

TESIS CON CARACTER ABIERTO

PROGRAMA: MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

AUTOR: SUSANA ALEJANDRA RODRÍGUEZ ALVARADO FIRMA 

TITULO: Materiales Porosos Osteogénicos y Antibacteriales a Base de PEEK/Nanohíbridos de Hidroxiapatita-Óxido de Zinc por Impresión 3D con Uso Potencial en Implantes Dentales

ASESORES: Dra. Graciela Morales

FIRMA 

Dr. José de Jesús Kú Herrera

FIRMA 

El Centro de Investigación en Química Aplicada clasifica el presente documento de tesis como ABIERTO.

Un documento clasificado como Abierto se expone en los estantes del Centro de Información para su consulta. Dicho documento no puede ser copiado en ninguna modalidad sin autorización por escrito del Titular del Centro de Información o del Director General del CIQA.

Saltillo, Coahuila, a 05 de Diciembre de 2022


Sello de la Institución


Dr. Oliverio Santiago Rodríguez Fernández
Director General del CIQA



GOBIERNO DE
MÉXICO



CONACYT
Centro Nacional de Ciencia y Tecnología



CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN QUÍMICA APLICADA

Saltillo, Coahuila a 12 de diciembre de 2022

Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

Coordinación de Posgrado Presente

Por este conducto nos permitimos informar a esta coordinación que, el documento de tesis preparado por SUSANA ALEJANDRA RODRÍGUEZ ALVARADO titulado Materiales Porosos Osteogénicos y Antibacteriales a Base de PEEK/Nanohíbridos de Hidroxiapatita-Óxido de Zinc por Impresión 3D con Uso Potencial en Implantes Dentales el cual fue presentado el día 5 de diciembre de 2022, ha sido modificado de acuerdo a las observaciones, comentarios y sugerencias, realizadas por el Comité Evaluador asignado. Por tal motivo, avalamos que el documento adjunto corresponde a la versión final del documento de tesis.

Atentamente,

SINODALES

Dra. María Esther Treviño Martínez
Presidente

Dr. Dámaso Navarro Rodríguez
Secretario

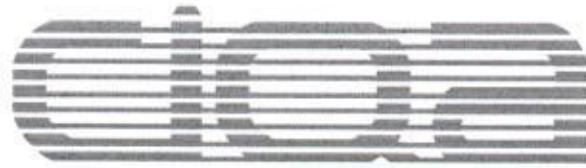
Dr. Omar Fabela Sánchez
Vocal

ASESORES

Dra. Graciela Morales

Dr. José de Jesús Kú Herrera





CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

**Materiales Porosos Osteogénicos y Antibacteriales a Base de PEEK/Nanohíbridos
de Hidroxiapatita-Óxido de Zinc por Impresión 3D con Uso
Potencial en Implantes Dentales**

Presentada por:

SUSANA ALEJANDRA RODRÍGUEZ ALVARADO

Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorada por:

**Dra. Graciela Morales
Dr. José de Jesús Kú Herrera**

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

**Materiales Porosos Osteogénicos y Antibacteriales a Base de PEEK/Nanohíbridos
de Hidroxiapatita-Óxido de Zinc por Impresión 3D con Uso
Potencial en Implantes Dentales**

Presentada por:

SUSANA ALEJANDRA RODRÍGUEZ ALVARADO


Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorada por:

**Dra. Graciela Morales
Dr. José de Jesús Kú Herrera**

SINODALES


Dra. María Esther Treviño Martínez
Presidente


Dr. Dámaso Navarro Rodríguez
Secretario


Dr. Omar Fabela Sánchez
Vocal

DECLARACIÓN

Declaro que la información contenida en la Parte Experimental así como en la Parte de Resultados y Discusiones de este documento y que forman parte de las actividades de investigación y desarrollo realizadas durante el período que se me asignó para llevar a cabo mi trabajo de tesis, será propiedad del Centro de Investigación en Química Aplicada.

Saltillo, Coahuila a 5 de diciembre de 2022



SUSANA ALEJANDRA RODRÍGUEZ ALVARADO

Nombre y Firma

Centro de investigación en Química aplicada

Maestría en Tecnología de Polímeros

“Materiales porosos osteogénicos y antibacteriales a base de PEEK/
nanohíbridos de hidroxiapatita-óxido de zinc por impresión 3D con
uso potencial en implantes dentales”



Presenta:

Susana Alejandra Rodríguez Alvarado

Asesores:

Dra. Graciela Elizabeth Morales Balado

Dr. José de Jesús Kú Herrera

Saltillo Coahuila, diciembre del 2022

Dedicatorias

Esta tesis la dedico a Dios primeramente por brindarme ánimos y fuerza para no decaer.

A mis padres por su apoyo moral y por sus oraciones. A mis hermanas por su amor y
ánimos.

A mis abuelos por todo su amor y cariño.

A mi esposo por todo su apoyo.

A todas las personas que me han ayudado a lo largo de estos dos años.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para que este proyecto pudiera realizarse. Y el financiamiento a través del Proyecto de Ciencia Básica No. 288682.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) por permitirme realizar mi formación académica de posgrado.

A mis asesores el Dr. José de Jesús Kú Herrera y la Dra. Graciela Morales por todo su apoyo y orientación a lo largo del desarrollo del proyecto.

A los sinodales Dr. Dámaso Navarro, Dr. Omar Fabela Sánchez y Dra. Esther Treviño por su orientación, consejo y correcciones.

A el Dr. José Bonilla Cruz, la Dra. Tania Lara Ceniceros y el Dr. Manuel Ávila por recibirme en el CIMAV, permitirme el uso de la impresora 3D y por todo su apoyo y disposición.

A la Dra. Victoria Padilla de la University of Texas Rio Grande por el análisis de XPS realizado, Dra. Beatriz Liliana España Sánchez por el análisis antibacterial.

Al personal en diferentes áreas por su apoyo en sus respectivas caracterizaciones, Lic. Jesús Alfonso Mercado Silva, Dr. Uriel Alejandro Sierra Gómez, M.C. Myrna Salinas Hernández, L.C.Q. Guadalupe Méndez Padilla, Ing. Jesús Gilberto Rodríguez Velázquez, Q.F.B. Natividad Alvarado Canché, Dr. Antonio Ledezma, Dr. Gustavo Soria, Dr. Enrique Díaz Barriga.

Al Dr. Luis Alfonso, Dra. Aida García Valdez y Lic. Nancy Espinosa por su disponibilidad para orientación y apoyo.

A mis compañeros M.C. Lyndon Sánchez, M.C. Juan Ortiz, M.C. Dafne Martínez y M.C. Diana Ramírez por todo su apoyo durante mi estancia.

Índice

1. Resumen	11
2. Introducción.....	12
3. Antecedentes.....	13
3.1. Composición y propiedades del hueso en la cavidad oral	14
3.2. Implantes dentales.....	16
3.3. Biomateriales empleados en implantes dentales.....	19
- 3.3.1. Metales.....	19
- 3.3.2. Materiales cerámicos	19
- 3.3.3. Polímeros	20
- 3.3.4. Materiales compuestos	20
3.4. Poli(éter-éter-cetona) (PEEK).....	21
3.5. Hidroxiapatita	22
3.6. Óxido de zinc (ZnO)	23
- 3.6.1. Mecanismo de acción del ZnO como bactericida.....	24
3.7. Nanomateriales híbridos	26
3.8. Estrategias para mejorar la bioactividad del PEEK	27
3.9. Diseño de implantes dentales por manufactura aditiva	29
4. Objetivos.....	31
4.1. General.....	31
4.2. Específicos	31
5. Hipótesis	31
6. Justificación	31
7. Parte Experimental	32
7.1. Materiales.....	32
7.2. Metodología general	32
7.3. Obtención de nanohíbridos de HAp-ZnO	33
7.4. Caracterización de los nanomateriales híbridos HAp-ZnO	35
- 7.4.1. Difracción de rayos X (DRX).....	35
- 7.4.2. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	35
- 7.4.3. Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS).....	35
7.5. Obtención de mezclas y filamentos a base de PEEK.....	36

7.6. Caracterización de las mezclas obtenidas	36
- 7.6.1. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	36
- 7.6.2. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	36
- 7.6.3. Análisis termogravimétrico (TGA)	37
7.7. Obtención de prototipos porosos por impresión 3D	37
7.8. Caracterización de materiales impresos	38
- 7.8.1. Análisis mecánico dinámico	38
- 7.8.2. Difracción de rayos X (DRX).....	38
- 7.8.3. Prueba de inhibición bacteriana.....	38
- 7.8.4. Prueba de crecimiento de apatita	39
8. Resultados y discusión	41
8.1. Caracterización de nanomateriales híbridos	41
- 8.1.1. Difracción de rayos X.....	41
- 8.1.2. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	43
- 8.1.3. Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X.....	46
8.2. Caracterización de las mezclas obtenidas	50
- 8.2.1. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	50
- 8.2.2. Calorimetría diferencial de barrido.....	53
- 8.2.3. Análisis termogravimétrico	55
8.3. Caracterización de materiales impresos.....	56
- 8.3.1. Análisis mecánico dinámico	56
- 8.3.2. Difracción de rayos X.....	59
- 8.3.4. Prueba de inhibición bacteriana.....	61
- 8.3.5. Prueba de crecimiento de apatita	62
9. Conclusiones.....	68
Referencias bibliográficas	69

Índice de Figuras

Figura 1. Proceso alveolar ²¹	15
Figura 2. Requisitos biológicos, estructurales y mecánicos para un implante dental ideal.....	18
Figura 3. Estructura química del PEEK	19
Figura 4. Estructuras cristalinas de ZnO: a) sal de roca, b) zinc-blenda y c) wurzita hexagonal...	23
Figura 5. Mecanismos de la actividad antibacteriana de las NPs de ZnO ^{59;60}	24
Figura 6. Estrategias generales para mejorar la bioactividad del PEEK ⁴	27
Figura 7. Esquema de impresión 3D por FDM ⁷⁵	29
Figura 8. Esquema general de la metodología realizada.	32
Figura 9. Esquema general de los experimentos exploratorios realizados para la síntesis de nanohíbridos.....	34
Figura 10. Prototipos obtenidos para a) prueba de bioactividad b) prueba antibacteriana c) análisis mecánico dinámico.....	37
Figura 11. Impresora 3D Hyrel Hydra.	38
Figura 12. Difractogramas de HAp pura, ZnO y los nanohíbridos sintetizados.	42
Figura 13. Imágenes TEM de a) HAp pura morfología esférica b) HAp pura con NPs en forma de varilla y c) histograma de distribución de tamaño de las NPs.....	44
Figura 14. Imágenes TEM de a) NPs de ZnO sintetizadas mediante ultrasonido, b) NPs de ZnO sintetizadas mediante microondas y c) Histograma de distribución de tamaño de ambas	45
Figura 15. Imágenes TEM de los nanohíbridos sintetizados.	46
Figura 16. Espectros totales de XPS. a) HAp. b) NH-6.	47
Figura 17. Espectros de alta resolución para HAp.	48
Figura 18. Espectros de alta resolución para NH-6.....	49

Figura 19. Imágenes TEM de los compuestos a base de PEEK. a) PEEK/HAp, c) PEEK/NH-6 y e) PEEK/Mezcla. Junto con sus respectivos análisis EDS. b) PEEK/HAp, d) PEEK/NH-6 y f) PEEK/Mezcla.....	52
Figura 20. DSC de calentamiento y enfriamiento respectivamente de PEEK, PEEK/HAp, PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla.....	54
Figura 21. TGA de PEEK y sus compuestos.	56
Figura 22. Efecto de las nanopartículas añadidas sobre las propiedades mecánicas dinámicas de PEEK en a) Módulo de almacenamiento (E') y c) Tan Delta.	58
Figura 23. Morfología superficial de a) NP de HAp sin ZnO y b) del NH-6.....	59
Figura 24. Difractograma de prototipos impresos de PEEK y sus compuestos... ..	60
Figura 25. Actividad antibacteriana de los prototipos porosos de PEEK, PEEK/Mezcla y PEEK/NH-6.	62
Figura 26. Micrografías en SEM de formación de apatita de los prototipos porosos inmersos en SBF al cabo de 3, 7, 14 y 21 días.	64
Figura 27. Mapeo elemental de los prototipos porosos a los 21 días de inmersión en SBF.	65
Figura 28. Patrones de difracción de rayos X de los prototipos porosos después de 21 días de inmersión en SBF.....	67

Índice de Tablas

Tabla 1. Resumen de concentraciones, métodos de adición de precursores y método de síntesis para la obtención de HAp-ZnO.....	34
Tabla 2. Componentes de solución SBF ⁷⁷	40
Tabla 3. Señales en 2θ y planos cristalográficos de la hidroxiapatita y de óxido de zinc.....	42
Tabla 4. Parámetros de celda y distancias interplanares de HAp pura y de nanohíbridos sintetizados.	43
Tabla 5. Energías de enlace características del calcio, oxígeno, fósforo y zinc ^{70;88-90}	50
Tabla 6. Parámetros térmicos obtenidos del análisis DSC de materiales de PEEK con nanopartículas.	54
Tabla 7. Resumen de los parámetros calorimétricos y su % de pérdida de masa.....	56
Tabla 8. Resumen de las propiedades mecánicas dinámicas de los prototipos porosos de PEEK con sus respectivas cargas.....	58
Tabla 9. Porcentaje de cristalinidad de los prototipos porosos en Difracción de Rayos X.	60
Tabla 10. Porcentaje atómico promedio de calcio y fósforo de la formación de apatita en PEEK y sus compuestos antes de sumergirlos en SBF y después de 21 días.....	66

Glosario

PEEK: poli(éter-éter-cetona).

ZnO: óxido de zinc.

NH: nanohíbrido.

NPs: nanopartículas.

(E’): módulo de almacenamiento.

Tan δ : Tan delta.

Biocompatibilidad: capacidad de un biomaterial para desempeñar una función deseada de acuerdo con un tratamiento médico, sin provocar ningún efecto indeseable.

Biomaterial: material natural o sintético usado como dispositivo médico, el cual tiene como propósito interactuar con un sistema biológico. El requisito esencial para ser clasificado como tal es la biocompatibilidad.

Bioactivo: causa reacciones tisulares favorables que se traducen en el establecimiento de enlaces químicos directos con el tejido circundante. Es decir, capacidad de un biomaterial de inducir la osteointegración mediante la formación superficial de una capa de apatita.

Bioinerte: No favorece la buena integración del implante con el tejido óseo adyacente (no favorece la osteointegración).

MSC: células madre mesenquimales.

Radiolucidez: no causa interferencia en tomografía computarizada ni en la tomografía de resonancia magnética.

Bruxismo: movimiento nocturno inconsciente e intenso de los músculos de la masticación.

Osteoinductor: promueve la diferenciación de las células madre mesenquimales en osteoblastos.

Osteoconductor: promueve la migración de las células madre mesenquimales.

Osteointegrador: permite la unión mecánicamente estable entre la superficie del implante y el tejido óseo adyacente.

Osteoclastos: responsables de la reabsorción ósea.

Osteoblastos: responsables de la formación de hueso nuevo.

Osteocitos: reguladores de la homeostasis ósea.

Angiogénesis: generación de vasos sanguíneos.

Periimplantitis: proceso inflamatorio que afecta a los tejidos blandos alrededor de un implante, dando como resultado la pérdida del hueso de soporte en el que el implante se ha integrado.

NPs: nanopartículas.

ROS: especies reactivas de oxígeno.

SBF: fluido corporal simulado.

Osteogénesis: formación de tejido óseo nuevo.

Cavitación ultrasónica: implosión de las burbujas creadas por ultrasonido.

%Xc: porcentaje de cristalización.

MA: manufactura aditiva.

FDM: modelado por deposición en fundido.

CAD: diseño asistido por computadora.

Gcode: secuencia de movimientos de la impresora.

1. Resumen

En este estudio se reporta el desarrollo de materiales porosos a base de poli (éter-éter-cetona) (PEEK) con nanohíbridos (NH) de hidroxiapatita-ZnO (HAp-ZnO), fabricados mediante impresión 3D, direccionados a su uso potencial como implantes dentales.

Primero se llevaron a cabo experimentos exploratorios para la síntesis de los NH de HAp-ZnO, en donde se evaluó el efecto de la concentración de los precursores, el método de adición (en agitación mecánica o asistida por ultrasonido) y el método de síntesis (sonoquímica o asistida por microondas). Los nanohíbridos se caracterizaron por microscopía electrónica de transmisión (TEM) y difracción de rayos X (DRX), para seleccionar aquel que exhibiera las señales características de los planos cristalográficos de la HAp y el ZnO, así como una distribución uniforme del ZnO en la superficie de la HAp. El nanohíbrido seleccionado se caracterizó por espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) para identificar las interacciones entre el ZnO e HAp.

Posteriormente se obtuvieron tres nanocompuestos a base de PEEK: i) PEEK cargado con 1 % (m/m) de HAp, al que se le denominó PEEK/HAp, ii) PEEK cargado con 1 % (m/m) del nanohíbrido de HAp-ZnO (PEEK/nanohíbrido) y iii) PEEK cargado con 1 % (m/m) de una mezcla física de HAp y ZnO, con una proporción de HAp:ZnO igual al del nanohíbrido, al que se identificó como PEEK/Mezcla. Los nanocompuestos obtenidos se caracterizaron térmicamente por calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA). Con los nanocompuestos se manufacturaron filamentos de 1.75 mm de diámetro para su uso en impresión de 3D de los prototipos porosos. La caracterización de estos prototipos consistió en análisis fisicoquímico, termomecánico, antibacterial y de bioactividad.

De los experimentos exploratorios para la síntesis de ZnO sobre HAp, se seleccionó el nanohíbrido que se obtuvo mediante la adición de los precursores del ZnO asistido por ultrasonido, seguido de la síntesis por microondas, al ser el único que exhibió una distribución uniforme del ZnO en la superficie de la HAp. En este nanohíbrido la HAp era de ~70 nm de diámetro con nanopartículas de ZnO de ~4.4 nm. Los resultados de la caracterización por DRX indicaron que el ZnO sintetizado sobre la HAp está en la fase wurtzita, y su síntesis no indujo cambios evidentes en la estructura cristalina de la HAp. Sin

embargo, los cambios en las energías de enlace en las orbitales Ca 2p, P 2p y O 1s de la HAp-ZnO con respecto a la HAp, sugieren que existen interacciones entre la HAp y el ZnO.

Los nanocompuestos de PEEK/HAp y PEEK/nanohíbrido no presentaron cambios significativos en su cristalinidad con respecto al del PEEK prístino, mientras que el nanocompuesto PEEK/Mezcla física de HAp-ZnO, exhibió un aumento en la cristalinidad.

El análisis mecánico dinámico (DMA) indicó que todos los nanocompuestos no exhibieron cambios significativos en la Tg con respecto al PEEK prístino. En lo que respecta al módulo de almacenamiento (E'), se encontró que la adición de la HAp y de la mezcla física de HAp-ZnO incrementaron ligeramente E' , ~9% y 13% respectivamente. Por su parte el nanocompuesto PEEK/nanohíbrido exhibió un $E'=1.13$ GPa, similar al del hueso esponjoso (0.75-3 GPa) y ~60% mayor que el del PEEK prístino. Los ensayos de actividad antibacteriana indicaron que los prototipos porosos de PEEK/nanohíbrido exhibieron un mayor porcentaje de inhibición (93% a las 2 h y 100% a las 24 h) que el PEEK/mezcla (50% a las 2h y 97% a las 24 h). Mientras que la prueba de bioactividad sugiere que el uso del nanohíbrido provoca un buen crecimiento de apatita en la superficie de los prototipos porosos.

Con estos resultados se concluye que los prototipos obtenidos por impresión 3D del nanocompuesto PEEK/nanohíbrido presentó las mejores propiedades mecánicas, antibacterianas y bioactivas, y por consiguiente lo posicionan con un buen candidato para su uso en implantes dentales.

2. Introducción

La pérdida de tejido óseo tiene un impacto negativo importante en la calidad de vida de los pacientes; pues a pesar de que el tejido óseo posee una capacidad regenerativa natural, ésta no es suficiente cuando los defectos óseos son de dimensiones considerables, por lo que es necesario implantar andamios óseos para promover su regeneración¹⁻³.

Los implantes dentales se diseñan para reemplazar las raíces dentales naturales y de esta forma mejorar la vida de los pacientes con pérdida (entre los que se encuentran: un 0.2% en usuarios de 18 años, 2.2% en adultos de 35-44 años y un 9.5% en adultos mayores de 65 a 74

años) o con degeneración dental. La mayoría de los implantes actualmente utilizados son a base de titanio, sin embargo, éste ha sido asociado a diversos inconvenientes tales como una probabilidad de fractura. Esto es generado por los niveles de esfuerzo que se experimenta cuando existe sobre carga prolongada, como es el caso del bruxismo. Además, el titanio también ha sido asociado a generar hipersensibilidad, corrosión y en algunos casos, puede promover la proliferación de microorganismos patógenos⁴⁻⁶.

Considerando lo descrito anteriormente, se puede deducir que, en el diseño de implantes dentales es de interés primordial que el material pueda satisfacer simultáneamente las características mecánicas, actividad osteogénica y antibacterial, de tal forma que contribuyan a la restauración de la funcionalidad de la pieza dental perdida.

La poli(éter-éter-cetona) (PEEK), es un polímero que se ha explorado como material para implantes dentales. Es biocompatible, posee un módulo elástico similar al del hueso alveolar promedio, es resistente a la degradación, así como térmica y dimensionalmente estable⁴. Sin embargo, el PEEK no posee propiedades osteogénicas ni antibacteriales, las cuales son características importantes para la correcta curación del sitio dañado^{1,5,7,8}. Por otro lado, el desarrollo de implantes dentales basados en PEEK puede resultar difícil utilizando técnicas de fabricación tradicionales debido a que el implante dental a fabricar es diferente para cada paciente, por lo que actualmente, se está explorando la impresión 3D para superar esta problemática.

En este proyecto se propone desarrollar materiales a base de PEEK con nanohíbridos de hidroxiapatita (HAp) - óxido de zinc (ZnO), donde la HAp promoverá la regeneración de tejido óseo dental, mientras que el ZnO aportará propiedades antibacteriales. Por otro lado, se plantea desarrollar prototipos tridimensionales (3D) porosos para mimetizar las características morfológicas del hueso circundante necesarias para la osteoconducción.

3. Antecedentes

La odontología ha ido evolucionando considerablemente en las últimas décadas como respuesta a las exigencias de los pacientes, ya que anteriormente, la preocupación era únicamente reponer la pérdida dental. Sin embargo, esto ha sido reemplazado por una visión más compleja donde no solo se atiende este problema, sino que también contempla la

restauración del entorno natural, la funcionalidad, la comodidad y la estética, con el fin de mejorar la calidad de vida del paciente^{5,9-11}.

El diseño exitoso de implantes dentales requiere la comprensión de la estructura y composición del tejido óseo nativo, así como una selección adecuada de biomateriales, y la comprensión del entorno biológico, de tal forma que el implante no produzca efectos negativos en el sitio de implantación (*biocompatibilidad*) y presente capacidad *osteogénica* (permitir la diferenciación de las células madre mesenquimales (MSC) en osteoblastos)^{1,7,12,13}.

