:198–203.
- [9] Pérez AL, Ortega VV, Meseguer L, Baños MA, Sepúlveda P, Sanz MC. Implante óseo de la espuma de hidroxiapatita-09 Estudio experimental en conejos. *Rev Española Patol.* 2005;38(1):14–20.
- [10] Rodríguez R, Estevez M, Vargas S, González M, Salazar R, Pacheco F. Synthesis and characterization of hap-based porous materials. *Mater Lett.* 2009;63:1558–61.
- [11] Bohner M, Baumgart F. Theoretical model to determine the effects of geometrical factors on the resorption of calcium phosphate bone substitutes. *Biomaterials.* 2004;25(17):3569–82.
- [12] Mastrogiacomo M, Scaglione S, Martinetti R, Dolcini L, Beltrame F, Cancedda R, *et al.* Role of scaffold internal structure on in vivo bone formation in macroporous calcium phosphate bioceramics. *Biomaterials.* 2006;27(17):3230–7.
- [13] Liu J, Miao X. Porous aluminoceramics prepared by slurry infiltration of expanded polystyrene beads. *J Mater Sci.* 2005;40(23):6145–50.
- [14] Chou J, Hao J, Ben-nissan B, Milthorpe B, Otsuka M. Coral Exoskeletons as a Precursor Material for the Development of a Calcium Phosphate Drug Delivery System for Bone Tissue Engineering. *Biol. Pharm. Bull.* 2013;36(11):1662–5.
- [15] Teixeira S, Rodriguez MA, Pena P, De Aza AH, De Aza S, Ferraz MP, *et al.* Physical characterization of hydroxyapatite porous scaffolds for tissue engineering. *Mater Sci Eng C. Elsevier B.V.* 2009;29(5):1510–4.
- [16] Muhamad Nor MAA, Hong LC, Arifin Ahmad Z, Md Akil H. Preparation and characterization of ceramic foam produced via polymeric foam replication method. *J Mater Process Technol.* 2008;207(1):235–9.
- [17] Saiz E, Gremillard L, Menendez G, Miranda P, Gryn K, Tomsia AP. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds. *Mater Sci Eng C.*

- 2007;27(3):546–50.
- [18] Black J, Hastings, G. Handbook of Biomaterials Properties. Londres: Chapman & Hall; 1998.
- [19] Navarro ME. Desarrollo y caracterización de materiales biodegradables para regeneración ósea (tesis de doctorado). Barcelona, España: Universidad Politécnica de Cataluña; 2005.
- [20] Sopyan I, Kaur J. Preparation and characterization of porous hydroxyapatite through polymeric sponge method. *Ceram Int*. 2009;35(8):3161–8.
- [21] Zhao K, Tang Y-F, Qin Y-S, Wei J-Q. Porous hydroxyapatite ceramics by ice templating: Freezing characteristics and mechanical properties. *Ceram Int*. Elsevier Ltd and Techna Group S.r.l. 2011;37(2):635–9.
- [22] Neoh K, Hu X, Zheng D, Kang T. Balancing osteoblast functions and bacterial adhesion on functionalized titanium surfaces. *Biomaterials*. 2012;33(10):2813–22.
- [23] Rincón M, Rodríguez A, Londoño ME, Echavarría A. Fabricación y caracterización de una matriz tridimensional de hidroxiapatita macroporosa para aplicación en ingeniería de tejidos óseos. *Rev EIA*. 2007;(7):87–95.
- [24] González J, Escobar DM, Ossa CP. Producción y caracterización de cuerpos porosos de hidroxiapatita sintética. *Rev Fac Ing*. 2008;43:59–66.
- [25] He L-H, Standard OC, Huang TTY, Latella BA, Swain M V. Mechanical behaviour of porous hydroxyapatite. *Acta Biomater*. 2008;4(3):577–86.
- [26] Padilla S, García-Carrodegua R, Vallet-Regí M. Hydroxyapatite suspensions as precursors of pieces obtained by gelcasting method. *J Eur Ceram Soc*. 2004;24(8):2223–32.
- [27] Ramay HR, Zhang M. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods. *Biomaterials*. 2003;24(19):3293–302.
- [28] Ramírez G, Escobar I, Echavarría A, Cardona J, Giraldo A, Riaño C. Características osteoconductoras de la HA sintética y la derivada de corales marinos injertados en conejos. *Rev Colomb ciencias Pecu*. 1999;2:97–107.
- [29] Xu Y, Wang D, Yang L, Tang H. Hydrothermal conversion of coral into hydroxyapatite. *Mater Charact*. 2001;47(2):83–7.
- [30] Rodríguez Macías RJ, Gómez Morales J, Rodríguez Clemente R, Bardoní Folá F. Biomaterial de restauración ósea. *Rev Cuba Investig Biomédica*. 1999;18(3):203–7.
