

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



**“DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA ALEACIÓN DE Mg - Ca -
Zn PARA OSTEOSÍNTESIS”**

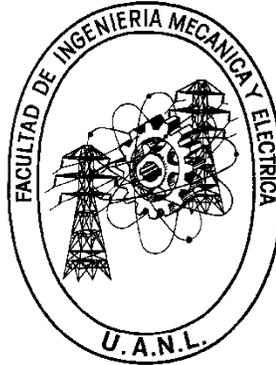
Por:
LUIS HUMBERTO CAMPOS BECERRA

**EN OPCIÓN AL GRADO DE:
DOCTORADO EN INGENIERÍA
DE MATERIALES.**

SAN NICOLÁS DE LOS GARZA, NUEVO LEÓN

Enero, 2022

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



**“DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA ALEACIÓN DE Mg - Ca -
Zn PARA OSTEOSÍNTESIS”**

Por:
LUIS HUMBERTO CAMPOS BECERRA

**EN OPCIÓN AL GRADO DE:
DOCTORADO EN INGENIERÍA
DE MATERIALES.**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica
Posgrado

Los miembros del Comité de Evaluación de Tesis recomendamos que la Tesis “Desarrollo y caracterización de una aleación de Mg-Ca-Zn para osteosíntesis”, realizada por el estudiante Luis Humberto Campos Becerra, con número de matrícula 1935037, sea aceptada para su defensa como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ingeniería de Materiales.

El Comité de Evaluación de Tesis

Dr. Alejandro Torres Castro
Director

Dr. Marco Antonio Ludovic Hernández Rodríguez
Co-director

Dr. Antonio Francisco García Loera
Revisor

Dr. Carlos Alberto Guerrero Salazar
Revisor

Dr. Sergio Omar Martínez Chapa
Revisor

Dr. Arnoldo Salazar Soto
Revisor

Dr. Jorge Luis Hernández Piñero
Revisor

Vo.Bo.


Dr. Simón Martínez-Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

Institución 190001

Programa 122608

Acta Núm. 302

Ciudad Universitaria, a 31 de enero de 2022.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Marco Antonio Ludovic Hernández Rodríguez co-asesor de mi tesis. Así como a los Doctores Enrique Díaz Barriga, Hugo Esquivel Solís, adicionalmente a los Doctores Antonio García Loera, Edén Amarral Rodríguez y Eduardo Nuñez Pérez por formar parte del Comité de tesis, por sus valiosas sugerencias de interés, en la revisión del presente trabajo. Adicionalmente quiero expresar mi profundo agradecimiento al M.I Raúl Lesso Arroyo† por su paciencia, dedicación y constante retroalimentación sobre este trabajo. Al Dr. Alejandro Torres Castro por dedicarme su tiempo como asesor de tesis, por sus consejos, puntos de vista, opiniones compartidas y de forma personal por brindarme su amistad.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) por el apoyo económico para la realización de mis estudios. Al Centro de Innovación e Investigación y Desarrollo en Ingeniería y Tecnología, CIIDIT (UANL) por permitirme el uso de su equipo y su invaluable ayuda en el desarrollo de este estudio.

Al Instituto Tecnológico de Celaya (ITC) por permitirme el uso de su equipo y su invaluable ayuda en el desarrollo de este estudio.

Al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) por permitirme el uso de su equipo y su invaluable ayuda en el desarrollo de este estudio.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) por permitirme el uso de su equipo y su invaluable ayuda en el desarrollo de este estudio.

A mi familia y esposa Citlalli Betsabé González Jiménez por el apoyo moral que siempre me ha brindado y a todas las personas que contribuyeron de una forma u otra en la realización de este trabajo.

INDICE GENERAL

Lista de figuras.	vii
Lista de gráficas.	x
Lista de tablas.	xi
RESUME	1
I INTRODUCCIÓN	4
II ANTECEDENTES	8
2.1 Contenido general	11
2.2 Planteamiento del problema	11
2.3 Hipótesis	12
2.4 Objetivos	12
2.5 Metodología	13
2.6 Biomaterial Bio-inspirado Mg - Ca - Zn: Una revisión de las principales propiedades mecánicas y biológicas de las aleaciones basadas en Mg.	15
2.7 Introducción a la aleación Mg – Ca – Zn	15
2.8 Influencia de los elementos aleantes sobre el cuerpo.	20
2.9 Toxicidad de los elementos aleantes en un composito de Mg – Ca – Zn.	26
2.10 Propiedades mecánicas	35
2.11 Degradación	41
2.12 Procesos de obtención compositos	49
III EXPERIMENTAL	
3.1 Procedimientos para desarrollo y experimentación.	53
3.1.1 Fundición 1	57
3.1.2 Fundición 2	59
3.1.3 Fundición 3	61
3.2 Bio-Fabricación y validación experimental de una aleación de Mg - 25 Ca - 5 Zn propuesta para un andamio metálico poroso.	63
3.2.1 Introducción	64
3.2.2 Materiales	68
3.2.3 Métodos	73
3.2.4 SEM-EDS	74
3.2.5 XRD	75
3.2.6 TEM-FIB	75
3.2.7 Micro-indentación	76
3.2.8 Viabilidad celular	77
3.3 Efecto de la esterilización sobre la respuesta dinámica de 3 puntos a la flexión in vitro de un implante de Mg.	80
3.3.1 Introducción	80

3.3.2 Métodos	82
3.3.3 Configuración pruebas mecánicas	85
3.3.4 Descripción análisis morfológico	93
3.3.5 Descripción prueba de citotoxicidad	94
3.3.6 Método de elemento finito	95
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1 Resultados SEM-EDS Bio-fabricación	96
4.1.1 Comparación entre morfologías Mg-Ca a porcentajes incrementales.	97
4.2 Resultados XRD Bio-fabricación	101
4.3 Resultados TEM Bio-fabricación	103
4.4 Resultados Micro-indentación.	107
4.5 Resultados viabilidad celular	109
4.6 Validación por elementos finitos, progresión de carga versus comparación con BDM.	112
4.7 Discusión: Bio-Fabricación y validación experimental de una aleación de Mg – 25 Ca – 5 Zn propuesta para un andamio metálico poroso.	113
4.8 Resultados de pruebas mecánicas.	120
4.9 Análisis morfológico SEM-EDS, TEM y XRD – Efectos in vitro.	125
4.10 Resultados de citotoxicidad – Efectos in vitro.	127
4.11 de integridad mecánica – Efectos in vitro.	128
4.12 Discusión: Efecto de la esterilización sobre la respuesta dinámica de 3 puntos a la flexión in vitro de un implante de Mg.	134
V CONCLUSION	
5.1 Conclusiones: Bio-Fabricación y validación experimental de una aleación de Mg - 25 Ca - 5 Zn propuesta para un andamio metálico poroso.	140
5.2 Conclusiones: Efecto de la esterilización sobre la respuesta dinámica de 3 puntos a la flexión in vitro de un implante de Mg	142
VI RECOMENDACIONES A FUTURO	
6.1 Recomendaciones	144
VII BIBLIOGRAFÍA	145

Lista de figuras.

Figura 2.1 Línea de tiempo.	10
Figura 2.2 Metodología.	14
Figura 2.3 Mg es el cuarto catión más abundante en el cuerpo humano, 1 mol (21-35 g) almacenado en el cuerpo de un adulto sano de 70 kg.	23
Figura 2.4 Relación de módulos de elasticidad.	31
	36
Figura 2.5 Comportamiento óptimo de degradación del Mg 99,9% de rugosidad, implante adaptado en la cicatrización de fracturas óseas.	
Figura 3.1A Crisol Coors TEK 60310 50ml. 3.1B) Mg ₆₉ - Ca _{29.5} -Zn _{1.5}	58
Figura 3.2 Resultados de fundición # 1	59
Figura 3.3 Secuencia de procedimientos de experimentación.	61
Figura 3.4 Resultados y corte del tocho obtenido.	62
Figura 3.5 Alargamiento del cuerpo mandibular.	65
Figura 3.6 dimensión del espécimen.	86
Figura 3.7 espécimen de prueba (ASTM F1264-03) Configuración de prueba de 3 puntos.	86
Figura 3.8 a) Sistema utilizado en pruebas a flexión. b) Rodillos aplicadores de carga.	89
Figura 3.9 a) espécimen de prueba para prueba de flexión en 3 puntos. b) Sistema usado para prueba de flexión a fatiga. c) Configuración de maquina Instron 1011 con cámara de polipropileno ensamblada para inmersión.	89
Figura 3.10 Relación de carga de 0 a -1 vs tiempo.	92
Figura 4.1 Mapeo de elementos por distribución SEM-EDS (O, Mg, Ca, Zn) de partículas de segunda fase.	97
Figura 4.1.1 Morfología Mg – 30Ca – 5 Zn	98
Figura 4.1.2 Mapeo de elementos Mg, Ca.	99

Figura 4.1.3 A) imágenes de SEM. B) espacios interdentríticos. C) fase α – Mg + Mg ₂ Ca.	100
Figura 4.1.4 A) aleación maestra Mg – 20 Ca. B) aleación maestra Mg – 30Ca	100
Figura 4.3 Campo claro, campo oscuro y preparación de laminillas por Focus ion Beam (FIB).	104
Figura 4.4 Patrones de difracción e identificación de las fases α -Mg, CaMg ₂ y MgO identificadas por XRD, referenciadas a las cartas de difracción del Centro internacional de datos de difracción (ICDD)	104
Figura 4.5 Identificación del plano con respecto a la medición del espacio interplanar en imágenes de Mg - 25% en peso de Ca - 5% en peso de Zn, HRTEM tomadas de los sitios marcados A, B y C. Se observa su relación con MgO y α -Mg	105
Figura 4.6 Identificación del plano con respecto a la medición del espacio interplanar en imágenes de Mg - 25% en peso de Ca - 5% en peso de Zn, HRTEM tomadas de los sitios marcados A, B y C. Se observa su relación entre α -Mg y CaMg ₂	105
Figura 4.7 Identificación del plano con respecto a la medición del espacio interplanar en Mg - 25% en peso de Ca - 5% en peso de Zn, imágenes HRTEM tomadas de los sitios marcados A, B y C. Se observa su relación entre CaMg ₂ y α -Mg	107
Figura 4.8 A y B Micrografías representativas de células no expuestas (control negativo; A) y células B expuestas a los extractos originales de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn después de dos días de las mismas condiciones de cultivo. Ampliación 10x, barra de escala 100 μ m.	110
Figura 4.9 Progresión de la carga del andamio y comparación con DBM.	112
Figura 4.10 Mapeo de elementos mediante análisis de distribución SEM-EDS (O, Mg, Y, La, Nd, Gd, Fe, Ni y Cu) correspondiente a fases secundarias.	125

Figura 4.11 Patrón de difracción imagen; bajo examinación por TEM (campo claro, campo oscuro).	125
Figura 4.12 Segundas fases identificadas en WE43, α -Mg, Gd _{9.08} Mg _{45.9} y Gd _{0.75} Mg _{0.25} , las imágenes HRTEM se tomaron de sitios específicos marcados con A y B. Imagen inferior izquierda, es un grupo de nanopartículas de tamaño uniforme y geometría cuasi- esférica de aproximadamente 5 nm	126
Figura 4.13 Patrones de difracción XRD de la aleación WE43	127
Figura 4.14 a) Microestructura. b) Aproximación al tamaño de grano para una representación de los límites de grano. (Detalle a) c) La malla representa una microestructura real actuando a tensión.	129
Figura 4.15 a) Deformación direccional. b) Desplazamiento de elementos (granos)	130
Figura 4.16 a) Concentración de la deformación hacia las fronteras de grano. b) Deformación elástica equivalente, estimula la propagación de las grietas.	131

Lista de gráficas.

Gráfica 3.1 Registro de parámetros tiempo vs temperatura de fundición # 2.	60
Gráfica 3.2 Curva de temperatura vs time, con observaciones.	62
Gráfica 4.1 Patrón de difracción Mg – 25 wt% Ca + 5 wt% Zn.	102
Gráfica 4.1.1 Curva carga-desplazamiento, hmax: penetración máxima, S: curva de descarga tangente (rigidez), hc: profundidad de contacto. Módulos elásticos y dureza para Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn	106
Gráfica 4.2 Profundidad de fuerza de penetración.	107
Gráfica 4.3 Fuerza - Indentación	107
Gráfica 4.4 El efecto de extractos de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn en la viabilidad de los fibroblastos murinos L-929.	109
Gráfica 4.5 Curva de esfuerzo-deformación promedio obtenida por tensión simple.	120
Gráfica 4.6 Curva de esfuerzo-deformación de 3 especímenes probados a tensión simple.	120
Gráfica 4.7 Valores promedio de fuerza - desplazamiento obtenidos por flexión simple.	121
Gráfica 4.8 Valores de fuerza – desplazamiento de 3 pruebas a flexión simple.	121
Gráfica 4.9 Efecto detrimental de la esterilización por autoclave, al compararse prueba 1 (verde) que recibe esterilización y aclimatación en contra del resultado de la prueba 2 (azul) sin esterilización, en ambas pruebas se cumple el protocolo de control aséptico y aclimatación.	122

Lista de tablas.

Tabla 3.1 Diseño de aleación basado en límite toxicológico y biodegradación.	70
Tabla 3.2 Características de prueba de esfuerzo simple.	87
Tabla 3.3 características de prueba en 3 puntos.	88
Tabla 3.4 características de prueba dinámica a flexión.	90

RESUMEN

En este trabajo se desarrolló una aleación metálica para fines biomédicos, considerando la degradación in vivo de los elementos, así como el tiempo que permanecerán dentro del cuerpo. El diseño de experimentos realizado, tomando como variables método de fundición, temperatura, tiempo, tipo de gas reductor, da como resultado el uso de una aleación maestra de Mg-Ca.

Dentro de los alcances de este trabajo, se encuentra caracterizar la aleación de 098Mg - Ca y al mismo tiempo desarrollar los métodos de prueba de acuerdo con el estándar ASTM para la validación de este tipo de dispositivos médicos empleando Mg.

Actualmente se utiliza la aleación base Mg, con los elementos aleantes como el Y, Gd y tierras raras, designada como WE43, por lo que se considera importante realizar en este trabajo una validación de los protocolos ISO-10993 - ASTM F1264-03, en una prueba in vitro a fatiga en tres puntos inmersa en fluidos fisiológicos, debido a la importancia de encontrar no solo como se afectan las aleaciones de Mg con factores como la esterilización sino también al desarrollo de la práctica así también validar nuevas aleaciones como la Mg - Ca siguiendo los lineamientos establecidos por ASTM. Una comparación entre los módulos elásticos de las aleaciones probadas y los módulos corporales resalta el beneficio de la cercanía entre módulos, lo cual disminuye la remodelación ósea al disminuir las cargas cizallantes.

La evaluación morfológica nos revela la formación de estructuras frágiles y el estado del proceso de difusión de polvo de Zn sobre una aleación maestra Mg-

Ca, las láminas entrecruzadas fragilizan la resistencia de la aleación formulada mientras que su refinación solo mejorará ligeramente debido a los límites de solubilidad, dado a que se alcanza un punto de fusión inferior al de cada uno de los elementos, se origina la fase lamelar eutéctica, que ocurre en mezclas que poseen alta estabilidad en estado líquido y cuyos componentes son insolubles en estado sólido.

Se realizó una evaluación de la viabilidad celular en la aleación Mg – Ca – Zn, la aplicación queda limitada a miembros no portadores de carga corporal y con la recomendación de administración solo como andamio de reconstrucción debido a la similitud entre las características óseas del hueso esponjoso y la microestructura obtenida. Se comprueba la fragilidad de la aleación por medio de una prueba de micro-indentación donde se observa el comportamiento frágil a la tensión y compresión similares a la del hueso.

La evaluación de las respuestas de las aleaciones de Mg a la esterilización es un tema relevante actualmente, ya que su utilización está avanzando a nivel internacional y los medios adecuados para esterilizar el implante deben ser definidos, el método de esterilización por autoclave en particular es el que más afecta las aleaciones de Mg y su evaluación se incluye como parte del protocolo de pruebas de ASTM sobre aleación WE43. No es posible la evaluación del comportamiento de Mg – Ca – Zn por medio de ASTM F 1264 debido a que sus propiedades mecánicas son muy pobres, ya que presenta un comportamiento frágil y resistencia baja. Sin embargo, se obtiene información muy relevante que da indicios de la utilización de esta aleación en particular. El rendimiento a la tensión y flexión en tres puntos de una aleación como WE43 son aceptables en cuestión de integridad mecánica, sin embargo, el potencial biológico es

cuestionado como se observa en nuestros resultados, por otra parte la aleación Mg – Ca – Zn, se recomienda como andamio poroso de reconstrucción, fue caracterizada y su morfología siempre y cuando la orientación sea la adecuada al fabricar el dispositivo médico, no será un problema para el medio al cual se someterá o la aplicación en un ambiente fisiológico corporal. La hipótesis se cumple, se cumplen los objetivos al desarrollar el procedimiento por el cual se prueban WE43 en una cámara de polipropileno in vitro, y con las condiciones deseadas, como lo es realizar la prueba del implante sumergido en Simulated body fluid, SBF enriquecido, adicionalmente se obtiene evidencia de la afectación estructural por el tratamiento de esterilización lo cual es un aporte al estado del arte actual. Se desarrollo la fundición de una aleación biológica Mg - Ca - Zn, sin embargo, el potencial biológico y viabilidad celular es aceptable, por lo cual se explora otra aplicación como material suplementario para andamios portadores de carga en cirugía maxilofacial, para lo cual cumple con propiedades mecánicas, viabilidad celular, proporcionando además una solución viable a la problemática con la cosecha de hueso ilegal de cadáveres.

INTRODUCCION

El Magnesio (Mg) es vital para el cuerpo humano y sus procesos metabólicos [1], como metal degradable supone ser la base primaria de las aleaciones biomédicas del futuro, empleándose como dispositivo médico de clase III.[2], [3] Los metales aleantes como el calcio (Ca) precipitan fortaleciendo la microestructura mediante la refinación de grano, sin embargo la máxima solubilidad del Ca en magnesio es solo de 1.35 por ciento en peso (WT%), el Ca está presente el cuerpo humano hasta en un 1.5% [4]–[8] Mientras que el Zinc (Zn), presenta una solubilidad máxima en Mg de 6.2 WT%, además de mejorar la resistencia y la capacidad de fundición, aleaciones con Mg han demostrado menores tasas de evolución de hidrógeno, sin embargo en altas concentraciones, puede causar agrietamiento y microporosidad durante la solidificación, además de resultar neurotóxico y obstaculizar el desarrollo del hueso [1], [4], [7], [9]–[11] Gilles Regazzoni, et al., patentaron una aleación en la cual la suma de los contenidos de Zn/Ca típicamente no excede el WT 20%. [12]

Estos elementos Ca y Zn influyen positivamente sobre la curación ósea, viabilidad celular, estabilidad en condiciones fisiológicas, proliferación celular y las reacciones celulares al alearse en Mg-Zn-Ca ofreciendo ventajas significativas respecto a los polímeros absorbibles, debido a que estas no liberan productos ácidos y son más sencillas de esterilizar.[13], [14], [23], [15]–[22] Los polímeros absorbibles que se usan en aplicaciones para miembros superiores, están limitados en la práctica clínica para miembros inferiores ya que las fracturas requieren de estructuras más fuertes que aporten rigidez al callo óseo y donde las operaciones de remoción re-fracturan las zonas afectadas, menor rigidez en

la fijación disminuiría el problema de esfuerzo cortante, permitiendo que los valores de módulos elásticos tengan una relación más cercana a los del hueso y evitando la remodelación del hueso tras la carga, las fracturas están asociadas a altos riesgos de mortalidad. [9], [14], [31]–[38], [17], [24]–[30] Adicionalmente los polímeros están relacionados a la inflamación del tejido suave y falta de bioactividad. R. Suuronen et al., reportaron en un estudio la formación de fistulas estériles y osteólisis post-operatoria de 0.5 - 4 años, afectando la formación del tejido de granulación.[18], [39] La interrelación entre aspectos biológicos, biocompatibles y mecánicos es un campo interdisciplinario que recién comienza a explorarse, ha generado interés recientemente debido a que es posible reducir los tiempos de regeneración ósea y al mismo tiempo evitar re-operaciones.

En la actualidad la respuesta mecánica, biológica y toxicológica de los elementos aleantes en aleaciones de magnesio biomédico, es un tema de gran interés, ya que los dispositivos médicos (DM) para osteosíntesis en general están fabricados en aleaciones de titanio (Ti), cromo (Cr), cobalto (Co) y aceros inoxidables, sin embargo estos últimos se han aceptado por haber demostrado anteriormente un mejor rendimiento en distintas pruebas de carácter interdisciplinario como lo son las biológicas, mecánicas, y electroquímicas, este trabajo experimental ofrece un punto de vista más detallado enfocado a resaltar las propiedades mecánicas y relacionarlas con la degradación y parámetros de toxicología, ofreciendo una perspectiva distinta, considerando los diferentes resultados reportados en previos trabajos, bajo la premisa de “no basta con ser biocompatibles”, existen otros factores como variaciones de pH de persona a persona, alimentación, alergias,

reacciones inflamatorias, etc., tradicionalmente se han aceptado los materiales antes mencionados, sin embargo su utilización también supone cierto riesgo para la salud, como en el Ti-6Al-4V, ya que se presenta la degradación in vivo, y esto repercute en el desprendimiento de iones perjudiciales como el aluminio (Al) y vanadio (V), provocando según la etiopatogenia, enfermedades exógenas, ya que son atribuibles al efecto de la acción directa del agente sobre el huésped.[5], [36], [50], [42]–[49] Voggenreiter et al., han considerado que el Ti no es un material inerte.[49] Las desventajas de utilizar aceros inoxidable del tipo 316 en implantes, radica en su alto módulo de elasticidad así como la liberación de Ni y Cr, las aleaciones de Ti liberan iones de Al y V, mientras que las de Co, son difíciles de maquinar e implica altos costos además de la liberación de Cr al cuerpo que produce alergias, la implantación permanente propicia disfunción endotelial, irritación física permanente y reacciones crónicas inflamatorias.[7], [50], [59], [60], [51]–[58] Ruizhen Xu et al., han relacionado el rol que tiene el Cr en las aleaciones de acero inoxidable, y planteado su incorporación a las aleaciones metálicas degradables base magnesio, sin embargo debe realizarse un análisis a profundidad, en virtud de asegurarse que la toxicidad y los niveles de ingesta diaria permitida para el Cr en los órganos del cuerpo humano son seguros.[61]

Se piensa que el reemplazo de estos materiales por cationes naturales y esenciales que se encuentran en el cuerpo como el Mg, Ca, Zn, será el futuro de la industria de dispositivos médicos, ya que estos elementos son esenciales para el metabolismo y la regeneración celular, el Mg mejora el metabolismo óseo al

interactuar con las integrinas de los osteoblastos que trabajan para adhesión celular y la estabilidad.[51], [62] F. Feyerabend et al., demostraron que la adhesión celular sobre Magnesio puro es generalmente más baja que en Mg10Gd1Nd, Sin pre-incubación no se observaron células vivas sobre el Mg puro, mientras que en la aleación algunas células ya estaban adheridas.[63] Yuen et al., propusieron evitar elementos raros y centrar esfuerzos en elementos aleantes esenciales para el cuerpo como Ca, Zn y manganeso (Mn) para aplicaciones ortopédicas en humanos.[33], [47], [64] Petra Maier et al., reportaron que para una aleación de Mg10Gd aleada con neodimio (Nd) y lantano (La), y de acuerdo con las pruebas de inmersión, el endurecimiento por precipitación mejora el comportamiento frente a la corrosión pero no aumenta la tenacidad de las aleaciones, especialmente cuando contienen La.[65]

Los composites de matriz de metal biodegradable (MMC's) se integran por al menos dos componentes, la matriz y el refuerzo [66], al seleccionar los elementos aleantes se deben tener presentes las dosis diarias de ingesta permitida para evitar problemas toxicológicos. Las aleaciones con una fase secundaria muestran mejores propiedades mecánicas que las que tienen dos fases secundarias, mejorando la resistencia a la corrosión.[67]

Actualmente existen dos sistemas aprobados por regulaciones sanitarias fabricados base Mg en el mercado europeo, Magnezix y Magmaris, aunque la aplicación es distinta la base metálica en las aleaciones es la misma WE43, una contiene itrio (Y), zirconio (Zr) y elementos raros mientras que la otra no incorpora Y., el precio de un sistema base Mg puede ser 1.5 veces más caro que

el de un tornillo óseo sin cabeza de Ti y 5 veces el precio de un tornillo clásico de Ti, una relación costo-beneficio puede poner en perspectiva las ventajas y desventajas de su uso.[68] Si bien es cierto que existe abundante evidencia de su eficacia y seguridad clínica esos sistemas no se han podido regularizar y aprobar por la U.S Food and Drug Administration (FDA), la estandarización de protocolos clínicos y la posible actualización de ISO10993 concernientes a la liberación de iones metálicos al organismo es un tema del que diversos grupos de investigación comienzan a ocuparse.[22],[69],[70] Actualmente más de 15,000 implantes de Mg han sido colocados en el mercado de dispositivos médicos europeo, este mismo segmento en México tiene un valor de 102 MUSD para 2021.[71], [72]

2 ANTECEDENTES

Hoy en día, en México, las fracturas de tibia se tratan con fijadores externos, la gran cantidad de casos fallidos asociados con esta práctica clínica ha hecho que los cirujanos requieran el uso de técnicas más sofisticadas. El "estándar de oro" para las fracturas de diáfisis tibial es el clavo intramedular.[73]

Con respecto al clavo intramedular, es recomendable utilizar materiales que puedan degradarse en los entornos fisiológicos, es deseable no utilizar un procedimiento quirúrgico posterior en el que los implantes del cuerpo humano se puedan extraer después de que los tejidos hayan cicatrizado.[74] La repetición de la cirugía aumenta la morbilidad y los costos de salud.[4]

Recientemente las aleaciones de magnesio han atraído una gran atención. Su mayor ventaja corresponde a sus excelentes propiedades mecánicas y biocompatibilidad in vitro.[75] El Mg es vital para los procesos metabólicos y un cofactor en muchas enzimas.[76][15]

Mg es el cuarto catión más abundante en el cuerpo humano, con aproximadamente 1 mol (entre 21 y 35 g) almacenado en el cuerpo de un adulto sano de 70 kg.[42] Más de la mitad del Mg fisiológico total se almacena en el hueso, mientras que entre el 35 y el 40% del Mg se encuentra en los tejidos blandos y menos del 1% en el suero. El resto está activo en la actividad mitocondrial. La densidad del Mg está entre 1,74 y 2,0 g / cm³, que está cerca de la densidad ósea (1.8-2,1 g / cm³). En [figura 2.1](#) Se observa una línea de tiempo con los antecedentes hasta el estado del arte actual.