3.1. Composición y propiedades del hueso en la cavidad oral

El tejido óseo es una estructura viva que consiste en dos tipos de hueso: el hueso esponjoso (trabecular) y el hueso compacto (cortical)^{1,2,7}. El hueso esponjoso constituye el núcleo interno del hueso, es blando, de baja densidad y muy vascularizado debido a que posee una red porosa interconectada donde tiene lugar la mayoría de las actividades metabólicas, alberga vasos sanguíneos y médula ósea lo que permite el transporte de nutrientes y desechos metabólicos. Además, debido a la presencia de contenido orgánico (proteínas como colágeno, proteoglicanos y células residentes), el hueso esponjoso se caracteriza por tener buena elasticidad. El hueso cortical por su parte corresponde al límite más externo y denso del hueso; está compuesto principalmente por materia inorgánica y muy baja porosidad (menor al 10%), y su función principal es proteger al hueso esponjoso interno^{2,7,13-15}. Por su parte, la HAp es la sustancia ósea inorgánica básica la cual consta de fosfato de calcio, y constituye aproximadamente dos tercios de las sustancias secas de los tejidos óseos y existe como cristales de apatita tanto dentro como fuera de las fibrillas de colágeno^{1,16}.

Ambos tipos de hueso experimentan una remodelación, maduración, diferenciación y reabsorción dinámica, la cual se controla a través de interacciones entre células de *osteocitos* (reguladores de la homeostasis ósea, detectan el ambiente mecánico local y responden alterando el equilibrio entre la formación y reabsorción ósea, necesaria para el crecimiento óseo y la curación de fracturas), *osteoblastos* (responsables de la formación de hueso nuevo) y *osteoclastos* (responsables de la reabsorción del hueso viejo)^{1,3}.

Las propiedades biomecánicas son variables entre el hueso esponjoso y cortical, y dependen de la porosidad (densidad) y contenido mineral del hueso. En general, el módulo elástico del

hueso cortical se encuentra entre 13-20 GPa, mientras que el del hueso esponjoso se encuentra entre 0.75-3 GPa^{17,18}.

El tejido óseo de la cavidad oral consiste en dos arcos dentarios los cuales son el maxilar superior e inferior, éste último también llamado mandíbula. Tanto el maxilar como la mandíbula constan a su vez, del proceso alveolar, el cual es la porción de hueso sobre los que los dientes erupcionan^{19,20}. El proceso alveolar (**Figura 1**) consiste en: a) una corteza que se encuentra en contacto con las raíces dentarias integrado por hueso compacto delgado llamado *hueso alveolar* (cortical interno), contiene una serie de aperturas llamadas *láminas cribiformes* que permiten la unión del ligamento periodontal, b) una corteza que está en contacto con el hueso basal llamado cortical externo y c) entre las dos capas compactas se encuentra el hueso esponjoso. Por último, el hueso basal es la porción de los maxilares localizada apicalmente, pero sin relación con los dientes^{19,21}.

En condiciones normales, la forma de la cresta alveolar depende del contorno del esmalte de los dientes vecinos, del grado de erupción de los dientes y del ancho de estos.

Cuando un diente se pierde, el proceso alveolar se va adelgazando y perdiendo altura, ocasionando en los maxilares una atrofia progresiva que en los casos más avanzados dificulta la inserción de los implantes²².

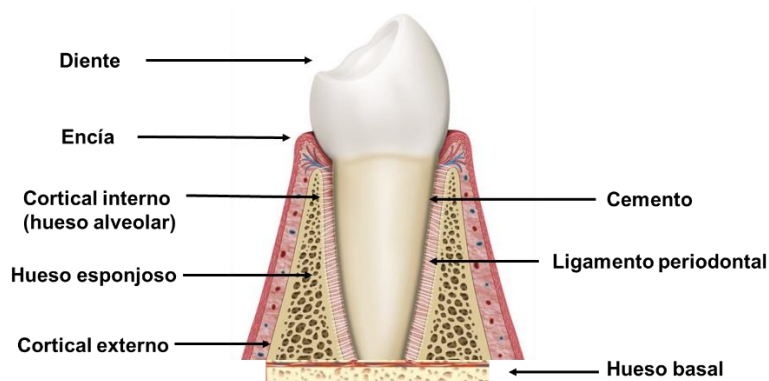


Figura 1. Proceso alveolar²¹.

3.2. Implantes dentales

Los implantes dentales se han vuelto cada vez más comunes para el manejo de la pérdida dental, éstos son materiales aloplásticos inertes incrustados en el maxilar y/o mandíbula para reemplazar la pérdida dental^{12,22,23}. El tipo más común de implante dental es el endoóseo⁴, el cual consta de una unidad de implante única y discreta en forma de tornillo o cilindro simulando la forma de la raíz del diente²³, y se coloca dentro de un espacio perforado en el del hueso alveolar para sostener un diente de reemplazo (corona)^{12,22-24}.

Un implante dental debe de servir como una matriz extracelular artificial para apoyar la formación de tejido óseo nuevo, proporcionar soporte mecánico y un ambiente adecuado para la unión, proliferación y diferenciación de las células^{1,2,13,15}. Aunado a esto, se requieren especificaciones para aplicaciones biomédicas, las cuales son: permitir una implantación mínimamente invasiva para de esta manera evitar un mayor daño al huésped y extender su tiempo de recuperación, ser capaz de esterilizarse mediante técnicas convencionales (autoclave, calor seco, radiación, óxido de etileno)^{1,2,13,15}, no debe causar interferencia en la tomografía computarizada y tomografía de resonancia magnética, es decir que tenga radiolucidez, así como ser reproducible a mayor escala y facilidad de manufactura^{1,2,13,15,18,25}. Una vez que el implante dental es puesto en el huésped, el hueso comienza a crecer en las superficies externas de éste, con un gradiente de mineralización interna. El éxito de este proceso depende de varios parámetros como la arquitectura interna, los niveles de porosidad, la composición química del material y la *biocompatibilidad*^{13,25}.

Existe una serie de requerimientos necesarios para la obtención del implante dental ideal, los cuales son.

- Requerimientos biológicos

Existen una serie de requerimientos biológicos que debe tener un implante dental ideal, los cuales son: ser *biocompatible*, *osteoconductor*, *osteoinductor*, *osteointegrador* y *bioactivo*^{13,16,18,24,25}.

La *biocompatibilidad* es uno de los factores más importantes, ya que asegura la capacidad de un material para funcionar con una respuesta apropiada del huésped sin causar muerte celular, así mismo, es importante que un implante dental evite la respuesta inmune del huésped. Además, debe de tener bioactividad, i.e., que debe de tener la capacidad de inducir la

diferenciación osteogénica (*osteoinducción*), la cual requiere iones solubles como el Ca^{2+} y PO_4^{3-} , ya que estimulan la *osteogénesis* (generación de tejido óseo) provocando la diferenciación de células madre mesenquimales (MSC) en *osteoblastos*. Las cuales a su vez forman HAp. Otro factor importante es estimular el crecimiento de hueso a nivel superficial permitiendo así la unión directa al hueso, lo que requiere la migración de las MSC (*osteokonducción*). Aunado a esto, el implante deberá permitir una unión mecánicamente estable entre la superficie del material y el hueso nativo (*osteointegración*)^{1,2,13,16,18,24,25}.

- Requerimientos estructurales

Dentro de las características estructurales importantes para un implante dental son: el tamaño, volumen y la interconectividad de poro, son parámetros críticos que tienen influencia en el módulo elástico. La porosidad es esencial para el flujo de nutrientes, la vascularización, crecimiento y migración celular. Se ha reportado una mayor formación de hueso y vascularización para implantes con tamaño de poro superior a $300\ \mu\text{m}^3$ ^{3,8}, ya que se promueve la *angiogénesis* (generación de vasos sanguíneos)⁸ y por ende, se mejora la regeneración ósea mediante una mayor proliferación y diferenciación de osteoblastos debido a un transporte masivo de oxígeno y nutrientes^{16,25}. Además del tamaño de poro, la interconectividad entre poros a través de una red porosa abierta e interconectada permite el crecimiento continuo del hueso y una correcta vascularización de los tejidos^{16,25}. Sin embargo, a medida que aumenta la porosidad y el tamaño medio de los poros, la resistencia mecánica decae, por lo que se necesita de un equilibrio entre la resistencia mecánica y la porosidad del material^{13,16}.

- Requerimientos mecánicos

Además de los requerimientos biológicos descritos anteriormente, las propiedades mecánicas del implante dental deben ser similares a las del hueso esponjoso^{1,8,18}, para evitar efectos negativos como el fenómeno “*stress shielding*”, el cual se define como daño estructural en el tejido óseo circundante, lo que da lugar a osteopenia, es decir reabsorción ósea. Este fenómeno se origina por esfuerzos de corte en la región interfacial implante-hueso, debido a las contrastantes propiedades mecánicas entre el hueso y el implante, en particular el módulo elástico (E)^{1,10}. Además, cuando el material del implante tiene propiedades mecánicas muy superiores a las del hueso nativo, la mayor parte de la carga mecánica es soportada por el implante, de tal forma que el hueso deja de recibir los esfuerzos necesarios para estimular la regeneración ósea, lo que conduce a una pérdida en su densidad^{1,8}. Por ello,

el material del implante debe tener idealmente un E similar al del hueso esponjoso (0.75-3 GPa)^{1,8,17}.

La resistencia mecánica es otra propiedad importante en implantes óseos porosos. Sin embargo, ésta se puede modular controlando las características estructurales del poro (densidad, tamaño, geometría y espesor de la pared del poro). Otra forma de mejorar la resistencia mecánica de los implantes consiste en modificar su composición o formulación^{3,10,18}.

En la **Figura 2** se muestra un resumen de los requisitos necesarios para el desarrollo de un implante dental ideal.

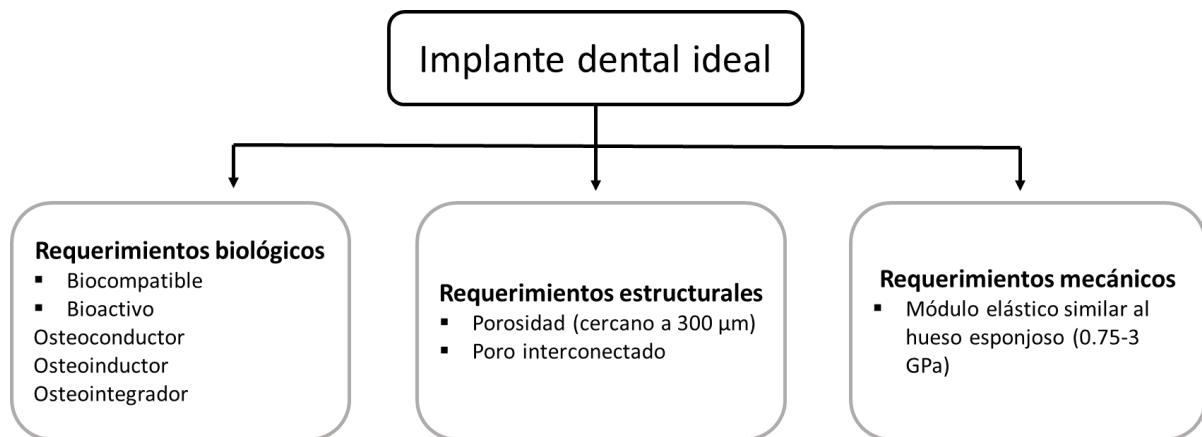


Figura 2. Requisitos biológicos, estructurales y mecánicos de un implante dental ideal.

Por otro lado, existen varias razones para el fracaso de implantes dentales, siendo el aflojamiento la razón más frecuente para la extracción del mismo, debido a la insuficiencia del tejido del huésped para establecer o mantener la *osteointegración* (conexión directa, estructural y funcional entre el hueso y la superficie del implante)^{1,12}. Otro factor importante en el fracaso de un implante dental son las infecciones bacterianas, las cuales pueden causar *periimplantitis* (proceso inflamatorio que afecta a los tejidos blandos alrededor de un implante, dando como resultado la pérdida del hueso de soporte en el que se ha integrado). Aunado a lo anterior, otras causas de infección en tejidos blandos durante el periodo de cicatrización incluyen: material de sutura residual, tornillos de cierre mal asentados,

implantes que sobresalen y traumatismos por dentaduras postizas, o traumatismo inducido por dientes opuestos^{1,12,16,26}.

3.3. Biomateriales empleados en implantes dentales

Los biomateriales son aquellos materiales compatibles con los tejidos vivos (*biocompatibles*) que provocan una respuesta biológica específica y deseada, se utilizan para la reparación o reemplazo de tejidos u órganos^{7,10,27}.

La idea tradicional de biocompatibilidad relacionada con materiales simples e inertes que no producen efectos tóxicos ha sido sustituida por la de biomateriales que interactúen con estructuras tisulares locales, de tal forma que permitan o promuevan una integración tisular completa, y puedan responder a estímulos del entorno local^{7,10,27}. Los biomateriales, independientemente de su uso, se dividen en cuatro categorías: metales, cerámicos, polímeros y compuestos^{1,8,10,15,16}.

3.3.1. Metales

Los biomateriales metálicos son materiales ampliamente utilizados para fines dentales, donde el titanio ha sido el más socorrido debido a sus propiedades de osteointegración^{4,7,8,10,15}. Sin embargo, el uso de implantes metálicos conduce a problemas de hipersensibilidad, alergias y reabsorción ósea como consecuencia del alto módulo que presentan (110 GPa), alto índice de corrosión, afinidad por la deposición de placa bacteriana causando reacciones inflamatorias que resultan en *periimplantitis*, y susceptibilidad a presentar grietas en estado de estrés.

Adicionalmente, desde el punto de vista estético, un implante de titanio presenta una desventaja asociada a que es visible a través de la mucosa del paciente^{1,4,6,10,15,28,29}. Por otro lado, estos materiales generalmente conducen a la formación de tejido fibroso, el cual representa una amenaza para el éxito de los implantes a largo plazo ya que éste no permite la integración del implante^{1,4,8,15}.

3.3.2. Materiales cerámicos

Los implantes basados en materiales cerámicos se clasifican en cristalinos (cerámicos cristalinos), amorfos (vidrios) y semicristalinos^{1,10,16}. Presentan *bioactividad*,

biocompatibilidad, son resistentes a la degradación y poseen menor afinidad a la formación de placa bacteriana que los implantes metálicos. Se han utilizado comúnmente ya sea para la fabricación de implantes o como recubrimiento de implantes metálicos^{4,8}. Sin embargo, son bastante frágiles debido a la naturaleza de sus enlaces iónicos y presentan un módulo elástico aún mayor que el de los implantes metálicos^{4,7,15}. El material cerámico más utilizado para implantes óseos es el dióxido de circonio (ZrO_2), más comúnmente conocido como “Zirconia”, este material promueve la *osteointegración* y su color es similar al de los dientes. Sin embargo, debido a su alto módulo elástico (210 GPa) genera grandes esfuerzos sobre el hueso circundante, generando como consecuencia “*stress shielding*”^{4,6,23,29}.

3.3.3. Polímeros

A diferencia de las otras dos clases de biomateriales, los polímeros y entre ellos, los polímeros sintéticos han despertado gran interés como candidatos para la regeneración de tejido óseo, principalmente por sus propiedades versátiles y modulables ya que son susceptibles a modificar sus propiedades para satisfacer los requisitos específicos de su aplicación^{1,8,15}.

No obstante, suelen presentar una serie de desventajas como la nula bioactividad y desgaste mecánico. Además, la mayoría de los polímeros no se pueden esterilizar por los métodos convencionales sin que sufran deterioro químico, térmico o mecánico^{10,15,25}.

3.3.4. Materiales compuestos

Los materiales compuestos resultan de la combinación estratégica de dos materiales, para dar lugar a un tercero con propiedades mejoradas y diferentes al de sus constituyentes; forma fases heterogéneas e interactúan entre sí a través de una interface^{1,2}.

Los compuestos de matriz polimérica son los sistemas de compuestos más comunes; estos suelen incluir una fase polimérica y NPs (nanopartículas) como carga, donde los tipos más comunes son los cerámicos bioactivos. La dispersión y concentración de estas NPs dentro de la matriz polimérica se encuentran entre los factores más importantes que determinan las propiedades del compuesto. Dentro de sus ventajas están: el brindar al polímero una función adicional y reforzarlo mecánicamente^{1,2,4}.

3.4. Poli(éter-éter-cetona) (PEEK)

La poli(éter-éter-cetona) (PEEK) es un polímero termoplástico semicristalino de alto peso molecular que proviene de la familia de la poli(aril-éter-cetona) (**Figura 3**), mejor conocidas como policetonas. Consta de una cadena molecular aromática principal interconectada por grupos funcionales cetona (-CO-) y éter (-O-) ubicados entre los anillos de arilo. La estructura química del PEEK, le otorga estabilidad térmica ($>300^{\circ}\text{C}$), resistencia a la corrosión y a la radiación, así como un desempeño mecánico sobresaliente. Además, sus propiedades pueden modularse/mejorarse mediante la adición de rellenos o refuerzos^{4,6,18,23,28,30-32}.

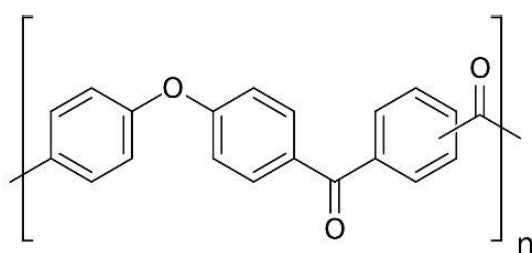


Figura 3. Estructura química del PEEK.

En la década de los 90's el PEEK fue certificado por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de EE. UU como material de grado implantable, ya que posee buena biocompatibilidad sin causar efectos tóxicos o mutagénicos, ni inflamación clínicamente significativa^{4,6,18,23}.

Posee un módulo elástico de 3-4 GPa cercano al del hueso alveolar compuesto en su mayoría por hueso esponjoso ($E= 0.75\text{-}3$ GPa), lo que lo hace una opción viable para la fabricación de implantes dentales y lo pone en ventaja respecto a los implantes convencionales a base de Ti, reduciendo así la posibilidad de reabsorción ósea provocado por los altos módulos de implantes metálicos y cerámicos^{4,6,17,18,23,28-30}. Una ventaja adicional del PEEK es que puede combinarse con otros materiales para satisfacer los requerimientos mecánicos de la aplicación. Además, posee resistencia al desgaste y la fatiga, dando como resultado un bajo coeficiente de fricción (0.10-0.17)^{4,5,30}. Otra ventaja del PEEK es su radiolucidez (*i.e.*, no causa interferencia en la tomografía computarizada ni en la tomografía por resonancia magnética), lo que permite una mejor observación de la fase de curación post-operatoria.

Asimismo, el PEEK tiene un aspecto más estético en comparación con los implantes metálicos, ya que posee un color beige^{4,6,18,29,33}.

Sin embargo, el PEEK por sí sólo es *bioinerte* y no presenta actividad antibacteriana lo que limita sus aplicaciones potenciales. Por lo que mejorar la bioactividad y proporcionarle características antibacterianas es un desafío por resolver^{4,18,23,28}.

3.5. Hidroxiapatita

Dentro de los materiales biocerámicos más utilizados como agentes *osteoinductores* se encuentra la HAp, la cual es el principal componente del mineral óseo^{34,35}. Es la fase más estable del fosfato cálcico, pertenece a la familia de las apatitas cuya fórmula química es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ^{36,37}; presenta una estructura hexagonal, es termodinámicamente estable en pH fisiológico y posee una relación molar Ca/P favorable de 1.67^{25,38,39}. Esta relación molar conduce a la formación de enlaces químicos con el tejido óseo, el cual mejora la osteoconductividad^{25,38-40}. Debido a esto, la HAp posee la capacidad de unirse espontáneamente al hueso vivo liberando iones de calcio y fosfato en el organismo dando como resultado el anclaje micromorfológico de implantes endoóseos, ya que conduce a la formación en la superficie del implante de una capa de apatita similar a la del hueso. Esta apatita biológica es reemplazada parcialmente por el hueso después de la implantación a largo plazo, ya que promueve la migración de las MSC (*osteokonducción*), lo cual permite la integración y el crecimiento del tejido óseo (*osteointegración*)^{25,38,41-43}. Además, las partículas de HAp de tamaño nanométrico se asocian con un nivel bajo de citotoxicidad *in-vitro* con crecimiento celular de osteoblastos²⁵.

Sin embargo, a pesar de las excelentes propiedades bioactivas anteriormente descritas, una de las principales desventajas de la HAp es su baja resistencia mecánica. No obstante, es posible incorporar la HAp a un implante dental para fomentar la regeneración ósea mediante su combinación a una fase polimérica para producir compuestos, permitiendo superar el inconveniente anteriormente señalado⁴³. Adicionalmente, la HAp favorece la adhesión bacteriana en su superficie, lo cual implica dificultad en el proceso de curación debido a las posibles infecciones en el sitio de implantación ocasionadas por microorganismos patógenos^{41,44}. Por lo tanto, es necesario la acción conjunta con NPs^{45,46} como los óxidos metálicos para sobrellevar estas limitaciones^{41,44}.

3.6. Óxido de zinc (ZnO)

Entre varias NPs de óxidos metálicos, el ZnO ha recibido una atención creciente como agente antibacteriano debido a su estabilidad en condiciones de procesamiento extremas y también porque se considera un material seguro para los seres humanos. Diversos estudios han demostrado que poseen toxicidad selectiva para las bacterias (especialmente las Grampositivas, ya que solo poseen una membrana citoplasmática), y solo muestran un efecto mínimo en las células humanas^{35,47-51}. Una ventaja adicional de este óxido metálico es que el Zn es el oligoelemento más abundante en el mineral óseo y tiene efectos estimulantes sobre la formación ósea tanto *in vitro* como *in vivo*, ya que inhibe la diferenciación de osteoclastos y promueve la actividad de los osteoblastos^{35,41,44,50,52-54}.

Sin embargo, la adición de NPs de ZnO por encima de un umbral mínimo del 10% en peso provoca un posible efecto tóxico para las células. Se ha reportado que la adición de un porcentaje de hasta 7.5% en peso promueve la proliferación celular^{41,44,47,55}.

El ZnO exhibe tres estructuras cristalinas diferentes, las cuales son; wurtzita hexagonal, zinc-blenda y sal de roca, donde la estructura de wurtzita es la más común debido a que es termodinámicamente estable en condiciones ambientales^{47,49,56,57}. Cada átomo de Zn está rodeado por cuatro átomos de oxígeno y viceversa. Generalmente se ilustra esquemáticamente como una serie de planos alternos de iones Zn y oxígeno apilados en el eje-c. Dichas estructuras cristalinas se ilustran en la **Figura 4**^{47,56}.

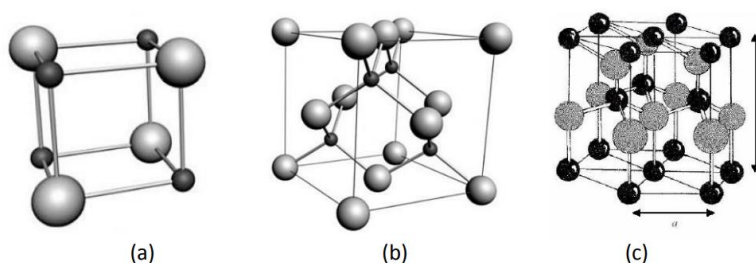


Figura 4. Estructuras cristalinas del ZnO: a) sal de roca, b) zinc-blenda y c) wurtzita hexagonal⁵⁶.