- [31] Villora JM, Callejas P, Barba MF. Métodos de síntesis y comportamiento térmico del hidroxiapatito. *Boletín la Soc Española Cerámica y Vidr*. 2002;41(5):443–50.
- [32] Marin N. Producción y caracterización de hidroxiapatita sintética microporosa para fines de implante biomédico - comparación con un producto comercial (trabajo de pregrado). Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia; 2006.
- [33] Ossa CPO. Caracterização de revestimentos de hidroxiapatita depositados por aspersão a plasma sobre aços inoxidáveis austeníticos com alto teor de nitrógeno (tesis de doctorado). São Paulo, Brasil: Universidade de São Paulo; 2005.
- [34] Heo SJ, Kim SE, Hyun YT, Kim DH, Lee HM, Shin JW, *et al*. Biodegradable composite of poly ϵ -caprolactone / hydroxyapatite 3-D scaffolds for bone tissue engineering. *IFMBE Proc*. 2007;15:672–5.
- [35] Gómez Ortega JL, Villarreal Elizondo N, Guerrero Villa HM. Visualización cristalográfica de la hidroxiapatita. *Ingenierías*. 2004;7(24):46–50.
- [36] Londoño M, Echavarría A, De la Calle F. Características cristalquímicas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas. *Rev EIA*. 2006;(5):109–18.
- [37] Al-Qasas NS, Rohani S. Synthesis of pure hydroxyapatite and the effect of synthesis conditions on its yield, crystallinity, morphology and mean particle size. *Sep Sci Technol*. 2005;40(15):3187–224.
- [38] Cao L, Zhang C, Huang J. Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles in ultrasonic precipitation. *Ceram Int*. 2005;31(8):1041–4.
- [39] Martínez-Valencia AB, Esparza-Ponce HE, Carbajal-De la Torre G, Ortiz-Landeros J. Caracterización estructural y morfológica de hidroxiapatita nanoestructurada : estudio comparativo de diferentes métodos de síntesis. *Superf y Vacío*. 2008;21(4):18–21.
- [40] Sepulveda P, Binner JG. Processing of cellular ceramics by foaming and in situ polymerisation of organic monomers. *J Eur Ceram Soc*. 1999;19(12):2059–66.
- [41] González R, Melo MC, Pérez Reyes A, Rodríguez AC. Hidroxiapatita porosa HAP-200 principales características físico-químicas. *Quim Nova*. 1993;16(6):509– 12.
- [42] Pollick S, Shors EC, Holmes RE. Bone

- formation and implant degradation of coralline porous ceramics placed in bone and ectopic sites. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995;55(3):915–22.
- [43] Hamza S, Slimane N, Azari Z, Pluvinage G. Structural and mechanical properties of the coral and nacre and the potentiality of their use as bone substitutes. *Appl. Surf. Sci.* 2013;264:485–91.
- [44] López ME, Echavarría A, Suárez R, Herrera N. Hidroxiapatita macroporosa obtenida en la Universidad de Antioquia: síntesis, caracterización y comparación con el hueso esponjoso y calcinado de bovino. *Rev Fac Ing.* 2003;30:109–24.
- [45] Jaramillo Torres EA. Evaluación del módulo de ruptura de la hidroxiapatita sintética porosa al 16% (Trabajo de pregrado). Medellín, Colombia: Universidad Pontificia Bolivariana; 2000.
- [46] McNamara S, Rnjak-Kovacina J, Schmidt D, Lo T, Kaplan D. Silk as a bioadhesive sacrificial binder in the fabrication of hydroxyapatite load bearing scaffolds. *Biomaterials.* 2014;35(25):6941–53.
- [47] Zhao J, Duan K, Zhang JW, Guo LY, Weng J. Preparation of highly interconnected porous hydroxyapatite scaffolds by chitin gel-casting. *Mater Sci Eng C. Elsevier B.V.* 2011;31(3):697–701.
- [48] Chen B, Zhang T, Zhang J, Lin Q, Jiang D. Microstructure and mechanical properties of hydroxyapatite obtained by gel-casting process. *Ceram Int.* 2008;34(2):359–64.
- [49] Sepúlveda P. Processing of cellular ceramics synthesized by gelcasting of foams (Tesis de doctorado). Nottingham, Inglaterra: Universidad de Nottingham; 1996.
- [50] Sepulveda P, Binner JG, Rogero SO, Higa OZ BJ. Production of porous hydroxyapatite by the gel-casting of foams and cytotoxic evaluation. *J Biomed Mater Res.* 2000;50(1):27–34.
- [51] Janney MA, Omatete OO, Walls CA, Nunn SD, Ogle RJ, Westmoreland G. Development of low-toxicity gelcasting systems. *J Am Ceram Soc.* 1998;81(3):581–91.