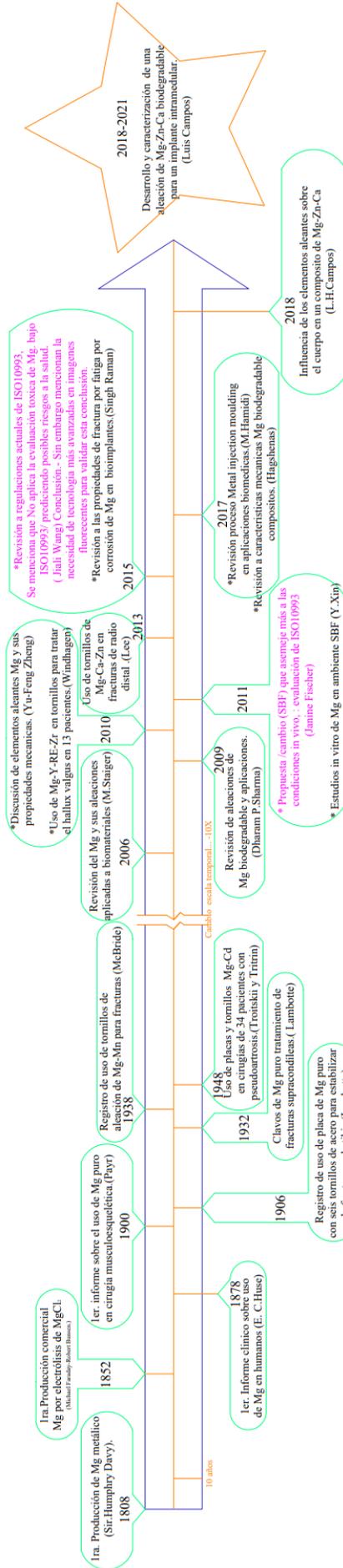


Figura 2.1 Línea de tiempo antecedentes Mg.

2.1 CONTENIDO GENERAL

La toxicidad de los elementos aleantes en las aleaciones de Magnesio (Mg) biomédico, han atraído la atención debido al gran avance tecnológico que plantearía aplicarlos a dispositivos médicos (DM) en traumatología. Recientemente se han publicado resultados prometedores en cuanto a las tasas de degradación e integridad mecánica que pueden soportar las aleaciones de Mg, esto ha provocado un interés por comprender la parte toxicológica de estos materiales emergentes. El creciente interés de distintos segmentos del mercado de DM, ha acrecentado la voluntad de diferentes grupos de investigación a esclarecer el comportamiento de los elementos aleantes in vivo, en este trabajo se cubre la influencia de los elementos aleantes sobre el cuerpo, toxicidad de los elementos de un compuesto de Mg – Ca - Zn, así como las propiedades mecánicas, degradación, enfoque médico y futuras perspectivas sobre la utilización del Mg en la fabricación de DM para varias aplicaciones médicas.

2.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, según las estadísticas del IMSS, la fractura abierta en la tibia representa el hueso y la patología más comúnmente fracturados.[73] El 60% de las fracturas presentadas en la población de 20 a 49 años se presenta en la diáfisis tibial, patología que se administra clínicamente mediante el uso de fijadores externos con un importante atraso tecnológico.[5] Otro gran problema, es que los dispositivos médicos existentes, no corresponden a la anatomía de los mexicanos.[77]

El proceso de degradación in vivo de Mg, propicia el hidrógeno que daña los tejidos en el proceso de curación, pudiendo provocar necrosis la reparación ósea típicamente requiere un tiempo de implantación de 12 semanas.[17]

Las aleaciones biomédicas de magnesio comerciales in vitro no soportan estructuralmente el período inicial de degradación.[4], [78] son rápidamente disueltas in vivo.

La dosificación adecuada de los elementos en una aleación de Mg es vital para evitar trastornos toxicológicos y efectos carcinogénicos.[5], [79], [80] controlar ese efecto contribuirá a la regulación sanitaria.

2.3 HIPOTESIS

Las aleaciones de Mg – Ca – Zn disminuirán la bio-degradación, ralentizando el tiempo de liberación de Mg in vivo, proporcionando tiempo suficiente para la regeneración de la zona fracturada.

2.4 OBJETIVOS

Desarrollar y caracterizar una aleación biomédica de magnesio, que demuestre integridad mecánica, ralentizando el inicio de la degradación y soportando las cargas corporales. La aleación debe resistir en flexión a 3 puntos.

Objetivos específicos:

- Desarrollar un material de inspiración biológica Mg – Ca – Zn

- Desarrollo de una cámara de polipropileno para experimentación in vitro.
- Realizar una caracterización experimental basada en ASTM-F-1264.
- Caracterización morfológica de la aleación Mg – Ca – Zn.
- Caracterización morfológica de la aleación WE43.
- Determinación de la viabilidad celular de Mg – Ca - Zn / WE43.
- Bio-fabricación Mg – Ca – Zn aleación biomédica.

2.5 METODOLOGIA

El presente trabajo, se enfoca en el desarrollo y caracterización de una aleación de magnesio biomédico, a continuación, se detalla cada uno de los puntos. Ver [figura 2.2](#)

- 1.- Revisión bibliográfica y búsqueda de patentes.
- 2.- Definición de la aleación que se quiere desarrollar y caracterizar, con base a las propiedades estructurales y toxicológicas, que produce cada elemento.
- 3.- Definir la formulación de la aleación Mg – Ca – (WT% Zn)
- 4.- Definir el método de fabricación, y revisión de las facilidades para su producción.
- 5.- Definir los parámetros como tiempos y temperaturas para los procesos de solidificación.
- 6.- Caracterización del material; SEM-EDS, TEM, DRX.

- 7.- Desarrollo de un diseño preliminar.
- 8.- Evaluación estructural mediante estándar ASTM F-1264.
- 9.- Propuesta alternativa para andamio poroso.
- 10.- Regulación sanitaria.
- 11.- Evaluación de resultados experimentales.
- 12.- Discusión de resultados.
- 13.- Conclusiones.

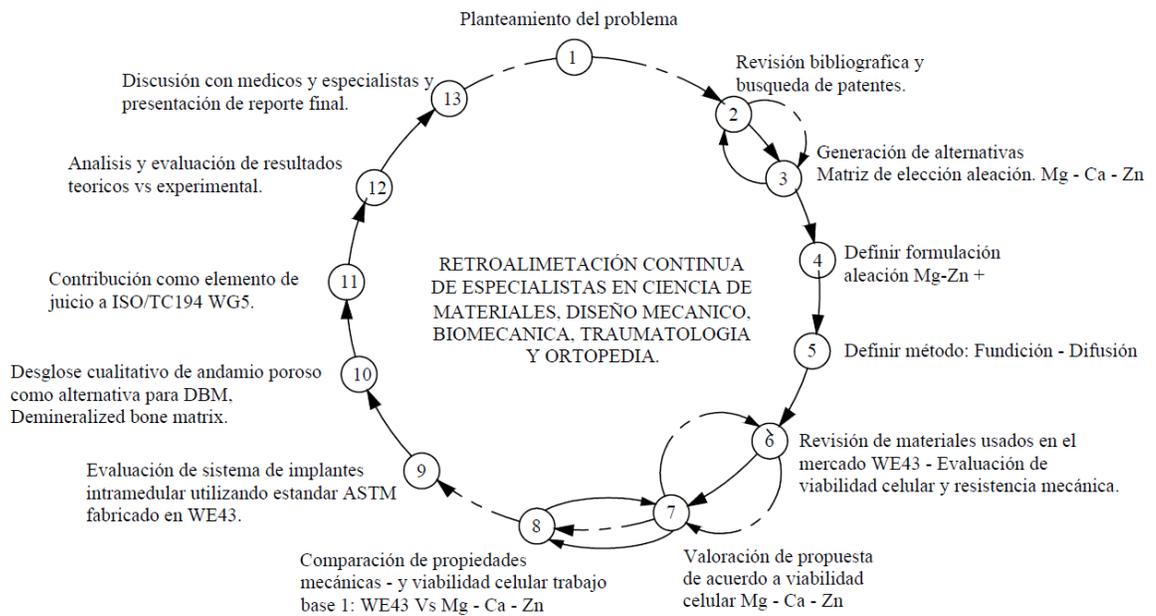


Figura 2.2 Metodología

2.6 BIOMATERIAL BIO-INSPIRADO Mg – Ca – Zn: UNA REVISIÓN DE LAS PRINCIPALES PROPIEDADES MÉCANICAS Y BIOLÓGICAS DE LAS ALEACIONES BASADAS EN Mg.

2.7 Introducción a la aleación Mg – Ca – Zn

El Mg promueve la proliferación de neuronas, células madre y producción de neuritas, liberando iones metálicos bio-funcionales que promueven la reparación del nervio.[81]

2.8 Influencia de los elementos aleantes sobre el cuerpo.

El magnesio tiene un potencial osteoconductor en aplicaciones de traumatología ya que su degradación in vivo aporta minerales esenciales al proceso de osteointegración produciendo una zona rica que favorece la recuperación y osteogénesis, el Mg tiene una tasa de reabsorción impredecible.[1],[84-87], El Mg in vivo tiene un potencial electroquímico negativo de -2.37 V, liberando iones hacia el ambiente fisiológico y formando capas de óxido y Mg(OH)₂ que se adherirán a la superficie del hueso y sobre los bordes del implante, esto eventualmente producirá que los depósitos sean absorbidos por el hematoma y el proceso de recuperación sea más rápido.[1],[88-90], La degradación del Mg in vivo, genera el desprendimiento de iones metálicos los cuales pueden considerarse beneficiosos, ya que se absorben por los tejidos suaves y nervios, el balance del Mg in vivo es mediante absorción intestinal y excreción renal.[1],[76] productos intermedios de la corrosión son metabolizados en forma de iones de Mg, al reaccionar con Cl⁻ del fluido fisiológico corporal, de igual forma

pueden ser digeridos por macrófagos, adicionalmente los productos de la degradación se deben caracterizar por la ausencia de inmunogenicidad, toxicidad sistémica, toxicidad local y promover un buen crecimiento óseo, aun no se tiene claro si la degradación puede inducir cambios específicos del tipo celular en el metabolismo.[2],[91-94] Witte et al., encontraron que los implantes de Mg son benéficos y promueven la formación de tejido suave in situ, estimulan positivamente la formación de hueso nuevo y son benéficos para el proceso de recuperación de fracturas mostrando un efecto comparable al de la insulina en cuanto al factor de crecimiento de osteoblastos.[1],[2],[82],[95] El Mg, está presente en al menos 300 reacciones enzimáticas conocidas,[2]. El Mg es activador de enzimas, co-regulador de síntesis de proteínas y contracción muscular, estabilizador de ADN y ARN [96]. D. Zhao et al., encontraron que el tiempo de recuperación en una fractura del cuello femoral fue de 4.1 meses, no se presentó reacción inflamatoria y después de 24 meses los tornillos se degradaron completamente.[2] Y. Zhang et al., sugiere que los implantes basados en Mg, son una alternativa ideal en patologías osteoporóticas, ya que inducen mediante los iones que se liberan a respuestas periósticas que promueven la formación de callo óseo entre las trabéculas de hueso. Staiger et al., encontraron que la respuesta perióstica inducida por iones de Mg, liberados en implantes contribuyen a la formación de hueso alrededor de la corteza periférica del hueso cortical.[74] Jiali Wang et al., encontraron que podría promover la osteoblastogénesis, y aumentar la osteoclastogénesis.[87] El Mg podría permanecer presente in vivo, manteniendo una integridad mecánica por un periodo temporal de 12-18 semanas, mientras los tejidos se curan,

posteriormente se degradará y será reemplazado por tejido óseo.[90],[91] El Mg puede encontrarse en el cuerpo hasta en un 0.1%[5] Es un metal ligero con un rango en densidad desde 1.74 a 2.0 g/cm³. [13],[98] El Mg ion bivalente, se aprovecha en el cuerpo en el proceso de formación de apatita en matriz ósea. Robinson et al., informaron sobre sus propiedades antibacterianas contra la escherichia coli y staphylococcus aires. [1] Zhang G.D et al., reportaron el seguimiento posterior a 6 meses de la implantación de dispositivos médicos fabricados en Mg, mostrando cambios mínimos en la composición de la sangre sin causar daño a órganos excretores como el hígado y los riñones. [82],[99-101] La demanda diaria de Mg del cuerpo en base a un individuo de 70 kg es de 375 mg.[42],[67] La absorción excesiva de Mg está asociada a trastornos osmóticos y esto a su vez causa la destrucción de eritrocitos y deriva en hemolisis y desordenes en homeostasis del Mg, conduce a náuseas, falla renal, y paros respiratorios.[13] I. Niestroj et al., reportaron que la sobredosis de magnesio tiene el potencial de reducir la excitabilidad de los neuromusculares, el músculo liso y el tejido cardíaco, lo que puede provocar "narcosis de magnesio".[14] Song G.L et al., reportaron que la liberación de iones de cloruro de Mg (MgCl₂) al organismo, es aceptado en áreas como la nutrición y medicina, ya que generalmente se emplean en preparaciones farmacéuticas y la reacción por su ingesta en valores de 65 mg/día, consiste en efectos laxativos.[27],[102]

Los implantes base Mg tienen propiedades antibacterianas por el incremento del pH, lo cual es un efecto clínicamente valioso al contribuir a controlar las infecciones, debido al medio alcalino en que se produce mediante la degradación,

se deben considerar las proteínas plasmáticas como parte vital para la regulación fisiológica del pH. [62], [95],[103],[104] M. Kazemzadeh et al., reportaron que las infecciones se presentan de un 10-12% de todas las cirugías donde se utilizan implantes bioabsorbibles, sin embargo algunos cirujanos les dan preferencia debido a que se evitan la segunda cirugía de remoción. [97],[105]

Bernardini et al., sugieren que los implantes base Mg podrían inducir a la formación de vasos sanguíneos nuevos a partir de los preexistentes.[106] Grünewald et al., demostraron que el Mg tiende a acumularse alrededor de los vasos sanguíneos en las paredes, inundando al hueso con grandes cantidades de Mg que se incorporan de forma controlada a la estructura ósea mediante el sistema vascular, diversos factores pueden alterar la acumulación como podrían ser las estructuras de colágeno alrededor de los huesos y células.[107]

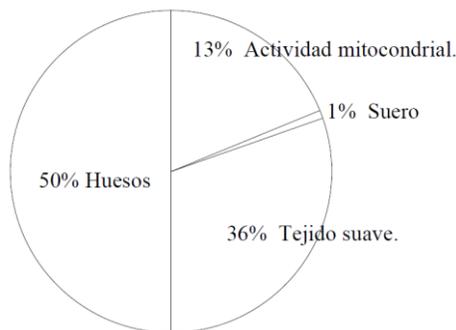


Figura 2.3 Mg es el cuarto catión más abundante en el cuerpo humano, 1 mol (21-35 g) almacenado en el cuerpo de un adulto sano de 70 kg.[2]

El Calcio (Ca), tiene una respuesta biológica positiva dentro del cuerpo humano, ya que potencialmente reduce la tasa de biodegradación de implantes de Mg.[1] Sung et al., encontraron que iones de Ca en SBF, retardan significativamente la degradación, estimulando la precipitación de la corrosión que contiene los productos del calcio.[4],[108] El calcio es el mayor componente del hueso humano, sin embargo para que el Ca se incorpore al hueso es necesario el Mg. [67] Ca es el catión divalente más abundante en masa en el cuerpo humano (1 - 1.1 Kg) la concentración sérica normal es de 0.919 - 0.993 mg/l.[23] La presencia de Ca en el medio corporal conduce a la biomineralización.[70] Zijian Li et al., indicaron en su estudio que la liberación de iones de Ca podría contribuir a incrementar la viabilidad sobre la aleación Mg - Ca.[109] X. N. Gu et al., reportan en su investigación que la evaluación de citotoxicidad muestra que ninguna de las aleaciones tratadas térmicamente de Mg-Ca indujo toxicidad a las células L-929. [110]

La creación de una fase de Ca estable dependerá enteramente del ambiente al cual estará expuesta, se deben considerar las propiedades de disolución para valorar si es factible su utilización a largo plazo en un ambiente in vivo, y no se incrementen los niveles de calcio debido a la asimilación de nutrientes por la ingesta diaria, ya que la fase de Ca estable podría reaccionar como agente para reducir el desgaste a la corrosión in vivo incrementando la biocompatibilidad del composito y liberando Ca al organismo, se deben tomar precauciones en su administración para evitar desórdenes en el metabolismo.[96],[111]

El Zinc (Zn), no es un elemento que exista en el cuerpo, como catión natural, sin embargo se encuentra presente en trazas minerales en microorganismos y esta frecuentemente relacionado con los aminoácidos, se ha determinado que in vivo es menos perjudicial que el Mn, ya que se absorbe por las funciones biológicas dentro de las células, reacciona a los productos del Cl, dañando las células parietales que recubren el estómago.[99]Hamdy Ibrahim et al., exponen en su investigación que el criterio de reabsorción de un implante bioreabsorbible compuesto por elementos como, Ca, Zn, Mn y Zr se han considerado en base a su comportamiento no tóxico para el cuerpo, debido a que pueden ser absorbidos de la dieta. [7],[112] Liping Xu et al., encontraron que el Zn tiene un papel importante en el control de la función de los osteoblastos y su aumento en la adhesión y la actividad de la fosfatasa alcalina de las células óseas.[113]

El Zn tiene la capacidad de transformar impurezas como el Fe, Cu y Ni en compuestos intermedios inofensivos.[13] Frecuentemente está relacionado a calambres y diarrea. La deficiencia grave del Zinc en el organismo deriva en acrodermatitis enteropática, el nivel normal en el suero sanguíneo es de 0.81-1.137 mg/l. [114]

Dharam P. Sharma et al., realizaron pruebas de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS), encontrando que la adición del Zn, en un composito de Mg disminuye la cantidad de hidrógeno formado, presentando además pequeños efectos sobre la conductividad térmica.[51],[99] La formación de burbujas de gas hidrógeno deriva en basificación, incremento de pH y remoción de productos de la degradación, que podrían causar la separación de capas de tejido y bloquear

el flujo sanguíneo, se ha relacionado la presencia del gas con la formación de cavidades rodeadas por tejido fibroso, al ser xenogénicos los metales provocan una respuesta fisiológica dependiente del tiempo que deriva en la formación de una cápsula fibrosa aislando los implantes del cuerpo, estos efectos podrían retrasar el proceso de curación in vivo, especial cuidado debe tenerse con el Zn, para evitar efectos de quelación posteriores.[62-63],[70],[91],[115-120], Kuhlmann J. et al., asumen que el gas hidrógeno formado por la descomposición del Mg, se difunde a través de los capilares y se transporta al sistema vascular.[15],[37], [98],[121-123] Li. H. Zheng et al., determinaron que adicionar Zn en aleaciones implantables retardarán los efectos de la estimulación ósea.[124] Mientras que Pil-Ryung Cha et al., reportaron que la adición de Zn a Mg-Ca, modifica los potenciales de corrosión en dos fases de constituyentes (Mg +Mg₂Ca) impidiendo la formación de circuitos galvánicos, asimilándose con esto a la velocidad de corrosión a la del Mg de alta pureza.[125] Karin Törne et al., reportaron estudios en ambientes fisiológicos concernientes a la evaluación de la corrosión del Zn en sangre y se reporta una afectación menor a la tinción en comparación a Zn en SBF, lo cual revela la formación de una capa orgánica que protege a la superficie del agrietamiento, demostrando la influencia de las especies biológicas sobre la corrosión.[126] Xiwei Liu et al., reportaron tasas de hemólisis para Zn puro en un rango de 1.03-1.10%, las cuales están lejos de un valor de 5% criterio de seguridad, considerándose como buena compatibilidad con la sangre y de acuerdo a ASTM-F756-08, lo cual no representa destrucción para los eritrocitos. [127]

2.9 Toxicidad de los elementos aleantes en un compuesto de Mg – Ca – Zn.

El desarrollo de una aleación biomédica debe partir desde la selección adecuada de los materiales aleantes y el aseguramiento de que son totalmente biológicos. La bioseguridad de un DM, debe considerar reactividad sub - crónica, carcinógeno, irritación, sensibilización de la piel, toxicidad sistémica y efectos locales, todo un estudio del tránsito del toxico por el organismo.[80],[128] La citotoxicidad se evalúa con base a ISO 10993, diversos autores han reportado aplicaciones que implican al Mg mostrando una viabilidad celular inferior a 75% además consideran 15mM en extractos diluidos de Mg como no-tóxicos, definiendo 10 mM como dosis critica para iniciar el deterioro respecto a viabilidad celular.[2],[106] La primera deficiencia que se encuentra en las aleaciones puramente de magnesio (Mg) es una tasa de degradación rápida; esto causa corrosión en medios acuosos a través de la formación de hidróxido de magnesio e hidrógeno, que eventualmente produce cavidades de gas hidrógeno, aumenta el pH local y conduce a fallas mecánicas prematuras. [75], [129]

Es por eso por lo que controlar la tasa de degradación a nivel fisiológico se vuelve crucial. De esta forma, los productos de corrosión pueden ser regulados por su absorción y metabolización o digestión por macrófagos.[2],[130] Para lograr esto último, la principal solución que se está explorando es la aleación de magnesio con otros metales con una biocompatibilidad similar.[5],[129] En este caso, cuando estamos ante un entorno rodeado principalmente de hueso, el primer elemento a tener en cuenta es el calcio (Ca).

A concentraciones relevantes el Mg no es genotóxico y es vital para mantener la estabilidad genómica manteniendo las frecuencias de mutación bajas y facilitando la segregación cromosómica durante la mitosis.[76] A. Hartwig et al., han reportado tres aspectos a considerar en relación al Mg y el cáncer., 1.- La deficiencia del Mg sobre las incidencias con tumores., 2.- La autorregulación del Mg observado en células tumorigenas., 3.- La suplementación del Mg durante la progresión de tumores existentes.

El producto de la degradación de un implante que se libera en forma de iones al cuerpo no debe ser toxico, una gran cantidad de Mg puede inducir citotoxicidad y el grado de esta a su vez dependerá de la velocidad de disolución, el incremento de la concentración de partículas osmóticamente activas contenidas en una disolución, (Osmolalidad), esta correlacionada al incremento de la concentración de Mg de forma lineal. [4],[131].

Jiali Wang et al., comentan en su investigación que se pueden presentar efectos adversos a altos niveles de Mg, bloqueando este los canales de Ca y compitiendo con el mismo Ca, por los sitios de unión en diversas proteínas, lo que provoca una menor cantidad de iones de Ca intracelular, lo cual es requerido para mantener las funciones biológicas, y podría contribuir a la inhibición de la proliferación celular. [103],[132],[133]. El rango fisiológico de concentraciones séricas de Mg en sangre es de 1.05 mmol/l, la toxicidad se presenta en concentraciones de 3.5-5 mmol/l, exceder concentraciones de 7.5mmol/l podría desencadenar en paro cardiaco, hipotensión y parálisis respiratoria.[7],[106] J.Vormann expuso en su investigación que el uso de suplementos de magnesio

vía oral generalmente son seguros y consideró que el nivel de efectos adversos no observados es de 250 mg para el Mg suplementario, superar una dosis de 300 mg de Mg induce diarrea, lo cual es completamente reversible dentro de 1-2 días y no representa riesgos para la salud.

J. Fisher et al, evaluaron la citotoxicidad de acuerdo a ISO 10993, de un implante de Mg, encontrando signos citotóxicos con menos del 75% de viabilidad celular en la mayoría de los materiales de Mg, contradictorio a la experimentación in vivo, lo cual ha generado ciertas expectativas entre la comunidad científica que sugiere una actualización de la ISO10993[2], atribuido al entorno biológico del cuerpo, respecto a las condiciones controladas del fluido corporal simulado (SBF), se intuye la disolución en el sistema circulatorio antes de la excreción del cuerpo humano. La dosis diaria permitida del Mg en el organismo es de 0.7 g y el nivel del suero sanguíneo (disuelto), de 0.9 mmol/L, con estos valores no existe evidencia de toxicidad.[96] Manam et al., han relacionado al Mg en la zona citotóxica, considerando el crecimiento relativo de células L929 respecto a coeficiente de crecimiento fibroblástico.[5] ISO 10993-5:2009 especifica que la reducción de la viabilidad celular en más del 30% se considera un efecto citotóxico.[67] Aleaciones que exhiben tasas de hemólisis menores a 5% son severamente hemolíticas.