La actividad antibacteriana del ZnO depende de una serie de factores, los cuales se listan a continuación:^{47,49-51,58-61}.

- **Tamaño de las NPs.** Estudios realizados por Padmavathy N. et al⁵⁸ mencionan que cuanto mayor es el área superficial, la generación de H₂O₂ y la liberación de iones Zn⁺² aumenta dando como resultado un aumento la actividad antibacteriana.
- **Concentración de las NPs.** La actividad bacteriana de ZnO se correlaciona con su concentración. Díez-Pascual A.M. et al⁷⁵ encontraron que a mayor porcentaje de ZnO (2.5 y 7.5 % en peso) se obtiene mayor actividad antibacteriana, esto atribuido a la mayor generación de ROS (especies reactivas de oxígeno) y de iones Zn⁺².
- **Defectos de superficie.** Otro factor que juega un papel importante en la actividad antibacterial son los defectos de superficie de las NPs, ya que los bordes o esquinas funcionan como sitios de superficie abrasivas que provocan una lesión en la membrana bacteriana.
- **Morfología.** El tipo de morfología de las NPs influye en su internalización en las bacterias. Un ejemplo es el ZnO con morfología de varillas o alambres, el cual le permite penetrar en las paredes celulares bacterianas.
Por otro lado, se ha reportado que las NPs de ZnO con morfología esférica producen una mayor liberación de iones Zn⁺²⁶⁶.

3.6.1. Mecanismo de acción del ZnO como bactericida

La actividad antibacteriana de las NPs de ZnO se atribuye a diversos mecanismos de acción, los cuales se esquematizan en la **Figura 5**.

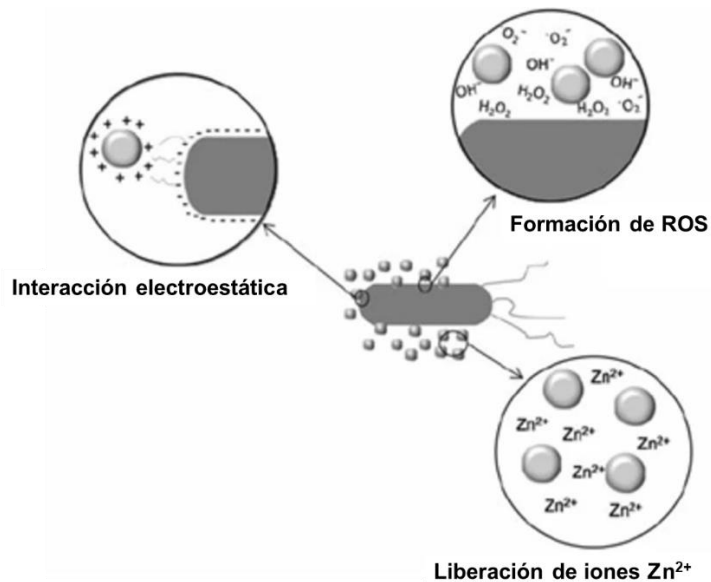


Figura 5. Mecanismos de la actividad antibacteriana de las NPs-ZnO^{49,63}.

El primer mecanismo de acción es atribuido a la toxicidad por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) tales como el anión súper óxido (O_2^-), el anión hidróxido (OH^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2)^{50,61-65}. La toxicidad de estas especies implica la destrucción de componentes celulares como lípidos, ADN y proteínas, como resultado de su internalización en la membrana celular de las bacterias^{47,49,57,58,64}. Los súper óxidos y los aniones hidroxilos no pueden penetrar la membrana debido a sus cargas negativas (ya que la carga total bacteriana es negativa debido a la formación de grupos carboxilo, por lo que se repelen), por lo tanto, las moléculas de H_2O_2 son las responsables del daño a la bacteria, ya que pueden atravesar la pared celular provocando lesiones, destrucción y finalmente la muerte celular en la bacteria^{47,57,63,64}.

El segundo mecanismo de acción es atribuido a la liberación de iones zinc (Zn^{+2})^{47,49,63}, donde el Zn^{2+} liberado tiene un efecto significativo en la inhibición del metabolismo de los aminoácidos y la interrupción del sistema enzimático^{47,63}. Peng et al.⁶⁶ observaron que la liberación de iones Zn^{+2} depende fundamentalmente del tipo de morfología de las NPs, siendo mayor para morfologías esféricas⁴⁷.

Por último, otro mecanismo de acción es la inhibición del metabolismo energético bacteriano debido a la internalización de las NPs en las bacterias gracias a la fuerza electrostática que se produce entre las células bacterianas y el ZnO^{49,60,63}. Dicha internalización también está influenciada por el tamaño de partícula y los defectos de la superficie⁶⁰. Otros factores que juegan un papel importante en el mecanismo antibacteriano son los defectos superficiales, ya que las superficies del ZnO suelen contener bordes y esquinas, los cuales ocasionan lesiones en la membrana bacteriana^{47,49}.

3.7. Nanomateriales híbridos

Los nanomateriales híbridos se definen como materiales formados por dos o más componentes, ya sean orgánicos o inorgánicos,⁴⁶ capaces de generar un efecto sinérgico al producto final, creando propiedades multifuncionales^{67,68}.

Algunos investigadores han sintetizado materiales híbridos de ZnO con HAp para aplicaciones biomédicas. En una investigación realizada por Naofumi Ohtsu et al⁶⁹, se realizó un revestimiento de HAp con ZnO sobre un sustrato de titanio mediante deposición en solución química, el cual mostró una excelente eficacia antibacteriana contra *E. coli* (Gramnegativa) y *S. epidermis* (Grampositiva).

De igual forma, Cai et al⁷⁰, desarrollaron nanofibras de PVA-HAp-ZnO por electrohilado, donde observaron que las nanofibras exhibieron una mayor actividad antibacteriana contra *S. aureus* en comparación con *E. coli*, la cual aumentó al incrementar el contenido de ZnO.

En otra investigación, Ofudje E. A. et al⁷¹, estudiaron la actividad antibacteriana y la bioactividad de HAp-Zn sintetizado mediante la técnica de coprecipitación química. Los resultados demostraron un crecimiento de apatita en el híbrido, así como una buena actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus*, siendo mayor para esta última.

Por otro lado, Predoi et al⁷², realizaron la síntesis de HAp dopada en bajas concentraciones con Zn mediante el método de coprecipitación, y estudiaron la respuesta de las líneas celulares hepáticas (HepG2) y las propiedades antibacterianas contra *S. aureus* y *E. coli*. Los autores reportaron que el material híbrido presenta baja citotoxicidad contra esta línea celular aún con altas concentraciones de Zn, y una mejor actividad antibacteriana para *S. aureus* en

comparación con *E. coli*, concluyendo que dichas nanopartículas poseen potencial en el campo biomédico.

Acorde a lo anteriormente discutido, se concluye que un sistema híbrido posee ventajas sobre sus componentes por separado, debido a sus propiedades multifuncionales.

3.8. Estrategias para mejorar la bioactividad del PEEK

A pesar de las ventajas del PEEK que permiten vislumbrarlo como un material idóneo para la obtención de implantes dentales, éste se considera biológicamente inerte; por lo que no promueve interacción con el hueso y por consiguiente impide la *osteointegración* y limita sus posibles aplicaciones^{4,38}. Asimismo, el PEEK tampoco exhibe propiedades antibacteriales. Por lo que la modificación del PEEK para mejorar dichas características podría reducir la tasa de falla de implantación causada por una pobre osteointegración y/o inflamación por infección bacteriana, evitando a su vez cirugías secundarias^{4,38}.

Actualmente, existen dos estrategias generales para mejorar la bioactividad de PEEK que comprenden la modificación de superficie (centran fundamentalmente en mejorar la rugosidad de la superficie) y la preparación de compuestos bioactivos (**Figura 6**). Dentro de esta última estrategia, sobresale la hidroxiapatita (HAp) y el óxido de zinc como NPs bioactivas, donde la HAp es un cerámico bioactivo (*biocerámico*) que tiene la capacidad de formar enlaces químicos con el tejido óseo y, por otro lado, el ZnO aporta propiedades antibacteriales. Por lo tanto, la integración de materiales bioactivos en PEEK se ha convertido en una estrategia atractiva para mejorar su bioactividad manteniendo sus propiedades mecánicas.

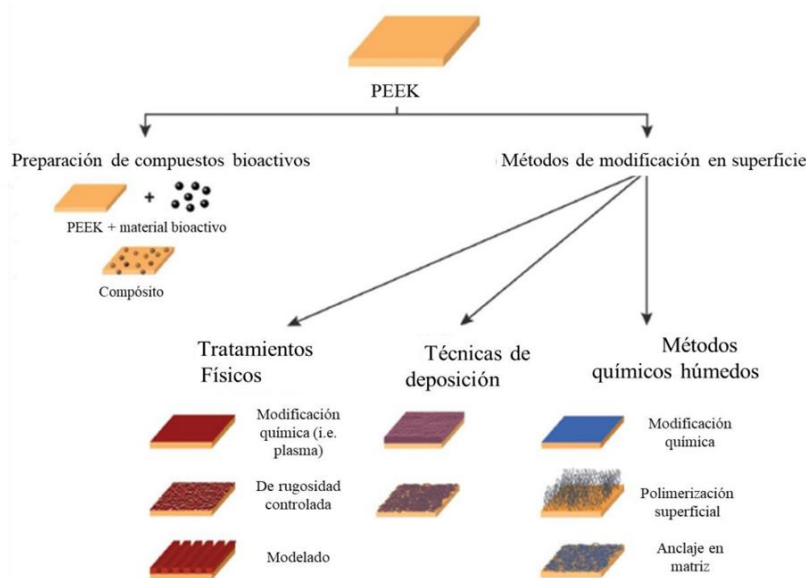


Figura 6. Estrategias generales para mejorar la bioactividad de PEEK⁴.

Abu Bakar M.S. et al⁷³, desarrollaron un compuesto bioactivo de PEEK con hasta un 40 % en volumen de HAp, donde observaron actividad osteoblástica en la formación de osteoides y la presencia de osteocitos. Por otro lado, Tan K. H. et al⁷⁴, fabricaron prototipos porosos de PEEK/HAp mezclados físicamente con un 10 % en peso de HAp mediante sinterización selectiva por láser. Demostraron la bioactividad de sus prototipos con la precipitación de apatita después de su inmersión en SBF (fluido corporal simulado) a partir de los 7 días.

Por otro lado, Díez-Pascual et al⁷⁵, prepararon compuestos de PEEK con ZnO tratado y sin tratar con un agente de acoplamiento de tipo silano. Se observó un aumento en el módulo de almacenamiento, además de una mejora en la actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus* con el aumento del contenido de ZnO del 2.5 % al 7.5 % en peso. Además, Hao Linlin et al⁷⁶, fabricaron compuestos de PEEK/ZnO modificadas con γ -aminopropiltriethoxisilano (APTES), donde se demostró un aumento en las propiedades mecánicas cuando el contenido de ZnO era del 7.5 % en peso y una mayor proliferación celular de osteoblastos de ratón (MC3T3-E1), lo cual indicó que dicho compuesto tiene potencial como biomaterial para implantes ortopédicos.

3.9. Diseño de implantes dentales por manufactura aditiva

El diseño de implantes por manufactura aditiva (MA) es una tecnología basada en el principio de fabricación capa por capa de objetos 3D, que permite la producción de piezas poliméricas, metálicas y cerámicas complicadas⁷⁷.

La técnica de MA más utilizada es el modelado por deposición en fundido (FDM) observado en la **Figura 7**^{3,77,78}. Ésta es considerada una de las técnicas más eficientes para la obtención de implantes óseos debido a que posee una resolución espacial que puede generar tipologías a microescala. Esta técnica está basada en el diseño asistido por computadora (CAD)⁷⁷, en el proceso, un filamento polimérico se alimenta continuamente a un cabezal, donde se funde para posteriormente extruirse a través de una boquilla para construir la estructura capa por capa en una placa calentada^{3,13,77-79}, siguiendo el patrón prescrito por la instrucción de un Gcode (secuencia de movimientos de la impresora) generado por el software que controla la máquina⁷⁹.

Esta técnica de impresión 3D ofrece un bajo costo de fabricación y flexibilidad en el diseño⁷⁷. Además, con este sistema de fabricación, es posible la producción de implantes dentales complejos con una arquitectura y una interconectividad de poros optimizada^{13,16}.

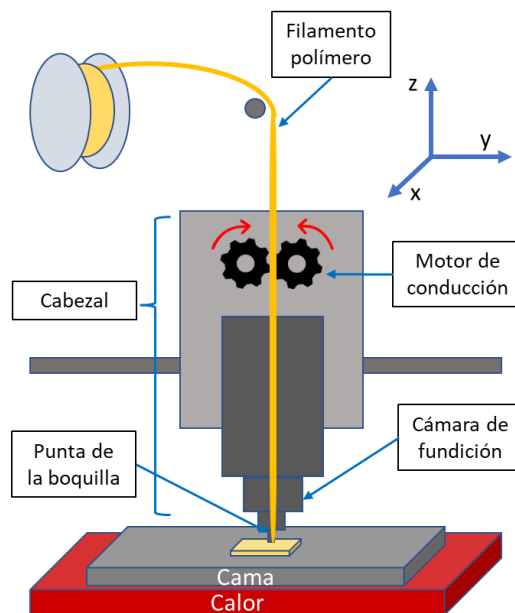


Figura 7. Esquema de impresión 3D por FDM⁸⁰.

El efecto final de la pieza fabricada está influenciado por una serie de factores, como el material y los parámetros de proceso⁷⁹. Los parámetros del proceso están directamente relacionados con la precisión de las piezas impresas, los cuales se basan en el proceso (temperatura de fusión, velocidad de impresión y el calor de la cama) o en la estructura (grosor de la capa, geometría del relleno, densidad de relleno y número de capas)^{77,79,80}.

De acuerdo con lo ya señalado en las secciones anteriores, en este proyecto se planteó el desarrollo de materiales porosos a base de PEEK/HAp-ZnO obtenidos por impresión 3D. La adición de HAp-ZnO mejorará las propiedades mecánicas, además de brindarle capacidades osteogénicas y antibacteriales. De tal forma que se obtengan prototipos porosos con propiedades multifuncionales para su uso potencial en implantes dentales.

4. Objetivos

4.1. General

Desarrollar materiales porosos por impresión 3D a base de PEEK/ nanohíbridos de HAp-ZnO con propiedades osteogénicas y antibacteriales para su uso potencial en implantes dentales.

4.2. Específicos

- Establecer condiciones de síntesis que permitan obtener nanohíbridos de HAp-ZnO, de tal forma que el ZnO se sintetice preferentemente sobre la HAp.
- Obtener filamentos de PEEK/HAp-ZnO imprimibles por modelado por deposición en fundido (FDM).
- Evaluar el efecto de la incorporación de los híbridos HAp-ZnO sobre las propiedades mecánicas, osteogénicas y antibacterianas de los materiales desarrollados.

5. Hipótesis

La incorporación de nanohíbridos de HAp-ZnO a una matriz polimérica de PEEK le conferirá características tanto antibacterianas y osteogénicas para su uso potencial en implantes dentales sin repercusión en las propiedades mecánicas. Por su parte, mediante impresión 3D se obtendrán prototipos de materiales porosos que mimeticen las características estructurales del hueso esponjoso.

6. Justificación

La odontología moderna está buscando soluciones alternativas para restaurar y mejorar la calidad de vida de los pacientes que han perdido piezas dentales. Los implantes dentales utilizados actualmente están hechos principalmente de titanio. Sin embargo, el 20% de los pacientes aún tienen complicaciones clínicas, generadas principalmente por la pobre fijación del implante e infecciones bacterianas a corto o largo plazo, que pueden inducir la pérdida de masa ósea y, por ende, la falla del implante. Debido al costo elevado de las cirugías dentales es esencial encontrar una solución a este problema y desarrollar implantes dentales que permitan una integración óptima con los tejidos y áreas circundantes mientras que previenen infecciones bacterianas. El enfoque original de este trabajo es imprimir en 3D

nuevos prototipos de implantes dentales porosos basados en PEEK, conocido por su biocompatibilidad y rendimiento mecánico, en conjunto con la integración de nanohíbridos de HAp-ZnO que le brindarán al material propiedades osteogénicas y antibacterianas simultáneamente.

7. Parte Experimental

7.1. Materiales

Para la síntesis de los NH (nanohíbridos) se utilizó HAp comercial con morfología esférica, pureza del $\geq 97\%$ y diámetro ≤ 200 nm, hidróxido de sodio (NaOH) pureza $\geq 97\%$, acetato de zinc dihidratado ($Zn(O_2CCH_3)_2 \cdot 2(H_2O)$) con una pureza del $\geq 99\%$ suministrados por Sigma-Aldrich, como medio de reacción se empleó metanol anhidro y para la impresión de prototipos porosos se utilizó PEEK marca Victrex®450G.

7.2. Metodología general

La estrategia general del trabajo se resume en la **Figura 8**. Consta fundamentalmente de tres etapas: la primera involucró la síntesis de NPs (nanohíbridos de HAp-ZnO y ZnO), en la segunda etapa se obtuvieron las mezclas y filamentos para impresión 3D (PEEK, PEEK/HAp, PEEK/HAp-ZnO (NH) y PEEK/HAp + ZnO (mezcla física). Finalmente, en la tercera etapa se obtuvieron los prototipos por impresión 3D. En cada una de las etapas se realizaron las caracterizaciones respectivas de acuerdo con lo indicado en la **Fig. 8**.

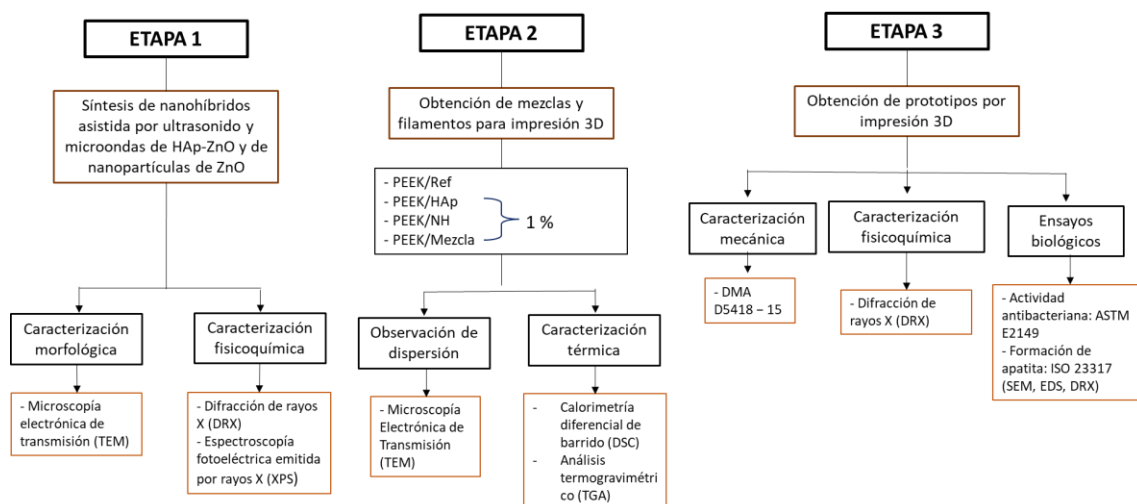


Figura 8. Esquema general de metodología realizada.

7.3. Obtención de nanohíbridos de HAp-ZnO

Para la síntesis de nanohíbridos se llevaron a cabo una serie de experimentos exploratorios resumidos en la **Figura 9**. En los primeros cuatro experimentos denotados como NH-1, NH-2, NH-3 y NH-4, se sintetizó ZnO en presencia de HAp empleando soluciones de NaOH y $\text{Zn}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$ (A. Zn) con una concentración de 30 mM en el caso de NH-1 y NH-2 y 60 mM para NH-3 y NH-4. La adición de los precursores se realizó gota a gota manteniendo agitación mecánica constante. La síntesis se llevó a cabo en ultrasonido (NH-1 y NH-3) a una temperatura controlada de 60°C por 75 min y microondas (NH-2 y NH-4) con una rampa de calentamiento de 7.5°C/min hasta alcanzar 100°C. Dicha temperatura se mantuvo por 30 min, para posteriormente dejar enfriar hasta temperatura ambiente. El producto resultante se filtró y secó a 60°C por 17 h para su almacenamiento.

Con los resultados obtenidos, se decidió plantear otro par de experimentos (NH-5 y NH-6), donde se duplicaron las concentraciones de los precursores a 200 mM para NaOH y 100 mM para A. Zn, la adición se realizó gota a gota mientras se mantenía en ultrasonido. Para el caso del NH-5 la síntesis se llevó a cabo en ultrasonido y para NH-6 se realizó en microondas. De los resultados obtenidos de esta serie de experimentos exploratorios se eligió el NH-6 para continuar con la siguiente etapa. Para la síntesis de las NPs de ZnO, se siguió la misma metodología expuesta para el NH-6 exceptuando la adición de HAp. En la **Tabla 1** se presenta un resumen de las concentraciones y volúmenes utilizados para cada uno de los NH sintetizados.

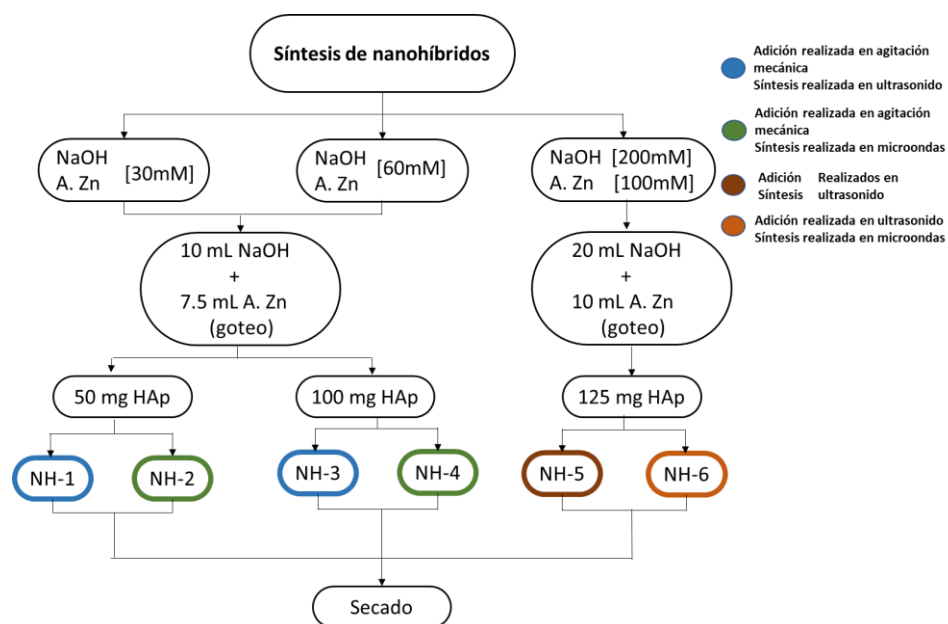


Figura 9. Esquema general de los experimentos exploratorios realizados para las síntesis de nanohíbridos.