- [52] Sepulveda P, Ortega FS, Innocentini MDM, Pandolfelli VC. Properties of highly porous hydroxyapatite obtained by the gelcasting of foams. *J Am Ceram Soc.* 2000;83(12):3021–4.
- [53] Ortega F, Sepulveda P, Pandolfelli V. Monomer systems for the gelcasting of foams. *J Eur Ceram Soc.* 2002;22(9):1395–401.
- [54] Padilla S, Vallet-Regí M, Ginebra MP, Gil FJ. Processing and mechanical properties of hydroxyapatite pieces obtained by the gelcasting method. *J Eur Ceram Soc.* 2005;25(4):375–83.
- [55] Cardona M. Estudio de la influencia del tipo de monómero en espumas de Hidroxiapatita (trabajo de pregrado). Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia; 2008.
- [56] Mejía C, Cardona M, Escobar DM, Ossa CPO. Caracterización morfológica de las espumas de hidroxiapatita producidas por gel-casting utilizando diferentes monómeros. En V Congreso Internacional de Materiales; 2009; Cali, Colombia, p. 6.
- [57] Sánchez-Salcedo S, Werner J, Vallet-Regí M. Hierarchical pore structure of calcium phosphate scaffolds by a combination of gel-casting and multiple tape-casting methods. *Acta Biomater.* 2008;4(4):913–22.
- [58] Tripathi G, Basu B. A porous hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering: Physico-mechanical and biological evaluations. *Ceram Int.* 2012;38(1):341–9.
- [59] Yang TY, Lee JM, Yoon SY, Park HC. Hydroxyapatite scaffolds processed using a TBA-based freeze-gel casting/polymer sponge technique. *J Mater Sci Mater Med.* 2010;21(5):1495–502.
- [60] Zhou K, Zhang Y, Zhang D, Zhang X, Li Z, Liu G, *et al.* Porous hydroxyapatite ceramics fabricated by an ice-templating method. *Scr Mater. Acta Materialia Inc.* 2011;64(5):426–9.
- [61] Deville S, Saiz E, Tomsia AP. Freeze casting of hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials.* 2006;27(32):5480–9.
- [62] Lee E-J, Koh Y-H, Yoon B-H, Kim H-E, Kim H-W. Highly porous hydroxyapatite bioceramics with interconnected pore channels using camphene-based freeze casting. *Mater Lett.* 2007;61(12):2270–3.
- [63] Zhang Y, Zuo K, Zeng Y-P. Effects of gelatin addition on the microstructure of freeze-cast porous hydroxyapatite ceramics. *Ceram Int.* 2009;35(6):2151–4.
- [64] Zhao K, Tang YF, Qin YS, Luo DF. Polymer template fabrication of porous hydroxyapatite scaffolds with interconnected spherical pores. *J Eur Ceram Soc.* 2011;31(1):225–9.
- [65] Liu D-M. Preparation and characterisation of porous hydroxyapatite bioceramic via a slip-casting route. *Ceram Int.* 1998;24(6):441–6.

- [66] Zhang Y, Yokogawa Y, Feng X, Tao Y, Li Y. Preparation and properties of bimodal porous apatite ceramics through slip casting using different hydroxyapatite powders. *Ceram Int.* 2010;36(1):107–13.
- [67] Dutta T, Simon J, Ricci J, Rekow E, Thompson V. Performance of hydroxyapatite bone repair scaffolds created via three-dimensional fabrication techniques. *J Biomed Mater Res Part A.* 2003;67:1228–37.
- [68] Chu TM, Halloran JW, Hollister SJ, SE Feinberg. Hydroxyapatite implants with designed internal architecture. *J Mater Sci Mater Med Mater Med.* 2001;12:471–8.
- [69] Wilson CE, de Bruijn JD, Van Blitterswijk CA, Verbout AJ, Dhert WJA. Design and fabrication of standardized hydroxyapatite scaffolds with a defined macro-architecture by rapid prototyping for bone-tissue-engineering research. *J Biomed Mater Res Part A.* 2004;68:123–32.
- [70] Wilson CE, de Bruijn JD, van Blitterswijk CA, Verbout AJ, Dhert WJA. Scaffolds with a standardized macro-architecture fabricated from several calcium phosphate ceramics using an indirect rapid prototyping technique. *J Mater Sci Mater Med.* 2011;22:97–105.
- [71] Woesz A, Rumpler M, Stampfl J, Varga F, Fratzi-Zelman N, Roschger P, *et al.* Towards bone replacement materials from calcium phosphates via rapid prototyping and ceramic gelcasting. *Mater Sci Eng C.* 2005;25(2):181–6.
- [72] Inzana J, Olvera D, Fuller M, Kelly J, Graeve O, Schwarz M, *et al.* 3D printing of composite calcium phosphate and collagen scaffolds for bone regeneration. *Biomaterials.* 2014;35(13):4026–34.