El Mg es un elemento no tóxico in vivo, por lo cual se ha considerado por F. Witte et al., como un material biocompatible ideal para implantes, aun es de vital importancia que se practiquen más análisis clínicos sobre el Mg, para evaluar el efecto de la liberación de elementos aleantes al cuerpo y determinar los menos

perjudiciales.[1] El Mg incrementa el tamaño de las células osteosarcoma en humanos (MG63) y la compatibilidad del tejido óseo in vivo.[14] Adicionalmente el Mg previene la formación de tumores pulmonares.[76]

Y.F. Zheng et al., reportaron un estudio de pruebas in vitro de citotoxicidad indicando que Mg-1Ca no inducía toxicidad a las células L929, exhibiendo una degradación promedio de 90 días.[67] Las aleaciones binarias de Mg-Zn presentan una citotoxicidad in vitro a las células L929 con un grado de 0-1 y con una tasa de hemólisis de 3.4% para el Mg-6Zn, mediciones bioquímicas demuestran que la degradación de Mg-Zn no daña los órganos importantes.[67]

Las aleaciones ternarias de Mg – Ca – Zn exhiben una excelente integridad mecánica en los periodos iniciales de inmersión en SBF, [1], [13], [66], adicionalmente una variación a la baja del 5% en el contenido de Zn incidirá sobre la tasa de corrosión, menor contenido de Zn repercute en un incremento de la corrosión y viceversa. [89], algunos autores como Y. Jang et al., han determinado lo contrario con distintas composiciones en el compuesto Mg – Ca – Zn, añadir Zn al compuesto incrementará la degradación. [92] Ciertamente lo más conveniente en una aleación de este tipo es que la degradación sea baja, es decir que pierda el volumen respecto al tiempo de una forma lenta. La formación de vidrios metálicos de Mg – Ca – Zn con una alta resistencia ocurre al incrementar la cantidad en % de elementos involucrados y su tamaño atómico, lo cual promueve el incremento de las fuerzas de atracción entre átomos pequeños y grandes, altos contenidos de Ca incrementarían el tiempo de incubación y cristalización,

reduciendo la tasa de cristalización adicionalmente se presenta la mayor eficiencia de empaquetamiento del estado amorfo. [48],[134-136]

En la [figura 2.4](#) se observa la estrecha relación entre los módulos elásticos del Mg-Zn-Ca vs hueso cortical y se compara contra Ti-6Al-4V ELI y SST-316, denotando la gran diferencia con respecto a los biomateriales clásicos[137] y realizando el efecto benéfico al minimizar el esfuerzo cortante en la interacción hueso-implante (Mg), lo cual está relacionado a evitar la remodelación de la fractura debido a la carga aplicada al hueso, adicionalmente se deben realizar más estudios sobre las interacciones de la sangre con los biomateriales ya que están generalmente consideradas bajo la categoría de hematocompatibilidad. [16], [57],[138]

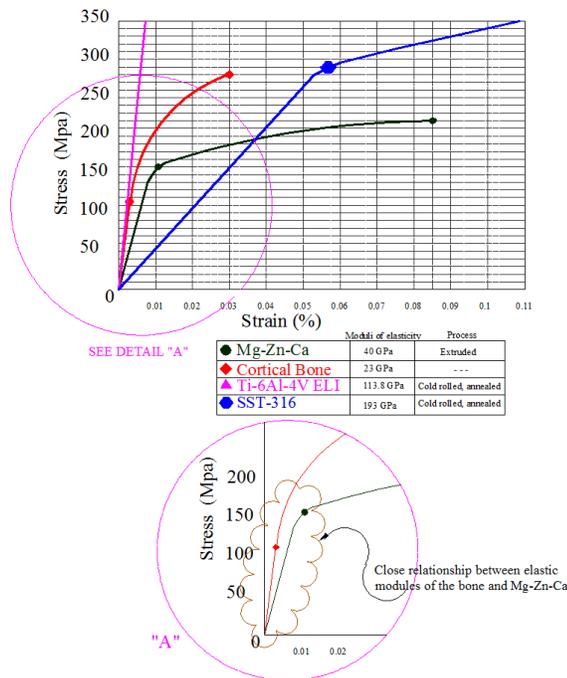


Figura 2.4 Relación de módulos de elasticidad.

La proporción de contenido de calcio juega un papel crucial en la aleación. En cuanto a los efectos adversos que puede tener un alto contenido de calcio en los tejidos circundantes al hueso, la reducción de la viabilidad celular solo se ha informado en células relacionadas con el sistema vascular a una concentración de calcio superior a 1000 μM , lo que se considera una toxicidad leve y tolerable. Sin embargo, Feyerabend et al. (2010) informaron que la cantidad de calcio añadido, al alearlo con Mg, debido a la baja solubilidad de los sólidos, debería limitarse a 0.82 wt%.[139], Si este porcentaje aumenta, como se mencionó anteriormente, podría conducir al calcio y sobresaturarlo, lo que provoca la precipitación de Mg_2Ca a lo largo de las fronteras de grano.[130] Por lo tanto, para una aleación mecánicamente funcional y no tóxica, la adición de Ca no debe exceder tal proporción, ya que podría resultar tóxica para el medio ambiente circundante. Esto es apoyado por Zhang et al., En su investigación encontrando que la adición de 0.2% en peso de Ca es suficiente para reducir en un tercio la tasa de degradación de la aleación mientras se mantiene la morfología celular normal y saludable, sin citotoxicidad relevante, volviéndose adecuada para aplicaciones celulares.[140] La toxicología del Ca sobre el cuerpo induce a desordenes en el metabolismo y piedras en los riñones, en la ingesta de al menos 0.8 gr/día.[96] El Ca tiene la dosis de ingesta más alta seguido por el Mg.[7]

Con el fin de fortalecer las propiedades de la aleación de Mg-Ca, se ha explorado la adición de Zinc (Zn) por sus características mecánicas y su importancia como uno de los principales elementos nutricionales del cuerpo humano.[140],[141]

Zheng y col. Consideró razonable especular que la adición de Zn puede mejorar las propiedades de la aleación y permitir un mejor control sobre la corrosión y degradación, además de ofrecer una alta biocompatibilidad. En su investigación, reportan una aleación con estos elementos sin mostrar toxicidad alguna.[130] Para respaldar este último, Levy et al. discutieron que dado que el Zn es un componente esencial para que una gran cantidad de enzimas y otras proteínas logren su función, así como para el crecimiento celular, los iones de zinc liberados del implante durante la fase de degradación podrían integrarse en la actividad metabólica normal sin producir efectos secundarios tóxicos.[142],[143] En la misma línea de pensamiento, esto se puede extrapolar a Mg y Ca, lo que confiere a la aleación efectos más beneficiosos que tóxicos. Zhang y Col. La investigación también respalda el hecho de que, si el zinc presentara un efecto tóxico en las células, se consideraría una concentración pequeña y también superior a 1000 μM (Igual que el Ca). Aunque en este caso, cualquier porcentaje superior al 4% en peso de contenido de zinc conduce a la reducción de la resistencia y el alargamiento del implante, lo que se vuelve altamente ineficaz desde el punto de vista estructural.[130],[144] Además, no solo las propiedades mecánicas se ven seriamente afectadas por el uso de altas concentraciones de estos elementos de aleación (Ca, Mg, Zn), sino que también pueden causar toxicidad leve a severa, desde náuseas hasta inhibición de la absorción intestinal de otros minerales esenciales o neurotoxicidad [130]. Por lo tanto, la cantidad de estos elementos de aleación añadidos en biomateriales metálicos degradables para aplicaciones médicas, debe calcularse sabiamente con el objetivo general de controlar la tasa

de degradación, con el fin de proporcionar la concentración local de los iones metálicos liberados en el sitio de implantación debajo de su niveles tóxicos [130]. Cationes no naturales como el Zn, se consideran neurotóxicos y en valores cercanos a 15 mg/día se han relacionado al reblandecimiento de los huesos.[96] El Zn está presente en tejidos corporales es un elemento esencialmente nutricional en el cuerpo además se absorbe rápidamente por el tejido óseo circundante.[40],[67],[82] G. J. Fosmire et al., reportaron que los límites de toxicidad del Zn: 100-150 mg/día, lo cual limita su aplicabilidad a implantes debido a las pequeñas cantidades en wt%.[14] La organización mundial de la salud tiene una tolerancia límite de ingesta diaria permitida para mujeres de 6.5 mg/día, para los niños 2 mg/día, mientras que las regulaciones en USA para hombres son de 11 mg/día. La sobredosis de Zn \geq 50 mg/día, deriva en hipocupremia y se debe al cambio en la relación de Zn-Cu, otro efecto negativo incluye cambios en los lípidos y acumulación en los riñones y páncreas.[14],[145-147] La ingesta de sales solubles de Zn puede causar náuseas.[148]

En su estudio Shaoxiang Zhang et al., muestran que la citotoxicidad in vitro del Mg-Zn, resulta inofensiva para L-929, mostrando un grado de reactividad 0-1 ninguna/ligera, no se presentan gránulos intracitoplasmáticos o cambios morfológicos, se presenta ligera inhibición del crecimiento.[40]

J. W. Lee et al., presentaron valores de la bioseguridad in vivo de una aleación de Mg-5Ca-1Zn, en donde no se obtuvo respuesta extraña en 24 horas sobre el cóndilo femoral de conejo. Li et al., realizaron un estudio in vitro valorando la citotoxicidad del Mg puro tratado superficialmente usando células de medula

ósea de ratón de la india y los resultados muestran una positiva proliferación de células y viabilidad después de 72 horas de incubación con metal de Mg, sin signos de crecimiento o inhibición.[74],[149],[150]

2.10 Propiedades mecánicas

Hoy en día los módulos elásticos de los distintos biomateriales inertes y biodegradables, respecto al hueso, no tienen una relación adecuada entre elasticidad, fuerza y deformación mínima necesaria, que evite los efectos de los esfuerzos cortantes sobre los tejidos óseos, perjudicando seriamente el proceso de osteogénesis. La adecuada interpretación de las propiedades mecánicas, biocompatibilidad, tasas de consolidación del hueso, respuestas alérgicas a las superficies de los implantes, complicaciones biomédicas, y finalmente tasas de degradación, deben ser comprendidas y analizadas de forma estadística mediante los protocolos clínicos respetando la bioseguridad, bioética y con la debida tecnovigilancia sobre un estrato considerable de la población para definir las bases de una regulación local que permita avanzar en materia de regulación sanitaria.[73] La tasa de degradación está relacionada al proceso de curación ósea, repercutiendo sobre el implante al comprometer la integridad mecánica en la aplicación,[96],[137] se deben mantener propiedades como el límite elástico, esfuerzo ultimo a la tensión, y el punto a la fractura del material por lo menos en el periodo inicial de consolidación ósea diagnosticado por un médico y dependiendo de las circunstancias de cada individuo. Es un factor clave que un DM fabricado en Mg sea lo suficientemente resistente para proveer el soporte adecuado durante su proceso de degradación, y de esta forma evitar

complicaciones posteriores.[151] En la [figura 2.5](#) Dewey Z. et al., muestran valores para la degradación de implante de Mg y la curva de recuperación de un hueso fracturado, esta curva se adaptó al material Mg 99.9% obtenido por forja, para transponer los valores de tiempo reportado y obtener aproximaciones que servirán de base para la determinación de los elementos aleantes en la preparación de compositos de Mg y evaluar su comportamiento a distintos porcentajes.

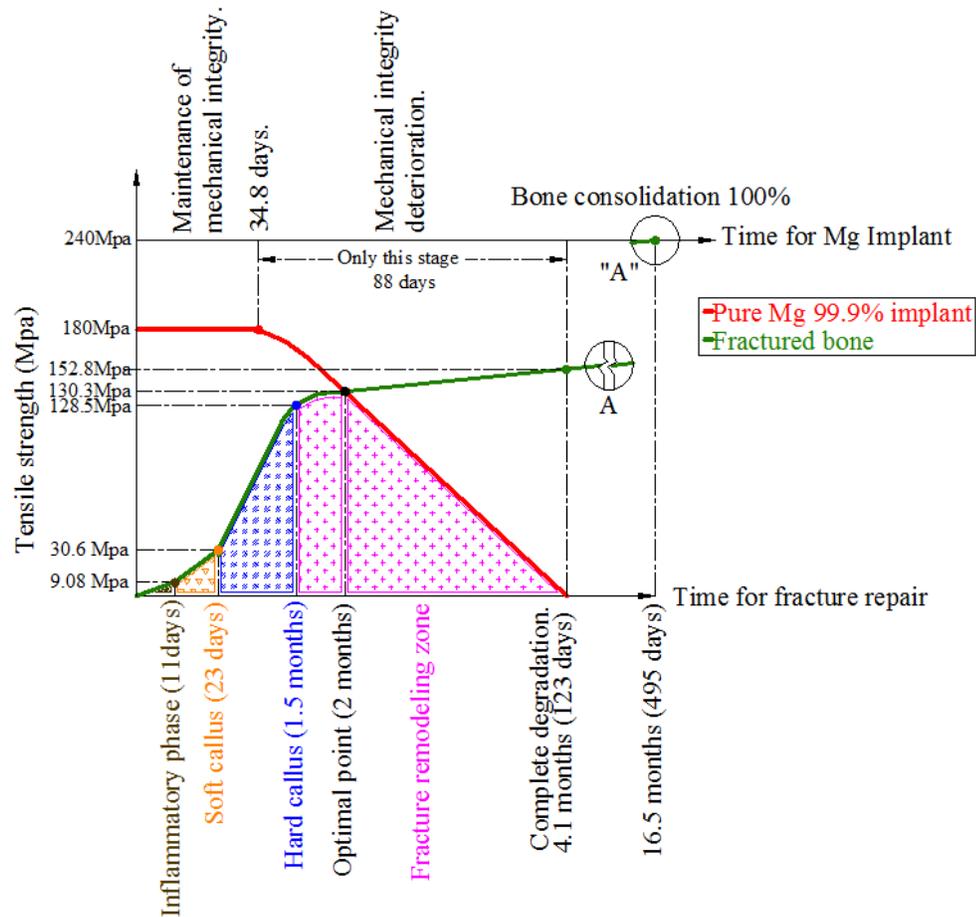


Figura 2.5 Comportamiento óptimo de degradación del Mg 99,9% de rugosidad, implante adaptado en la cicatrización de fracturas óseas.

E. Ghali et al., determinaron que el Mg es susceptible a corrosión por fatiga, debido a los iones de cloruro en el suero fisiológico, ya que estos derivan en propagación de grietas que incrementan significativamente al aumentar la carga cíclica, de forma similar G.L Song et al., reportaron que el crecimiento de la corrosión tipo picaduras se produce por los cloruros y sales disueltas después de la iniciación del agrietamiento por fatiga, adicionar sales que contienen carbonato incrementa la tasa de corrosión mientras que adicionar sales de Ca reduciría el efecto de la degradación.[1],[26],[152-155] Por el contrario W. C. Kim et al., reportaron que al incrementar el contenido de Ca se incrementan las tasas de disolución en MZX21 donde la corrosión micro galvánica es muy importante contribuyendo a la alta disolución.[156],[157] En un estudio reportado por R.K. Singh Raman et al., se precisa que la fisuración por corrosión bajo tensión en las aleaciones de Mg únicamente puede atribuirse al efecto de la evolución de hidrógeno, la estriación resultante de la carga de fatiga es producto del proceso repetitivo de agrietamiento.[98],[158] Yuncang Li et al., encontraron que en una aleación de Mg el incremento del wt% de Ca resulta en un incremento de las propiedades mecánicas como el módulo elástico, el punto de fluencia, resistencia última y dureza, sin embargo está limitado hasta 5%, ya que de 5-20% en wt% de Ca, se fragiliza demasiado la aleación con Mg y las probetas reaccionan violentamente rompiéndose en pequeñas piezas en SBF, además de disminuir la biocompatibilidad con el incremento del wt% Ca.[159]

La tenacidad a la fractura del Mg es más grande que en los cerámicos conformados por hidroxiapatita, (HA) la cual se degrada in vivo por osteoclastos a través de la reabsorción y fagocitosis.[74] El uso de HA como recubrimiento ha llamado la atención debido al decremento en la tasa de corrosión usado sobre implantes base Mg.[160] M. Mohedano et al., ha sugerido que el recubrimiento de HA tiene la habilidad de promover la osteointegración entre el implante y el hueso.[161]

Añadir Ca, a un composito de Mg, mejorará la resistencia a la corrosión. El Ca reacciona con el Mg en fases Intermetálicas en donde se distribuye a lo largo de las fronteras del grano y mejora el comportamiento a la corrosión. [13] Harpreet S. Brar et al., concluyeron en su investigación que la adición de Ca y la formación de una fase eutéctica incrementa la resistencia a la corrosión y reduce la tasa de degradación.[16] Adicionalmente el Ca reduce los riesgos en la fundición de Mg, reduciendo el punto de ignición.[162] Wan et al., reportaron que el Ca no mejora el límite elástico de las aleaciones de Mg y tiene un efecto benéfico en el módulo de compresión debido a la presencia de precipitados de Ca rígidos aunque quebradizos.[156] El Ca mejora la resistencia a la tensión y la resistencia a la relajación a temperaturas elevadas, la excesiva adición de Ca resultara en disminuir la tenacidad e incrementar la sensibilidad al agrietamiento, durante la fundición adicionar Ca podría deteriorar posteriormente la resistencia a la corrosión.[163]

Mientras que el Zinc en un composito integrado con Mg, mejorará el límite elástico acercando el composito a los valores del hueso cortical, su presencia puede

reducir la evolución de hidrógeno. El incremento del contenido de Zn de 0 – 3% wt disminuye el tamaño de grano de 12 a 4 μm y las propiedades mecánicas se incrementan considerablemente, incrementar por encima del 3% wt de Zn detiene el refinamiento de grano alcanzando su límite, la resistencia no puede mejorarse más y se termina afectando la elongación al disminuirla.[16],[67],[45] Adicionalmente elevar 1 wt% el Zn reduce la evolución del hidrógeno, pequeñas cantidades de Zn pueden suprimir la corrosión localizada de las fases Mg_2Ca causada por la formación de un circuito galvánico.[125]

Añadir Zn a una aleación con Mg, provocará una disminución en la elongación haciendo el material altamente frágil.[14] Shaoxiang Zhang et al., reportaron que el valor de resistencia a la flexión del Mg-6Zn, se decremento rápidamente en la etapa inicial de la degradación, en el primer 8% del valor total del 18% del porcentaje de pérdida de peso, esto debido a defectos superficiales.[40]

Haghshenas et al., reportaron un tamaño de grano promedio para aleaciones de Mg puro y MMC's de Mg/HAP de 30-60 μm . Determinaron que a diferencia de las partículas triangulares o multi-angulares la forma de las partículas esféricas evita concentraciones de esfuerzo, la formación de grietas y la subsecuente propagación.[66]

M. Hamidi et al., reportaron un método para reducir las cargas por cizallamiento debido a las diferencias en los módulos elásticos entre los aceros inoxidable y el hueso el cual consiste en utilizar una capa de PMMA entre hueso-implante y minimizar el impacto de la remodelación ósea.[50],[164] Sin embargo la teoría de

neoformación de Frost plantea 4 modelos de adaptación del hueso a las cargas expresadas en $\mu\epsilon$ (micro deformaciones), lo cual indica que la remodelación será inherente. El módulo elástico para las aleaciones de Mg = 41-45 GPa mientras que el del hueso es de 3-20 GPa. [7],[40],[121]

Un análisis de la pérdida de propiedades mecánicas in vivo en un implante sometido a degradación debe evaluar la resistencia de la interfaz hueso-implante y se evalúa en términos de la fuerza de extracción de torque requerida para remover los tornillos. Tan et al realizaron un estudio similar en una aleación AZ31B y reportaron que la fuerza de extracción se incrementó respecto al tiempo de implantación. [137],[165] J. Schatzker, et al., encontraron que el torque máximo que puede soportar un tornillo de Magnesio puro es proporcional a su límite de fluencia.[87] Castellani et al., concluyeron que un implante de Mg (WE43), ofrece mejor control sobre la interface hueso-implante que los implantes de Titanio (Ti-6Al-7Nb), mostrando mejores resultados sobre resistencia, osteointegración y sin que se presenten reacciones inflamatorias severas.[60],[166] S.Rahim et al., proponen que el mecanismo clave para la estimulación del crecimiento óseo, es la acumulación de los productos de la corrosión en el espacio entre el hueso-implante, mejorando la inducción ósea.[124]

Maruyama & Niinomi et al., reportaron valores de la resistencia a fatiga del Mg sometido a 10^7 ciclos, el valor inferior reportado fue de 59 MPa mientras que el máximo valor fue de 161 MPa.[98],[167-169]

Shaoxiang Zhang et al., reportaron un estudio sobre propiedades mecánicas donde se resalta que las aleaciones de Mg-Zn, demuestran una resistencia última a la tensión-compresión y una más alta elongación que las extruidas con Ca, además de un tamaño de grano más burdo que el reportado para Mg-Mn-Ca. Zijian Li et al., reportaron que el Mg-1Ca extruido genera menor cantidad de hidrógeno a comparación de la obtención de la misma aleación pero por fundición.[109]

2.11 Degradación

Actualmente existe una limitación en cuanto al uso en aplicaciones clínicas de los biomateriales metálicos biodegradables base Mg, por liberación de iones tóxicos al organismo, ya que estos conducen a la pérdida de tejido y reacciones inflamatorias por ciertos elementos con los que se forman las aleaciones, sin embargo los metales exhiben propiedades como el límite de fluencia, fluencia lenta y relajación del esfuerzo mucho mejores que los polímeros, además altas concentraciones iones de Mg han demostrado suprimir la inflamación aguda a cierto grado.[14],[74],[170],[171] La tasa de corrosión in vitro necesita ser menor a 0.5 mm/año a 37°C en SBF, generalmente las tasas de corrosión in vitro son más rápidas que las tasas de corrosión medidas in vivo .[7],[172]

Los valores de la tasa de corrosión expresados en mm/año, implican un patrón de predicción de la tasa de degradación expresado en años, sin embargo este tipo de comportamiento no exhibe rasgos lineales, por lo cual no se considera un

parámetro que propiamente describa la biodegradación del Mg, se sugiere expresarlo en ($\mu\text{m}/\text{d}$).[173]

Es importante resaltar que el termino degradación se refiere a cierto proceso químico en donde se desbridan los enlaces covalentes, siendo el más común la hidrólisis, sin embargo, también se puede presentar por mecanismos oxidativos y enzimáticos, dando lugar a la erosión, es decir cambios físicos en forma y tamaño, y esta se da a consecuencia de la degradación o una simple disolución, la erosión se puede dar en ausencia de degradación y viceversa. El termino corrosión se relaciona a la superficie del implante metálico. Haciendo una distinción entre terminología, se debe agregar el prefijo “bio” solo cuando se enfatiza que el implante o comportamiento a describir está afectándose a causa de un agente biológico, enzima, célula o microorganismo. [138]

El comportamiento no-lineal de la corrosión de las aleaciones de Mg, las describe como reactivas en entornos in vivo.[4],[122] La presencia de corrosión puede reducir la expectativa de vida en humanos, aunque es benéfico que se acumule en las zonas de fracturas también puede almacenarse en tejidos próximos al implante y transgredir otras funciones del cuerpo[5]. El fenómeno de la corrosión se afecta por los diferentes niveles y concentraciones de pH en el cuerpo dando paso a la biodegradación. D. Zhao et al., reportan que el 25% de tornillos de una muestra fabricados en Mg de alta pureza se biodegradaron in vivo completamente y 12 meses después no se observaron cavidades de gas o respuesta inflamatoria.[2] Song et al., Postuló que la tasa de liberación de

hidrógeno de $0.01\text{mL} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$ puede ser tolerada por el cuerpo y no representa una amenaza seria.[13],[14]

La corrosión de aleaciones de Mg, resulta en precipitación de productos insolubles, que de forma subsecuente retardan dramáticamente las tasas de degradación.[4],[13] Un factor importante en la determinación de la corrosión de implantes de Mg está relacionado a la ultra- pureza del elemento, debiendo evitar tanto como sea posible los elementos Fe, Ni y Cu.[99],[174] Las impurezas en la composición química del Mg incrementan la corrosión debido a las diferencias galvánicas entre los elementos y está relacionado a evitar los sitios catódicos generadores de la degradación, sin embargo el proceso de la corrosión no solo depende de la composición elemental y el historial del procesamiento sino también de las condiciones dinámicas o estáticas durante la prueba.[13],[19],[164],[175],[176] Existen distintos tipos de corrosión como la galvánica, intergranular y picaduras, estas pueden inducir a la falla del implante en condiciones a fatiga normales y a la aparición de cavidades subcutáneas de gas en los pacientes.[13],[176],[177]

Anteriormente el Mg se ha caracterizado por tener una tasa de biodegradación no aceptable para usarse in vivo, debido a esto su aplicación médica en implantes ha sido severamente limitada, ya que en el ambiente corporal se expondrá a un medio acuoso electrolítico rico en cloruro y los valores de pH in vivo, oscilan entre 7.4-7.6, esto deriva en formación de hidrógeno que eventualmente estaría necrosando el callo óseo en etapas tempranas,[15],[42],[178],[179] además de la implícita pérdida de integridad mecánica en el proceso de degradación lo cual

dejaría sin soporte a la zona fracturaría. En la [figura 2.5](#) puede observarse que se requieren mínimo 16 semanas para que converjan la degradación del implante y se recupere el hueso. Sin embargo actualmente se pueden utilizar técnicas derivadas de ciencias de los materiales para modificar un compuesto de Mg-Zn-Ca, ya sea mediante la formulación de composites metálicos desde la fundición, modificación superficial por adhesión de proteínas, vitaminas y antibacterianos que ayuden a controlar y disminuir la degradación combinando el efecto de la absorción de proteínas y elementos por el cuerpo, con esto se estaría atacando el problema de la corrosión del implante y además se estaría estimulando el proceso de curación de la fractura.