Tabla 1. Resumen de concentraciones, métodos de adición de precursores y método de síntesis empleados para la obtención de HAp-ZnO.

Nanohíbrido	Concentración de precursores de ZnO (NaOH y Ac. zinc)	Adición de reactivos	Método de Síntesis
NH-1	30 mM	Agitación mecánica	Ultrasonido
NH-2			Microondas
NH-3	60 mM	Agitación mecánica	Ultrasonido
NH-4			Microondas
NH-5	NaOH: 200mM	Ultrasonido	Ultrasonido
NH-6	Ac. Zinc: 100 mM	Ultrasonido	Microondas

7.4. Caracterización de los nanomateriales híbridos HAp-ZnO

7.4.1. Difracción de Rayos X (DRX)

Los NH (HAp-ZnO) se caracterizaron mediante Difracción de Rayos X (DRX) en un difractómetro Bruker D8 Advance, con una fuente de radiación de Cu α ($\lambda = 1.54183 \text{ \AA}$) en un intervalo de $20\text{-}90^\circ$ en 2θ , con un ancho de paso 0.02° y una velocidad de $3^\circ/\text{min}$. La distancia interplanar (d) se calculó utilizando la ley de Bragg, de acuerdo con la Ecuación 1:

$$d = \lambda / 2 \sin \theta \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde λ es la longitud de onda de los rayos X (0.1541 nm) y θ es el ángulo entre rayos incidentes y los planos de dispersión.

Así mismo, se calcularon los valores de los parámetros de celda tanto de la HAp como de los nanohíbridos sintetizados utilizando la ecuación para una celda hexagonal de acuerdo con la Ecuación 2:

$$\frac{1}{d_{hkl}^2} = \frac{4}{3} \left(\frac{h^2 + hk + k^2}{a^2} \right) + \frac{l^2}{c^2} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde d es la distancia interplanar (hkl) obtenida mediante la ecuación 1, “ a ” y “ c ” son los parámetros de celda.

7.4.2. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Para observar la morfología de las muestras, éstas se analizaron por microscopía electrónica de transmisión (TEM), empleada en un microscopio FEI Titan 80-300 kV equipado con un detector de rayos X marca EDAX.

7.4.3. Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS)

Para el análisis de XPS se utilizó el equipo K-Alpha de la compañía Thermo Scientific, se usó una fuente de rayos X monocromática con ánodo de aluminio, utilizando una energía de 1 eV para escaneos y 1 keV para análisis de profundidad, el haz de corriente y el voltaje del cátodo de enfoque fueron de 3 mA y 1820 V respectivamente. Los espectros de barrido amplio (survey) se obtuvieron con una energía de paso de 200 eV , la región de análisis fue de $1400 - 0 \text{ eV}$ en energía de enlace.

7.5. Obtención de mezclas y filamentos a base de PEEK

La obtención de las mezclas de PEEK, PEEK/HAp, PEEK/NH y PEEK/Mezcla se realizó en un extrusor doble husillo Omega 30 STEER, bajo los siguientes perfiles de temperatura Zona 1: 200°C, zona 2/3: 350/350°C, zona 4/5/6: 400/400/400°C. Los filamentos obtenidos se peletizaron y pasaron a un segundo proceso de extrusión en una extrusora Filabot X6, la cual cuenta con un dado cilíndrico que permitió la obtención de filamentos con diámetros controlados de aproximadamente 1.75 mm de diámetro.

7.6. Caracterización de las mezclas obtenidas

7.6.1. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Para observar la dispersión de las NPs en las mezclas de PEEK obtenidas, se analizaron mediante microscopía electrónica de transmisión, empleando un microscopio FEI Titan 80-300 kV equipado con un detector de rayos X marca EDAX. Los pellets de PEEK y sus respectivos compuestos fueron cortadas con un espesor no mayor a 100 nm con cuchilla de diamante en un ultra micrótopo criogénico marca Leica a una temperatura de -30°C en la cuchilla de diamante y -110°C temperatura de la cámara. Finalmente fueron colocados en rejillas para TEM para su observación.

7.6.2. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Para el análisis de los materiales se utilizó un DSC Discovery 2500 de TA Instruments, las muestras recibieron dos ciclos de calentamiento desde 20°C hasta 390°C y un ciclo de enfriamiento de 390°C hasta 20°C a una tasa de calentamiento/enfriamiento de 10°C/min, en atmósfera de nitrógeno. Se obtuvo el porcentaje de cristalinidad (%Xc) de cada material, utilizando la Ecuación 3:

$$\%Xc = \frac{\Delta Hm}{\Delta H^{\circ}m} * 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde ΔHm es la entalpía de fusión del PEEK analizado y $\Delta H^{\circ}m$ es el valor teórico de la entalpía de fusión de PEEK perfectamente cristalino (130 J/g³¹).

7.6.3. Análisis Termogravimétrico (TGA)

Los análisis termogravimétricos se realizaron en un equipo TGA Q500 de TA Instruments. Las muestras (10 mg de muestra) fueron calentadas desde 30°C hasta 750°C a una tasa de calentamiento de 10°C/min bajo atmósfera de nitrógeno, seguida de una atmósfera de oxígeno a temperaturas de 750 a 800°C.

7.7. Obtención de prototipos porosos por impresión 3D

Los filamentos previamente obtenidos se emplearon para la obtención de prototipos de 1 cm x 1 cm x 2 mm y 2 cm x 2 cm x 2 mm para la prueba de bioactividad y actividad antibacteriana respectivamente. Asimismo, se obtuvieron prototipos de 56 x 12 x 2 mm para prueba de DMA (**Figura 10**), utilizando en todos los casos el patrón de relleno “*Honeycomb*” de acuerdo con estudios preliminares realizados en el equipo de trabajo⁸¹ en los que se determinó que este patrón permite obtener un mejor desempeño mecánico (módulo de almacenamiento). Se utilizó una impresora Hyrel Hydra (**Figura 11**) con el Software Repetrel. En todas las muestras se utilizó una temperatura de impresión de 380-390°C, una velocidad de impresión de 25 (mm/s) y una densidad de relleno del 40%.

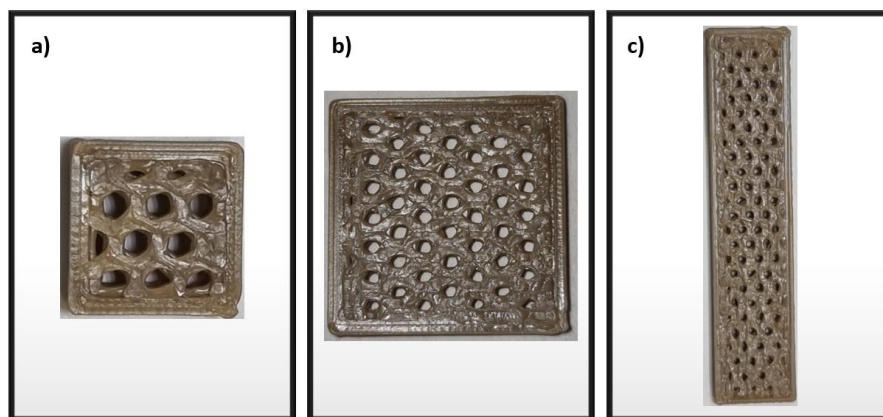


Figura 10. Prototipos obtenidos a) prueba de bioactividad b) prueba antibacteriana c) análisis mecánico dinámico.

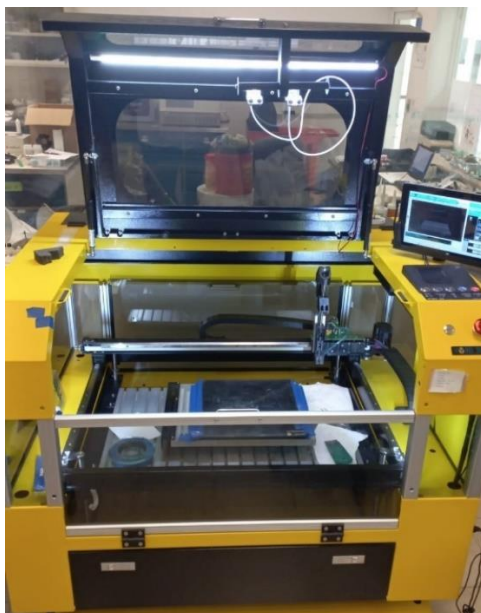


Figura 11. Impresora 3D Hyrel Hydra.

7.8. Caracterización de materiales impresos

7.8.1. Análisis mecánico dinámico

Se realizaron pruebas de Análisis Mecánico Dinámico (DMA) empleando el modo de doble viga en voladizo en una máquina Q800 TA Instruments de acuerdo con la norma D5418 – 15⁸². Los especímenes correspondientes se calentaron de temperatura ambiente a 250°C, a 5°C/min, con una frecuencia de 1 Hz y con una amplitud de 20 µm.

7.8.2. Difracción de Rayos X (DRX)

Se llevó a cabo la caracterización por Difracción de Rayos X a las muestras PEEK-referencia y PEEK/NH-6, con el fin de verificar la presencia de NH en el PEEK. Dicha caracterización se realizó con los parámetros ya mencionados en el apartado **7.4.1**.

7.8.3. Prueba de Inhibición bacteriana

La actividad antibacteriana de los materiales se evaluó tomando como referencia la norma ASTM E2149⁸³ para *S. aureus* ATCC # 6538. Para este ensayo, muestras de 2 cm x 2 cm en condiciones asépticas, se inocularon con una suspensión de microorganismos en medio de cultivo Mueller Hinton, equivalente a 1×10^{-5} unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL). Posteriormente, las muestras se incubaron a una temperatura de 37°C por 2 y 24

h. Al culminar el tiempo de incubación se determinó la población de microorganismos presentes en las muestras y se procedió a calcular el porcentaje de reducción bacteriana (R) a través de la Ecuación 4;

$$R = \frac{B-A}{B} \times 100 \quad (\text{Ec. 4})$$

En donde A = UFC por mililitro para el matraz que contiene el material antibacterial después del tiempo de contacto especificado y B = a UFC por mililitro para el matraz de “sólo inóculo” después del tiempo de contacto especificado.

7.8.4. Prueba de crecimiento de apatita

Asimismo, se estudió la formación de apatita sobre la superficie de los prototipos para determinar la capacidad de osteointegración en los materiales base PEEK, PEEK/HAp, PEEK/NH y PEEK/Mezcla obtenidos.

Para la determinación de la bioactividad, se utilizó fluido corporal simulado (SBF), por sus siglas en inglés). Dicha solución no contiene proteínas ni células, y su composición química simula los iones y pH del plasma humano (**Tabla 2**). El SBF está compuesto por diferentes sales y fue propuesta por Kokubo et al⁸⁴. Las muestras fueron evaluadas por triplicado para la medición de crecimiento de apatita en un periodo de 3, 7, 14 y 21 días. Para identificar el crecimiento de apatita se observaron por SEM en un microscopio JEOL modelo JCM600 acoplado a Análisis de rayos X de energía dispersiva (EDS), utilizando un voltaje de excitación de 15 kV, donde las muestras se depositaron en un porta muestras y se recubrieron con una aleación de Au-Pd. Además, se verificó la presencia de apatita por DRX.

Tabla 2. Componentes de solución SBF⁸⁴.

Reactivo	Cantidad	Pureza (%)
Cloruro de sodio (NaCl)	8.035 g	99.5
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	0.355 g	99.5
Cloruro de potasio (KCl)	0.225 g	99.5
Fosfato de hidrógeno dipotásico trihidratado (K ₂ HPO ₄ • 3H ₂ O)	0.231 g	99.0
Cloruro de magnesio hexahidratado (MgCl ₂ • 6H ₂ O)	0.311 g	98.0
Solución de ácido clorhídrico (HCl) = 1mol/L	39 mL	-
Cloruro de Calcio (CaCl ₂)	0.292 g	95.0
Sulfato de sodio (Na ₂ SO ₄)	0.072 g	99.0
Tris-hidroximetil aminometano(TRIS): ((HOCH ₂) ₃ CNH ₂)	6.118 g	99.0
HCl	0 a 5 mL para regular pH	-

8. Resultados y discusión

8.1. Caracterización de nanomateriales híbridos

8.1.1. Difracción de Rayos X

En la **Figura 12** se presentan los difractogramas de los nanohíbridos, así como de la HAp y del ZnO. De forma ascendente se observan los difractogramas de las NPs de ZnO, seguido de la HAp, después se muestran los difractogramas de los experimentos de NH realizados, comenzando con el NH-1 y finalizando con el NH-6. Las señales en 2θ con su respectivo plano cristalográfico de la HAp y del ZnO se encuentran a manera de resumen en la **Tabla 3**. Las señales y planos obtenidos en el difractograma de HAp son característicos la estructura en fase hexagonal (JCPDS No. 09-0432)^{44,72,85,86}. Por su parte, las señales obtenidas con el ZnO de acuerdo con la tarjeta JCPDS card no. 36-145^{87,88}, correspondieron a los planos característicos en su estructura wurzita hexagonal, siendo esta la forma más común de encontrarlo^{47,56,87,88}.

En el difractograma del NH-1, se identificaron señales características de la HAp, sin embargo, no se encontraron señales características del ZnO; probablemente porque se sintetiza muy poca cantidad de ZnO que el equipo no logra detectarlo, o bien porque está en una fase amorfa. En contraste, el NH-2, además de los picos característicos de HAp, se observan algunas señales características de ZnO en $2\theta = 36.3^\circ$ y 56.6° correspondientes a los planos (101) y (110); lo cual sugiere que, con estas concentraciones de precursores y condiciones de síntesis, se obtiene mayor cantidad de ZnO que con las condiciones de síntesis del NH-1.

Seguido, podemos observar los difractogramas de la segunda serie de experimentos (NH-3 y NH-4), en donde en ambos se logran apreciar las señales características de HAp con algunas señales de ZnO, siendo el NH-4 quien exhibió un mayor número de picos característicos y con mayor intensidad. Finalmente, se presentan los difractogramas correspondientes a los experimentos NH-5 y NH-6, donde se pueden observar señales con mayor intensidad características de ZnO en $2\theta = 34.5^\circ$, 36.3° , 56.6° , 62.86° y 68° correspondientes a los planos (002), (101), (110), (103) y (112) para ambas muestras. El primer pico característico de ZnO que se encuentra situado en $2\theta = 31.8^\circ$ (correspondiente a el plano (100)), el cual no se logra resolver con claridad en el difractograma debido a que existe un pico de difracción de HAp

en $2\theta = 31.81^\circ$ (plano (211)). Con base en lo anterior, es probable que estos dos picos se encuentren traslapados³⁶.

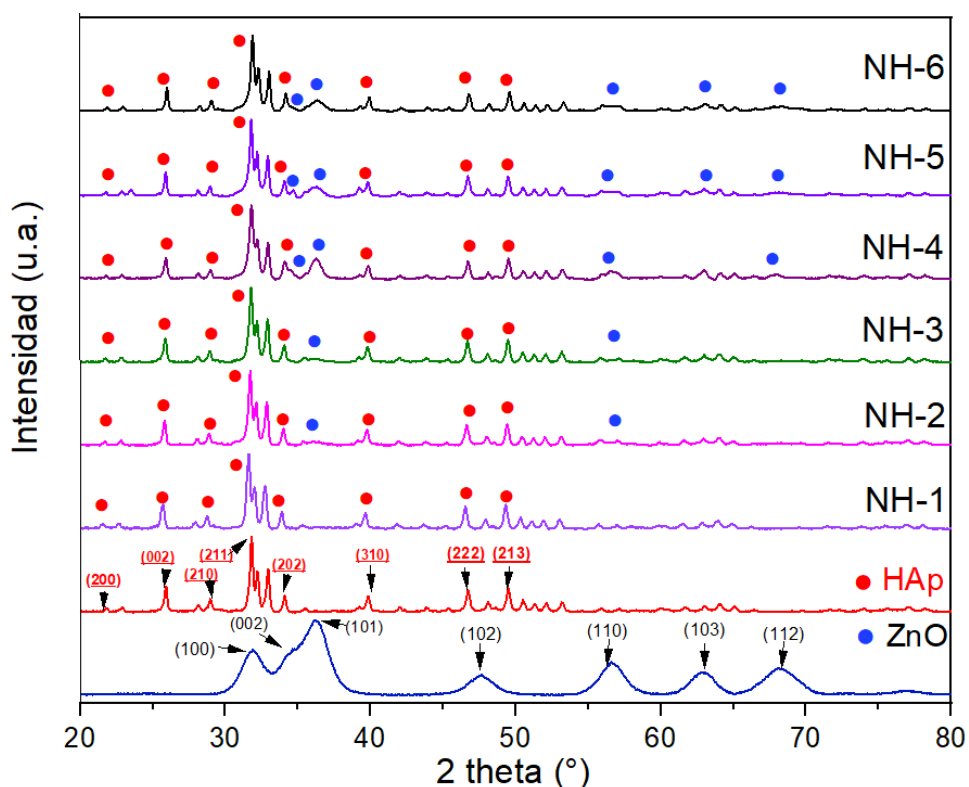


Figura 12. Difractogramas de HAp pura, ZnO y los nanohíbridos sintetizados.

Tabla 3. Señales en 2θ y planos cristalográficos de la hidroxiapatita y de óxido de zinc.

HAp	2θ	21.8°	25.9°	28.9°	31.8°	34.0°	39.8°	46.7°	49.4°
	Plano	200	002	210	211	202	310	222	213
ZnO	2θ	31.8°	34.5°	36.3°	47.6°	56.6°	62.8°	68°	
	Plano	100	002	101	102	110	103	112	

De acuerdo con lo descrito previamente, se concluye que las intensidades de los picos del ZnO en los nanomateriales híbridos incrementaron en función al aumentar las concentraciones de los precursores. Así mismo, los resultados indican que la cristalinidad de

las nanopartículas de ZnO es mayor cuando se sintetizan por microondas en comparación con aquellas sintetizadas por ultrasonido. Esto puede ser atribuido a que el microondas produce un calentamiento interno eficiente debido a que es independiente de la conductividad térmica del material, lo que brinda ventajas como el aumento en la rapidez de reacción, control sobre las condiciones de reacción y una distribución de los gradientes de temperatura⁸⁹. Estos resultados sugieren que las condiciones de síntesis y las concentraciones de precursores empleados en el NH-6, producen ZnO con mayor cristalinidad.

Por otro lado, se realizó el cálculo de las distancias interplanares (d) de $2\theta = 25.95$ y de los parámetros de celda característicos de estructuras hexagonales (a y c) de los nanohíbridos sintetizados (resumido en la **Tabla 4**), con la finalidad de evaluar a detalle los efectos en la red cristalina causados por la síntesis de ZnO en HAp. De acuerdo con la **Tabla 4**, tanto los parámetros de celda, como las distancias interplanares no presentaron cambios significativos entre experimentos; lo cual indica que la estructura cristalina de la HAp no sufrió cambios durante la síntesis del ZnO, independientemente de las condiciones de síntesis y concentraciones de precursores del ZnO.

Tabla 4. Parámetros de celda y distancias interplanares de HAp pura y de nanohíbridos sintetizados.

Experimento	Parámetros de celda		Distancia interplanar (nm)
	a (nm)	c (nm)	
HAp	0.941	0.688	0.344
NH1	0.948	0.689	0.344
NH2	0.944	0.689	0.344
NH3	0.943	0.688	0.344
NH4	0.941	0.688	0.344
NH5	0.942	0.688	0.344
NH6	0.942	0.685	0.342

8.1.2. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

En la **Figura 13** y **14** se observan imágenes TEM de las NPs de HAp prístina y de las NPs de ZnO. Donde, en el caso de la HAp (**Fig. 13a**), se observa en su mayoría una morfología

esférica, con un diámetro de partícula promedio de 70 –75 nm (**Fig. 13c**), con una menor población con morfología en forma de varillas (**Fig. 13b**).

Por otro lado, en la **Figura 14** se aprecian las NPs de ZnO sintetizadas en laboratorio por ultrasonido y microondas (**Fig. 14a** y **b** respectivamente); se observa que ambas muestras presentaron morfologías esféricas, independientemente del método de síntesis. En ambos casos se observó un diámetro promedio de 4 a 5 nm (**Fig. 14c**), además de una tendencia mayor a aglomerarse para las sintetizadas por microondas. Esto puede ser atribuido, a que mediante ultrasonido ocurre una mejor dispersión y desaglomeración gracias a la cavitación ultrasónica (implosión de las burbujas formadas por el ultrasonido), la cual fragmenta los aglomerados debido a los esfuerzos de corte generados⁹⁰.

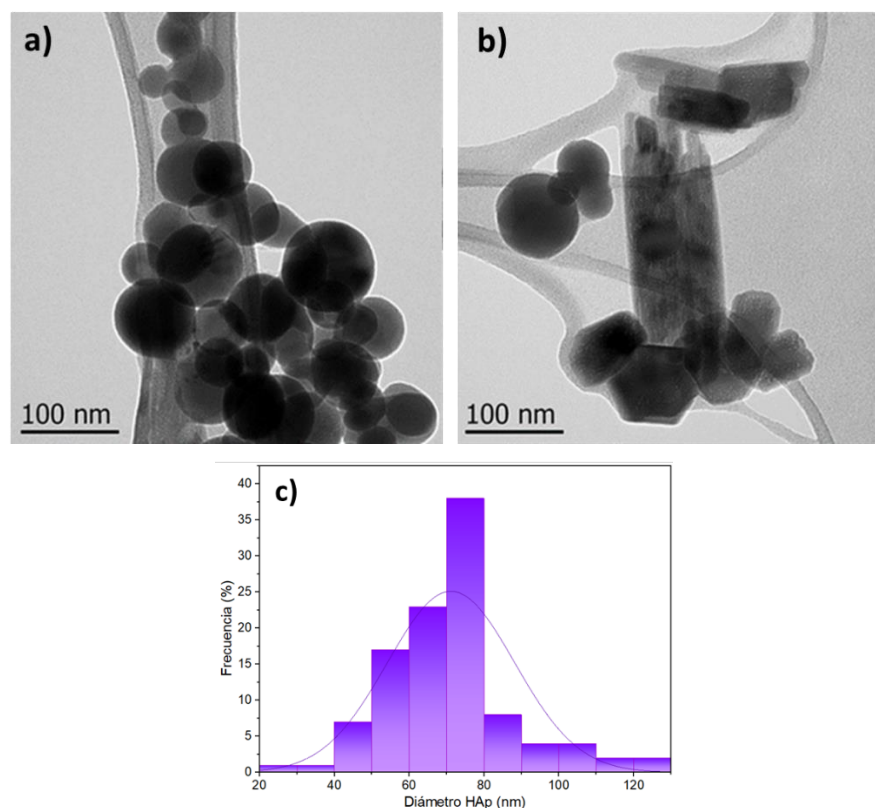


Figura 13. Imágenes TEM de a) HAp pura morfología esférica b) HAp pura con NPs en forma de varilla y c) histograma de distribución de tamaño de las NPs.