El Mg promueve la precipitación del fosfato de calcio en un ambiente in vitro, eso podría mejorar la osteoconductividad y mejoraría la resistencia a la corrosión, adicionalmente el fosfato de calcio es altamente biocompatible y promueve la osteogénesis de la fractura. [74],[124] Ca y P existen en una proporción fija en las diferentes partes de nuestro cuerpo como elementos importantes para la vida.[180]

Payr determinó la tasa de degradación del Mg a 0.1 g /3-4 Semanas en humanos.[181] Höpfner et al., determinó que la reabsorción del Mg era directamente proporcional a la cantidad de movimiento del miembro, a menor movimiento menor reabsorción y viceversa. La absorción depende también de la superficie expuesta y no tanto del peso del metal.[181] Lispinasse et al., declaro que 1 mg de Mg liberaría cerca de 1 cm³ de gas hidrógeno a 0°C. La degradación

del magnesio no causa ningún aumento en el contenido de magnesio sérico ni ningún trastorno del riñón después de 15 semanas de la implantación.[40],[67]

Song and Ren et al., encontraron que la purificación del Mg ralentiza la tasa de corrosión del Mg puro de una forma marcada, por tal motivo se deben evitar impurezas de Cu, Ni y Fe con la intención contener la degradación inicial de un implante.[67], [174]

N. T. Kirkland & F. Witte et al., reportaron las tasas de corrosión para Mg en aplicaciones biomédicas presentándose estas en orden de 1-10 mm/año. [14]

Lumei Liu et al., reportaron en su investigación que para aplicaciones cardiovasculares, las aleaciones base-Mg están sujetas a el efecto Vroman, que se manifiesta por la absorción de proteínas del suero sanguíneo en la superficie del biomaterial.[182] El rendimiento clínico de dispositivos cardiovasculares totalmente absorbibles aún no está definido.[183],[184]

La tasa de corrosión de aleaciones de Mg-Zn es dependiente del pH, oscila entre 5-10 en SBF y sus valores correspondientes son de 50-100 $\mu\text{m/año}$. Los productos de la corrosión del Zn en el cuerpo corresponden a óxido de Zn, carbonato de Zn, calcio y fósforo. Los productos del Zn tienden hacia la fagocitosis.[14] Shaoxiang Zhang et al., reporta que las tasas de degradación electroquímica de aleaciones de Mg-6Zn son más bajas que en el Mg puro.[40]

Janine Fischer et al., proponen usar un medio fisiológico más cercano a las condiciones in vivo en lugar de los SBF, ya que estas soluciones salinas incrementan dramáticamente el proceso de corrosión del Mg, basando su

hipótesis en estos dos principios. 1.- Alta osmolalidad 2.-Incremento del pH. Estos factores matan las células in vitro por un choque osmótico.[62] Janine Fisher et al., proponen condiciones de cultivo celular para la preparación del extracto como la temperatura a 37°C, humedad relativa a 95% nivel de CO₂ al 5% y el nivel de oxígeno a 20%, realizado en cultivo celular suplementado con 10% de suero bovino fetal. Sugiriendo que estas condiciones son más reales.[131] I. Marco et al., determinaron la influencia de un medio esterilizado, evaluando el comportamiento a la degradación in vitro a condiciones rápidas y lentas, determinando que es necesario esterilizar el medio para evitar la contaminación y el deterioro para los supuestos casos in vivo.[166] A. Burmester et al., demostraron que la adición de extracto condujo a un patrón de inducción ósea en osteoblasto humano primario así como al contacto directo con Mg degradante, concluyendo que el metal tiene un fuerte efecto que induce la osteogénesis in vivo y sugiriendo que como modelo in vitro para la degradación de Mg, deberían usarse células primarias del tejido investigado.[185]

El Zn no tiene el potencial de alterar el pH y aleado con Mg, ayuda a este a reducir su degradación, en el Zn la corrosión se presenta uniformemente. Sin embargo Jianjun Fei et al., muestran resultados en un estudio realizado en distintos medios salinos donde se indica una reducción del nivel de pH.[81] A pesar de que la biocorrosión del Zn, no ha sido ampliamente estudiada existen datos que sugieren que es mucho menor que el Mg.[14],[40] El Zn reduce la evolución del hidrógeno evitando se presente necrosis, es estable en su forma elemental no contribuye a la formación de capas de óxidos, en el composito Mg-Zn-Ca, existe

en su estado no inerte volviéndose reactivo, se disuelve en iones de Zn^{2+} y forma sólidos precipitados como el hidróxido de Zn, por consecuencia forma capas pasivadoras de óxido de Zn.[89] El incremento del Zn en wt 0.5% no muestra presencia de corrosión a 300 horas a inmersión y estas tasas son comparables a las del Mg puro.[125] Normalmente las mediciones de polarización son obtenidas de sustratos de un material disuelto, en la mayoría de las ocasiones no es posible comparar resultados debido a las diferencias en las condiciones del sustrato.[186]

La corrosión localizada como picaduras puede causar concentración de esfuerzos y perjudicar la integridad mecánica cuando ocurren a lo largo de los límites de grano, el someter un implante de Mg a este modo de corrosión eventualmente conducirá al agrietamiento desarrollado por el ambiente corporal, el Mg es termodinámicamente inestable y cinéticamente no resistente, soluciones acuosas con iones de cloruro, fosfato y nitrato son perjudiciales ya que aceleran la disolución del Mg, las picaduras dejan activa y expuesta la superficie de Mg y a través de esta entra el hidrógeno atómico debilitando la matriz y causando agrietamiento, adicionalmente los cloruros rompen las capas de hidróxidos liberando hidrógeno que afectará las funciones celulares y reducirá por tanto la citocompatibilidad del implante, la solubilidad del hidrógeno en los tejidos está determinado por el contenido de lípidos, proteínas y salinidad. [38],[83],[88],[98],[187-189]

Las grietas por fatiga se propagan desde los sitios donde se producen los concentradores de esfuerzos, desde el origen del procesamiento de la aleación, ya sean defectos superficiales, muescas o vacíos de contracción, especial atención debe ponerse durante el procesamiento para evitar estos problemas.[98]

N.T. Kirkland et al., reportan algunos factores críticos sobre la confiabilidad de aleaciones de Mg, uno es el efecto de la temperatura y su influencia directa en el incremento de la tasa de corrosión y otro es el efecto de las proteínas, que reduce la tasa de corrosión de aleaciones de Mg in vitro.[85],[78],[190]

Daoli Zhao et al., utilizaron un sensor para monitorear en tiempo real el hidrógeno que resulta de la biodegradación de Mg, esto es un avance significativo hacia el reemplazo de las técnicas existentes de volumen de hidrógeno y el muestreo de mediciones de pérdida de peso, lo cual proporcionaría la tasa de corrosión global durante la vida del implante, en donde el color final del sensor es proporcional a la concentración de hidrógeno.[55] La habilidad de la predicción de sistemas in vitro para resultados in vivo ha representado un significativo progreso en la última década.[191] El oxígeno es el segundo compuesto gaseoso en nuestro sistema, no tiene una influencia significativa en la tasa de corrosión del Mg y no cambia los valores de pH. [190]

2.12 Procesos de obtención compositos.

Las aleaciones de Mg se dividen en tres grupos: 1.- Mg puro con trazas de otros elementos, 2.- Aleaciones que contienen Al, 3.- Aleaciones libres de Al.[79] Las aleaciones base Mg y MMC's pueden ser modificadas mediante la selección de materiales de refuerzo que combinados con la matriz nos permitirían ajustar las propiedades mecánicas y de corrosión como la dureza y el desgaste con la finalidad de determinar el punto óptimo en cuanto a características mecánicas vs perspectivas médicas.[66],[192] Las aleaciones de Mg-Al, están relacionadas a enfermedades como el Alzheimer debido al paso de los iones metálicos de aluminio liberados a través de la barrera hematoencefalica.[193]

H. Dieringa et al., concluyeron en su estudio que los nanocompuestos de matriz metálica a base de Mg, son muy complejos de fabricar, sin embargo sus resultados son mejores en resistencia y ductilidad, esto se da por la combinación de refinamiento de grano y el fortalecimiento de Orowan+.[192]

La adición de partículas de Ca, como refuerzo a la matriz de Mg, optimizaría las propiedades como el esfuerzo de fluencia, compresión, tenacidad a la fractura y resistencia a la corrosión en ambientes que contienen cloruros, dependiendo de la geometría, tiempo de solidificación, tamaño de las partículas y su distribución.[66],[6] Sin embargo en el mismo estudio realizado por Haghshenas et al., se observa un decremento considerable en el porcentaje de deformación cercano a 80% para la curva esfuerzo vs deformación a tensión, revelando un comportamiento similar al de los materiales frágiles. El calcio puede ser obtenido

por reducción electrolítica o térmica de sus sales este puede ser analizado por varias técnicas como absorción atómica, emisión por espectrometría ICP-MS y activación de neutrones además de algunos métodos de difracción, sin embargo no puede analizarse por rayos X.[148]

Para evitar la distribución no uniforme de partículas en la matriz que se presenta en el método de fusión, se sugiere el método de metalurgia de polvos que ha logrado mejores resultados debido a la distribución de partículas, la aglomeración de partículas en altos contenidos afecta negativamente las propiedades del composito.[66],[192],[113],[57] M. Wolff et al., utilizaron un aglutinante polímero orgánico llamado PPE, con propiedades similares a las del hueso cortical humano y demostraron cierto grado de confiabilidad para usarlo en procesamiento vía metal injection moulding para aleaciones de Magnesio con resultados aceptables. [194] Wilhelmus Hubertina et al., patentaron un método que implica mezclar cantidades predefinidas de polvo de Mg y un aglutinante para obtener una preforma moldeada mediante Metal injection moulding.[195-197] El proceso de extruido y rolado en caliente así como ECAP, contribuyen a mejorar la resistencia de aleaciones de Mg sacrificando ductilidad, sin embargo se pueden obtener valores de resistencia a la tensión aceptables mediante el procesamiento.[96] Su resistencia a la tensión puede ser mejorada sacrificando la ductilidad mediante el proceso de fundición ECAP.[96] Peter Minárik et al., demostraron que el procesamiento de ECAP desacelera la velocidad de corrosión de la aleación de magnesio LAE442 no solo durante experimentos electroquímicos a corto plazo en NaCl, sino también en experimentos a más largo

plazo en medios biológicos más complejos.[198] En el proceso de sinterizado de materiales reactivos como el Mg se debe cuidar el equilibrio entre el producto y el reactivo principalmente para evitar accidentes o explosiones repentinas, gases como el helio/argón de alta pureza reducen la evaporación, comparado contra otras atmosferas de sinterizado, el sinterizado al vacío resulta en reacciones a baja presión produciendo una atmosfera limpia y no reactiva para sinterizado de compositos, esta atmosfera favorece a un bajo coeficiente de fricción y tasa de desgaste, comparado contra atmosferas de hidrógeno.[50],[148],[199]

La refinación del grano a través de la fundición o rolado puede mejorar la resistencia a la corrosión del Mg puro. La cantidad, el tamaño y la distribución de las partículas y refuerzos son importantes para las propiedades mecánicas. Se debe tener cuidado especial al maquinar los materiales para evitar elementos terciarios, la biocompatibilidad y biodegradación pueden afectarse debido al método de manufactura. [67],[200],[201] La absorción y desorción del hidrógeno en Mg está influenciado por la geometría de la herramienta de corte con la que se trabaja la superficie de un implante, virutas finas mostraron una mejor absorción y desorción que las virutas burdas.[202],[157] El proceso de twin roll casting, tiene ventajas significativas en términos de formabilidad y resistencia, formando un grano fino y una microestructura homogénea libre de áreas deformadas después del rolado.[203] La capacidad de deformación elástica del Mg es pobre, sin embargo puede obtenerse una alta elasticidad mediante la extrusión induciendo esfuerzos de compresión en tres dimensiones a diferencia del rolado, en la extrusión el tamaño de grano es pequeño y esto se atribuye a la

recristalización que ocurre en la extrusión en caliente aunado a su estructura cristalina hexagonal compacta y menor deslizamiento de sistemas a temperatura ambiente.[53],[204] Safia K. et al., reportaron que la presencia de impurezas y el tamaño del grano de las microestructuras, dependiendo de los métodos de preparación utilizados, puede tener efectos dramáticos en el índice de corrosión. [99],[205],[206]

La micro deformación experimentada en el procesamiento del Mg, tiene impacto sobre la corrosión, la manufactura del metal de Mg está relacionada directamente con la biocompatibilidad y biodegradación, esto se debe a la distribución intergranular y fases formadas.[137],[200] Los procesos de manufactura del Mg son basados en la reducción térmica del óxido de Mg y emplean ferrosilicio o carbono como agente reductor empleando la dolomita como mineral de partida.[148] La cantidad en % wt de elementos aleados con Mg, debe respetar las relaciones de las tasas de corrosión, ambiente fisiológico y dosis diarias recomendadas para evitar problemas toxicológicos.[13] O. Senkov et al., determinaron nuevos criterios para la selección de composiciones de Mg – Ca – Zn, relacionados a la capacidad de formación de vidrios metálicos. [207] J.R.Scully et al., describen los posibles procesos de degradables y mecánicos incluyendo agrietamiento por tensión y corrosión, fatiga por corrosión, diversas formas de daño por hidrógeno, desgaste y abrasión.[208] Yuan-Yun Zhao et al., determinaron en su experimentación la fragilidad de los vidrios formados por Mg₆₆-Zn₃₀-Ca₄. [209]

3 EXPERIMENTAL

3.1 PROCEDIMIENTOS PARA DESARROLLO Y EXPERIMENTACION

Se realizó una búsqueda exhaustiva de información para la realización de este trabajo de tesis, la cual se abordó por una metodología documentada a través de una matriz de artículos científicos, publicaciones y libros, un total de 421 artículos científicos revisados, 37 libros, 120 conferencias internacionales, todos agrupados en una matriz de excel, en la cual se registró el consecutivo, el tipo de documento, la categoría, se le asignó una puntuación en base a la relevancia del documento para este trabajo de acuerdo a los objetivos, se consideraron la cantidad de referencias dentro de cada documento para revisarlas y evaluar su impacto, se agregó un campo para descartar publicaciones que hablan de efectos perjudiciales de los elementos que se consideraron para evitar la incongruencia y poder citar adecuadamente, se registraron la cantidad de comentarios positivos para tener una base de datos de referencia que justifiquen las decisiones tomadas en la evolución del trabajo de investigación, la forma en cómo se obtienen los 25 trabajos de investigación que tienen un impacto mayor sobre este trabajo se realizó de la siguiente forma, la “prioridad” consideró la multiplicación de la “puntuación” por la “cantidad de referencias relevantes” y específicas, es decir solo aquellas que tuvieron un impacto al revisar y analizar el documento, esto es finalmente multiplicado por la cantidad de comentarios registrados y relevantes.

Adicionalmente se realizó un diseño de experimentos (DOE), con el objetivo de desarrollar y caracterizar una aleación de magnesio biomédica, que debe demostrar integridad mecánica, ralentizando el inicio de la degradación y soportando las cargas corporales. La aleación debe resistir al menos 10 semanas in vitro. Iniciando con el método de la experimentación, con la intención de tener sensibilidad ante los factores y variables que modificarán la calidad del proceso y el resultado.

Se realizará inicialmente un diseño aleatorio en tres corridas iniciales empleando en los experimentos diferentes composiciones químicas Mg – Ca – Zn, MgCa30 – 5 Zn, se contempla utilizar un programa configurado y precargado en el horno de inducción “Tilting furnace TF4000 PM generator”, el cual controla la rampa de calentamiento, periodo de estabilización y rampa de enfriamiento manteniendo constantes la temperatura y tiempo, la primer corrida se realizará bajo una atmosfera inerte compuesta de argón: es mandatorio evitar la oxidación y se requiere de una atmosfera reductiva ya sea de argón, nitrógeno o bien generar vacío, una respuesta de salida, se da al incrementar las temperaturas de fundición y el tiempo, de esta forma se reducirían la porosidad y simultáneamente se daría un efecto de crecimiento del grano, los gases como argón y helio reducen la evaporación respecto a otras atmosferas de fundición. Para mejorar la resistencia a la corrosión se debe mejorar la atmosfera de fundición, la densidad y la composición del material, la mejor alternativa sería realizar la fundición en un horno a vacío para evitar reacción del Mg y lograr un ambiente de fundición más puro. El uso de ciclohexano como atmosfera de protección sería

ideal, adicionalmente el uso de un crisol de acero suave sería una mejora al proceso. Recomendaciones adicionales indican que contar con un sistema de purificación de gases reduciría la contracción.

Respecto a las temperaturas y tiempos, es recomendable una rápida solidificación que incremente la resistencia, la elongación y la procesabilidad, sostener la temperatura en el punto superior del punto de fusión es un factor crítico, lo cual está directamente relacionado a homogenizar la colada, es recomendable terminar el enfriamiento a temperatura ambiente para permitir una mejor transición.

La adición de elementos aleantes como el Ca reduce el punto de ignición del Mg, el Mg metálico es relativamente reactivo, dando lugar a problemas en su fabricación, procesamiento y uso. La fundición, colada y soldadura de las aleaciones de Mg debe por razones de seguridad llevarse a cabo bajo una atmósfera protectora que contenga gases inertes.

La microestructura que se produce por diferentes tratamientos térmicos afecta totalmente a la tasa de corrosión, incrementar el porcentaje de Zn o Ca mejora la respuesta al endurecimiento, el recocido de una solución sólida puede disolver las fases intermetálicas presentes en la condición de fundición y homogenizar la distribución de los solutos en la matriz de Mg, la modificación del Mg, se puede realizar por difusión, sin embargo este proceso exhibe poca uniformidad en la microestructura y un gran tamaño de grano.

Respecto a la solubilidad, se espera un mecanismo de debilidad: de acuerdo con el diagrama de fase binario la máxima solubilidad del Ca in Mg es 789°K y es a 1.34%wt, existirá la formación de segundas fases debido al porcentaje de Ca de la aleación maestra y el comportamiento mecánico será frágil.

En la tercera fundición dado a que se alcanza un punto de fusión inferior a cada uno de los elementos, se considera la formación de una fase lamelar eutéctica. Esto ocurre en mezclas que poseen alta estabilidad en estado líquido, cuyos componentes son insolubles en estado sólido, no podrían mezclarse estos elementos con la solubilidad para el Ca en Mg, no forman una estructura uniforme como sería el caso de sustancias con solubilidad total en estado sólido. Dados un disolvente y un soluto insolubles en estado sólido, existe para ellos una composición llamada mezcla eutéctica en la que, a presión constante, la adición de soluto ya no logra disminuir más el punto de fusión.

En este proceso de difusión se parte de una aleación maestra que presentará una fase eutéctica lamelar y se agregará Zn purificado. Esa fase lamelar eutéctica $MgCa_2$, aporta mucha fragilidad a la aleación, para que se origine la formación de esa fase se debe purificar estos elementos y fundir en un proceso de vaporización con un "Retort pressure" en vacío y a condiciones muy específicas, es una de las diferencias principales en el proceso de difusión.

3.1.1 Fundición #1. (Magnesio-Calcio-Zinc)

Planeación del experimento y requerimientos.

- Crisol de porcelana. (1100°C)
- Tanque de Argón.
- Elementos, Mg – Ca – Zn.
- Flujómetro.
- Equipo horno de inducción.
- Cajas para organizar las muestras pesadas y tenerlas listas para la fundición.
- Pinzas especiales para extracción del crisol.
- Valores de punto de fusión de elementos. Mg 650 / Ca 842 / Zn 420°C

Proceso de fundición de Mg – Ca – Zn.

Se toma el crisol de porcelana ([Figura 3.1A](#) Y [3.1B](#)), se coloca la carga 1, 31.8 gr, [Figura 3.1B](#)), se enciende el interruptor que alimenta el horno y se verifica que cuente con la luz verde encendida, se monitorea que el enfriador mantenga la temperatura del agua en 15°C. (Utilizar en todo momento el equipo de seguridad)

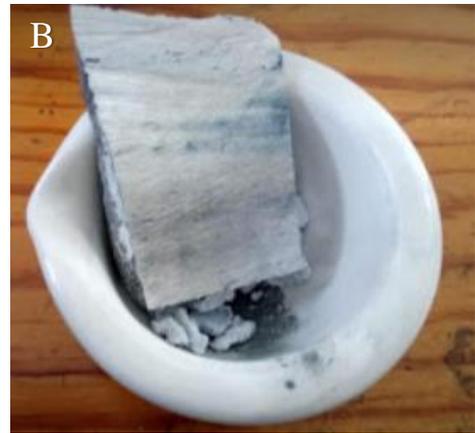
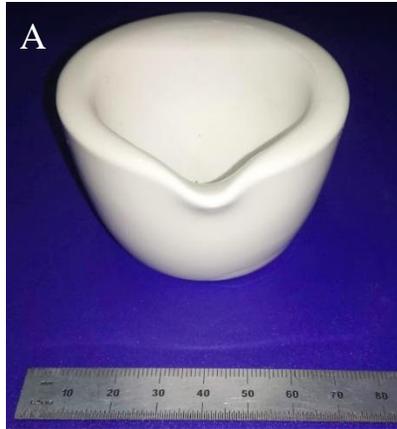


Figura 3.1A Crisol Coors TEK 60310 50ml.

3.1B) Mg69 - Ca29.5 -Zn1.5

Se procede a colocar el crisol de porcelana sin tapa con los elementos dentro del crisol de grafito del horno, se debe monitorear los tiempos en que se alcanzan las temperaturas en los programas 1 - 6, con la intención de obtener los °C que se incrementan por minuto, al final se espera tener una curva que describa el proceso, también es importante tomar el tiempo exacto en que la temperatura se estabiliza y mantenerla constante por 90 minutos, es muy importante desde que se inicia a calentar el horno, inducir la atmosfera de argón a un 99.98% de pureza, se tapa el horno y se induce un flujo volumétrico de argón regulado a 0.145 Psi, con lo cual se espera desplazar el oxígeno y reducir la reactividad del Mg. Se deja enfriar el crisol de porcelana con la aleación dentro del crisol de grafito hasta que se estabilice la temperatura. Los resultados de la prueba #1 NO fueron satisfactorios desde el punto de vista que no se obtuvo una aleación homogénea, se observan gránulos de Ca, además de una estructura correspondiente al Mg semi-fundido, no se observan a simple vista rastros del Zn. [Figura 3.2C](#)

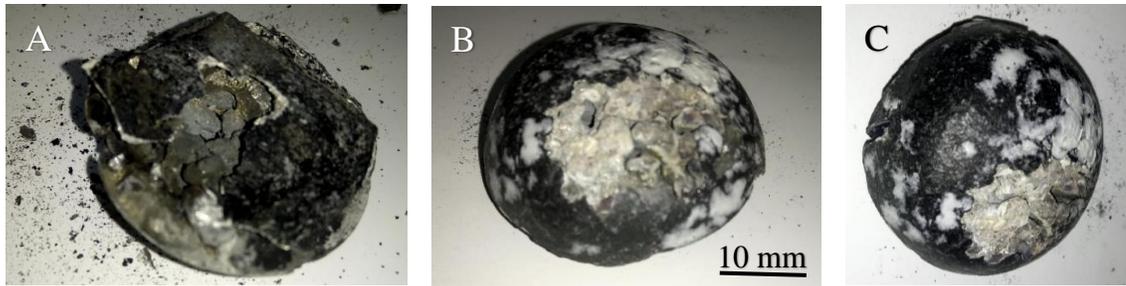
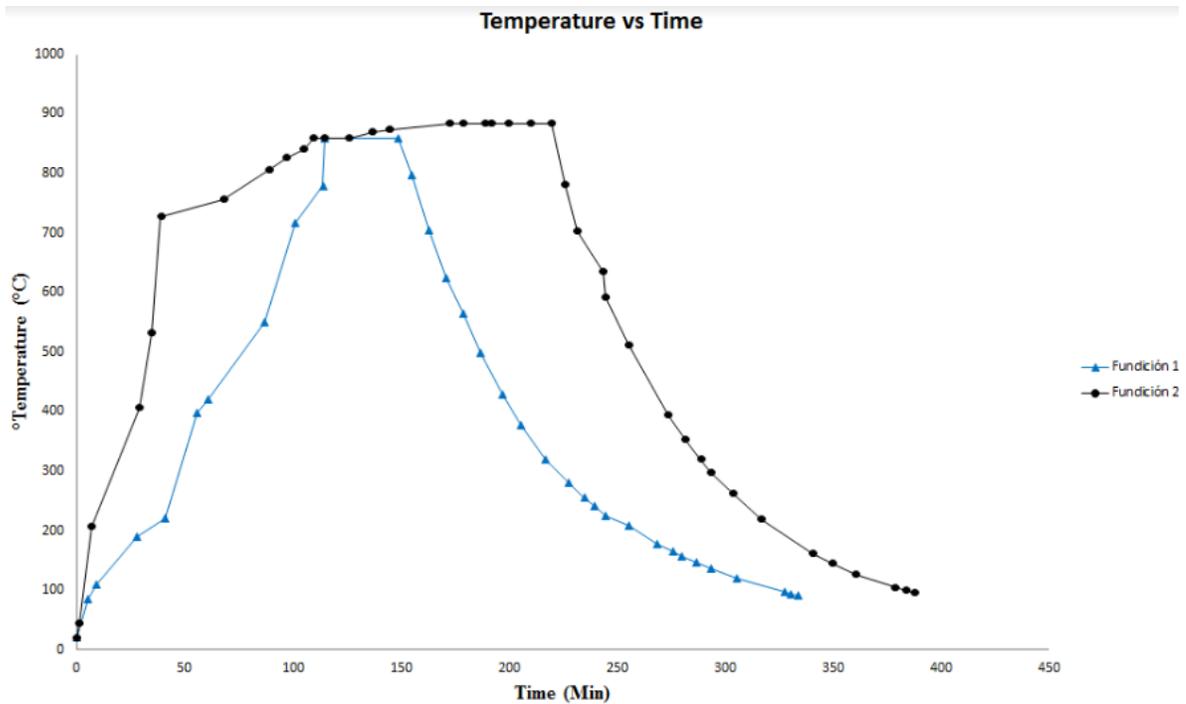


Figura 3.2 Resultados de fundición # 1

3.1.2 Fundición # 2. (Magnesio-Calcio-Zinc)

Antes de seguir fundiendo en crisoles de porcelana, se debe conseguir una aleación homogénea al menos a la vista (Seguir en crisol de prueba), en esta prueba se observan gránulos de Ca, y aunque se llegó a la temperatura de fusión no se logró fundir el Mg completamente, debido al tiempo al cual se expone el Mg a su temperatura de fusión (650 °C), después de alcanzar la temperatura de fusión del Mg, se plantea lo siguiente: partiendo de Mg – 29.5Ca – 2.5Zn.

1.- ¿Cuánto tiempo debe pasar para que funda el Mg de forma adecuada después de que alcanza la temperatura de fusión? y de igual forma para cada elemento (Periodo de estabilización), Ca, Zn (Punto de ebullición) Mg 1090°C, Ca 1527°C, Zn 907°C. Limpiar crisol de remanentes de fundición previa.



Gráfica 3.1 Registro de parámetros tiempo vs temperatura de fundición # 2.

Para la segunda sesión de fundición se incrementa la temperatura del horno, una vez llegando a 400°C, se incrementa la temperatura por medio de los programas precargados del horno, intentando mantener por un lapso mayor de tiempo y adicionalmente mantener lo más estable posible el proceso de fundición. Como parte del aprendizaje, a mayor presión el punto de fusión baja, los elementos se distribuyen a esto se le conoce como segregación positiva, si los elementos se mezclan de forma homogénea, existió una distribución durante el proceso de fundición. En nuestro experimento se observó que existió vibración debido a la liberación de gases y la reacción exotérmica. Las recomendaciones para la tercera fundición consisten en recubrir el crisol con la colcha cerámica para evitar un posible accidente y partir de una aleación maestra e incorporar el porcentaje

de Zn deseado. Una recomendación sería la utilización de un equipo diferente para lograr esta fundición, debido a las limitaciones del proceso actual y el equipo con el que se cuenta solo será posible difundir un elemento sobre una aleación maestra aproximada. Lo ideal sería contar con un horno de inducción que funcione a vacío y que permita incorporar una atmosfera de argón previo a su etapa de calentamiento y posterior enfriamiento.

3.1.3 Fundición #3 (Magnesio-Calcio-Zinc)

La difusión del Zn en una aleación maestra MgCa30, sumergida completamente en flux Melrasal, fue de acuerdo con la curva número 3, la mejor alternativa dadas las condiciones y equipos con las que se contó para el desarrollo de este trabajo, el resultado es positivo y vislumbra un camino hacia el perfeccionamiento de esta aleación de inspiración biológica para aplicaciones craneomaxilofaciales.

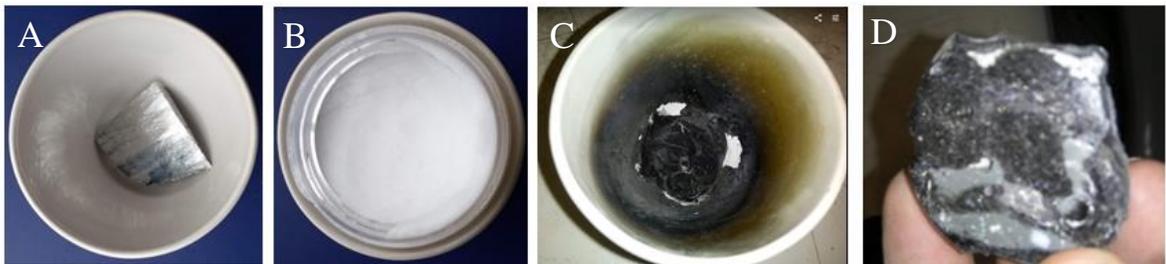
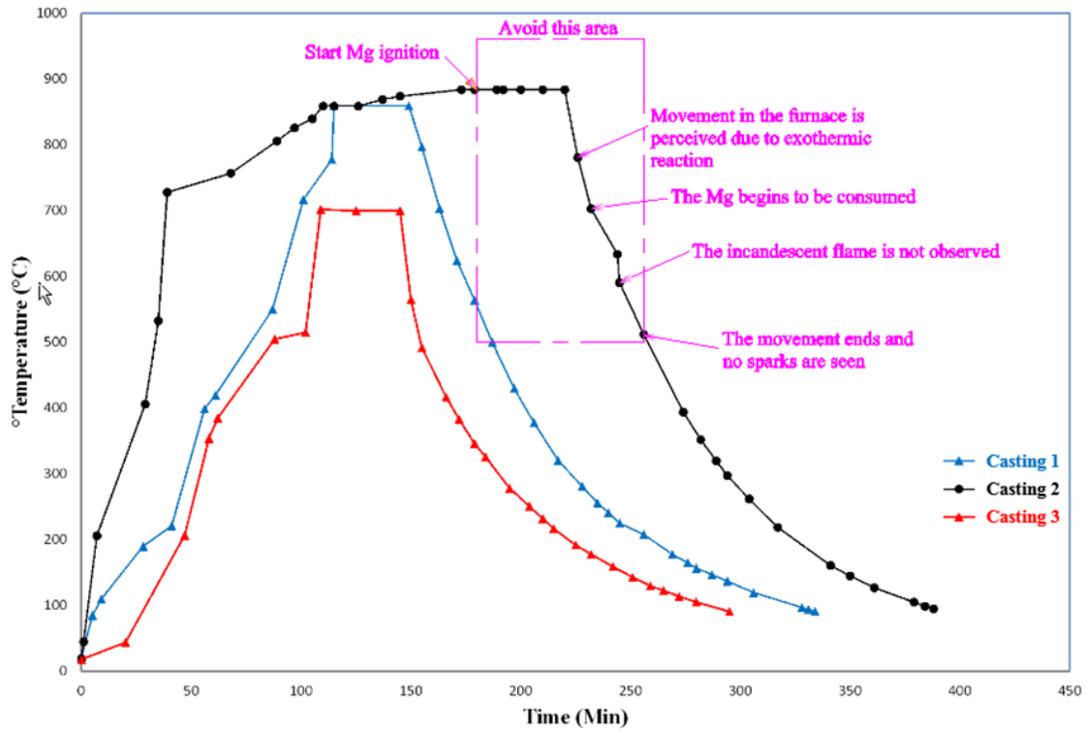


Figura 3.3 Secuencia de procedimientos de experimentación.

Se utilizó una aleación maestra Mg30Ca para esta fundición y se utilizó un flux especial Melrasal ®, el proceso de fundición es caracterizado por la curva de tiempo vs temperatura, al final se muestra un tocho uniforme. [Ver figura 3.3 D](#)



Figura 3.4 Resultados y corte del tocho obtenido.



Gráfica 3.2 Curva de temperatura vs time, con observaciones.

3.2 BIO FABRICACION Y VALIDACION EXPERIMENTAL DE UNA ALEACION DE Mg – 25Ca – 5Zn PROPUESTA PARA UN ANDAMIO METALICO POROSO.

La bio-fabricación de un andamio poroso a partir de un procedimiento de selección de elementos teniendo en cuenta el comportamiento biológico, utilizando Magnesio (Mg) aleado con Calcio (Ca) y Zinc (Zn), podría funcionar como tratamiento para patologías específicas en trauma y oncología, por un lado, en la osteosíntesis, contribuyendo a la osteointegración y contribuyendo al control de infecciones a través de la liberación de fármacos, adicionalmente, otro posible atributo de esta aleación sería que se utilice como tratamiento complementario del osteosarcoma, esto se debe a la basificación producido por degradación oxidativa. (Ataque a las células cancerosas). La evaluación de la viabilidad celular de una aleación de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn fortalecerá las perspectivas actuales sobre el uso de Mg en la evaluación clínica de varios tratamientos en trauma y oncología. Las consideraciones sobre la preparación de una aleación de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn y su caracterización morfológica, ayudarán a comprender la aplicabilidad para el desarrollo de nuevas técnicas quirúrgicas y conducirán a una investigación más profunda en la concepción de tratamientos alternativos. Sin embargo, es muy importante tener en cuenta el efecto mecánico de elementos como Ca y Zn, sobre la degradación de la matriz de la aleación, la mejor alternativa para predecir el potencial biológico - mecánico comienza con la selección de los elementos esenciales - nutricionales y su evaluación mecánica por micro-indentación debido a la fragilidad de la matriz. Por lo tanto, la evaluación morfológica de las muestras de Mg - 25% en

peso de Ca + 5% en peso de Zn mostrará la cristalinidad de la aleación; estos resultados juntos generan una contribución en cuanto al diseño de aleaciones biomédicas para su uso en tratamientos de diversas especialidades médicas. Los resultados indicaron que la viabilidad celular no se ve afectada y no hay cambios morfológicos en las células.

3.2.1 Introducción

Actualmente el uso de biomateriales en diversas aplicaciones como la cirugía ortognática han impulsado el desarrollo de técnicas utilizando aloinjertos, implantes autólogos y matriz ósea desmineralizada (DBM), sin embargo, según la Asociación Americana de Bancos de Tejidos (AATB), se crea un problema debido a la desregulación porque se requiere extraer hueso del paciente y / o cadáver, generando riesgos de infecciones, morbilidad y situaciones fuera del margen legal [210-215]. Un biomaterial base Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn que puede usarse como un andamio para que el hueso fracturado se recupere, evitando la laceración del tejido y la re-operación, puede proporcionar una mayor tasa de curación sin los riesgos asociados con el procedimiento primario [216-219]. Para aplicaciones donde se requiera un andamio como complemento para el manejo de una fractura, la propuesta de un andamio poroso de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn se ha convertido en una propuesta interesante. [219-221], porque la FDA determinó que los productos contenidos en una matriz ósea desmineralizada humana (DBM) no cumplen con las disposiciones de la sección 361 de la ley de servicios de salud pública, principalmente porque no son agentes esterilizantes [222]. Otras opciones como

los extensores de injerto óseo sintéticos tienen propiedades similares al hueso de cadáver, sin embargo, no contienen los productos necesarios para estimular la regeneración ósea. [221-223]. La liberación de iones de Mg in vivo conduce a una acumulación del elemento alrededor de los sitios de fractura, favoreciendo la formación de hueso cortical. [225][226]. Otra opción es utilizar la proteína morfogenética ósea, BMP-2, que se ha demostrado que induce la osteogénesis a través de la alteración celular que produce tejido fibroso. Varios autores han propuesto utilizar elementos como Ca y Zn para mejorar el comportamiento del Mg in vivo, los elementos nutricionales y esenciales para el organismo deberían ser la primera opción en la optimización del Mg con fines biomédicos.[227-237] Este trabajo de investigación pretende contribuir al juicio del comité ISO / TC 194 / WG5, sobre los resultados de la viabilidad celular para aleaciones de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn debido a los niveles aceptables mostrados en la evaluación ISO-10993 [238][239]. Actualmente existen organizaciones que tienen resultados de programas de tecnovigilancia que muestran resultados favorables para la fabricación de dispositivos médicos a partir de estas aleaciones. [229][240]. El objetivo del estudio es evaluar el efecto biológico y estructural de la adición de Zn sobre una aleación maestra de MgCa y verificar que se puede diseñar biológicamente una aleación a partir de la selección de sus elementos. Contribución para una aplicación biomédica sobre el efecto del Zn sobre la cristalización en MgCa. [La figura 3.5](#) muestra la combinación de una placa CMF recta (craneomaxilofacial) y un andamio poroso propuesto a base de Mg para la reconstrucción y alargamiento del cuerpo mandibular.

Diseñar una aleación biomédica de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn con una matriz degradable y sin toxicidad plantea desafíos y oportunidades, la resistencia mecánica es un factor que debe resolverse.[241] Sin embargo, la toxicidad es un aspecto fundamental, estas consideraciones deben ser tomadas en cuenta en las etapas de diseño, además, la relación de fracción molar de los elementos y sus límites de solubilidad son importantes para comprender los mecanismos de crecimiento del grano y formación de la segunda fase. [242-244], la aleación debe soportar las cargas biomecánicas del cuerpo para patologías donde se requiera un andamio BDM [245][246]. Senkov et al informaron en su estudio que Ca, Mg y Zn proporcionan la mayor eficiencia de empaquetamiento del estado amorfo [136]. Cuidar el contenido de los porcentajes de elementos en la formulación de una aleación y relacionarlo con la degradación ofrecerá beneficios sobre el impacto toxicológico de la aleación, que se puede verificar en experimentación in vitro sobre la viabilidad celular de la aleación.[247] Por ello, tener en cuenta los límites de ingesta diaria de cada elemento es fundamental para favorecer la biocompatibilidad en este tipo de aleaciones.

En la fundición de aleaciones no ferrosas se debe evitar la oxidación, es recomendable fundir en atmósfera reductora utilizando gases como Argón, SF6 y / o Flux, además, usar un vacío reducirá la porosidad y generará refinado de grano.[215][248-250]. El proceso de oxidación controlada por difusión obedece a la ley parabólica [250][251].

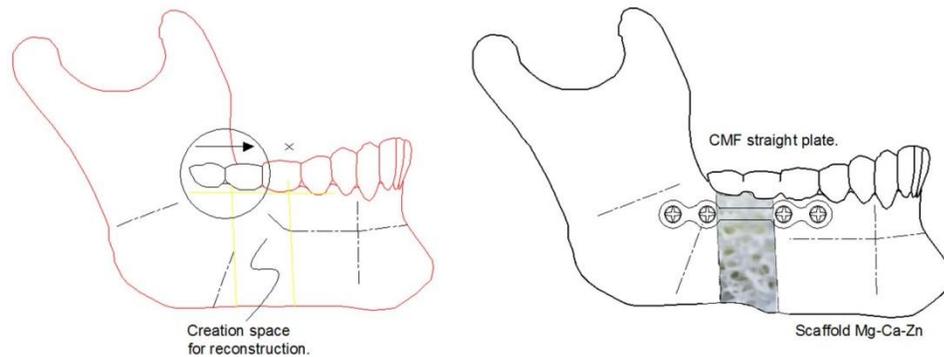


Figura 3.5 Alargamiento del cuerpo mandibular.

Las técnicas de micro-indentación han permitido el análisis de datos como fuerza-desplazamiento de pequeños volúmenes de material, de los cuales se puede obtener el módulo elástico y la dureza, esta aplicación ha permitido la experimentación en hueso trabecular, osteonal y lamelar, con esta técnica es posible explorar el comportamiento elástico anisotrópico de materiales con formación lamelar, como el caso de la aleación Mg - 25% en peso Ca + 5% en peso Zn, donde la fase $MgCa_2$ tiene un comportamiento lamelar-eutético, con estos datos será posible comprender más a fondo el desarrollo teórico de los mecanismos de fractura [252-255]. Un biomaterial a base de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn que se utiliza en la fabricación de un implante clínico exhibirá un comportamiento frágil, lo que implica que las fallas ocurren debido a

la exposición a cargas cíclicas debido a la fatiga. Sin embargo, debido al Mg, este problema se agrava, por lo que identificar la morfología servirá como un esfuerzo inicial para identificar estrategias que mitiguen su degradación[234].

El Mg como elemento en una aleación contribuye al inducir un efecto antivibratorio, para aplicaciones biomédicas es un atributo excelente debido a su capacidad para absorber energía cinética y potencial, que puede ser una característica única que ayuda a contrarrestar las cargas de cizallamiento que producen neoformación ósea [256].

Lui et al desarrollaron una evaluación histológica sobre Mg-Zn y observaron la formación de nuevas trabéculas rodeadas de osteoblastos y osteoclastos, en consecuencia, observaron tejido óseo maduro y hueso laminar, como características fundamentales para la consolidación de la regeneración ósea.[257][258] Chang et al realizaron un estudio histológico en animales observando buena tolerancia del organismo a los iones metálicos, mostrando desde una etapa inicial una respuesta biocompatible [259]. Sarkar et al informan sobre la proliferación de osteocitos y células mononucleares en la cavidad medular de un fémur de conejo, lo que indica el comienzo de un importante proceso de curación del MgP dopado con Zn. [260][261].

3.2.2 Materiales

Se formuló una aleación de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn de inspiración biológica, la cual dado el comportamiento del Mg será degradable in vivo en aproximadamente 150 días, considerando los límites toxicológicos de Ca

y Zn, los cuales son considerados nutricionales y elementos esenciales, estos elementos se encuentran normalmente en forma de iones en el cuerpo humano, mientras que el Zn proviene frecuentemente de la dieta. [231][262][263].

Para el diseño de esta aleación, se propone utilizar 69.18% Mg, 25.82% Ca y 4.99% Zn, considerando un peso final para un dispositivo de 30 g, que corresponde a 20.75g Mg, 7.74g Ca y 1.49g de Zn, si se supone una degradación lineal a los 150 días y se considera el valor permitido en g / día para el cuerpo humano, estos porcentajes y cantidades en gramos para una aleación no representarían un riesgo toxicológico para el organismo. Utilizando estos porcentajes para el diseño de una aleación, no se excede el valor permitido para estos elementos, Mg, Ca y Zn muestran respectivamente 0.14, 0.052 y 0.010 g / día, siendo estos valores muy por debajo del límite toxicológico. Ver [tabla 3.1](#).

Esta formulación es válida para implantes o dispositivos médicos de clase III, con un peso ≤ 30 g. Debido al riesgo asociado al uso de Zn, el peso ideal propuesto para el implante fabricado con esta aleación será de 30 g, elevar el peso en g podría provocar un aumento en el contenido de Zn, este desarrollo propone mantener el Zn en un menor porcentaje, se utilizó el siguiente criterio, no superar el 60% del límite toxicológico de Zn, lo que nos deja un valor de 0.010 g / día, se debe considerar que la dieta nutricional promedio de las personas puede enriquecer el contenido de este elemento en el cuerpo y por esta razón se recomienda una dieta baja en Zn mientras el paciente se recupera del procedimiento quirúrgico.

%	Elemento	Degradación días	Peso en g.	Cumple toxicología g. /días	Límite Toxicologico g./días
69.18	Mg	150	20.75	0.140	0.700
4.99	Zn	150	1.49	0.010	0.015
25.83	Ca	150	7.74	0.052	0.800

Tabla 3.1 Diseño de aleación basado en límite toxicológico y biodegradación.

En la biofabricación de esta aleación se utilizó un horno de inducción TF4000, INDUTHERM, Erwärmungsanlagen GmbH, Alemania, se determinaron condiciones como la rampa de calentamiento a partir de una serie de experimentos mostrados en la [gráfica 3.2](#), en la fundición 1 y 2, la aleación no se homogenizó, iniciando un proceso de ignición debido a la alta temperatura y atribuido principalmente a la ausencia de la atmósfera protectora de argón durante el precalentamiento y el proceso de fundición. La reactividad del Mg limita su uso [264]. El uso de fundente (Melrasal) y la atmósfera de Ar fueron la diferencia positiva en la fundición 3, adicionalmente se ajustaron los parámetros de temperatura y tiempo, como se muestra en la curva. El período de homogeneización que permitió una adecuada difusión del polvo de Zn sobre la aleación maestra de MgCa corresponde a 36 min.

El proceso de fundición por inducción consideró el precalentamiento del sistema de fundición para evitar la humedad, induciendo una atmósfera reductora de Argón (99,999) utilizado para purgar el interior del crisol de óxido de Mg, antes de purgar con argón, una segunda porcelana de 244 ml 80 x 63 mm. Se colocó un crisol con una tapa dentro del crisol de óxido de Mg que contenía la carga de

los elementos Mg - 30% en peso de aleación maestra de Ca, Hunan, China y Zn purificado, Fermont, EE. UU., Estos se cubrieron completamente con Flux (Melrasal UE, Magnesium elektron, Reino Unido), se mantuvo constante un flujo de argón (5×10^{-2} torr) desde el proceso de precalentamiento del horno hasta que se extrajo el crisol de porcelana al enfriarse.

Durante el proceso de fundición, el uso de Argón reducirá la evaporación, es necesario tener un sistema de purificación de gas que reduzca la contracción, para homogeneizar la fundición, la temperatura se mantuvo durante 36 minutos a 700°C , se recomienda una solidificación rápida para aumentar la resistencia, alargamiento y mejorar la procesabilidad, esto permitirá una transición abrupta e ideal al enfriamiento para formar un grano más pequeño.[265] La densidad de la aleación se calculó a partir de la composición química y corresponde a $1,9534\text{ kg} / \text{m}^3$. Kumar et al informaron que las limitaciones de la fundición de Mg se caracterizan por una distribución precaria de elementos que provocan segregación y porosidad. [266] Evitar el contacto de los elementos a fundir con otras superficies es de vital importancia para evitar la contaminación con trazas e impurezas [248].

En la formulación propuesta anteriormente Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn, se considera que aumentar el contenido de Zn en más del 1% en peso reducirá la cantidad de hidrógeno formado en la reacción, $\text{Mg (s)} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Mg (OH)}_2 \text{ (aq)} + \text{H}_2 \text{ (g)}$, que contribuye a mejorar la velocidad de corrosión [267][268], exceder el porcentaje de Zn en un 5% en peso en la composición química sugerida aumentará el nivel citotóxico que reducirá la viabilidad celular.

Esta aleación presenta un comportamiento frágil por lo que se sugieren tratamientos de deformación en frío como ECAP para aumentar su resistencia. Vinogradov et al, presentaron un estudio donde una deformación plástica severa refina la microestructura y produce una modificación en la textura superficial del Mg, mejorando la resistencia [269-274]. Afandy et al, han informado que algunos tratamientos mecánicos pueden nanoestructurar la superficie de los materiales. [275] La estabilidad térmica depende de parámetros microestructurales, como la composición de las fases. [276] Una de las mayores incógnitas hasta la fecha es el impacto toxicológico in vivo debido al tamaño de una nanopartícula en la evolución de la fisiopatología reportada para diferentes elementos químicos, esto tiene una relación causal entre la cantidad de elementos y la liberación de nanopartículas al organismo.

Se debe tener especial cuidado con los tratamientos térmicos ya que estos afectan la velocidad de corrosión, debido a que las fases intermetálicas resultantes de la fundición pueden disolverse. El debilitamiento y la textura basal aleatoria se pueden obtener después del recocido.[277] Añadiendo 1% en peso de Ca aumenta la resistencia a la tracción, la solubilidad del Ca en Mg es de 1,34% en peso a 789 ° K. La incorporación de Ca y Zn sobre Mg favorece el incremento de las propiedades mecánicas[11],[15],[50],[109][125][159],[231][278],[281-286]. Sergio Medina et al, presentan información sobre la complejidad de fortalecer las aleaciones de MgCa mediante tratamiento térmico. La adición de Ca reducirá el punto de ignición del Mg, sin embargo, la dureza disminuye cuando excede el 1.8% en peso. [162],[282] [La figura 3.4](#)

muestra el resultado del tercer ensayo de fundición de la aleación Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn.

Aleación a base de Mg, Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn (Magnesio: 63,19% en peso: Calcio: 25,03% en peso: Zinc: 5,18% en peso: Oxígeno: 6,60% en peso) Obtenido por difusión atómica de Zn sobre MgCa, es propuesto para la fabricación de un andamio poroso, el cual debe tener propiedades mecánicas y biológicas como DBM para ser utilizado como alternativa en patologías relacionadas con ortognáticos.

La validación de la viabilidad celular, y sus propiedades mecánicas obtenidas bajo micro-indentación y técnicas como SEM-EDS, TEM y XRD deben cumplir con lo relacionado con ISO10993, evidenciando una propuesta viable. El comportamiento del material es frágil debido a las fases secundarias y su morfología lamelar [287]. Senkov et al, informaron en su estudio que la fase CaMg₂ tiene una cinética de nucleación lenta [265]. Jardim et al, informaron que esta fase de CaMg₂ tiene un alto punto de fusión y se caracteriza por un adecuado equilibrio intermetálico [288].

3.2.3 Métodos

Se combinaron varias técnicas como SEM-EDS, XRD, TEM, micro-indentación y viabilidad celular para explicar con un enfoque combinatorio las propiedades y el comportamiento de la aleación propuesta para un andamio poroso. La composición y formación de las fases originan el comportamiento mecánico, el desprendimiento de los constituyentes de la matriz de la aleación modifican el

comportamiento biológico en función de la concentración y tasa de liberación, tener la información sobre el comportamiento de la aleación propuesta puede ayudar a comprender su aplicabilidad en diferentes patologías como biomaterial alternativo. Se ha sugerido el uso de aleaciones de Mg en aplicaciones donde la carga aplicada a la estructura ósea es mínima o muy baja, por lo que las aplicaciones en cirugía ortognática son un campo de desarrollo para estos materiales.[248]

3.2.4 SEM-EDS

Las muestras metalográficas se desbastaron con papel de lija 300-3000 y se pulieron con pasta de alúmina de 0,3 μm , en la configuración de microscopio se comprobó el filamento y la ventana de emisión de corriente, la intensidad se confirmó en 2, la muestra se inserta en el soporte y se observa llevado a cabo el procedimiento. El microscopio está equipado con un espectrómetro de dispersión de energía (EDS) para obtener la distribución de los elementos en las microrregiones de interés y así poder confirmar la difusión. Se realizó una preparación metalográfica en una muestra mediante la realización de una microscopía utilizando SEM-EDS, para revelar la morfología de la aleación Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn, se realizó con un microscopio, Nanosem200-FEI, Holanda, adhiriendo las muestras con cinta de grafito a un portamuestras, la micrografía y el análisis empleando EDS se obtuvieron en atmósfera al vacío, se obtuvieron aumentos con una resolución de 10 μm . El análisis SEM-EDS utilizó parámetros de configuración que corresponden a 20 KeV con magnificación de 1469.

3.2.5 XRD

La morfología de las muestras se caracterizó por difracción de rayos X (XRD). Los resultados de XRD mostraron la formación de fases biocompatibles de $MgCa_2$ y óxido de magnesio en la superficie de la aleación Mg – 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn. Seurat Dutta et al, en su trabajo muestran cómo la degradación de los implantes fabricados en Mg produce la liberación de óxido de Mg, adicionalmente se presenta cómo este compuesto es utilizado por el cuerpo humano en la recuperación de fracturas óseas [289]. Se utilizó el análisis de difracción de rayos X (XRD), utilizando un equipo empyrean, España para evaluar las fases actuales de la aleación Mg-25% en peso Ca + 5% en peso Zn. El análisis XRD se adquirió de 5 a 130 ° con un tamaño de paso de 0,03 a 40 mA y 45 keV usando radiación Cu K α .

3.2.6 TEM-FIB

Se preparó una laminilla para TEM, mediante un haz de iones enfocados (FIB) adelgazando desde Galio hasta aproximadamente 60 nm, con un sistema de doble haz, FEI QUANTA 200 3D, Holanda, se montó en una rejilla manteniéndola al vacío incluso antes de la observación, la laminilla se colocó en un soporte dentro del equipo (TEM, Titan 80-300-FEI, Holanda) (Figura 4.3 C). El galio es un elemento beneficioso en la osteosíntesis, inhibe la reabsorción ósea. [290] Las condiciones de operación TEM corresponden a 300 keV y 380 magnificaciones, con una apertura para la lente de condensador # 2 de 150, el tiempo de exposición corresponde a 1 s, en la figura 4.4 A Y 4.4 B el patrón de difracción

del Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn Se muestra la aleación, en condiciones de alto vacío de 10^4 a 10^7 , para lograr un flujo ininterrumpido de electrones, las imágenes que se observan corresponden a la difracción del área seleccionada de la lamela, esto corresponde a campo claro y campo oscuro [figura 4.3A Y 4.3B](#). La técnica de adelgazamiento FIB tiene como objetivo resaltar la nanoestructura y cristalografía de productos metálicos de Mg [291].

La identificación de los planos se realizó con la ayuda de la lista de picos indexados de los diagramas de difracción del Centro Internacional de datos de difracción (ICDD), para cada fase relacionando la medición interplanar de TEM buscando una coincidencia con respecto a 2θ en la lista de picos indexados y así relacionarlo con los planos hkl.

3.2.7 Micro-indentación

Previamente se prepararon, pulieron y montaron las probetas para micro-indentación, las pruebas se realizaron a temperatura ambiente, se analizaron dos pequeñas secciones longitudinal y transversalmente, ambas muestras se embebieron en una resina epoxi. sin uso de vacío. Después de pulir con papeles abrasivos de tamaño de grano decreciente (grano 300, 800 y 3000) bajo agua desionizada, con grados sucesivamente más finos de polvo de alúmina, el más fino es de $0,3\ \mu\text{m}$, las muestras se limpian por ultrasonido para eliminar los residuos de la superficie.

El ciclo de micro-indentación consiste en enfocar adecuadamente la superficie de la muestra, ajustar la carga-desplazamiento, estabilizar el sistema, descargar

sobre la muestra, mantener la carga por un tiempo relativamente mayor que permita calcular la derivada térmica y finalmente completar la descarga. Esta prueba se realizó con un indentador tipo Berkovich.