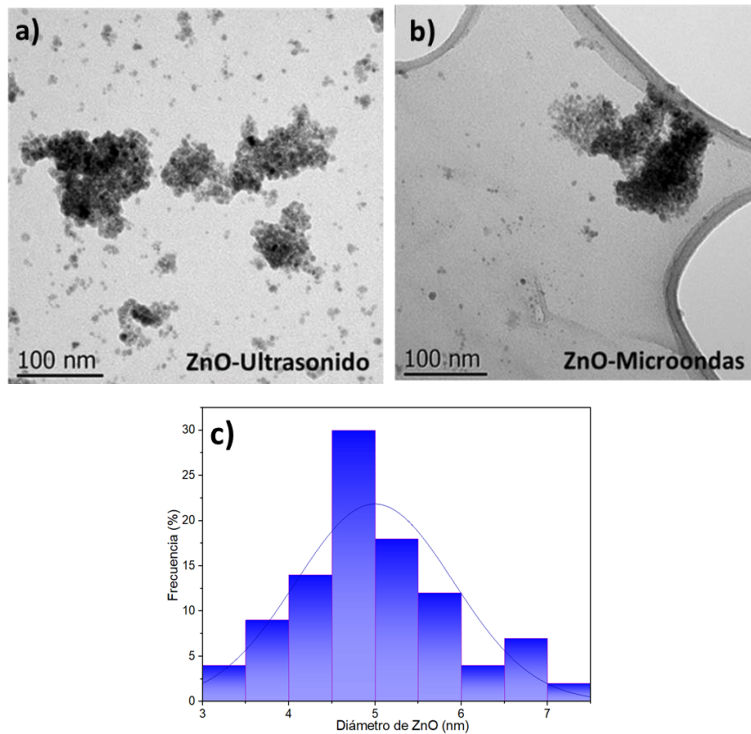


Figura 14. Imágenes TEM de a) NPs de ZnO sintetizadas mediante ultrasonido, b) NPs de ZnO sintetizadas mediante microondas y c) Histograma de distribución de tamaño de ambas.

Por otra parte, en la **Figura 15** se presentan micrografías TEM de las tres series de síntesis de nanohíbridos previamente descritos. En las micrografías de la muestra NH-1 (**Figura 15a**) se observan nanopartículas de HAp aglomeradas sin presencia de nanopartículas de ZnO, lo cual concuerda con el análisis por DRX, donde esta muestra no presentó picos característicos de los planos del ZnO. Por su parte, en muestra NH-2 (**Figura 15b**) se observan nanopartículas de HAp con aglomerados de nanopartículas de ZnO de ~6.5 nm, distribuidas aleatoriamente en su superficie.

En la **Fig. 15c** se presenta la micrografía de la muestra NH-3, en la cual se observa una mayor cantidad de NPs de ZnO. No obstante, en la muestra NH-4 (**Fig. 15d**) esta tendencia continúa, sin embargo, se observa una mayor aglomeración de las NPs.

Finalmente, en la **Figura 15e** se muestra NH-5, donde se observa una mayor población de NPs de ZnO, al igual que en el NH-6 (**Fig. 15f**). Sin embargo, este último presenta una mejor dispersión del ZnO sobre la HAp en comparación con los NH 2 y 4 (sintetizados por

microondas). Esto puede deberse al uso de ultrasonido en la etapa de adición de los precursores, ya que como se mencionó, éste genera cavitación ultrasónica, permitiendo la obtención de NPs de ZnO más dispersas⁹⁰.

Como se puede observar en todos los NH (con excepción del NH-1), las NPs de ZnO se encuentran sintetizadas únicamente en la superficie de HAp, lo cual implica que donde se encuentre la HAp, va a existir el ZnO. Lo cual crea un efecto multifuncional de dichas NPs.

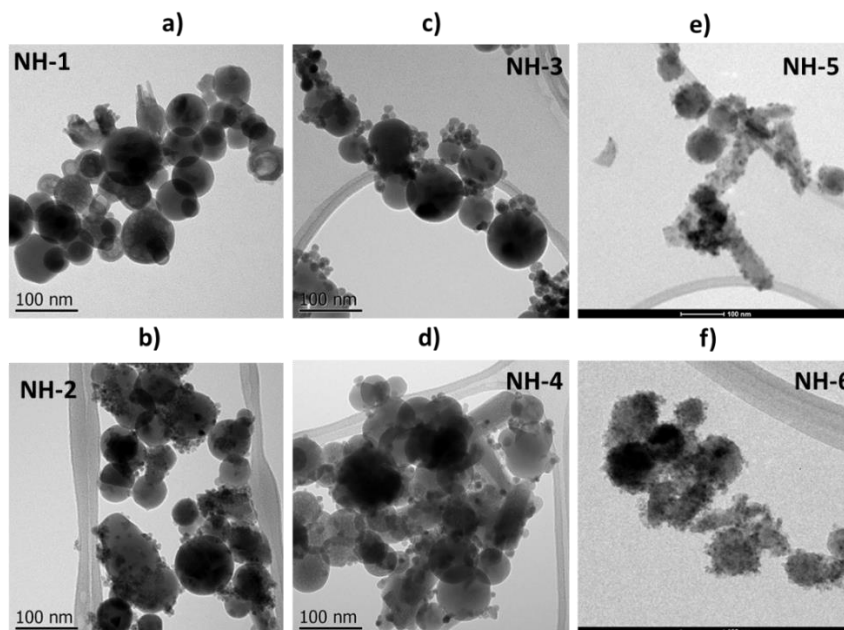


Figura 15. Imágenes TEM de los nanohíbridos sintetizados, a) NH-1, b) NH-2, c) NH-3, d) NH-4, e) NH-5 y f) NH-6.

8.1.3. Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X

Para comprender las posibles interacciones del ZnO con HAp y la composición superficial, los NH fueron analizados por espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS).

El espectro amplio (survey) de HAp y del NH-6 se muestra en la **Figura 16**. En el espectro mostrado en la **Fig. 16a**, se observan señales a 531.78, 438.89, 349.84, 24.57, 191.83 y 135.97 eV correspondientes a los orbitales O 1s, Ca 2p y P 2p respectivamente^{70,91}. En el caso del espectro amplio del NH-6 (**Fig. 16b**), además de los ya mencionados, también se observan señales a 1196.99, 1044.73 y 1022.38 eV correspondientes a los orbitales de Zn 2p⁷⁰.

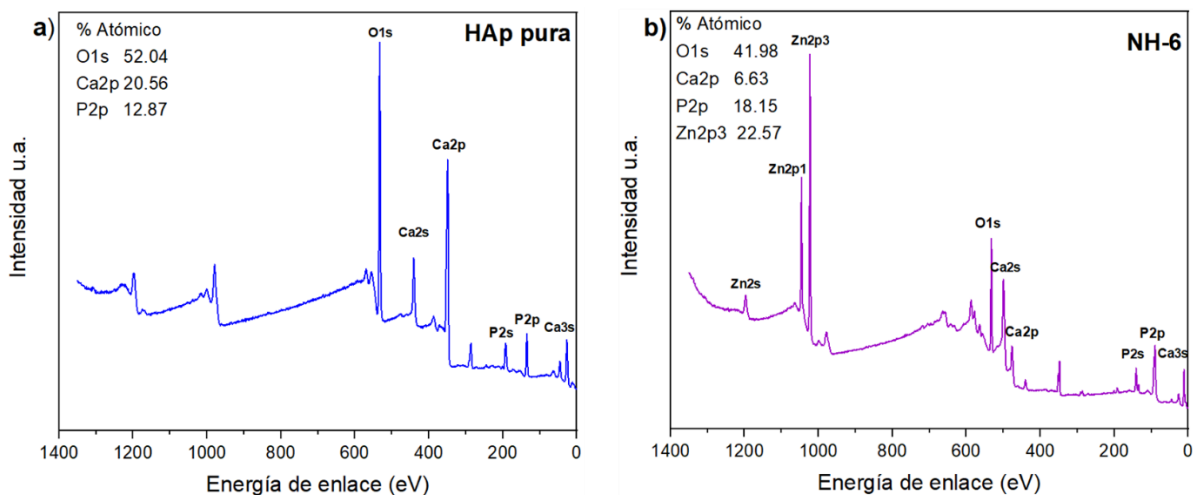


Figura 16. Espectros amplios de XPS. a) HAp. b) NH-6.

En la **Figura 17** se muestran los espectros de alta resolución de XPS de los orbitales de Ca 2p, P 2p y O,1s de la HAp. Como se muestra en la **Fig. 17a**, el espectro del orbital Ca 2p, se ajustó con cuatro picos, localizados en 348.77, 349.15, 351.64 y 352.49 eV atribuidos a Ca 2p_{3/2} y Ca 2p_{1/2} respectivamente. Estas señales están asociadas a las interacciones del Ca con grupos PO₄³⁻, y de Ca con oxígeno⁹¹.

Con respecto a los espectros de alta resolución de fósforo (P 2p) ubicado en la **Fig. 17b**, no se observaron los componentes de P 2p_{3/2} y P 2p_{1/2} bien definidos; sólo se observó un pico asimétrico que surge de la superposición de estos componentes. La presencia de este pico asimétrico es una característica de los compuestos a base de fosfato presentes en HAp⁹². Por lo tanto, los picos de P 2p se ajustaron con componentes espaciados localizados en 133.11 y 135.29 eV, los cuales se atribuyeron a P 2p_{3/2} y P 2p_{1/2} respectivamente (**Fig. 17b**), los cuales están asociados a los enlaces P-O de HAp.

Finalmente, como se muestra en la **Fig. 17c**, el orbital O 1s se pueden ajustar con dos señales a 530.8 y 532.78 eV. Estos picos distintivos se atribuyeron al oxígeno de los enlaces P—O de grupos PO₄³⁻ en la estructura de HAp y a grupos (OH)⁻^{70,91,93} respectivamente.

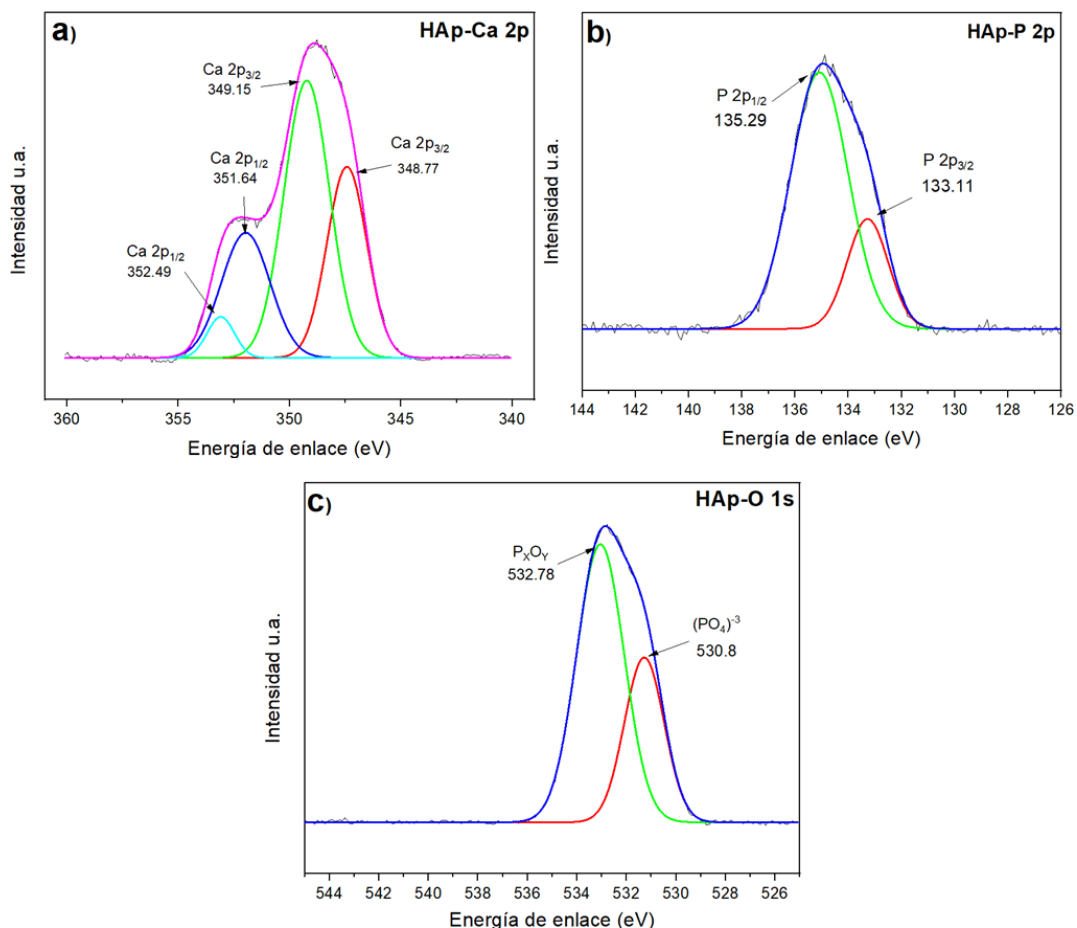


Figura 17. Espectros de alta resolución para HAp.

En la **Figura 18** se muestran los espectros XPS de las energías de enlace asociados con el NH-6. Para el calcio (**Fig. 18a**), se observan los picos anteriormente explicados. Sin embargo, se observó una variación de las energías de división espín-órbita (resta de las señales principales). En el caso de la HAp, la energía de división espín-órbita fue de 3.63 eV (352.3 eV – 348.7 eV) y en el caso del NH-6 fue de 3.55 eV para el NH-6. Este cambio puede ser indicativo de una perturbación en el entorno alrededor del calcio en la estructura de HAp debido a la presencia de ZnO⁹². Lo mismo sucedió con el fósforo ubicado en la **Fig. 18b**, donde se observa una separación evidente de sus señales características. Los picos se ubicaron en 140.5 y 134.0 eV evidenciando que dichas señales se recorrieron a valores más altos en comparación con las señales de HAp. Esto indica, que al igual que en el Ca, el entorno de P se vio afectado por la presencia de ZnO. Lo cual sugiere que el HAp se encuentra decorado de manera superficial por el ZnO mediante enlaces entre fósforo/calcio de la HAp con oxígeno del ZnO^{76,94}.

En la **Fig. 18c**, se muestran las señales XPS del oxígeno, donde se observó, además de los picos característicos de HAp, un pico extra en 530.2 eV asociado al enlace Zn-O del ZnO^{70,95}. Finalmente, en cuanto al espectro de zinc (Zn 2p) (**Fig. 18d**), se observan dos picos distintos a 1022.39 y 1045.46 eV correspondientes a las energías de enlace de los estados 2p_{1/2} y 2p_{3/2} respectivamente. La energía de división espín-órbita con 23.07 eV sugiere que los átomos de Zn existen como Zn⁺² en estado de oxidación (ZnO)^{70,96}.

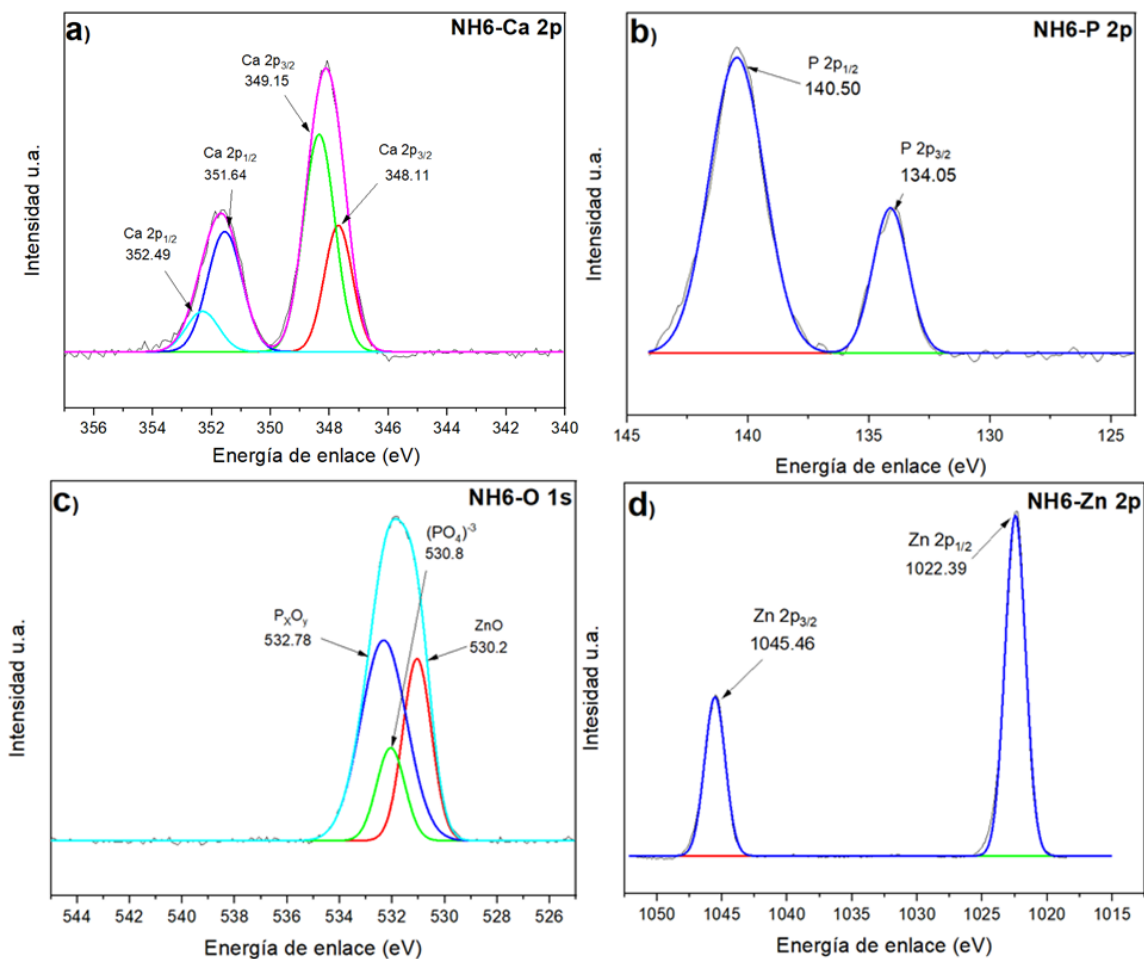


Figura 18. Espectros de alta resolución para NH-6.

En la **Tabla 5** se presentan las asignaciones de las señales de energía de enlace característicos de los materiales analizados a manera de resumen.

Tabla 5. Energías de enlace características del calcio, oxígeno, fósforo y zinc^{70,91,95,96}.

Orbital	Intervalo de señal (eV)	Asignación
Ca2p	348	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂
	349	
	351	
	352	
O1s	530	Zn-O
	530	(PO ₄) ⁻³
	532	(OH) ⁻
P2p	134	(PO ₄) ⁻³
	140	P=O
		P-O
Zn2p	1022	Zn-O
	1045	

8.2. Caracterización de las mezclas obtenidas

8.2.1. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

A fin de observar la composición elemental y la dispersión de las NPs en los compuestos a base de PEEK se realizó un análisis por TEM observados en la **Figura 19**.

En el caso de la muestra de PEEK/HAp (**Fig. 19a**) se observan NPs de HAp tanto aglomeradas como separadas dentro de la matriz de PEEK. Se observa una distribución heterogénea ya que existían zonas donde se observa muy poca cantidad de dichas NPs. El análisis EDS (**Fig. 19b**) indicó que las NPs observadas contenían calcio, fósforo y oxígeno lo cual confirma que las NPs observadas son de HAp. Por otro lado, en la **Fig. 19c** se muestra una micrografía TEM del compuesto de PEEK/NH-6, donde se observan zonas con NPs aglomeradas y dispersas aleatoriamente, sin embargo, se observa una mejor dispersión en este compuesto en comparación con el PEEK/HAp.

El análisis EDS (**Fig. 19d**) confirmó que dichas partículas contenían calcio, fósforo, oxígeno y zinc. Finalmente, en el compuesto de PEEK/Mezcla (**Fig. 19e**) se logra observar la existencia de una menor población de NPs en las zonas de análisis las cuales poseen una menor distribución. El análisis EDS mostrado en la **Fig. 19f**, el cual fue realizado en un aglomerado, indica que está conformado de calcio, fósforo, oxígeno y zinc.

Estos resultados indican que en todas las muestras analizadas existen aglomerados de NPs. En el caso del PEEK/HAp, este resultado es atribuido al alto contraste químico entre estos dos materiales^{9,94,97,98}, lo cual impide que la HAp se disperse homogéneamente dentro de la matriz de PEEK. En el caso de compuesto de PEEK/NH-6, a pesar de la existencia de aglomerados, estos poseen una mejor distribución dentro de la matriz de PEEK. Por otro lado, en la muestra de PEEK/Mezcla, las NPs de ZnO son propensas a aglomerarse debido a su tendencia a formar enlaces de hidrogeno entre sí^{76,99}.

Sin embargo, en este estudio se observó una mayor población de NPs de ZnO dispersas en la matriz polimérica. Díez-Pascual et al⁹⁹ observaron que esta tendencia suele ser más pronunciada con una mayor concentración de NPs de ZnO (8 % en peso) y a una menor concentración esta tendencia era nula o mínima (hasta un 4 % en peso). Este resultado indica una buena dispersión, sin embargo, no se encontraron distribuidos homogéneamente en la matriz de PEEK.

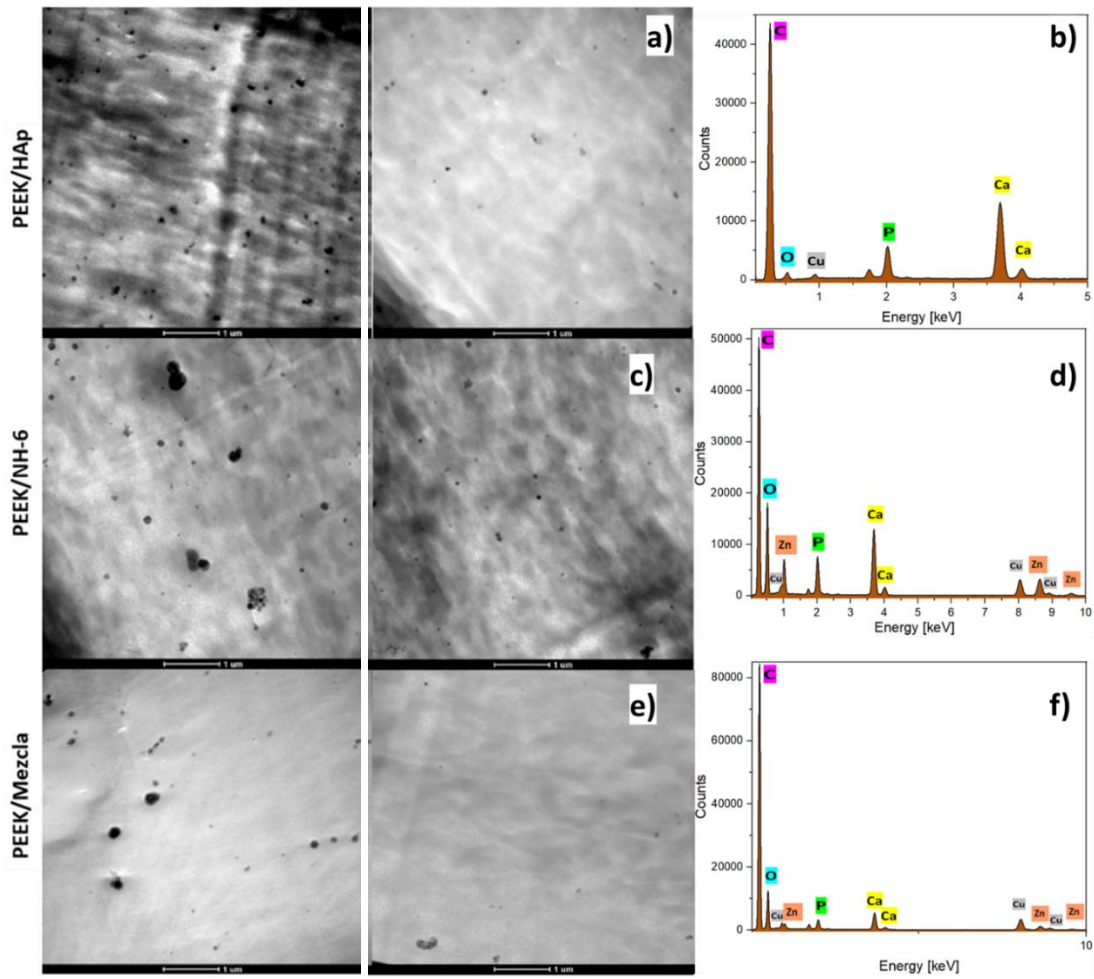


Figura 19. Imágenes TEM de los compuestos a base de PEEK. a) PEEK/HAp, c) PEEK/NH-6 y e) PEEK/Mezcla. Junto con sus respectivos análisis EDS. b) PEEK/HAp, d) PEEK/NH-6 y f) PEEK/Mezcla.