Los experimentos aquí aclarados se llevaron a cabo utilizando un nanoindentador 50-00191 NHTX S / N, instrumentos CSM, el sistema hace pequeñas marcas en posiciones precisas en una superficie de muestra y adquiere el desplazamiento de carga del penetrador de diamante utilizando el método de Oliver y Pharr, utilizando parámetros tales como velocidad de aproximación 6000 nm / min, contacto de pendiente delta 80%, tasa de adquisición 10 Hz, carga máxima 20 mN, tasa de carga-descarga 200 mN / min, pausa 1 s, relación de poisson 0.30. Las muestras se mantienen colocadas en un sistema de tríada x-y-z con relación al microscopio. El instrumento está aislado en una cabina para permitir la estabilidad térmica y suspendido sobre una mesa neumática antivibración para proteger los resultados de las vibraciones externas.

3.2.8 Viabilidad celular

Las muestras se mecanizaron en pequeñas barras de 3 x 3 x 15 mm para realizar una evaluación de la viabilidad celular, donde se busca representar los cambios morfológicos. Todos los procedimientos se realizaron en condiciones asépticas y en ambiente estéril, asegurando la recuperación celular, adherencia y progresión hacia la fase de crecimiento exponencial. [292]. Los extractos se obtuvieron mediante el método de elución según ISO 10993-12. Se sumergieron muestras de Mg - 25Ca - 5Zn en el medio de cultivo celular durante 24 h a 5% CO₂, 95%

de humedad y 37 ° C, con una relación fija de área superficial a volumen medio de 1,25 cm² / ml.[293] Luego, los extractos se recolectaron y evaluaron para determinar el impacto en la viabilidad celular. Qing et al han propuesto utilizar un ensayo de proliferación indirecta adaptado de ISO-10993-5 [238]. El uso de una aleación de MgCa combinada con colágeno mejoraría la regeneración ósea, confirmando la seguridad biológica del material. [294]. El estudio presentado corresponde a una evaluación de la citotoxicidad y proliferación celular de células L-929. Es de vital importancia evitar la concentración de Zn a un nivel de 80 µM, se ha informado que inhibe la viabilidad celular y la proliferación celular.[295][296]. Estos hallazgos anteriores corresponden y coinciden con lo propuesto en este trabajo, definiendo un criterio toxicológico para el uso de Zn en Mg.

La línea celular de fibroblastos murinos (L-929; CCL1) se adquirió de la American Type Culture Collection. El medio de cultivo de tejidos, el suero fetal bovino (FBS) y los suplementos se obtuvieron de Gibco (IL, EE. UU.). Se adquirieron tintes, solución salina tamponada con fosfato (PBS) y dimetilsulfóxido de Sigma-Aldrich Chemical Co (MO, EE. UU.). Los fibroblastos L-929 se cultivaron en DMEM con FBS al 10% y L-glutamina 2 mM en CO₂ al 5%, 95% de humedad a 37 ° C.

Para el método NRU, las células se cultivaron en placas de 96 pocillos a una densidad de 1 e + 5 células / pocillo y se cultivaron previamente durante 24 horas para permitir la adaptación de las células antes de añadir los extractos. Las cinco diluciones no seriadas de extractos con medios de cultivo que van del 10% al 100% se colocaron en las células por cuadruplicado. Los tratamientos con medios

de cultivo se mantuvieron como referencia (100% de viabilidad). Se utilizó dietilditiocarbamato de zinc (ZDC) al 0,1% como control citotóxico.

Después de un período de incubación de 48 horas, la placa de 96 pocillos se centrifugó (210 g durante 10 minutos) y el medio se reemplazó por la mancha roja neutra (100 µl de un medio de cultivo celular de 0,2 mg / ml) en cada pozo y el plato. Se incubó nuevamente a 37 ° C durante 4 horas. Después, la placa se lavó una vez con PBS y luego se retiró, se dejó secar durante 1 hora y se añadieron 100 µl de eluyente rojo neutro a cada pocillo. (Etanol: dH₂O: ácido acético 50: 49: 1). A continuación, se agitó la placa durante 1 hora para disolver el tinte. Una vez disuelto el rojo neutro, se midió la absorbancia espectrofotométricamente utilizando un lector de microplacas (xMark, BioRad, EE. UU.) A una longitud de onda de 540 nm con una longitud de onda de referencia de 630 nm. [239] Según la norma ISO 10993-5: 2009, una actividad metabólica relativa inferior al 70% se consideró citotóxica.

Los controles negativos incluyeron tratamientos con medios de cultivo. Se evaluó la citotoxicidad del dietilditiocarbamato de zinc (ZDC) al 0,1% en medios de cultivo en las mismas condiciones experimentales que el control positivo. La viabilidad celular se estimó midiendo la tasa de reducción mitocondrial del tinte de tetrazolio (MTT). El ensayo MTT determina la reducción de la sal de tetrazolio soluble amarilla a un cristal de formazán púrpura insoluble a través de una reacción dependiente de mitocondrias solo en células viables metabólicamente activas.

3.3 Efecto de la esterilización sobre la respuesta dinámica de 3 puntos a la flexión in vitro de un implante de Mg.

3.3.1 Introducción

El objetivo del estudio es caracterizar una aleación de magnesio biomédica y destacar la pérdida de integridad mecánica debido al método de esterilización. Idealmente, cuando se utilizan estas aleaciones es para retrasar la aparición de degradación para que el implante pueda soportar cargas corporales y evitar efectos toxicológicos debido a la liberación de iones metálicos en el cuerpo.

Hoy en día, el uso de nuevos biomateriales en la fabricación de dispositivos médicos (MD) en el mundo es de gran relevancia, ya que reduce el impacto ambiental de extraer y refinar elementos actualmente populares como el titanio (Ti) lo cual es un objetivo importante. Actualmente, el potencial del magnesio (Mg) como material base para la aleación con elementos esenciales y nutricionales como Ca, Zn y REE, se está investigando ampliamente. Las ventajas y efectos de su uso han sido evaluados in vivo por diferentes programas y organizaciones en todo el mundo. Varios estudios han propuesto utilizar elementos que proporcionan resistencia mecánica y mejoran las propiedades como la degradación y biocompatibilidad de Mg.

Como resultado, se han propuesto modificaciones al comité de “evaluación biológica y clínica de dispositivos médicos ISO / TC 194 / WG5” en relación con el Mg procesado de la fundición, lo que sugiere un aumento del medio de extracción mencionado en ISO 10993-5: 2009 por 10 veces, para permitir la

liberación de iones Mg in vitro para mantenerse a niveles aceptables en la clasificación de la citotoxicidad. Esta modificación sería parte de un cambio eventual en ISO 10993-15 que favorecería el uso de Mg en DM, particularmente en el contexto de materiales diseñados para degradarse en el cuerpo. Además, hay tecnovigilancia, programas y casos clínicos exitosos donde el Mg ya se ha utilizado como material de base para DM.

Hay algunos dispositivos médicos fabricados en base a Mg en el mercado europeo que tienen autorización para uso en ensayos clínicos emitidos por la Agencia de Alimentos y Medicamentos de Corea (KFDA). En particular, H. Sun et al. han considerado al Mg como parte de la nueva generación de biomateriales para aplicaciones médicas. A pesar de las excelentes alternativas propuestas para los elementos de aleación que se pueden combinar con Mg, elementos como Zn y los REE deben dosificarse para evitar efectos toxicológicos y problemas fisiopatológicos. Para obtener un punto óptimo que equilibra el tiempo de recuperación para una fractura y la degradación de un implante, diferentes dosis de elementos y el refinamiento de granos, durante la fundición deben ser probados y analizados. A pesar de todo el trabajo realizado en el campo de la mecánica y caracterización biológica de las aleaciones de Mg, sigue siendo necesaria una evaluación experimental de cómo se relaciona la estructura cristalina de una aleación de Mg con su biocompatibilidad. Este trabajo muestra la caracterización mecánica a través de pruebas mecánicas establecidas por la Sociedad Americana de Materiales de Prueba (ASTM) para clavos intramedulares, pruebas para medición de las curvas típicas de tensión-

deformación a tensión simple, flexión simple y flexión por fatiga. Además, se muestra la caracterización morfológico-cristalina a través de una evaluación por TEM, SEM-EDS y XRD. Junto con una simulación que utiliza el método de elementos finitos (FEM) para visualizar el comportamiento de los límites de grano, este es el enfoque combinatorio presentando pruebas mecánicas, estructura cristalina y comportamiento mecánico de las aleaciones de Mg. Además, las interacciones celulares en la superficie del WE43, se investigan para determinar su biocompatibilidad y un probable establecimiento de un modelo de absorción in vitro. Al promover la comprensión de la respuesta biológica del Mg, el valor biológico del Mg y predecir mejor los resultados en la práctica clínica utilizando aleaciones a base de Mg, generando propiocepción sobre el uso de materiales metálicos degradables.

3.3.2 Métodos

La resistencia a la fatiga del Mg como implante, en entornos agresivos como el entorno corporal sufren de una degradación progresiva, sin embargo, el método de esterilización en autoclave afecta drásticamente la resistencia a la fatiga, ya que ha demostrado en pruebas realizadas en condiciones in vitro, junto con este fenómeno, los relativamente pobres resultados en la biocompatibilidad de las aleaciones de Mg WE43, por esta razón tiene aplicaciones limitadas en las que se pueden utilizar debido a las bajas tasas de aceptación de agencias como la FDA. Sin embargo, la aleación de Mg con elementos como el itrio y los elementos de tierras raras (REE) han demostrado retrasar la biodegradación según el método de esterilización y la solución fisiológica utilizada. Con diferentes técnicas

de esterilización, puede ser posible mantener los efectos toxicológicos al mínimo y al mismo tiempo garantizar un equilibrio entre la integridad del hueso fracturado y el tiempo de degradación del implante. Por tanto, la evaluación de la fatiga y resistencia de las muestras WE43 esterilizadas y ensayadas en condiciones de inmersión (solución de Hank enriquecida) y según ASTM F-1264, junto con la caracterización morfológica, de cristalinidad y biocompatibilidad de la aleación WE43, permiten una evaluación completa de las propiedades mecánicas y biológicas de WE43.

La aleación de base Mg WE43 (Itrio: 3,1-3,7% en peso; lantano: 0,07-0,33% en peso; Gadolinio: 1,7-1,8% en peso; Neodimio: 2,2-2,5% en peso; Cobre: $\leq 0,16\%$ en peso; Níquel: $\leq 0,11\%$ en peso; Hierro: $\leq 0,017\%$ en peso; Oxígeno: $\leq 4,62\%$ en peso), fundición por el proceso Pidgeon en la condición de barras de fundición, es propuesto para la fabricación de un implante intramedular (IIM). El IIM aquí descrito ha sido probado siguiendo una metodología experimental según normas internacionales ASTM-F-1264, ISO10993 y caracterización morfológica adicional.

Preparación de implantes de Mg, se fabricaron tres probetas según ASTM B 557, de la cual se obtuvo la curva tensión-deformación siguiendo ASTM E8 para caracterizar el comportamiento de la aleación en tensión simple hasta una deformación del 0,2%. El comportamiento de la aleación se describe mediante la curva multilínea isotrópica que muestra homogeneidad. Adicionalmente, tres especímenes fueron preparados para realizar una prueba de flexión simple de acuerdo con la sección A1.4 de ASTM F-1264 con un diámetro aproximadamente

igual al propuesto para el IIM para conocer la resistencia a la flexión con una curva de fuerza-desplazamiento.

Esterilización, se maquinaron otras dos muestras para realizar una prueba de flexión en condiciones dinámicas para medir la pérdida de integridad mecánica del material debido a la degradación que se origina en la superficie del material por efecto de la esterilización y la solución enriquecida de Hank. La solución de Hank se obtuvo de Sigma Aldrich y se utilizó de acuerdo con ISO 10993-12. Una de las muestras fue esterilizada en autoclave, el método que afecta drásticamente a la superficie de las aleaciones de Mg. Todos los procedimientos se llevaron a cabo en condiciones asépticas y en un ambiente estéril, asegurando la recuperación celular, adherencia, y progresión hacia la fase de crecimiento exponencial. Se fabricaron y esterilizaron tres muestras de aleación WE43 utilizando una autoclave seguido de una prueba de flexión simple basada en ASTM F 1264 para evaluar la resistencia a la flexión y para obtener la curva fuerza-desplazamiento de cada espécimen. Se realizó una prueba en condiciones dinámicas para medir parámetros de fuerza vs número de ciclos de la aleación WE43 sumergida en Hank sales equilibradas. La aleación se evaluó bajo condiciones de fatiga para dos muestras de acuerdo con ASTM F 1264. En preparación, estos especímenes manufacturados fueron simplemente pulidos con papel de lija de grano 800 y no fueron atacados químicamente. Solo una muestra se sometió a esterilización. Se realizaron pruebas de inmersión siguiendo ASTM-G31-72. Los requisitos técnicos para la aprobación de MD deben incluir la revisión de las buenas prácticas de fabricación por un organismo

regulado como la FDA, además de esto, se debe proporcionar información científica y técnica, además de una etiqueta detallada de que implica la técnica quirúrgica y la descripción de los componentes funcionales, partes y estructura. La lista de los elementos utilizados en la aleación y su dispersión en la superficie del implante debe presentarse, la fórmula cualitativo-cuantitativa debe declararse por unidad de medida y porcentaje de dosis, además de las materias primas y un estudio donde se muestren las características de toxicidad, seguridad y eficacia de los DM. Se debe proporcionar información sobre el proceso de esterilización, control del producto terminado y métodos analíticos, estudio de estabilidad y tecnovigilancia.

Este trabajo presenta la evaluación experimental de la morfología aplicable a productos implantables, además de los estudios preclínicos de biocompatibilidad; la gravedad de la esterilización en autoclave es informada, debido a la afectación de la resistencia a la fatiga y reactividad biológica para productos de clase III.

3.3.3 Configuración pruebas mecánicas.

La configuración para las pruebas de esfuerzo se basó en ASTM E8–04 (métodos de prueba estándar para pruebas de tensión de metales). Realizado en tres probetas con la configuración y dimensiones establecidas por ASTM B 557–02 (métodos de prueba estándar de prueba de tensión forjados y fundición de aluminio y productos de aleación de magnesio). Los especímenes se fabricaron de acuerdo con la [Figura 3.6](#), donde se muestra la geometría de la probeta a ensayar. La [tabla 3.2](#) muestra las características del ensayo a tensión simple

aplicado a las tres probetas, donde se obtuvo su curva de esfuerzo-deformación. El software de adquisición de datos testXpert2 se utilizó para adquirir el desplazamiento máximo de cada una de las pruebas y para registrar y graficar la curva de esfuerzo-deformación.

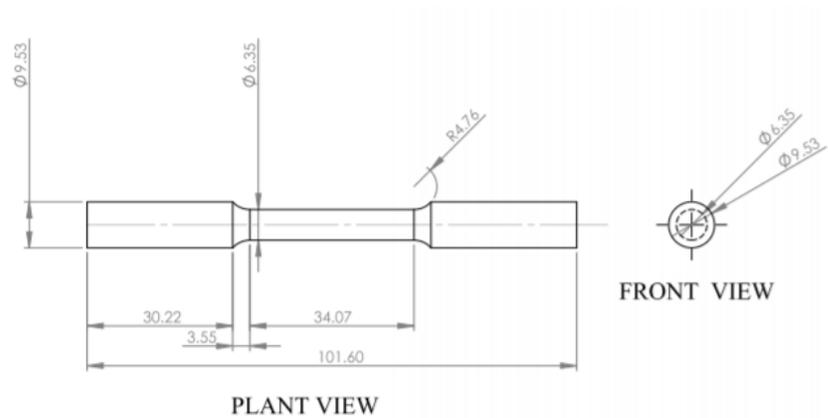


Figura 3.6 dimensión del espécimen.



Figura 3.7 espécimen de prueba (ASTM F1264-03) Configuración de prueba de 3 puntos.

La configuración para las pruebas de flexión simple de 3 puntos fue basada en ASTM F1264–03 (especificación estándar y métodos de prueba para dispositivos de fijación intramedular) Realizado en tres muestras con la configuración propuesta en el procedimiento de la sección A1.4. Estos especímenes fueron fabricados de acuerdo con ASTM B 557–02. [Figura 3.7](#), muestra un espécimen durante la prueba de 3 puntos. Esto se aplica a escenarios donde es necesario conocer la resistencia a flexión cuando se coloca un clavo en dos puntos y la carga se aplica en un punto entre ellos.

Test feature or detail	Technical data.	Observations.
Test speed (velocity)	10 mm/min	-
Used machine.	Zwick/Roel z050, capacidad 50 kN	25 enero 2019 calibración
Cross section of the specimen.	31.66 mm ²	-
Specimen length.	101.60 mm	-
Specimen material.	WE43 Casting bars	Y 3.7-4.3, Zr 0.4-1.0, Gd 0-1.9, Nd 2.0-2.5, Cu ≤ 0.02, Ni ≤ 0.005, Fe ≤ 0.01, Mg balance
Average weight specimen.	0.01058 kg	-
Test temperature.	22 °C	-

Tabla 3.2 Características de prueba de esfuerzo simple.

Se realizaron tres ensayos donde se obtuvieron la fuerza y el desplazamiento comenzando con una carga de 0 N y terminando con la carga máxima de deflexión para cada probeta. Los detalles de la prueba y los materiales se muestran en la [Tabla 3.3](#). Un sistema de adquisición de datos VI con LabVIEW,

se utilizó la interfaz R2017 para adquirir el desplazamiento máximo de cada uno para las pruebas y para graficar la curva de fuerza-desplazamiento.

Test feature or detail	Technical data.	Observations.
Distance between centers L	90 mm	-
Test speed (velocity)	5 min/min	F-1264-03
Used machine	Instron 1011, capacity 5 kN	Jan 25, 2019 Mess.Serv.Metrological
Specimen cross section	71.48 mm ²	-
Specimen length.	114 mm	-
Specimen material.	WE43 Casting bars	Y 3.7-4.3, Zr 0.4-1.0, Gd 0-1.9, Nd 2.0-2.5, Cu ≤ 0.02, Ni ≤ 0.005, Fe ≤0.01, Mg balance
Average weight specimen	0.01511 kg	-
Test temperature.	27 °C	-

Tabla 3.3 características de prueba en 3 puntos.

El sistema que se muestra en la [Figura 3.10](#) se utilizó para realizar el ensayo de flexión simple de 3 puntos en probetas con un diámetro de 9,54 mm y una longitud de 114 mm. Esta prueba consiste en dos soportes y una base inferior para colocar el espécimen, así como un soporte superior montado en la celda de carga de la máquina Instron 1011 que aplica la carga durante la prueba al centro de la muestra. Se utilizó un DAQ SB10 y un programa VI para grabar la fuerza alcanzada y desplazamiento máximo de cada una de las pruebas, y luego registrar y graficar la fuerza frente a la curva de desplazamiento. La configuración de resultados para las pruebas de flexión dinámica de 3 puntos se basó en ASTM F1264–03 (especificación estándar y métodos de prueba para dispositivos de fijación intramedular). Esta prueba se realizó sobre dos probetas con la configuración propuesta en el procedimiento del apartado A1.4. Estos especímenes fueron fabricados de acuerdo con ASTM B 557–02 y se muestran

en la [Figura 3.9b](#). Esta prueba determina la resistencia a la flexión por fatiga al colocar un clavo en dos puntos y aplicar una carga dinámica en 1 punto. La configuración completa se describe en la [Figura 3.9c](#)

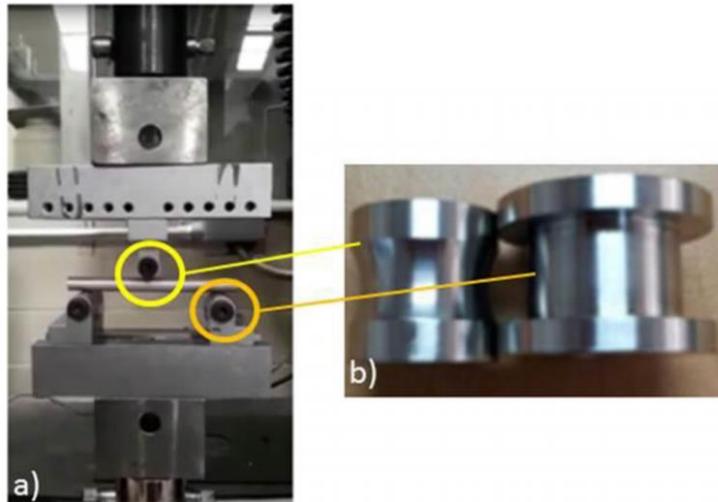


Figura 3.8 a) Sistema utilizado en pruebas a flexión. b) Rodillos aplicadores de carga.

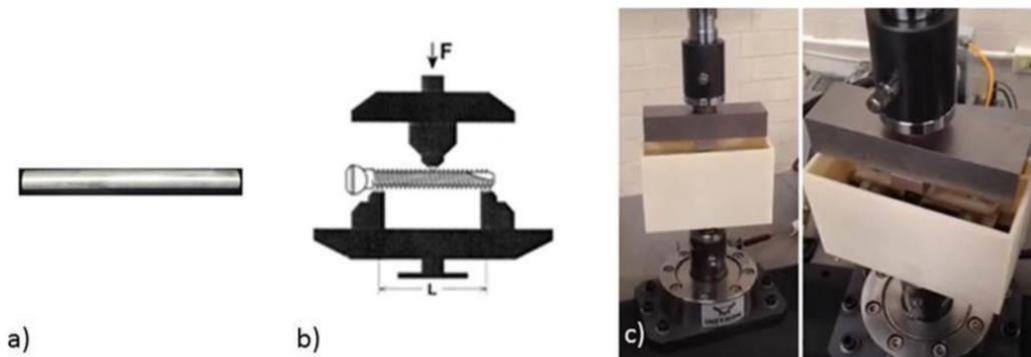


Figura 3.9 a) espécimen de prueba para prueba de flexión en 3 puntos. b) Sistema usado para prueba de flexión a fatiga. c) Configuración de máquina Instron 1011 con cámara de polipropileno ensamblada para inmersión.

Se realizaron dos pruebas donde la fuerza versus el número de ciclos se obtuvo a partir de una amplitud de carga del 25% (555 N). Datos obtenidos de la prueba de flexión simple para estabilizar el sistema, los detalles de la prueba y los materiales se muestra en la [Tabla 3.4](#). Además, un sistema de adquisición de

datos VI con una interfaz LabVIEW R2017 se utilizó para adquirir la fuerza máxima de cada una de las pruebas y trazar la curva de fuerza vs número de ciclos. El sistema que se muestra en la [Figura 3.9 b](#) se utilizó para realizar los 3 ensayos puntuales de flexión dinámica en probetas con un diámetro de 9,54 mm y 114 mm de longitud. Esta prueba consta de dos soportes y una base inferior para colocar el espécimen, así como un soporte superior montado en la celda de carga de la máquina Instron 1011 que aplica la carga durante la prueba al centro de la muestra. Se preparó una cámara de polipropileno impresa en 3D para permitir que la muestra sea sumergida en las sales equilibradas de Hank, modificado sin rojo de fenol y bicarbonato de sodio (H1387-1 L; Lote # SLBG0073), a lo largo de la prueba se utilizó un sistema de cámara para monitorear la fuerza frente al número de ciclos de prueba.

Test feature or detail.	Technical data.	Observations.
Distance between centers L.	90 mm.	-
Test speed (velocity).	5 mm/min.	F1264-03.
Used machine.	Instron 1011, capacity 5 kN.	January 25, 2019 calibration (Mess. Serv. Metrological).
Load amplitude applied.	555 N.	25% Máximum permissible load.
Frequency.	5 Hz.	Load ratio \geq 0.1
Cross section of the specimen.	71.48 mm ² .	-
Specimen length.	114 mm.	-
Specimen material.	WE43 Casting bars.	Y 3.7-4.3, Zr 0.4-1.0, Gd 0-1.9, Nd 2.0-2.5, Cu \leq 0.02, Ni \leq 0.005, Fe \leq 0.01, Mg balance
Average weight specimen.	0.01511 kg.	-
Test temperature.	27 °C.	-

Tabla 3.4 características de prueba dinámica a flexión.

El tratamiento de aclimatación que se realizó para una muestra WE43 consiste en esterilización en autoclave e inmersión posterior en la solución de Hank manejada de manera químicamente inerte dentro de un recipiente cerrado utilizando técnicas asépticas según ISO-10993-12. La aclimatación continuó durante 24 ± 2 hr 37 ± 1 ° C. A lo largo de la prueba, el pH de la solución de Hank utilizada no fue manipulado para evitar cualquier influencia en el resultado, pero en el momento de su preparación el pH era de 7,4. Las condiciones de almacenamiento se validaron antes de su uso.

La incubación de la muestra WE43 en la solución de Hank's fue durante 24 h, se completó en condiciones asépticas y en un ambiente estéril proporcionado por un gabinete de flujo laminar. Aunque las células no se incubaron en el medio, la contaminación en el entorno de prueba difícilmente será controlada, debido a la interacción del medio con partes de la máquina y accesorios Instron. La adhesión de partículas y su progresión en la superficie del material son efectos que deben tenerse en cuenta sobre el resultado de esta prueba.

Este procedimiento de aclimatación proporciona información para el Comité ISO / TC 194, específicamente hacia los nuevos cambios que se están considerando en las subsecciones a (Materiales diseñados para degradarse en el cuerpo), c (solución de prueba), e (procedimiento de inmersión). Esto debido a la modificación del comportamiento mecánico de esta aleación con la interacción de un medio como la solución de Hank después de la esterilización.

3.3.4 Descripción análisis morfológico.

Las muestras se prepararon para el análisis microestructural mediante pulido con pasta de diamante de 0,3 μm , hasta un acabado espejo y posterior observación bajo un microscopio electrónico de barrido (SEM; Nanosem200-FEI, Países Bajos) equipado con un espectrómetro de dispersión de energía (EDS). Las muestras se adhirieron con una cinta de grafito a un portamuestras para su análisis en una atmósfera a vacío a una resolución de 50 μm . Con esta configuración de microscopio, se revisó inicialmente el flash del filamento SEM, seleccionando HV y ventana de corriente de emisión, la intensidad del flash en 2 fue confirmado, y la muestra se inserta en el soporte, procediendo a la observación. Se preparó una lamela para TEM, a través de un haz de iones de galio focalizados, adelgazando la muestra a aproximadamente 60 nm.