8.2.2. Calorimetría Diferencial de Barrido

En la **Figura 20** los termogramas DSC del segundo calentamiento y enfriamiento del PEEK y de los materiales compuestos PEEK-HAp, PEEK-NH6 y PEEK-mezcla. Los parámetros calorimétricos extraídos de las curvas de DSC de las muestras preparadas en este trabajo se resumen en la **Tabla 6**. Se observa que el PEEK presenta temperatura de transición vítrea (T_g) de 146.6°C y una temperatura de fusión (T_m) de 328.2°C . Al observar dichas transiciones de los compuestos de PEEK, no se observó un cambio significativo en la T_g ni en la T_m .

Se calculó el porcentaje de cristalinidad utilizando la **Ec. 3**, donde la ΔH (entalpía de fusión teórico) fue tomada como 130 J/g^{31} para su cálculo. Para el polímero solo, se obtuvo un porcentaje de cristalinidad ($\%X_c$) de 22.4% , mientras que para los compuestos PEEK/HAp, PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla presentaron un X_c de 22.4 , 22.1 , 23.2 y 35.2% respectivamente.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se observó un incremento en la cristalinidad de la muestra PEEK/Mezcla. Lo cual indica que la incorporación de pequeñas cantidades NPs de ZnO de manera independiente conduce a un incremento en la cristalinidad del PEEK¹⁰⁰. Esto es debido a que actúan como agentes nucleantes heterogéneos, los cuales favorecen y facilitan el proceso de cristalización, ya que se encontró una mayor población de NPs de ZnO libres que NPs aglomeradas^{75,76,100}. Esto se confirma en la segunda gráfica (enfriamiento) donde se observa una cristalización a una temperatura más alta⁷⁵, lo cual indica que el polímero no requiere disminuir tanto la temperatura para comenzar la cristalización.

Este comportamiento lo ha reportado Díez-Pascual et al⁷⁵, observaron que al añadir una pequeña cantidad de NPs de ZnO a la matriz polimérica, domina el efecto nucleante. Mientras que a contenidos más altos los aglomerados de NPs obstaculizan el crecimiento del cristal, lo que resulta en valores más bajos de porcentaje de cristalinidad ($\%X_c$). En otro trabajo realizado por Hao L. et al⁷⁶, observaron un aumento en el porcentaje de cristalinidad en compuestos de PEEK con hasta 5% p/p de ZnO, con respecto al PEEK prístino; a mayores contenidos de ZnO, la cristalinidad disminuía.

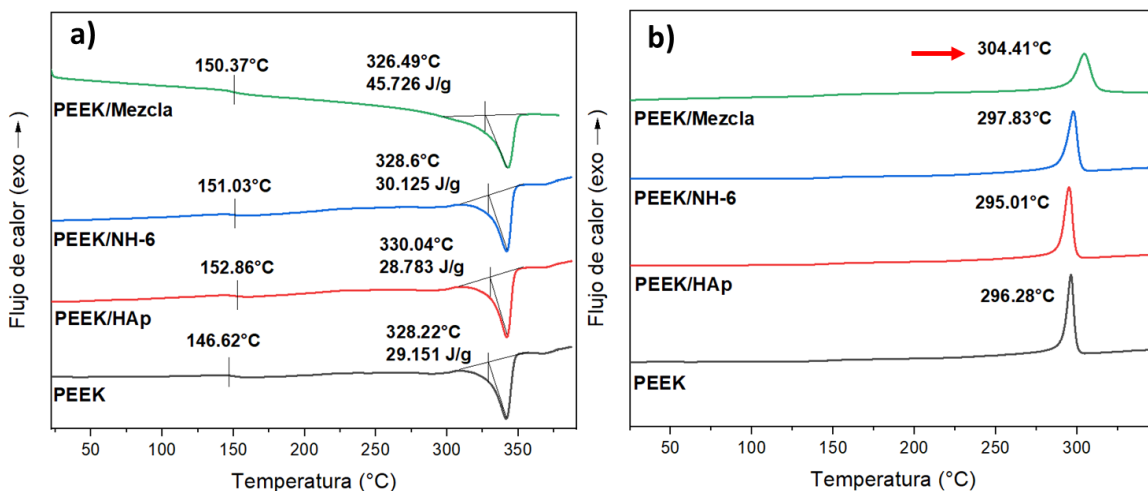


Figura 20. DSC de a) segundo calentamiento y b) enfriamiento de PEEK, PEEK/HAp, PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla.

Tabla 6. Parámetros térmicos obtenidos del análisis DSC de materiales PEEK con nanopartículas.

Muestra	Tg (°C)	Tc (°C)	Tm (°C)	ΔHm (J/g)	Xc (%)
PEEK	146.62	296.28	328.22	29.1	22.4
PEEK/HAp	152.86	295.01	330.04	28.7	22.1
PEEK/NH-6	151.03	297.83	328.6	30.1	23.2
PEEK/Mezcla	150.37	304.41	326.49	45.7	35.2

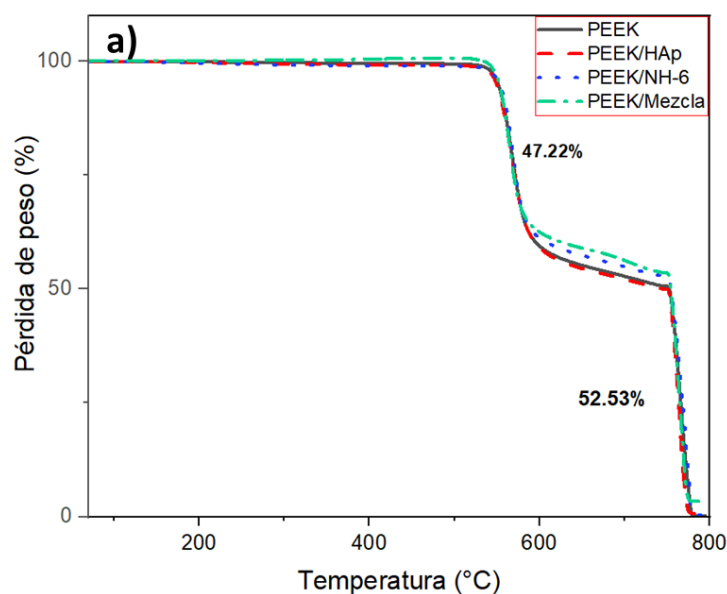
Sin embargo, en la muestra de PEEK/NH-6 no ocurre lo mismo, ya que el ZnO al no estar libre en la matriz polimérica, si no en la superficie de la HAp, su efecto como agente nucleante es limitado. Lo mismo ocurre para la muestra de PEEK/HAp, donde tampoco existe un cambio en la cristalinidad del PEEK. Esto es debido a que la HAp no muestra una afinidad fisicoquímica con la matriz de PEEK, gracias al alto contraste químico entre estos dos materiales, el cual da como resultado una unión débil de la HAp con el PEEK^{4,94,97}. Este resultado es similar a lo reportado por Bakar Abu M.S. et al¹⁰¹, los cuales añadieron diferentes porcentajes en volumen de HAp en PEEK sin encontrar un efecto significativo sobre la cristalinidad.

8.2.3. Análisis Termogravimétrico

En la **Figura 21**, se observa cómo se produce la pérdida de masa y la descomposición térmica del PEEK y sus compuestos. El PEEK (**Fig. 21b**) posee una temperatura de descomposición (T_d) de 568.53 °C, lo que da como resultado la volatilización del 47.22 % (**Fig. 21a**) de la masa del PEEK en atmósfera de nitrógeno, como consecuencia de la escisión de los enlaces éter y cetona, los cuales son menos estables térmicamente^{102,103}. En esta etapa de descomposición, se crean subproductos tales como 1,4-difenoxybenceno y 4-fenoxifenol. La masa residual restante (52.53 %), la cual se degrada a una temperatura de 750 a 800°C en atmósfera de oxígeno, se atribuye a residuo carbonoso^{75,76}.

Por otro lado, los compuestos analizados (PEEK/HAp, PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla) no presentan un cambio significativo en la T_d , tal como se muestra en la **Tabla 7**. Lo cual indica que la incorporación del 1 % de estas NPs no afecta significativamente la estabilidad térmica.

El porcentaje de material carbonoso encontrado en los compuestos de PEEK fueron de 51.72, 54.96 y 50.25 % para PEEK/HAp, PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla respectivamente, los cuales son similares a los reportados por Hao L. et al⁷⁶.



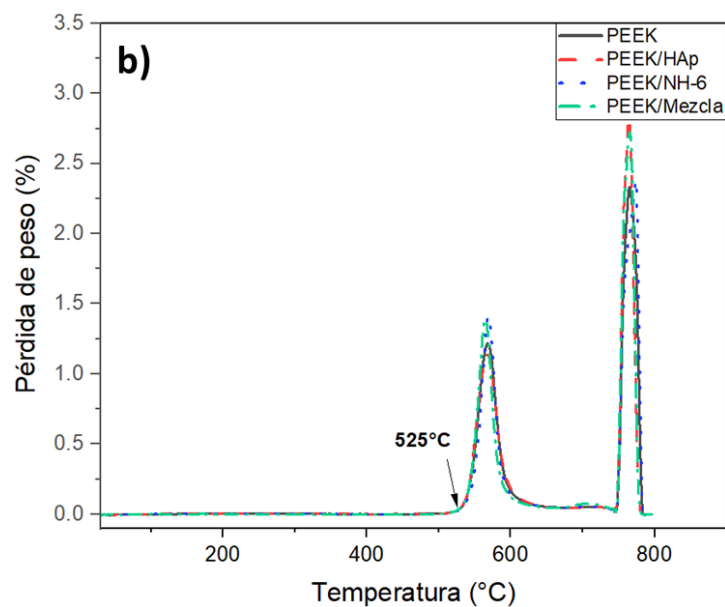


Figura 21. TGA de PEEK y sus compuestos.

Tabla 7. Resumen de los parámetros calorimétricos y su % de pérdida de masa.

Material	% primera pérdida de masa	% residuo carbonoso	T inicio de descomposición (°C)	T pico máximo de descomposición (°C)
PEEK	47	52	525	568
PEEK/HAp	47	51		567
PEEK/NH-6	44	54		569
PEEK/Mezcla	41	50		565

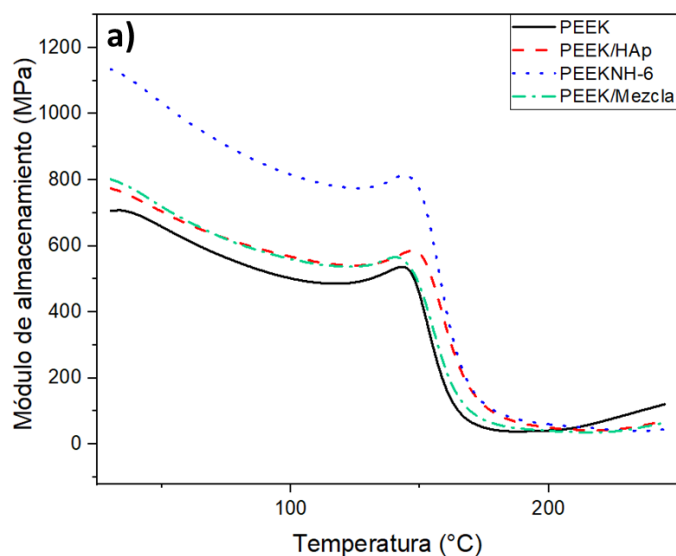
8.3. Caracterización de materiales impresos

8.3.1. Análisis Mecánico Dinámico

Para observar el cambio en el módulo de almacenamiento, los prototipos porosos de PEEK se sometieron a una prueba de DMA. En la **Figura 22** se presenta el cambio en el (a) módulo de almacenamiento (E'), la cual mide la rigidez y elasticidad de un material (deformación

reversible) y (b) Tan Delta (δ), la cual es la relación entre el módulo de pérdida y el módulo de almacenamiento de los prototipos porosos analizados. Así mismo, en la **Tabla 8** se presentan los valores adquiridos en DMA.

En la **Fig. 22a** se observa que el prototipo de PEEK/HAp no presenta un incremento en el E' en comparación con el PEEK (0.772 y 0.707 GPa respectivamente), esto debido a la mala adherencia interfacial de HAp con la matriz^{94,97,104}. En el caso de la muestra de PEEK/Mezcla, ocurre un ligero aumento en la E' (0.801 GPa) con relación a la muestra de referencia. Este resultado sugiere que las NPs de ZnO y de HAp añadidas por separado no aumentan significativamente las propiedades mecánicas de PEEK, esto probablemente se deba a una fuerte interacción de las NPs entre sí y al pequeño tamaño que tienen^{75,76,100}. Por otro lado, el prototipo poroso de PEEK/NH-6 presenta un incremento significativo en el módulo de almacenamiento (1.133 GPa), el cual se asemeja al E' del hueso esponjoso (0.75-3 GPa)^{17,18}. Este aumento en el E' indica un aumento en la rigidez resultante de la adición del nanohíbrido de HAp-ZnO^{75,104,105}, debido a una mejor distribución que éste presenta, lo cual redujo la concentración de esfuerzo^{75,94} y probablemente también debido a que las NPs de ZnO adheridas a la superficie de la HAp promueven un anclaje mecánico debido a su morfología rugosa, el cual hace más eficiente la transferencia de carga (**Fig. 23**).



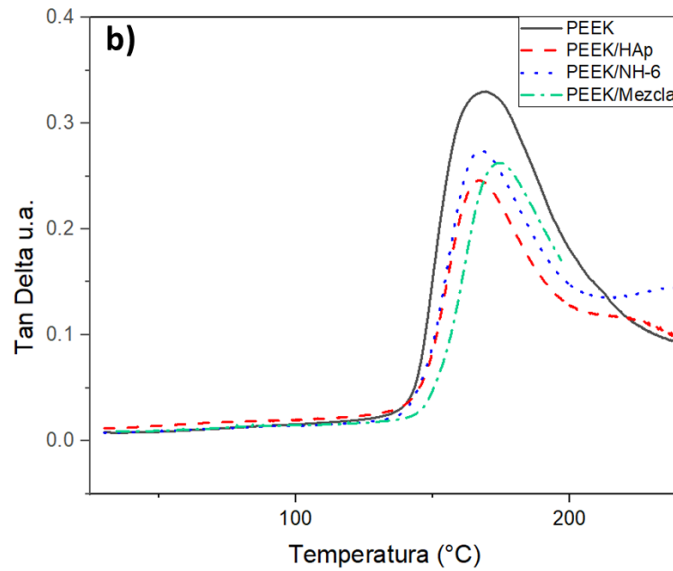


Figura 22. Efecto de las nanopartículas añadidas sobre las propiedades mecánicas dinámicas de PEEK en a) Módulo de almacenamiento (E'), b) Tan Delta.

Tabla 8. Resumen de las propiedades mecánicas dinámicas de los prototipos porosos de PEEK con su respectiva carga.

Material	Módulo de almacenamiento (GPa)	Tan Delta (°C)
PEEK	0.707	168
PEEK/HAp	0.772	166
PEEK/NH-6	1.133	168
PEEK/Mezcla	0.801	171

En el estudio presente, la T_g se determinó en función de la $\text{Tan } \delta$. Como se observa en la **Tabla 8**, la T_g del PEEK fue de 168 °C, y de 166, 168 y 171 para los compuestos analizados, PEEK/HAp, PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla respectivamente. Según los resultados obtenidos, no se observaron diferencias entre la T_g de los compuestos y el PEEK. Esto sugiere que la adición del 1% de las cargas no es suficiente para disminuir la movilidad de las cadenas de PEEK^{100,106}.

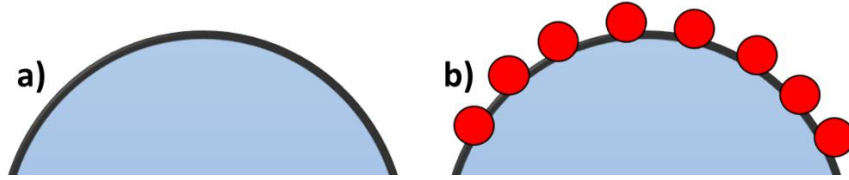


Figura 23. Morfología superficial de a) NP de HAp sin ZnO y b) del NH-6.

8.3.2. Difracción de Rayos X

Los patrones de DRX de los prototipos porosos resultantes se muestran en la **Fig. 24**. En la parte inferior de la gráfica se presenta el difractograma del NH-6 anteriormente descrito en el apartado 8.1.1. Posteriormente de forma ascendente, se presentan los picos característicos de PEEK, el cual tiene cuatro señales distintivas en 2θ a 18.8° , 20.7° , 22.9° y 28.9° asociados a los planos (110), (111), (211) y (011) respectivamente de acuerdo con la tarjeta JCPDS 52-2277^{76,98,107}. A continuación, se muestra el difractograma del compuesto PEEK/HAp, donde se observa como las señales características de HAp se ven enmascaradas a causa de la intensidad de los picos de PEEK⁹⁴; debido a esto, solo se logran apreciar tres señales de HAp en $2\theta = 31.90^\circ$, 39.52° y 46.2° . Seguido, se observan las señales del compuesto PEEK/NH-6, el cual muestra una mayor cantidad de señales características tanto de la HAp como del ZnO en $2\theta = 31.81^\circ$, 34.08° , 39.50° y 46.25° y en 36.3° , 56.6° , 62.89° y 68.15° respectivamente. Por último, en el compuesto de PEEK/Mezcla, una menor cantidad de señales de las NPs se observan, estas se encuentran en $2\theta = 31.95^\circ$, 39.25° y 46.86° y en 36.40° para HAp y ZnO respectivamente.

No apareció ninguna señal adicional en los difractogramas de los compuestos de PEEK o algún cambio en su posición en 2θ . Esto sugiere que se mantiene la estructura cristalina de ambos componentes^{75,76,98}, ya que las señales analizadas corresponden a la HAp en fase hexagonal según la tarjeta JCPDS No. 09-0432^{72,76,85,86}, y a el ZnO en fase wurtzita hexagonal de acuerdo con la tarjeta JCPDS no. 36-145^{76,87,88}.

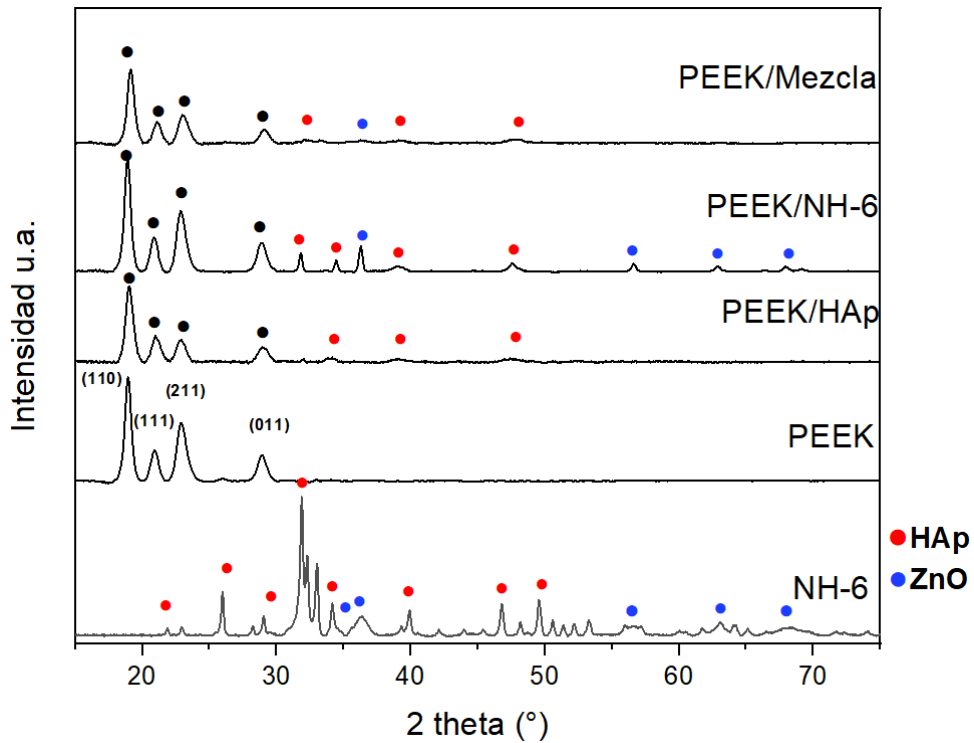


Figura 24. Difractograma de prototipos impresos de PEEK y sus compuestos.

Tabla 9. Porcentaje de cristalinidad de los prototipos porosos en Difracción de Rayos X.

Materiales	Porcentaje de cristalinidad (%)
PEEK	48.2
PEEK/HAp	48.0
PEEK/NH-6	49.5
PEEK/Mezcla	52.1

Por otro lado, como se puede observar en la **Tabla 9**, se realizó un análisis del porcentaje de cristalinidad mediante DRX de cada uno de los prototipos porosos. De acuerdo con este análisis, se observó un incremento en el porcentaje de cristalinidad del prototipo poroso de PEEK/Mezcla (52.1 %) en comparación con PEEK (48.2 %), lo cual concuerda con lo ya analizado en la sección 8.2.2.

Este resultado confirma que cuando se incorporan pequeñas cantidades de NPs de ZnO en la matriz de PEEK, éstas actúan como agentes nucleantes y por consiguiente aumenta su cristalinidad^{75,76,99}.

8.3.4. Prueba de Inhibición bacteriana

Se evaluó la actividad antibacteriana de los prototipos porosos de PEEK, PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla frente a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC #6538 Gram positiva) presentada en la **Fig. 25**. El resultado observado de este análisis es el promedio de dos experimentos independientes por triplicado, se utilizó el método de evaluación ASTM E2149⁸³, la cual está diseñada para determinar esta actividad en objetos con antimicrobianos fijados en superficies o formas irregulares.

Como se observa en la **Fig. 25**. El prototipo poroso de PEEK/Mezcla, presenta un 50 % de actividad antibacteriana a las dos horas, la cual incrementa a las 24 horas hasta un 97 %. En el caso de los resultados obtenidos con el prototipo PEEK/NH-6, se observó una mejora en la actividad antibacteriana a las 2 horas en comparación con lo obtenido con PEEK/Mezcla. Sin embargo, este aumento resultó no significativo al cabo de 24 horas.

A pesar de que el ZnO presenta varios mecanismos de acción antibacteriales (los cuales fueron descritos anteriormente), es evidente que la internalización de las NPs dentro de los microorganismos patógenos no es una de ellas en este estudio. Esto debido a que fueron mezcladas mecánicamente en la matriz polimérica de PEEK. Sin embargo, la impresión 3D puede contribuir a que una mayor cantidad de ellas estén expuestas en la superficie, debido a la formación de porosidad en el prototipo. Esto sugiere que la actividad antibacteriana observada en este estudio es debido a la formación de especies reactivas de oxígeno (considerada como la principal causa de toxicidad del ZnO^{64,65,109}) y a la liberación de iones Zn²⁺.

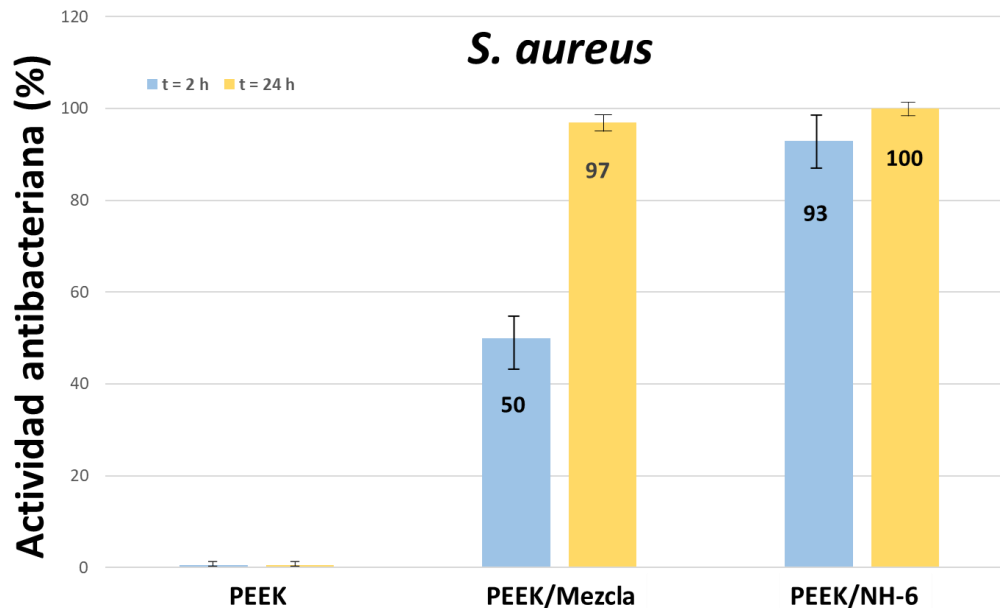


Figura 25. Actividad antibacteriana de los prototipos porosos de PEEK, PEEK/Mezcla y PEEK/NH-6.

8.3.5. Prueba de crecimiento de apatita

Finalmente, se evaluó la bioactividad de los prototipos porosos de PEEK, PEEK/HAp, PEEK/NH-6, y PEEK/Mezcla. Se sumergieron en fluido corporal simulado (SBF) a 37°C durante 3, 7, 14 y 21 días para observar la evolución de crecimiento de apatita de cada prototipo, además se añadió a manera de referencia el día cero (antes de sumergirlo en SBF). En la **Fig. 26** se observan las morfologías superficiales de las muestras bajo SEM con un aumento de x1500.

A los 3 días de inmersión, se comenzaron a observar la formación de partículas esféricas de tamaño aleatorio, lo cual indicó la precipitación de apatita en la superficie de los prototipos, el cual fue menor para las muestras de PEEK y PEEK/Mezcla. Además, éste se encontraba únicamente en las orillas del prototipo el cual poseía una superficie irregular. No obstante, en las muestras de PEEK/HAp y PEEK/NH-6, las zonas de deposición de apatita no fueron únicamente en las orillas, si no que aumentaron a zonas donde se encontraban los poros.

A medida que los días en inmersión aumentaban, se observó un cambio en la morfología de la apatita, la cual pasó de una morfología principalmente esférica (observada a los 3 y 7 días de inmersión) a una superficie rugosa e irregular a los 14 y 21 días^{74,98,110}, la cual fue mayor

para las muestras de PEEK/HAp y PEEK/NH-6. En las muestras de PEEK y PEEK/Mezcla, la preferencia por la deposición de apatita en las orillas del prototipo prevaleció. De acuerdo con lo reportado por Tan K. H. et al⁷⁴, la formación de capa de apatita se debe a la precipitación de los iones de calcio y fosfato poco cristalizados, los cuales se encuentran altamente saturados en la SBF.

Esta observación fue respaldada por el análisis elemental realizado por EDS de las muestras a los 21 días de inmersión observado en la **Fig. 27**. Adicionalmente, en la **Tabla 10** se muestran a modo de promedio el porcentaje atómico de calcio y fósforo a los 21 días de inmersión en SBF y a modo de referencia, el porcentaje obtenido antes de la prueba de bioactividad. En el caso del porcentaje atómico de referencia, se obtuvo que contenía 0.23 y 0.18 (PEEK/HAp), 0.19 y 0.17 (PEEK/NH-6), 0.15 y 0.11 (PEEK/Mezcla) de calcio y fósforo respectivamente. Lo cual es atribuido a las NPs de hidroxiapatita añadidos a los compuestos. Por otro lado, la capa de apatita está conformada principalmente por calcio y fósforo^{74,98}. En la muestra de PEEK se observa un porcentaje atómico promedio de 10.3 y 7.85 % de calcio y fósforo respectivamente. En el caso de la muestra de PEEK/HAp éste fue de 26.2 % de calcio y 16.0 % de fósforo, para PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla se obtuvo un porcentaje atómico de 22.9 y 18.2 % de calcio respectivamente, y 14.0 y 12.5 % de fósforo. De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa un mayor porcentaje de Ca y P para los compuestos de PEEK/HAp y PEEK/NH-6. Esto sugiere que existió una mayor deposición de apatita en estas muestras a comparación de PEEK y PEEK/Mezcla. Además, se realizó el análisis de la relación Ca/P de los compuestos, el cual fue de 1.3, 1.64, 1.63 y 1.45 para PEEK, PEEK/HAp, PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla respectivamente. Este resultado indica que las muestras PEEK/HAp y PEEK/NH-6 son los que se encuentran cerca de la relación Ca/P de la HAp estequiométrica (1.67). Lo cual indica que la apatita formada es similar al hueso. Peng S. et al⁹⁴, reportaron que la formación de apatita similar al hueso es importante para la formación de enlaces químicos entre el implante y el tejido óseo lo cual podría mejorar la osteoconductividad. Wang L. et al⁹⁸, mencionan que la formación de apatita (al ser hidrofílica) en un implante hidrófobo (como lo es el PEEK) mejora la hidrofilia, además de poseer la capacidad de atraer osteoblastos y estimular su proliferación dando resultado a una osteointegración exitosa¹¹⁰.

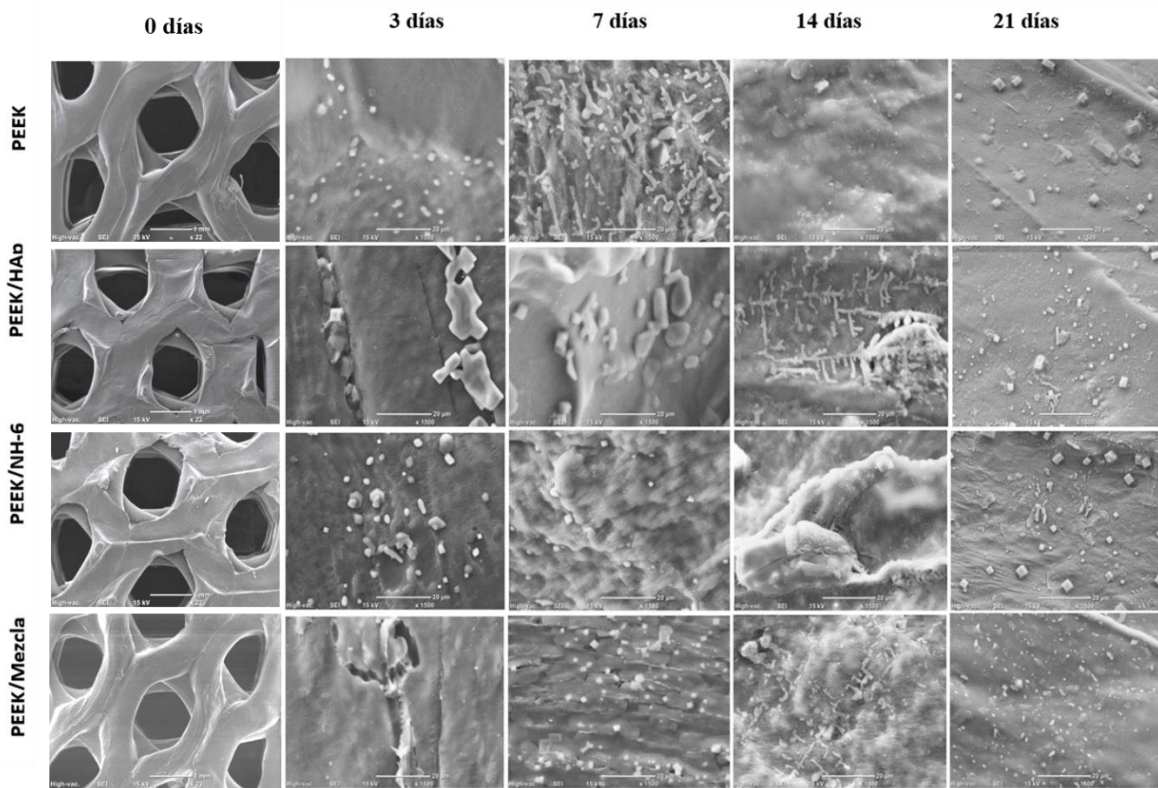


Figura 26. Micrografías en SEM de formación de apatita de los prototipos porosos en el día cero e inmersos en SBF al cabo de 3, 7, 14 y 21 días.

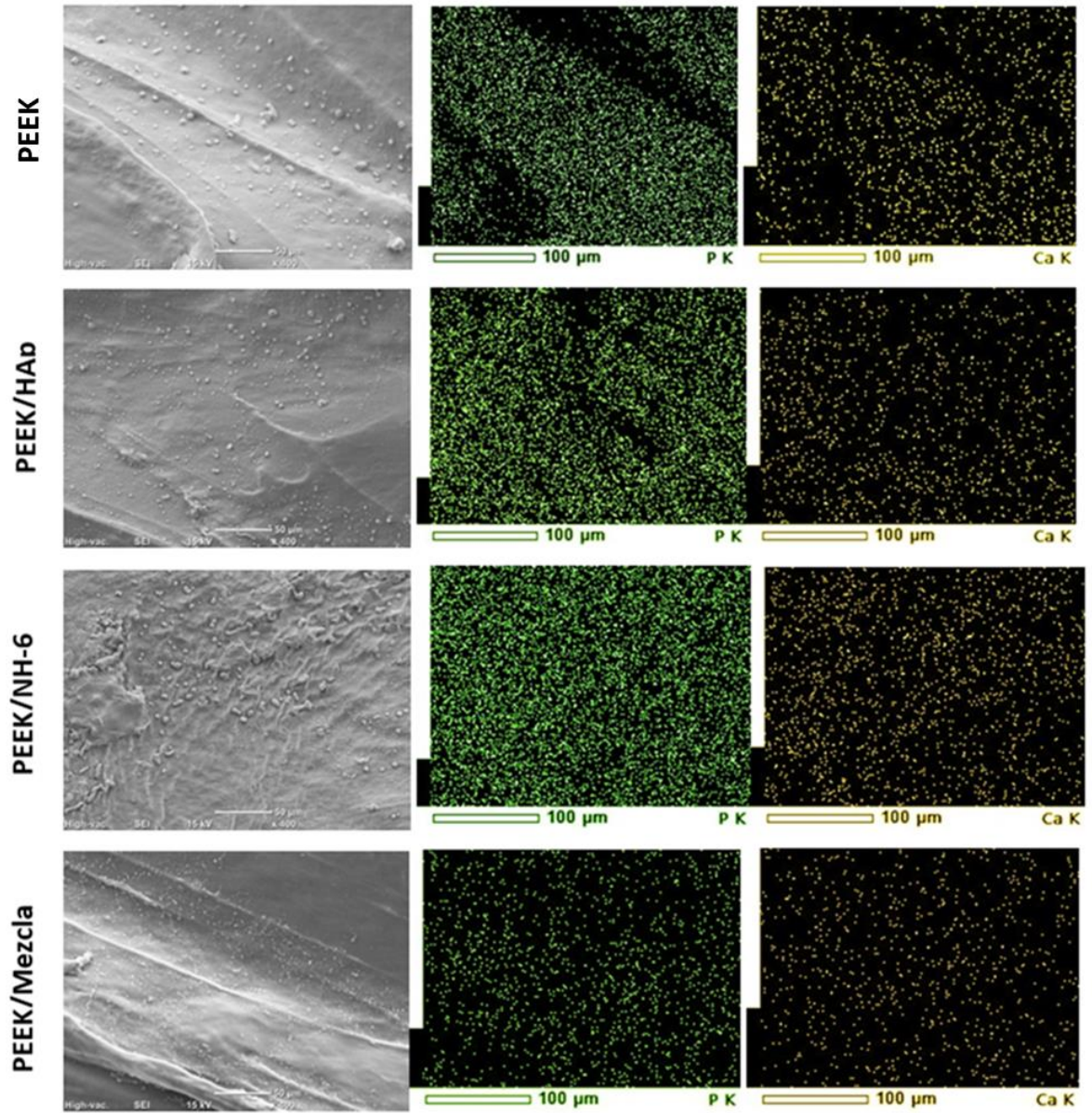


Figura 27. Mapeo elemental de los prototipos porosos a los 21 días de inmersión en SBF.

Tabla 10. Porcentaje atómico de calcio y fósforo de la formación de apatita en PEEK y sus compuestos.

Muestra	% atómico promedio			
	Sin sumergirlo en SBF		21 días en SBF	
	Ca	P	Ca	P
PEEK	-	-	10.3	7.85
PEEK/HAp	0.23	0.18	26.2	16.0
PEEK/NH-6	0.19	0.17	22.9	14.0
PEEK/Mezcla	0.15	0.11	18.2	12.5

Para verificar la formación de apatita, se realizó un análisis de DRX sobre los prototipos porosos después de 21 días de inmersión en SBF el cual se observa en la **Fig. 28**. Las primeras cuatro señales observadas corresponden al PEEK en $2\theta = 18.8^\circ$, 20.7° , 22.9° y 28.9° , las cuales no cambiaron de posición en ninguna de las muestras analizadas. Como se observa en los resultados obtenidos, la muestra de PEEK/HAp fue la que mostró la mayor cantidad de señales características de la apatita en $2\theta = 28.9^\circ$, 31.7° y 45.48° asociados con los planos (002), (211) y (310) respectivamente^{111,112}. Seguido, las muestra PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla presentan señales de apatita únicamente en 28.9° y 31.7° . Por último, la muestra PEEK solamente mostró una señal característica en 28.9° . En general, los prototipos analizados no presentaron ninguna señal nueva en el difractograma. Esto sugirió que no hubo una nueva formación de fase cristalina y ningún cambio en la estructura cristalina de PEEK y de la apatita^{98,113}.

Según los difractogramas obtenidos, se puede observar que en el caso de las muestras de PEEK/HAp, PEEK/NH-6 y PEEK/Mezcla, las señales características de la apatita presentan una mayor intensidad que el PEEK. De acuerdo con diversos autores, las señales características de apatita se vuelven más pronunciadas a medida que el espesor de la capa de apatita en el prototipo es mayor^{74,113}.

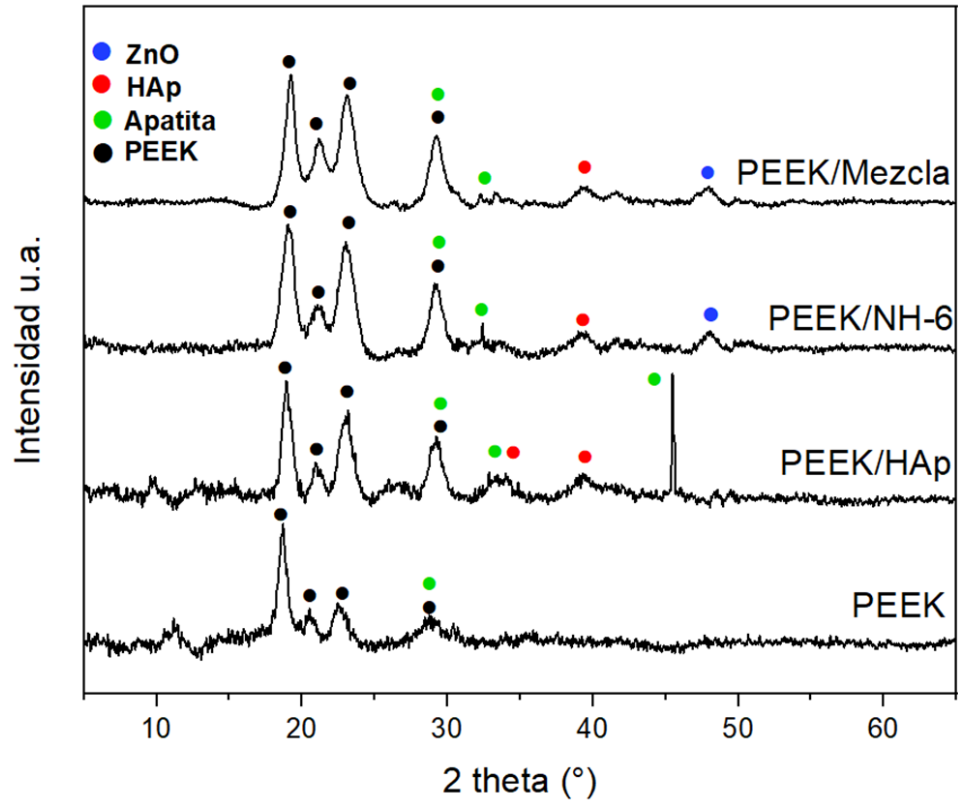


Figura 28. Patrones de difracción de rayos X de los prototipos porosos después de 21 días de inmersión en SBF.

9. Conclusiones

La síntesis de los nanohíbridos de HAp-ZnO por ultrasonido seguido por microondas dio como resultado HAp decorada con NPs de ZnO distribuidas en su superficie. El compuesto PEEK/NH-6 presentó una mejor distribución de las nanopartículas en la matriz. Se observó un aumento del 57% en la cristalinidad en el caso de PEEK/Mezcla con respecto al PEEK prístino. Se lograron obtener prototipos porosos de PEEK y sus compuestos para su caracterización mediante FDM. El prototipo PEEK/NH-6 mostró un aumento en el módulo de almacenamiento del 61% ($E' = 1.13$ GPa) (similar al hueso esponjoso) con respecto al PEEK prístino, excelente actividad antibacterial (100%) juntamente con una mejor bioactividad, en comparación con PEEK prístino y los demás compuestos analizados. Los materiales compuestos a base de PEEK y nanohíbridos de HAp decorada con ZnO tienen gran potencial para su uso en implantes dentales.

Referencias bibliográficas

- 1 Koons, G. L., Diba, M. & Mikos, A. G. Materials design for bone-tissue engineering. *Nature Reviews Materials* **5**, 584-603, doi:10.1038/s41578-020-0204-2 (2020).
- 2 Roseti, L. *et al.* Scaffolds for Bone Tissue Engineering: State of the art and new perspectives. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* **78**, 1246-1262, doi:10.1016/j.msec.2017.05.017 (2017).
- 3 Bose, S., Vahabzadeh, S. & Bandyopadhyay, A. Bone tissue engineering using 3D printing. *Materials Today* **16**, 496-504, doi:10.1016/j.mattod.2013.11.017 (2013).
- 4 Knaus, J., Schaffarczyk, D. & Colfen, H. On the Future Design of Bio-Inspired Polyetheretherketone Dental Implants. *Macromol Biosci* **20**, e1900239, doi:10.1002/mabi.201900239 (2020).
- 5 Schwitalla, A. & Muller, W. D. PEEK dental implants: a review of the literature. *J Oral Implantol* **39**, 743-749, doi:10.1563/AAID-JOI-D-11-00002 (2013).
- 6 Rahmitasari, F. *et al.* PEEK with Reinforced Materials and Modifications for Dental Implant Applications. *Dent J (Basel)* **5**, doi:10.3390/dj5040035 (2017).
- 7 Qu, H., Fu, H., Han, Z. & Sun, Y. Biomaterials for bone tissue engineering scaffolds: a review. *RSC Adv* **9**, 26252-26262, doi:10.1039/c9ra05214c (2019).
- 8 De Witte, T. M., Fratila-Apachitei, L. E., Zadpoor, A. A. & Peppas, N. A. Bone tissue engineering via growth factor delivery: from scaffolds to complex matrices. *Regen Biomater* **5**, 197-211, doi:10.1093/rb/rby013 (2018).
- 9 González Cardín, V. E. Odontología Moderna. *Revista Odontológica Mexicana* **15**, doi:10.22201/fo.1870199xp.2011.15.3.25907 (2022).
- 10 Amarnath, G. S., Muddugangadhar, B. C., Tripathi, S., Dikshit, S. & Ms, D. Biomaterials for Dental Implants: An Overview. *International Journal of Oral Implantology & Clinical Research* **2**, 13-24, doi:10.5005/jp-journals-10012-1030 (2011).
- 11 Tortolini, P. & Rubio, S. Diferentes alternativas de rellenos óseos. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral* **24**, 133-138 (2012).
- 12 Pye, A. D., Lockhart, D. E., Dawson, M. P., Murray, C. A. & Smith, A. J. A review of dental implants and infection. *J Hosp Infect* **72**, 104-110, doi:10.1016/j.jhin.2009.02.010 (2009).
- 13 Wubneh, A., Tsekoura, E. K., Ayranci, C. & Uludag, H. Current state of fabrication technologies and materials for bone tissue engineering. *Acta Biomater* **80**, 1-30, doi:10.1016/j.actbio.2018.09.031 (2018).