Posteriormente, la muestra se mantuvo al vacío hasta el día del análisis y luego se coloca en un portamuestras para analizar. Una muestra para microscopía electrónica de transmisión (TEM; Titan 80–300-FEI, Países Bajos) se adelgazó a 60 nm de espesor mediante un sistema de doble haz (FEI QUANTA 200 3D, Países Bajos) utilizando iones de galio antes de montarlo en un bastidor y conservarlo al vacío hasta inmediatamente antes de la observación. La distribución de los elementos se observó realizando muestreo en microrregiones además del área seleccionada de difracción de electrones (SAED) para ayudar a identificar las fases. El TEM fue operado a 300 keV, abriendo la lente del condensador # 2 a 150 con un tiempo de exposición de 0,5 s. El SAED en la [figura 4.3A Y 4.3B](#) muestra una estructura cristalina en el patrón de difracción

que corresponde a la proyección de la red recíproca por campo brillante y campo oscuro. Un difractómetro de rayos X (XRD; EMPYREAN, España), se utilizó para la identificación de fase utilizando una fuente de radiación de Cu K α , con un tiempo de escaneo por paso de 8,67 s, operado a 45 kV y 40 mA.

3.3.5 Descripción prueba de citotoxicidad.

Los extractos se obtuvieron por el método de elución según ISO 10993-12: 2012. Se sumergieron muestras de WE43 en el medio de cultivo celular durante 24 hr 5% CO₂, 95% humedad, y 37 ° C con una relación fija de superficie a volumen medio de 1,25 cm² / ml. A continuación, los extractos fueron recolectados y evaluados para determinar el impacto en la viabilidad celular. Para cultivo celular, una línea celular de fibroblastos murinos (L-929; CCL1), se compró de la American Type Culture Collection (ATCC). Medio de cultivo de tejidos, suero fetal bovino (FBS) y los suplementos se compraron a Gibco (IL, ESTADOS UNIDOS). Los tintes, la solución salina tamponada con fosfato (PBS) y el dimetilsulfóxido se obtuvieron de Sigma-Aldrich (MO, EE. UU.). Se cultivaron fibroblastos L-929 en DMEM con FBS al 10% y L-glutamina 2 mM en CO₂ al 5%, 95% humedad y 37 ° C. Para el ensayo de absorción de rojo neutro (NRU), las células se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad 1 × 10⁵ células / pocillo y pre-cultivado durante 24 h. Para permitir la adaptación de las células antes de la adición de los extractos. Para la NRU, cinco diluciones no seriadas de extractos con medios de cultivo en un rango de 10 a 100% se colocaron en las células por cuadruplicado. Los tratamientos con medios de cultivo estándar se mantuvieron como referencia (100% de viabilidad). Se utilizó ZDC al 0,1% como control

citotóxico. Después de un período de incubación de 48 h, la placa de 96 pocillos se centrifugó (210 g durante 10 min), el medio fue reemplazado por la tinción roja neutra (100 µl de una solución madre de 0,2 mg / ml en medio de cultivo celular) en cada pocillo y la placa se incubó de nuevo a 37 ° C durante 4 h. Posteriormente, la placa se lavó con PBS una vez y luego se retira, se deja secar durante 1 h., y 100 µl de eluyente rojo neutro (etanol: dH₂O: ácido acético 50: 49: 1) a cada pocillo. El plato se agita durante 1 h para disolver el tinte. Después el rojo neutro se había disuelto, la absorbancia se midió utilizando un lector de microplacas (xMark, BioRad, EE. UU.) A una longitud de onda de 540 nm con una referencia longitud de onda de 630 nm. Según ISO 10993-5: 2009, una actividad metabólica relativa de menos del 70% fue considerado citotóxico.

3.3.6 Método de elemento finito.

Sé realizó una simulación FEM para visualizar el comportamiento por integridad mecánica de la aleación y su respuesta a los modos de falla. Se utilizó el software Ansys 15, a través del módulo Workbench.

4 RESULTADOS Y DISCUSIONES - BIO FABRICACION Y VALIDACION EXPERIMENTAL DE UNA ALEACION DE Mg – 25Ca – 5Zn PROPUESTA PARA UN ANDAMIO METALICO POROSO.

Los resultados obtenidos confirman la difusión de Zn sobre la aleación maestra de MgCa, el Zn no se refleja en la composición de las fases debido a inconsistencias en la muestra y posiblemente a la orientación preferencial del material. Se pudieron identificar y medir distancias Interplanares, se pudo ubicar Zn al mapear por EDS, lo que sugiere que la parte analizada por XRD no contenía Zn, lo cual se atribuye a la pobre dispersión durante la solidificación, sin embargo, no se induce ningún cambio en la viabilidad celular como producto de Zn. Existen algunos picos que no pudieron ser identificados mediante XRD, al cruzar la información con la observación por TEM, se verifica que existe Zn en la muestra, lo que sugiere la formación de diminutas fases cristalinas de MgZn₂.

4.1 RESULTADOS SEM-EDS – Biofabricación.

El mapeo de elementos se muestra en la [figura 4.1](#) mediante un análisis de distribución por SEM-EDS (O, Mg, Ca y Zn). El objetivo principal fue la difusión de Zn en la aleación maestra de MgCa. Existe una microestructura recristalizada con segundas fases en la matriz, sin homogeneización generalizada por las condiciones del proceso de fundición, en general no hay segregación positiva de los elementos, la difusión de Zn sobre la aleación maestra de MgCa se confirma en el análisis por SEM-EDS. La morfología lamelar es muy similar a la encontrada en los andamios porosos para la reconstrucción craneomaxilofacial (CMF)[297].

Alshaaer et al, informaron un tamaño de poro entre 1-400 μm [213][215][233].
Mayama et al, informaron que, en condiciones de compresión, el Mg poroso tiene una alta eficiencia de absorción de energía. [219],[298],[299].

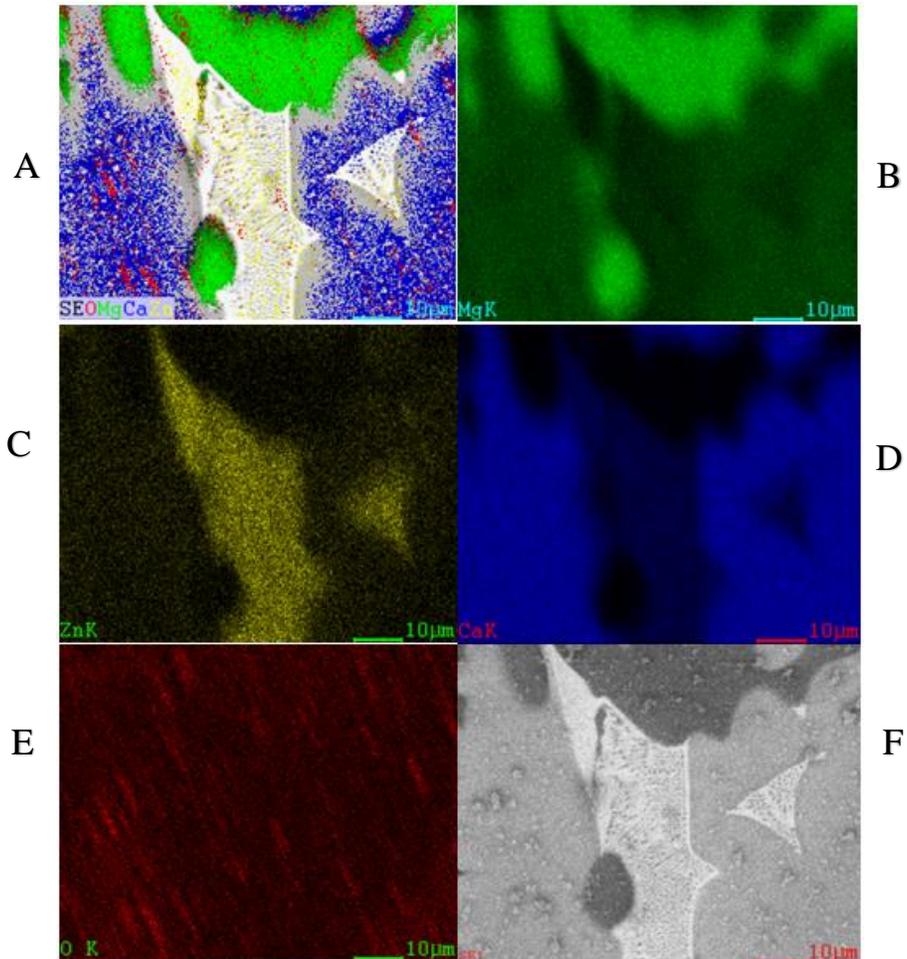


Figura 4.1 A) Mapeo de elementos por distribución SEM-EDS (O, Mg, Ca, Zn) de partículas de segunda fase. B) Mapeo del Mg. C) Mapeo del Zn. D) En azul se observa la zona rica en Ca. E) El oxígeno se observa en toda la superficie de la muestra analizada. F) Imagen en secundarios de la morfología de la muestra.

4.1.1 Comparación entre morfologías Mg-Ca a porcentajes incrementales.

En la figura 4.1.1 se puede apreciar la morfología lamelar eutéctica característica en las aleaciones de Mg - Ca, con la ayuda de la difracción por XRD es posible

identificar las fases lamelares características, sin embargo alguna fase correspondiente al Zn no se identificó por difracción, en el mapeo la identificación del Zn fue positiva ver [figura 4.1](#) , lo cual da indicios de que la difusión de Zn se presentó a un nivel muy bajo, y la integración fue débil, sin embargo Yan Jingli reportó un fenómeno similar al no identificar el elemento Zn y comprobar su existencia en la muestra.

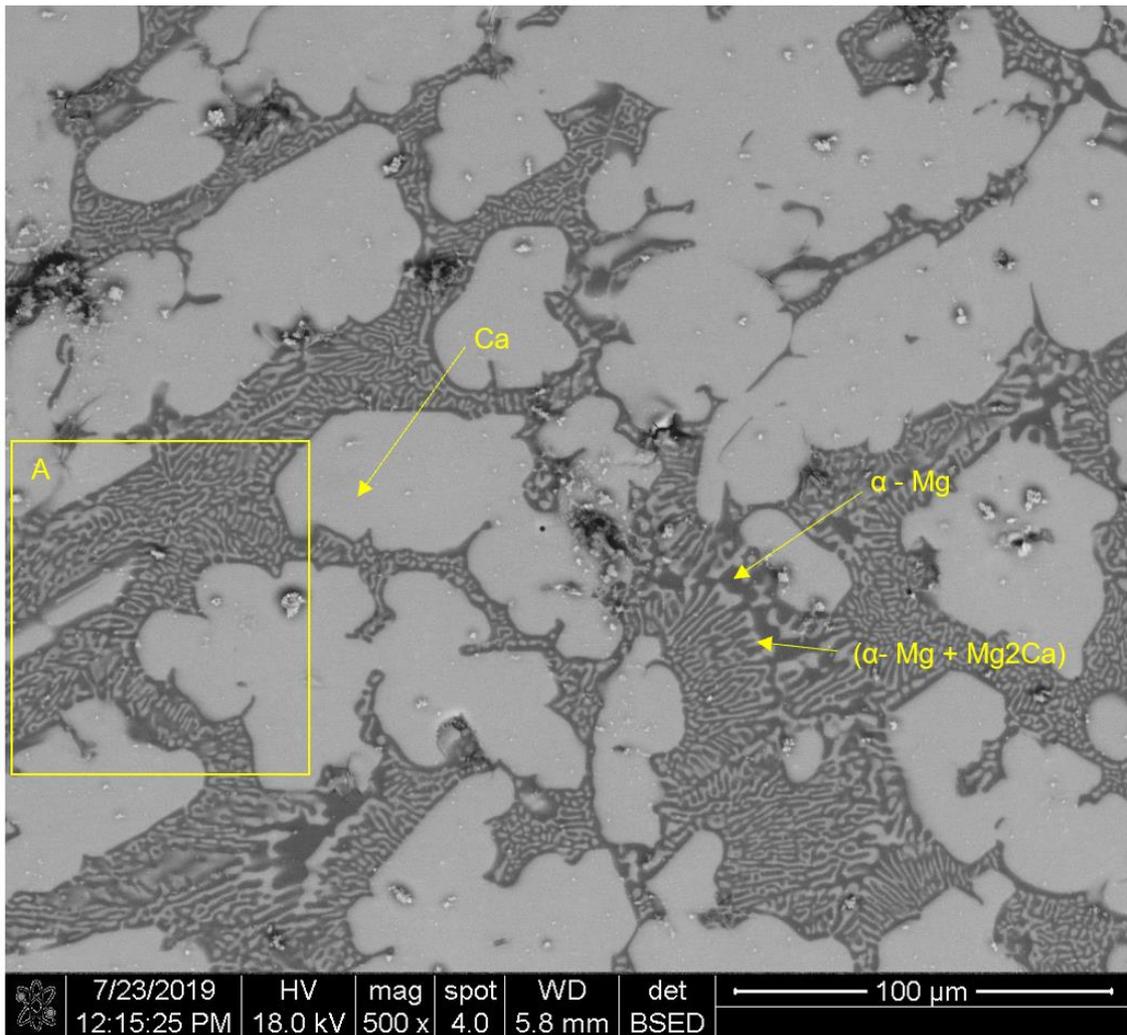


Figura 4.1.1 Morfología Mg – 30Ca – 5 Zn

Se observa una segregación positiva de elementos en la fase α - Mg, ver figura 4.1.2, lo cual incrementa las propiedades mecánicas de la aleación hasta el límite eutéctico.

Aun cuando se realizara un procedimiento de deformación en frío, la resistencia siempre será limitada debido al comportamiento frágil que se representa en la morfología observada en figura 4.1.1. Estos hallazgos concuerdan con los resultados reportados por Shervin Eslami Harandi.

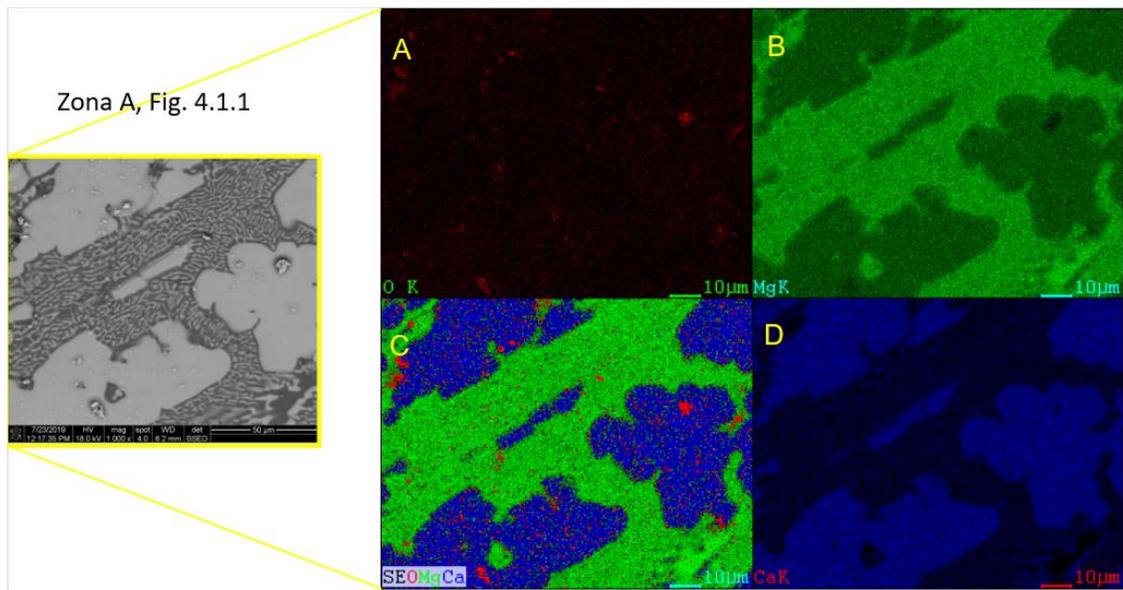


Figura 4.1.2 Mapeo de elementos Mg, Ca. A) Zonas ricas en oxígeno. B) Área rica en Mg. C) Sumatoria de señales. D) Zona rica en Ca.

Al refinar la microestructura, incrementando el porcentaje de Ca en 10%, respecto a una aleación maestra Mg-20Ca se observa el crecimiento interdentrítico por comparación (figura 4.1.4).

El análisis EDS muestra el contenido de Ca en la matriz de α – Mg, existen trazas de la fase Mg₂Ca en la microestructura, lo cual causa precipitación de esta fase, a mayor porcentaje de Ca el crecimiento de las dendritas en forma de aguja estará relacionado al fortalecimiento de la matriz, esto es atribuido al decrecimiento del grano, en la figura 4.1.3 se muestra la distribución de la fase Mg₂Ca, entre espacios interdendríticos y a lo largo de las fronteras de grano figura 4.1.3 C.

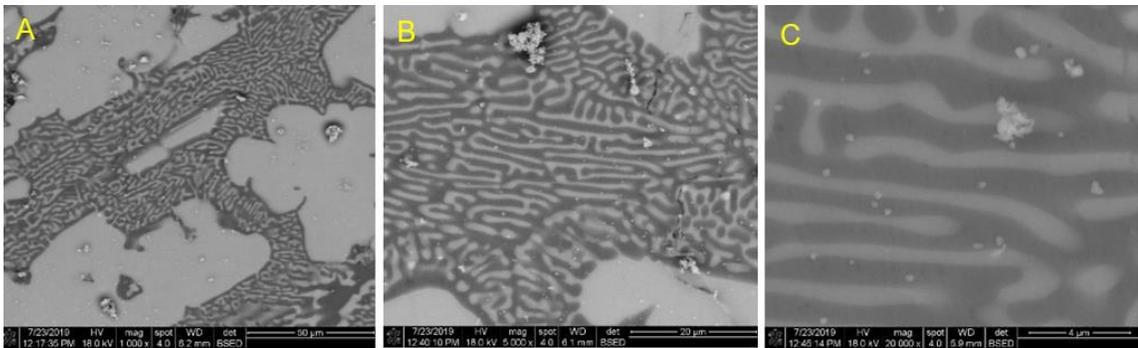


Figura 4.1.3 A) imágenes de SEM. B) espacios interdendríticos. C) fase α – Mg + Mg₂Ca.

Se muestra una comparación entre diferentes muestras A) con un 20% Ca y B) con un 30% de Ca.

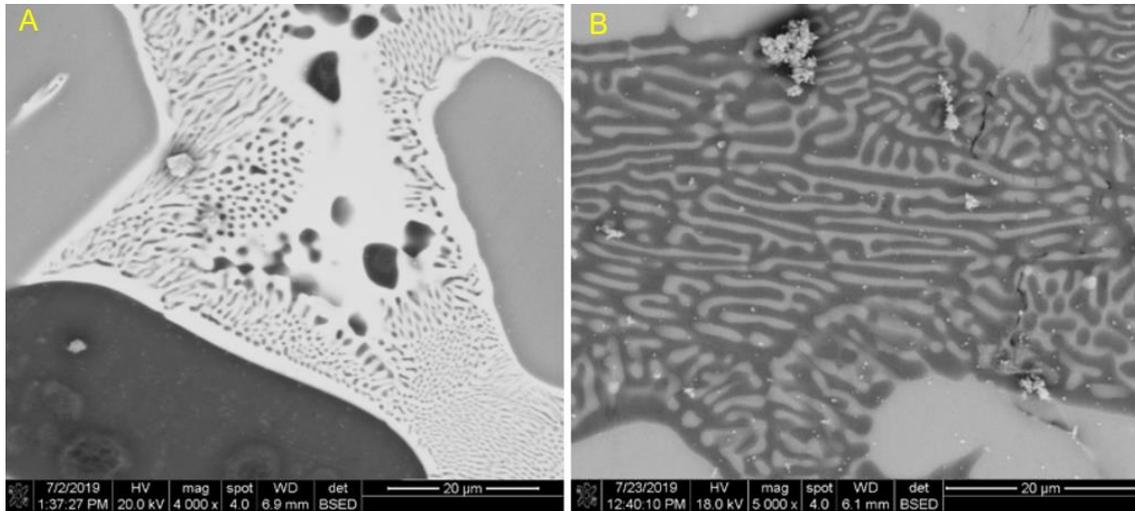


Figura 4.1.4 A) aleación maestra Mg – 20 Ca. B) aleación maestra Mg – 30Ca.

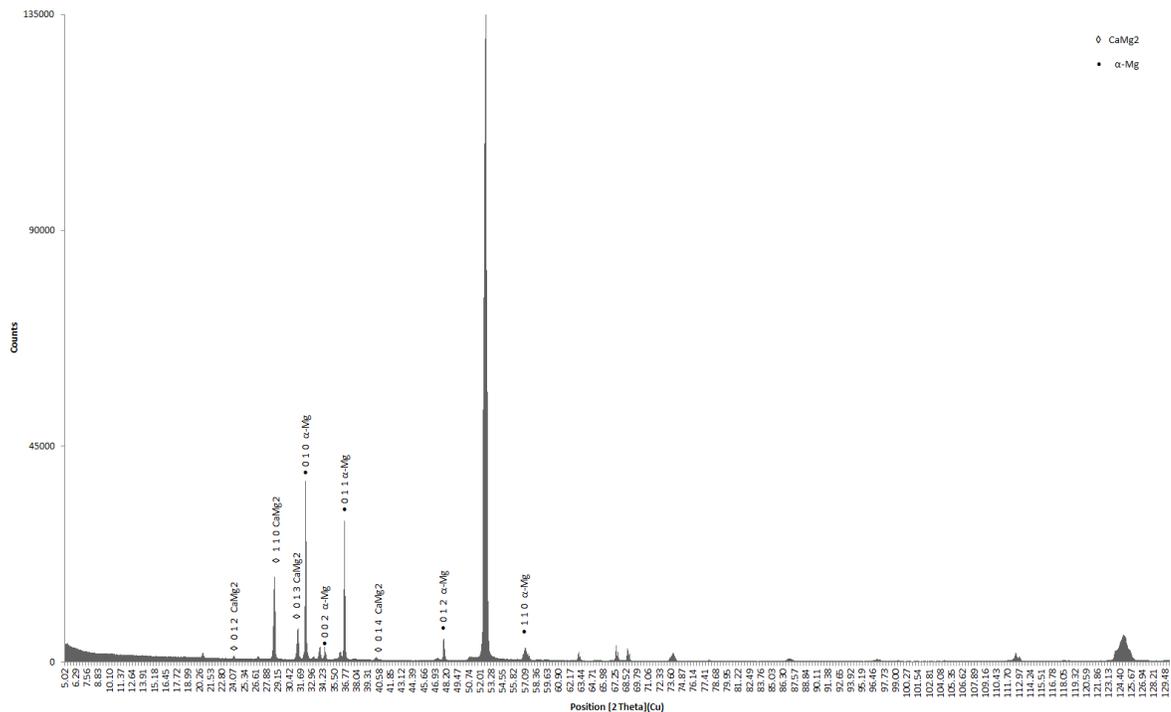
4.2 RESULTADOS XRD – Biofabricación.

La identificación de las fases secundarias se realizó por XRD, esta aleación está compuesta por las fases microestructurales α -Mg, CaMg_2 y MgO presentado como una periclase, una forma cúbica de óxido de Mg, no fue posible detectar ninguna fase como producto de Zn. Mguni et al postulan en su experimentación que la periclase en forma de MgO detectada por XRD cristaliza directamente a partir de nano-láminas.[300-302] Las fases formadas no representan impurezas que perjudiquen la viabilidad celular de la aleación. [266].

En la [gráfica 4.1](#) se muestra el patrón de difracción y la identificación de las fases CaMg_2 y α -Mg, no todas las reflexiones concuerdan con la fase MgCa_2 , presentando una fuerte orientación preferencial en el plano (1 2 3) y confirmando que existen reflexiones que no coinciden con cualquier compuesto de Mg, Ca, las reflexiones más intensas sin coincidencia son las de los ángulos 52.63 y 73.85

theta. Ramírez et al, reportaron un efecto similar en una aleación de Mg-Zn-Al, aunque puede deberse a los límites de sensibilidad de XRD, reportaron una relación plana con la fase de MgO [215].

El Zn no está presente en la sección de la muestra analizada por difracción XRD, lo que sugiere que podría deberse a la orientación preferencial de la muestra. Fuzeng Ren et al, informaron en su trabajo que la adición de Zn inhibe la cristalización de compuestos de hidroxiapatita.[303]. Tripathy et al, presentaron evidencia de que las soluciones sólidas de hidroxiapatita de Zn-Ca dan como resultado valores incoherentes en las constantes de celosía y los patrones de difracción. [304][305].



Gráfica 4.1 Patrón de difracción Mg – 25 wt% Ca + 5 wt% Zn.

Hay una reducción en el grado de cristalización de las fases, el aumento de Zn y la disminución de Ca en una aleación de Mg modificará los parámetros de la red a y c , que se pueden determinar mediante el método de refinamiento de Rietveld.

4.3 RESULTADOS TEM – Biofabricación.

En la [figura 4.3](#) se muestran imágenes de campo claro y campo oscuro obtenidas por TEM además de la preparación FIB de una laminilla para observación por TEM. La [figura 4.4](#) muestra la medición lineal de los anillos del patrón de difracción resultante, se muestran dos patrones para resaltar la identificación de todas las fases previamente detectadas por XRD, la medición del anillo está directamente relacionada con el valor más cercano correspondiente a la distancia interplanar, d (Å) de las tablas de difracción e indexación para cada plano correspondiente, esto para las fases α -Mg, CaMg₂ y MgO, respectivamente con el código de referencia del compuesto, 01-1141, 13-0450 y 04-0829. Las [figuras 4.5](#), [4.6](#) y [4.7](#) muestran imágenes de HRTEM y su medición interplanar relacionada con el plano de difracción de fase. La [figura 4.5](#) muestra imágenes HRTEM, tomadas de los sitios marcados con A, B y C. La imagen A muestra la medida de la distancia interplanar de la fase MgO, que corresponde a 2.106 Å en el plano (2 0 0), en la escala de 1nm, la imagen fue tomada a 1.25 magnificaciones de aumentos mediante la técnica de campo brillante. La imagen B muestra el espacio interplanar d_2 para la fase MgO y corresponde a 2,42 Å en el plano (1 1 1). La imagen C muestra el espacio interplanar 3 de la fase α -Mg Y corresponde a 2,60 Å en el plano (0 0 2). Se observa en la [figura 4.6](#), imágenes HRTEM, tomadas de los sitios marcados por A, B y C. La imagen A muestra la

medida de la distancia interplanar d_6 de la fase α -Mg, que corresponde a 2,45 Å en el plano (1 0 1), en la escala de 1 nm. La imagen B muestra el espacio interplanar d_4 para la fase CaMg₂ y corresponde a 2,29 Å en los planos (1 0 4). La imagen C muestra el espacio interplanar d_5 de la fase CaMg₂ y corresponde a 3,14 Å en el plano (1 1 0). Se observa en la [figura 4.7](#), imágenes HRTEM, tomadas de los sitios marcados por A, B y C. La imagen A muestra la medida de la distancia interplanar d_7 de la fase CaMg₂, que corresponde a 2.87 Å en los planos 1 0 3, en la escala de 1 nm. La imagen B muestra el espacio interplanar d_8 para la fase CaMg₂ y corresponde a 2,40 Å en los 2 0 2 planos. La imagen C muestra el espacio interplanar d_9 de la fase α -Mg y corresponde a 2.77 Å en el plano 1 0 0.