- 14 Wu, S., Liu, X., Yeung, K. W. K., Liu, C. & Yang, X. Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: R: Reports* **80**, 1-36, doi:10.1016/j.mser.2014.04.001 (2014).
- 15 Bauer, S., Schmuki, P., von der Mark, K. & Park, J. Engineering biocompatible implant surfaces. *Progress in Materials Science* **58**, 261-326, doi:10.1016/j.pmatsci.2012.09.001 (2013).
- 16 Amini, A. R., Laurencin, C. T. & Nukavarapu, S. P. Bone tissue engineering: recent advances and challenges. *Critical reviews in biomedical engineering* **40**, 363-408, doi:10.1615/critrevbiomedeng.v40.i5.10 (2012).
- 17 Cano, J., Campo, J., Palacios, B. & Bascones, A. Mecanobiología de los huesos maxilares: I. Conceptos generales. *Avances en Odontoestomatología* **23**, 347-358 (2007).
- 18 Ramamoorthi, M., Verma, V. & Sheikh, Z. Dental biomaterials and a novel composite of Zirconia and Poly Ether Ether Ketone [PEEK] for dental implants. *International Dental Journal of Students' Research* **2** (2015).
- 19 Cappuccio, H. R. & Rabellino, M. I.
- 20 Abrahams, J. J., Frisoli, J. K. & Dembner, J. Anatomy of the jaw, dentition, and related regions. *Seminars in ultrasound, CT, and MR* **16**, 453-467, doi:10.1016/s0887-2171(06)80020-x (1995).
- 21 Lindhe, J., Karring, T. & Lang, N. P. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. (Editorial Médica Panamericana, 2009).
- 22 Martínez Álvarez, O. *et al.* Injertos óseos y biomateriales en implantología oral. *Avances en Odontoestomatología* **34**, 111-119 (2018).
- 23 Duraccio, D., Mussano, F. & Faga, M. G. Biomaterials for dental implants: current and future trends. *Journal of Materials Science* **50**, 4779-4812, doi:10.1007/s10853-015-9056-3 (2015).
- 24 Gaviria, L., Salcido, J. P., Guda, T. & Ong, J. L. Current trends in dental implants. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg* **40**, 50-60, doi:10.5125/jkaoms.2014.40.2.50 (2014).
- 25 Kolk, A. *et al.* Current trends and future perspectives of bone substitute materials - from space holders to innovative biomaterials. *J Craniomaxillofac Surg* **40**, 706-718, doi:10.1016/j.jcms.2012.01.002 (2012).
- 26 Ananth, H. *et al.* A Review on Biomaterials in Dental Implantology. *International journal of biomedical science : IJBS* **11**, 113-120 (2015).
- 27 Harvey, A. G., Hill, E. W. & Bayat, A. Designing implant surface topography for improved biocompatibility. *Expert Rev Med Devices* **10**, 257-267, doi:10.1586/erd.12.82 (2013).

- 28 Najeeb, S., Zafar, M. S., Khurshid, Z. & Siddiqui, F. Applications of polyetheretherketone (PEEK) in oral implantology and prosthodontics. *J Prosthodont Res* **60**, 12-19, doi:10.1016/j.jpjor.2015.10.001 (2016).
- 29 Bathala, L., Majeti, V., Rachuri, N., Singh, N. & Gedela, S. The Role of Polyether Ether Ketone (PEEK) in Dentistry - A Review. *Journal of medicine and life* **12**, 5-9, doi:10.25122/jml-2019-0003 (2019).
- 30 Kurtz, S. M. & Devine, J. N. PEEK biomaterials in trauma, orthopedic, and spinal implants. *Biomaterials* **28**, 4845-4869, doi:10.1016/j.biomaterials.2007.07.013 (2007).
- 31 Alvaredo-Atienza, A., Chen, L., San-Miguel, V., Ridruejo, A. & Fernandez-Blazquez, J. P. Fabrication and Characterization of PEEK/PEI Multilayer Composites. *Polymers (Basel)* **12**, doi:10.3390/polym12122765 (2020).
- 32 Doumeng, M. *et al.* A comparative study of the crystallinity of polyetheretherketone by using density, DSC, XRD, and Raman spectroscopy techniques. *Polymer Testing* **93**, doi:10.1016/j.polymertesting.2020.106878 (2021).
- 33 Song, J. *et al.* Fretting Wear Study of PEEK-Based Composites for Bio-implant Application. *Tribology Letters* **65**, doi:10.1007/s11249-017-0931-8 (2017).
- 34 Ferraz, M., Monteiro, F. & Manuel, C. Hydroxyapatite nanoparticles: A review of preparation methodologies. *Journal of applied biomaterials & biomechanics : JABB* **2**, 74-80 (2003).
- 35 Begam, H., Kundu, B., Chanda, A. & Nandi, S. K. MG63 osteoblast cell response on Zn doped hydroxyapatite (HAp) with various surface features. *Ceramics International* **43**, 3752-3760, doi:10.1016/j.ceramint.2016.12.010 (2017).
- 36 Geuli, O., Lewinstein, I. & Mandler, D. Composition-Tailoring of ZnO-Hydroxyapatite Nanocomposite as Bioactive and Antibacterial Coating. *ACS Applied Nano Materials* **2**, 2946-2957, doi:10.1021/acsanm.9b00369 (2019).
- 37 Bigi, A., Foresti, E., Gandolfi, M., Gazzano, M. & Roveri, N. Inhibiting effect of zinc on hydroxylapatite crystallization. *Journal of Inorganic Biochemistry* **58**, 49-58, doi:https://doi.org/10.1016/0162-0134(94)00036-A (1995).
- 38 Ma, R. & Tang, T. Current strategies to improve the bioactivity of PEEK. *Int J Mol Sci* **15**, 5426-5445, doi:10.3390/ijms15045426 (2014).
- 39 Brundavanam, R., Eddy, G., Poinern, E. & Fawcett, D. Modelling the Crystal Structure of a 30 nm Sized Particle based Hydroxyapatite Powder Synthesised under the Influence of Ultrasound Irradiation from X-ray powder Diffraction Data. *American Journal Materials Science* **2013**, 84-90 (2013).

- 40 Šupová, M. Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review. *Ceramics International* **41**, 9203-9231, doi:10.1016/j.ceramint.2015.03.316 (2015).
- 41 Charlena, Suparto, I. H. & Kurniawan, E. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite-Zinc Oxide (HAp-ZnO) as Antibacterial Biomaterial. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* **599**, doi:10.1088/1757-899x/599/1/012011 (2019).
- 42 Ducheyne, P. & Qiu, Q. Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials* **20**, 2287-2303, doi:10.1016/s0142-9612(99)00181-7 (1999).
- 43 Kaur, G. *et al.* Mechanical properties of bioactive glasses, ceramics, glass-ceramics and composites: State-of-the-art review and future challenges. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* **104**, 109895, doi:10.1016/j.msec.2019.109895 (2019).
- 44 Singh, A., Reshma, K. & Dubey, A. K. Combined effect of surface polarization and ZnO addition on antibacterial and cellular response of Hydroxyapatite-ZnO composites. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* **107**, 110363, doi:10.1016/j.msec.2019.110363 (2020).
- 45 Ibrahim, R. K., Hayyan, M., AlSaadi, M. A., Hayyan, A. & Ibrahim, S. Environmental application of nanotechnology: air, soil, and water. *Environmental Science and Pollution Research* **23**, 13754-13788, doi:10.1007/s11356-016-6457-z (2016).
- 46 Ashoka, G., Thiviya, P. & Terrence, M. in *Starch* (ed Emeje Martins Ochubiojo) Ch. 11 (IntechOpen, 2021).
- 47 Sirelkhatim, A. *et al.* Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nanomicro Lett* **7**, 219-242, doi:10.1007/s40820-015-0040-x (2015).
- 48 Zazo, H., Millán, C. G., Colino, C. I. & Lanao, J. M. in *Antimicrobial Nanoarchitectonics* (ed Alexandru Mihai Grumezescu) 411-444 (Elsevier, 2017).
- 49 Espitia, P. J. P. *et al.* Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications. *Food and Bioprocess Technology* **5**, 1447-1464, doi:10.1007/s11947-012-0797-6 (2012).
- 50 Gudkov, S. V. *et al.* A Mini Review of Antibacterial Properties of ZnO Nanoparticles. *Frontiers in Physics* **9** (2021).
- 51 Tayel, A. A. *et al.* Antibacterial Action of Zinc Oxide Nanoparticles against Foodborne Pathogens. *Journal of Food Safety* **31**, 211-218, doi:10.1111/j.1745-4565.2010.00287.x (2011).
- 52 Ishikawa, K. *et al.* Fabrication of Zn containing apatite cement and its initial evaluation using human osteoblastic cells. *Biomaterials* **23**, 423-428, doi:10.1016/s0142-9612(01)00121-1 (2002).

- 53 Wang, X., Ito, A., Sogo, Y., Li, X. & Oyane, A. Zinc-containing apatite layers on external fixation rods promoting cell activity. *Acta Biomater* **6**, 962-968, doi:10.1016/j.actbio.2009.08.038 (2010).
- 54 Yusa, K. *et al.* In vitro prominent bone regeneration by release zinc ion from Zn-modified implant. *Biochem Biophys Res Commun* **412**, 273-278, doi:10.1016/j.bbrc.2011.07.082 (2011).
- 55 Stanić, V. *et al.* Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders. *Applied Surface Science* **256**, 6083-6089, doi:10.1016/j.apsusc.2010.03.124 (2010).
- 56 Moreno, A. F. *Estudio de nanoestructuras de ZnO estabilizadas con polímeros* Doctorado thesis, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, (2019).
- 57 Vázquez Olmos, A. R., Vega Jiménez, A. L. & Paz Díaz, B. Mecanosíntesis y efecto antimicrobiano de óxidos metálicos nanoestructurados. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología* **11**, doi:10.22201/ceiich.24485691e.2018.21.62545 (2018).
- 58 Padmavathy, N. & Vijayaraghavan, R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles-an antimicrobial study. *Science and technology of advanced materials* **9**, 035004, doi:10.1088/1468-6996/9/3/035004 (2008).
- 59 Raghupathi, K. R., Koodali, R. T. & Manna, A. C. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir* **27**, 4020-4028, doi:10.1021/la104825u (2011).
- 60 Zhang, L., Ding, Y., Povey, M. & York, D. ZnO nanofluids – A potential antibacterial agent. *Progress in Natural Science* **18**, 939-944, doi:10.1016/j.pnsc.2008.01.026 (2008).
- 61 Janaki, A. C., Sailatha, E. & Gunasekaran, S. Synthesis, characteristics and antimicrobial activity of ZnO nanoparticles. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **144**, 17-22, doi:10.1016/j.saa.2015.02.041 (2015).
- 62 Yamamoto, O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *International Journal of Inorganic Materials - INT J INORG MATER* **3**, 643-646, doi:10.1016/S1466-6049(01)00197-0 (2001).
- 63 Abebe, B., Zereffa, E. A., Tadesse, A. & Murthy, H. C. A. A Review on Enhancing the Antibacterial Activity of ZnO: Mechanisms and Microscopic Investigation. *Nanoscale Res Lett* **15**, 190, doi:10.1186/s11671-020-03418-6 (2020).

- 64 Jalala, R. *et al.* ZnO nanofluids: Green synthesis, characterization, and antibacterial activity. *Materials Chemistry and Physics* **121**, 198-201, doi:10.1016/j.matchemphys.2010.01.020 (2010).
- 65 Perelshtein, I. *et al.* The influence of the crystalline nature of nano-metal oxides on their antibacterial and toxicity properties. *Nano Research* **8**, 695-707, doi:10.1007/s12274-014-0553-5 (2015).
- 66 Peng, X., Palma, S., Fisher, N. S. & Wong, S. S. Effect of morphology of ZnO nanostructures on their toxicity to marine algae. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)* **102**, 186-196, doi:10.1016/j.aquatox.2011.01.014 (2011).
- 67 Chauhan, B. P. S. *Hybrid nanomaterials: synthesis, characterization, and applications*. (John Wiley & Sons, 2011).
- 68 Abd-Elsalam, K. A. in *Multifunctional Hybrid Nanomaterials for Sustainable Agri-Food and Ecosystems* 1-19 (2020).
- 69 Ohtsu, N., Kakuchi, Y. & Ohtsuki, T. Antibacterial effect of zinc oxide/hydroxyapatite coatings prepared by chemical solution deposition. *Applied Surface Science* **445**, 596-600, doi:10.1016/j.apsusc.2017.09.101 (2018).
- 70 Cai, R. *et al.* Synthesis and antimicrobial activity of mesoporous hydroxylapatite/zinc oxide nanofibers. *Materials & Design* **87**, 17-24, doi:10.1016/j.matdes.2015.08.004 (2015).
- 71 Ofudje, E. A., Adeogun, A. I., Idowu, M. A. & Kareem, S. O. Synthesis and characterization of Zn-Doped hydroxyapatite: scaffold application, antibacterial and bioactivity studies. *Heliyon* **5**, e01716, doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01716 (2019).
- 72 Predoi, D. *et al.* Textural, Structural and Biological Evaluation of Hydroxyapatite Doped with Zinc at Low Concentrations. *Materials (Basel)* **10**, doi:10.3390/ma10030229 (2017).
- 73 Abu Bakar, M. S. *et al.* Tensile properties, tension–tension fatigue and biological response of polyetheretherketone–hydroxyapatite composites for load-bearing orthopedic implants. *Biomaterials* **24**, 2245-2250, doi:10.1016/s0142-9612(03)00028-0 (2003).
- 74 Tan, K. H., Chua, C. K., Leong, K. F., Naing, M. W. & Cheah, C. M. Fabrication and characterization of three-dimensional poly(ether- ether- ketone)/-hydroxyapatite biocomposite scaffolds using laser sintering. *Proc Inst Mech Eng H* **219**, 183-194, doi:10.1243/095441105X9345 (2005).
- 75 Diez-Pascual, A. M., Xu, C. & Luque, R. Development and characterization of novel poly(ether ether ketone)/ZnO bionanocomposites. *J Mater Chem B* **2**, 3065-3078, doi:10.1039/c3tb21800g (2014).

- 76 Hao, L. *et al.* Enhancing the mechanical performance of poly(ether ether ketone)/zinc oxide nanocomposites to provide promising biomaterials for trauma and orthopedic implants. *RSC Advances* **8**, 27304-27317, doi:10.1039/c8ra01736k (2018).
- 77 Zanjanijam, A. R., Major, I., Lyons, J. G., Lafont, U. & Devine, D. M. Fused Filament Fabrication of PEEK: A Review of Process-Structure-Property Relationships. *Polymers (Basel)* **12**, doi:10.3390/polym12081665 (2020).
- 78 Wang, R., Cheng, K.-j., Advincula, R. C. & Chen, Q. On the thermal processing and mechanical properties of 3D-printed polyether ether ketone. *MRS Communications* **9**, 1046-1052, doi:10.1557/mrc.2019.86 (2019).
- 79 Emolaga, C. S. *et al.* Surface Design of 3D-printed PEEK by Controlling Slicing Parameters. *International Journal of Mechanical Engineering and Robotics Research*, 181-186, doi:10.18178/ijmerr.11.3.181-186 (2022).
- 80 Vaezi, M. & Yang, S. Extrusion-based additive manufacturing of PEEK for biomedical applications. *Virtual and Physical Prototyping* **10**, 123-135, doi:10.1080/17452759.2015.1097053 (2015).
- 81 López, K. D. D. M. *Materiales Porosos por Impresión 3D a base de Mezclas de PLA/PHB e Híbridos de Hidroxiapatita-Ag-ZnO, Dirigidos hacia su Aplicación en Andamios Óseos* Maestría thesis, Centro de Investigación en Química Aplicada, (2021).
- 82 International, A. Vol. D5418 - 15 4 (United States, 2015).
- 83 International, A. Vol. E2149 - 13a 5 (United States, 2013).
- 84 (ISO), I. S. Vol. ISO 23317 20 (International Standard, Switzerland, 2014).
- 85 Bekkali, C. E. *et al.* Zinc oxide-hydroxyapatite nanocomposite photocatalysts for the degradation of ciprofloxacin and ofloxacin antibiotics. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **539**, 364-370, doi:10.1016/j.colsurfa.2017.12.051 (2018).
- 86 Chen, X., Tang, Q.-L., Zhu, Y.-J., Zhu, C.-L. & Feng, X.-P. Synthesis and antibacterial property of zinc loaded hydroxyapatite nanorods. *Materials Letters* **89**, 233-235, doi:10.1016/j.matlet.2012.08.115 (2012).
- 87 Saxena, V., Hasan, A. & Pandey, L. M. Effect of Zn/ZnO integration with hydroxyapatite: a review. *Materials Technology* **33**, 79-92, doi:10.1080/10667857.2017.1377972 (2017).
- 88 Yu, J. *et al.* Synthesis, characterization, antimicrobial activity and mechanism of a novel hydroxyapatite whisker/nano zinc oxide biomaterial. *Biomedical Materials* **10**, 015001, doi:10.1088/1748-6041/10/1/015001 (2014).

- 89 Kappe, C. O. Controlled Microwave Heating in Modern Organic Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition* **43**, 6250-6284, doi:https://doi.org/10.1002/anie.200400655 (2004).
- 90 Suslick, K. S. in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* Vol. 26 (ed Kenneth S. Suslick) 26 (John Wiley & Sons, New York, 1998).
- 91 Gomes, G. C. *et al.* Nd:YAG (532 nm) pulsed laser deposition produces crystalline hydroxyapatite thin coatings at room temperature. *Surface and Coatings Technology* **329**, 174-183, doi:10.1016/j.surfcoat.2017.09.008 (2017).
- 92 Oliveira, C. *et al.* Zinc (II) modified hydroxyapatites for tetracycline removal: Zn (II) doping or ZnO deposition and their influence in the adsorption. *Polyhedron* **194**, doi:10.1016/j.poly.2020.114879 (2021).
- 93 Sin, J.-C. *et al.* Punica granatum mediated green synthesis of cauliflower-like ZnO and decorated with bovine bone-derived hydroxyapatite for expeditious visible light photocatalytic antibacterial, antibiofilm and antioxidant activities. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **9**, doi:10.1016/j.jece.2021.105736 (2021).
- 94 Peng, S. *et al.* Graphene oxide as an interface phase between polyetheretherketone and hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds. *Sci Rep* **7**, 46604, doi:10.1038/srep46604 (2017).
- 95 Thampi, V. V., Dhandapani, P., Manivasagam, G. & Subramanian, B. Enhancement of bioactivity of titanium carbonitride nanocomposite thin films on steels with biosynthesized hydroxyapatite. *Int J Nanomedicine* **10 Suppl 1**, 107-118, doi:10.2147/IJN.S79976 (2015).
- 96 Lee, H., Zhang, X., Hwang, J. & Park, J. Morphological Influence of Solution-Processed Zinc Oxide Films on Electrical Characteristics of Thin-Film Transistors. *Materials (Basel)* **9**, doi:10.3390/ma9100851 (2016).
- 97 Zhang, X., Li, Y., Lv, G., Zuo, Y. & Mu, Y. Thermal and crystallization studies of nano-hydroxyapatite reinforced polyamide 66 biocomposites. *Polymer Degradation and Stability* **91**, 1202-1207, doi:10.1016/j.polymdegradstab.2005.02.006 (2006).
- 98 Wang, L. *et al.* Polyetheretherketone/nano-fluorohydroxyapatite composite with antimicrobial activity and osseointegration properties. *Biomaterials* **35**, 6758-6775, doi:10.1016/j.biomaterials.2014.04.085 (2014).
- 99 Diez-Pascual, A. M. & Diez-Vicente, A. L. High-performance aminated poly(phenylene sulfide)/ZnO nanocomposites for medical applications. *ACS Appl Mater Interfaces* **6**, 10132-10145, doi:10.1021/am501610p (2014).

- 100 Díez-Pascual, A. M. NANO-ZNO REINFORCED POLY (ETHER ETHER KETONE) BIOCOMPOSITES. *ADVANCES IN NANOTECHNOLOGY*, 47 (2015).
- 101 Abu Bakar, M. S., Cheang, P. & Khor, K. A. Thermal processing of hydroxyapatite reinforced polyetheretherketone composites. *Journal of Materials Processing Technology* **89-90**, 462-466, doi:[https://doi.org/10.1016/S0924-0136\(99\)00060-6](https://doi.org/10.1016/S0924-0136(99)00060-6) (1999).
- 102 Patel, P. *et al.* Mechanism of thermal decomposition of poly(ether ether ketone) (PEEK) from a review of decomposition studies. *Polymer Degradation and Stability* **95**, 709-718, doi:10.1016/j.polymdegradstab.2010.01.024 (2010).
- 103 Ramgobin, A., Fontaine, G. & Bourbigot, S. A Case Study of Polyether Ether Ketone (I): Investigating the Thermal and Fire Behavior of a High-Performance Material. *Polymers (Basel)* **12**, doi:10.3390/polym12081789 (2020).
- 104 Aw, Y. Y. *et al.* Effect of Printing Parameters on Tensile, Dynamic Mechanical, and Thermoelectric Properties of FDM 3D Printed CABS/ZnO Composites. *Materials* **11**, 466 (2018).
- 105 Katti, P., Kundan, K. V., Kumar, S. & Bose, S. Poly(ether ether ketone)-Grafted Graphene Oxide “Interconnects” Enhance Mechanical, Dynamic Mechanical, and Flame-Retardant Properties in Epoxy Laminates. *ACS Omega* **3**, 17487-17495, doi:10.1021/acsomega.8b01511 (2018).
- 106 A. Alvaredo, J. P. F.-B., P. Castell, R. Guzmán de Villoria. Materiales compuestos de poliéter-éter-cetona (PEEK) y grafeno fabricados por inyección. *Revista de la Asociación Española de Materiales Compuestos* **3**, n° **1**, 4 (2017).
- 107 Lau, N. C., Lai, Y. C., Chen, D. W. & Cheng, K. W. Antibacterial Activity Studies of 3D-Printing Polyetheretherketone Substrates with Surface Growth of 2D TiO₂/ZnO Rodlike Arrays. *ACS Omega* **7**, 9559-9572, doi:10.1021/acsomega.1c06931 (2022).
- 108 Wu, T. *et al.* The antibacterial and wear-resistant nano-ZnO/PEEK composites were constructed by a simple two-step method. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **126**, 104986, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104986> (2022).
- 109 Lallo da Silva, B., Caetano, B. L., Chiari-Andreo, B. G., Pietro, R. & Chiavacci, L. A. Increased antibacterial activity of ZnO nanoparticles: Influence of size and surface modification. *Colloids Surf B Biointerfaces* **177**, 440-447, doi:10.1016/j.colsurfb.2019.02.013 (2019).
- 110 Ma, R. & Guo, D. Evaluating the bioactivity of a hydroxyapatite-incorporated polyetheretherketone biocomposite. *J Orthop Surg Res* **14**, 32, doi:10.1186/s13018-019-1069-1 (2019).

- 111 Kim, S. S., Park, M. S., Gwak, S. J., Choi, C. Y. & Kim, B. S. Accelerated bonelike apatite growth on porous polymer/ceramic composite scaffolds in vitro. *Tissue Eng* **12**, 2997-3006, doi:10.1089/ten.2006.12.2997 (2006).
- 112 Zahra, G., Nounah, A., Belhorma, B. & Yahyaoui, A. Nanosized calcium-deficient carbonated hydroxyapatite synthesized by microwave activation. *Journal of Materials and Environmental Science* **6**, 983-988 (2015).
- 113 Yu, S., Hariram, K. P., Kumar, R., Cheang, P. & Aik, K. K. In vitro apatite formation and its growth kinetics on hydroxyapatite/polyetheretherketone biocomposites. *Biomaterials* **26**, 2343-2352, doi:10.1016/j.biomaterials.2004.07.028 (2005).