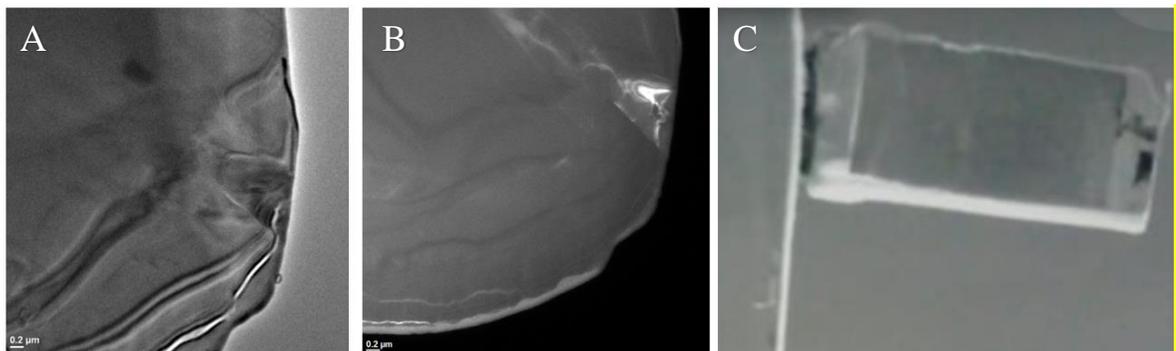


Figura 4.3 Campo claro, campo oscuro y preparación de laminillas por Focus ion Beam (FIB). A) Sección lamela tomada por campo oscuro. B) Sección por campo claro. C) Lamela adelgazada por FIB, con iones de Galio.

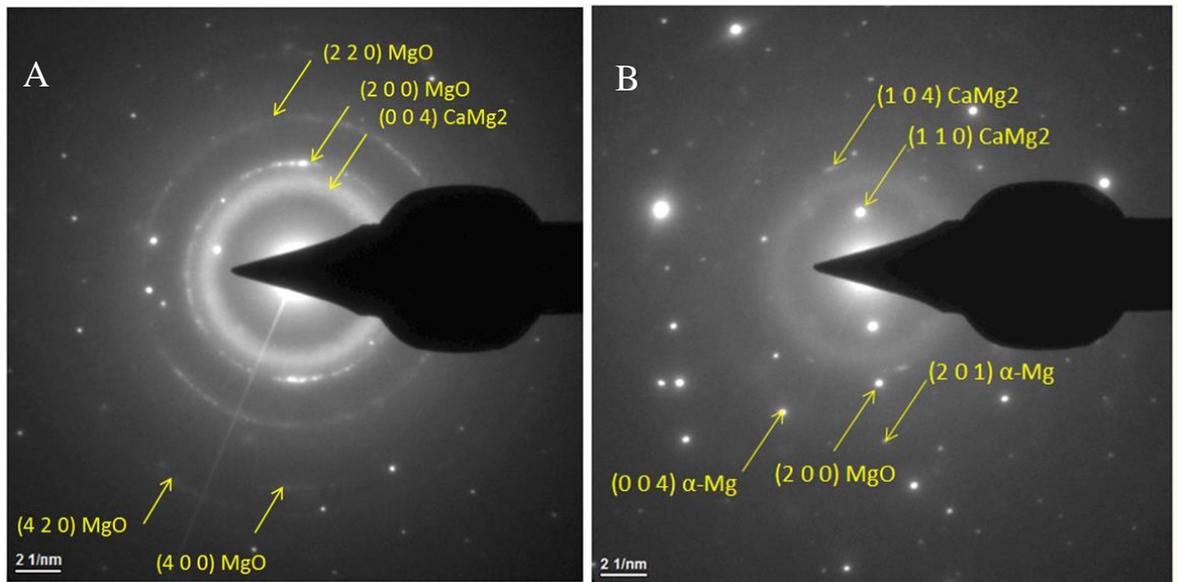


Figura 4.4 Patrones de difracción e identificación de las fases α -Mg, CaMg₂ y MgO identificadas por XRD, referenciadas a las cartas de difracción del Centro internacional de datos de difracción (ICDD) A) Identificación de fases MgO, CaMg₂. B) Identificación de fase α - Mg.

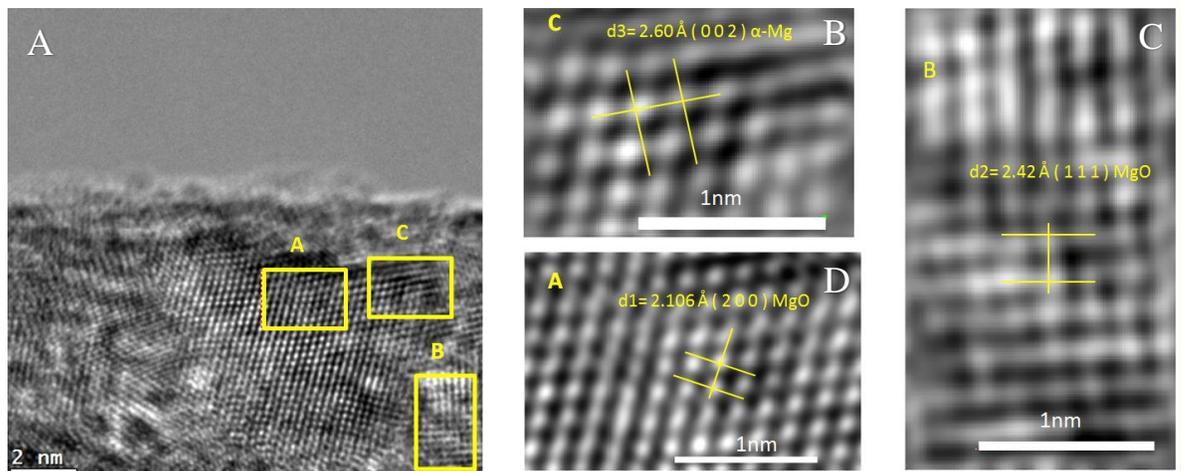


Figura 4.5 Identificación del plano con respecto a la medición del espacio interplanar en imágenes de Mg - 25% en peso de Ca - 5% en peso de Zn, HRTEM tomadas de los sitios marcados A, B y C. Se observa relación con MgO y α -Mg.

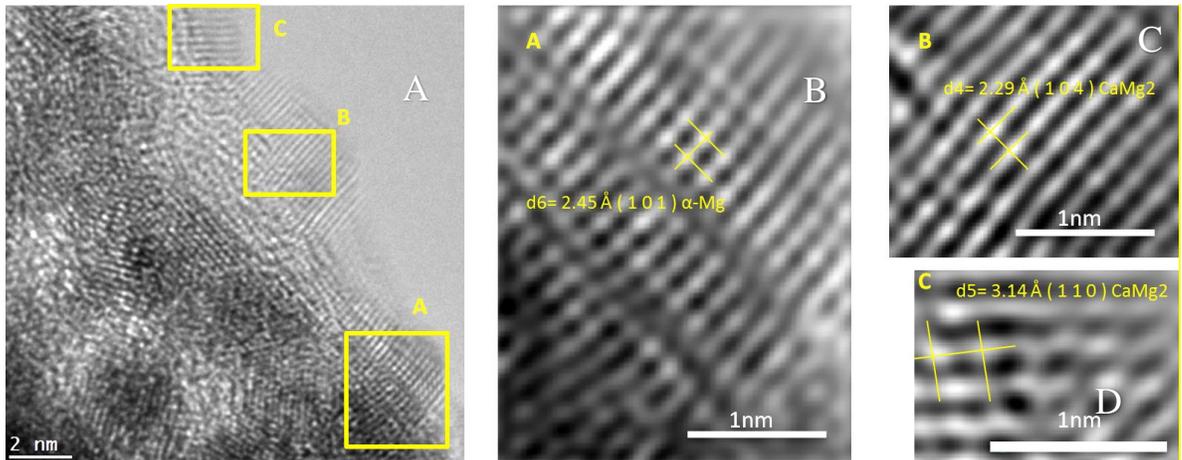


Figura 4.6 Identificación del plano con respecto a la medición del espacio interplanar en imágenes de Mg - 25% en peso de Ca - 5% en peso de Zn, HRTEM tomadas de los sitios marcados A, B y C. Se observa su relación entre $\alpha\text{-Mg}$ y CaMg_2 .

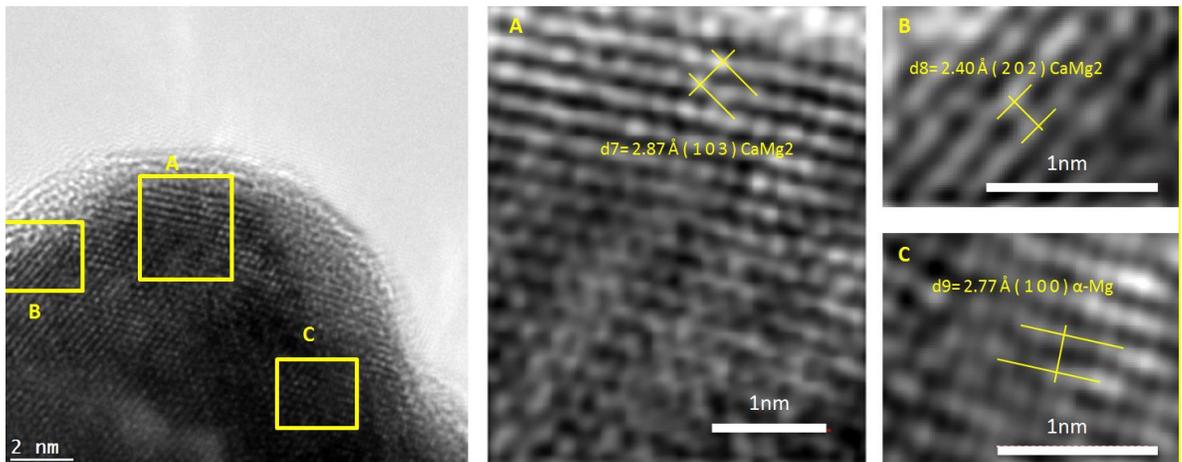
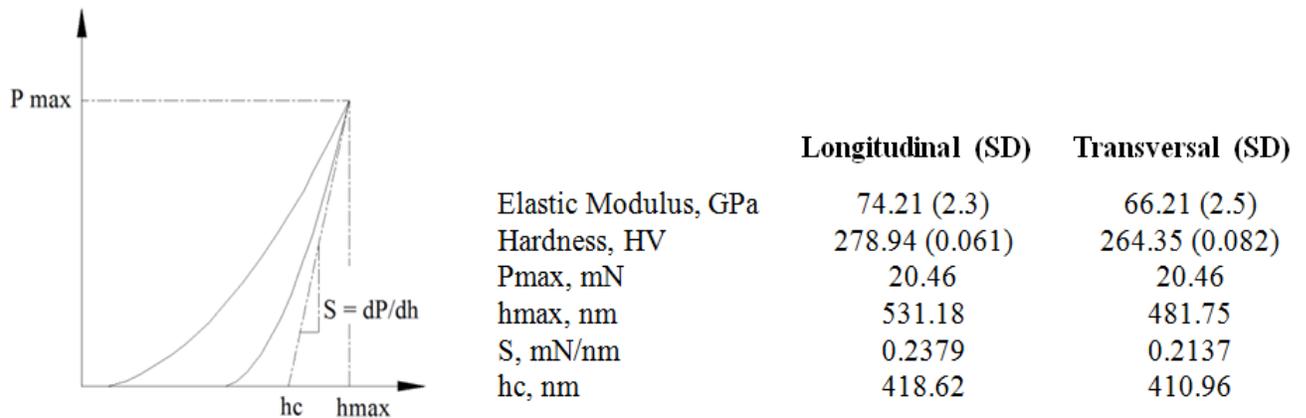


Figura 4.7 Identificación del plano con respecto a la medición del espacio interplanar en Mg - 25% en peso de Ca - 5% en peso de Zn, imágenes HRTEM tomadas de los sitios marcados A, B y C. Se observa su relación entre CaMg_2 y $\alpha\text{-Mg}$.

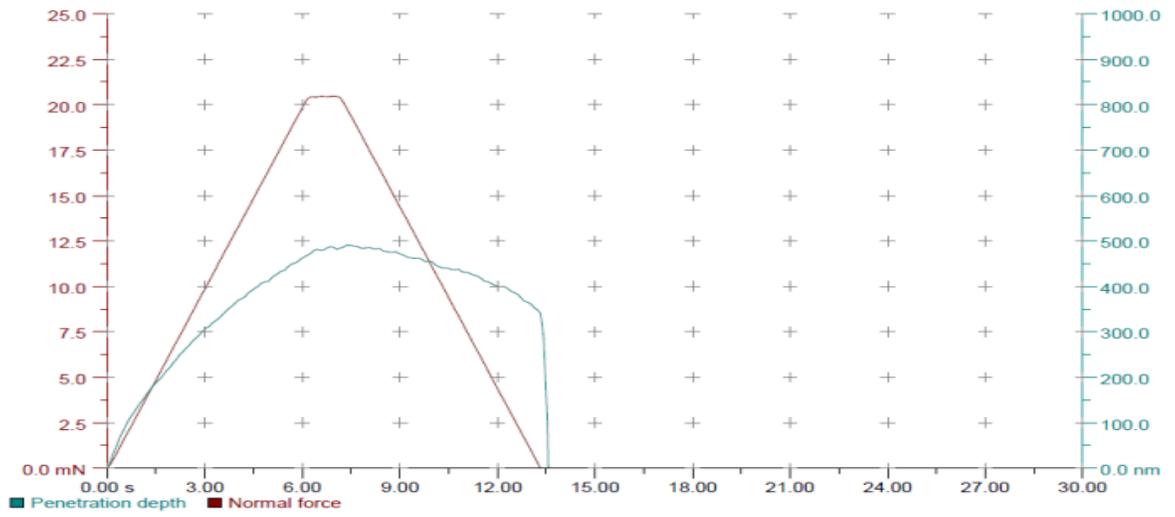
4.4 RESULTADOS MICRO INDENTACION – Biofabricación.

Las propiedades mecánicas de la aleación Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn se determinaron en dirección longitudinal y transversal mediante micro indentación, se realizaron 9 mediciones individuales para cada dirección para mapear las áreas del material debido a la fragilidad presentada. La [gráfica 4.1.1](#) muestra los valores promedio obtenidos a partir de las 9 mediciones de micro-indentaciones longitudinales y transversales. La desviación estándar (SD) representa el promedio de las indentaciones hechas para cada dirección; no están relacionados con el lugar exacto en el material Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn.

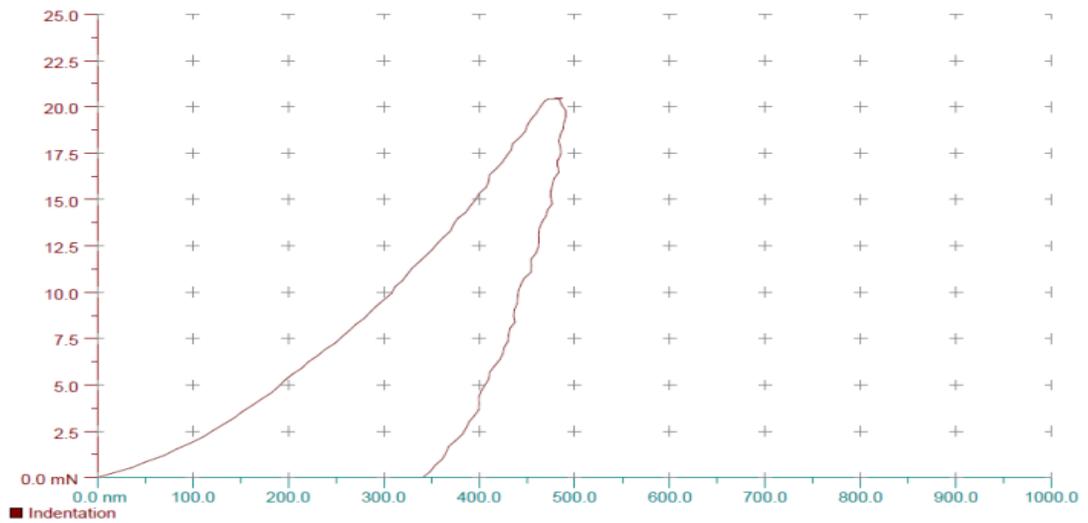


Gráfica 4.1.1 Curva carga-desplazamiento, hmax: penetración máxima, S: curva de descarga tangente (rigidez), hc: profundidad de contacto. Módulos elásticos y dureza para Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn.

En las [gráficas 4.2](#) y [4.3](#), se observan las curvas fuerza-profundidad de penetración y fuerza-indentación de la medición promedio correspondiente a la dirección transversal. Estos valores corresponden a Pmax: 20,46 mN, hmax: 481,75 nm, S: 0,2137 mN / nm, hc: 410,96 nm.



Gráfica 4.2 Profundidad de fuerza de penetración.

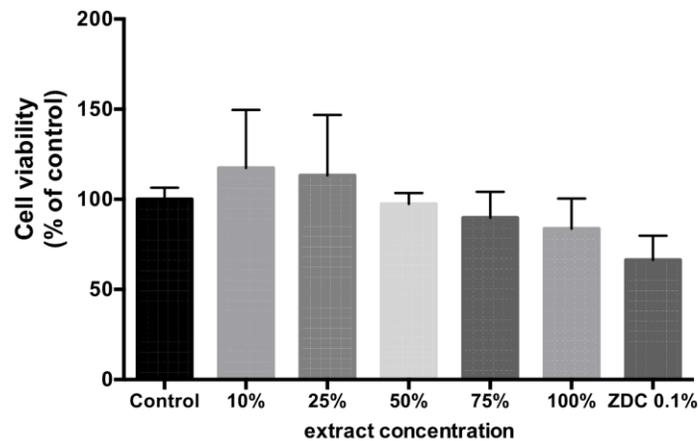


Gráfica 4.3 Fuerza - Indentación

4.5 RESULTADOS VIABILIDAD CELULAR – Biofabricación.

Los extractos de aleación de Mg-25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn no indujeron ningún cambio o impacto en la viabilidad o morfología celular, descartando cualquier efecto perjudicial. (Ver [figura 4.8](#)) La osmolalidad provocada por el Mg debe tenerse en cuenta como efecto que producirá estrés celular. [294].

Se puede notar que, en ninguna de las soluciones seriadas, incluida la concentración de extracto al 100%, hubo una disminución de la actividad metabólica que afecta la viabilidad celular, y este resultado verifica que la selección de elementos para una aleación biomédica de la fundición, como se menciona al inicio de este trabajo, se vuelve una estrategia clave y de vanguardia para el desarrollo de nuevas aleaciones biomédicas, aún se necesita trabajar para mejorar las propiedades mecánicas. Sin embargo, este resultado es un elemento de juicio que contribuirá a lograr la regulación sanitaria del Mg como biomaterial para la fabricación de implantes. Ramírez et al presentaron una definición del proceso natural a la hora de seleccionar elementos y lo denominaron diseño bioinspirado.[215].



Gráfica 4.4 El efecto de extractos de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn en la viabilidad de los fibroblastos murinos L-929.

La gráfica representa los resultados obtenidos después de 48 horas de incubación con diluciones no en serie de extractos de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn según se analizó mediante el ensayo de absorción de rojo neutro (n = 4). Los datos se expresan como medio \pm desviación estándar en porcentaje con respecto al control (medio de cultivo celular). Nótese que no existen diferencias significativas entre tratamientos, $P > 0.05$.

La actividad metabólica celular (viabilidad) de las células L-929 adheridas expuestas a extractos originales de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn se comparó con las células no tratadas (control negativo; CTRL) y las células tratadas con el dietilditiocarbamato de zinc citotóxico (ZDC) después de dos días de las mismas condiciones de cultivo. (Figura 4.8A)

El fibroblasto murino L-929 experimentó un resultado no citotóxico en una forma de respuesta a la dosis cuando se expuso durante 24 o 48 h a concentraciones

incrementales de extractos originales de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn. (Figura 4.8B) El efecto extendido de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de extracto de Zn sobre la viabilidad celular no fue comparable al de la molécula citotóxica dietilditiocarbamato de zinc (ZDC 0.1%) Gráfica 4.4. No hubo redondeo ni lisado en las células, se observaron monocapas y un crecimiento. Mientras que en los cultivos celulares expuestos a extractos de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn hay adhesión celular, pero no hay gránulos intracitoplasmáticos evidentes ni cambios morfológicos, se observa el% de inhibición del crecimiento. Los extractos de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn no indujeron ninguna reducción en la viabilidad celular ni en la morfología celular, descartando cualquier efecto perjudicial sobre las células.

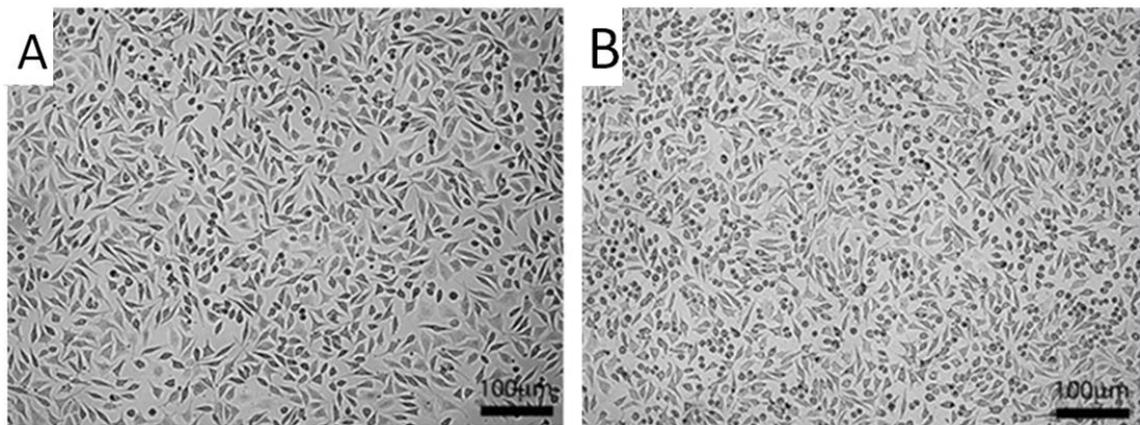


Figura 4.8 A y B Micrografías representativas de células no expuestas (control negativo; A) y células B expuestas a los extractos originales de Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn después de dos días de las mismas condiciones de cultivo. Ampliación 10x, barra de escala 100 µm.

4.6 Validación por el método de elementos finitos, progresión de carga versus comparación con DBM – Biofabricación.

Se realizó una simulación FEM utilizando el software Ansys 15 para visualizar el comportamiento mecánico de la aleación y su respuesta a los modos de falla. A partir de la información obtenida de las pruebas experimentales de micro-indentación, se construye un modelo in silico válido para su comparación con DBM. La intención es mostrar su integridad y rendimiento como una alternativa al material DBM. Se realizó una simulación bilineal isotrópica creando el material Mg - 25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn, las propiedades utilizadas fueron módulo de Young 74.2 GPa (Longitudinal), Poisson 0.30 (obtenido por micro-indentación), utilizando una tabla para tabular el comportamiento del material. El límite elástico a la tensión se configuró en 50 MPa y la resistencia a la tracción última en 290 MPa, la deformación que puede soportar el material corresponde a 0.017 mm / mm.[159] El modelo consta de 30887 nodos y 17779 SOLID 186 elementos; Se activó una gran deflexión para controlar la deformación. (Ver [Figura 4.9](#)) Las condiciones de frontera fueron 1 apoyo fijo en la cara lateral y aplicación de fuerza de compresión por 8.31 N. La deformación elástica máxima fue 0.01703 mm / mm, mientras que el esfuerzo máximo que soporta antes de la falla corresponde a 0.447 MPa. Al comparar estos valores con las propiedades mecánicas del DBM, es que se comprueba que la aleación propuesta Mg - 25wt% Ca - 5wt% Zn puede utilizarse como una alternativa viable para reemplazar hueso de cadáver, desde la perspectiva de biocompatibilidad, los elementos utilizados y los productos de las fases creadas no representan un efecto citotóxico según

ISO-10993, se han relacionado Mg, Ca y Zn como elementos que favorecen la osteointegración y la osteogénesis. Sudeep Paul, Anvari-Yazdi et al, demostraron que elementos como el Ca y el Zn tienen un efecto neutral sobre las células madre mesenquimales derivadas del tejido adiposo, lo cual concuerda con lo demostrado por Chaoxing Zhang et al. [306][307]

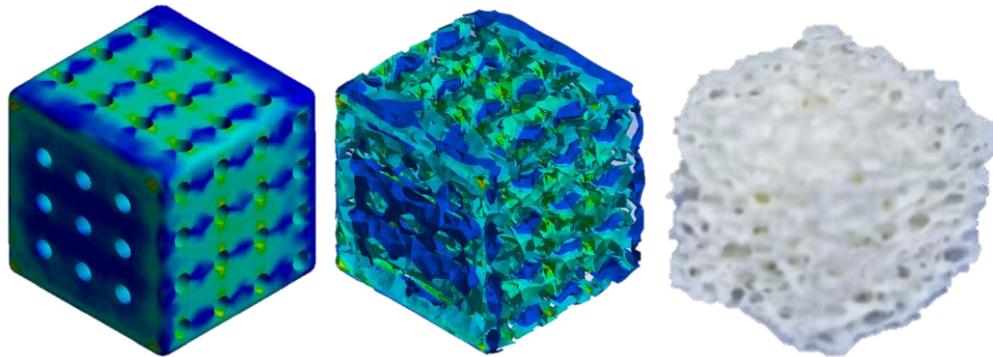


Figura 4.9 Progresión de la carga del andamio y comparación con DBM.

4.7 Discusión: Bio-Fabricación y validación experimental de una aleación de Mg - 25 Ca - 5 Zn propuesta para un andamio metálico poroso.

Iniciar el proceso a partir de una aleación maestra con los porcentajes aproximados de la composición deseada será la mejor alternativa debido a la viabilidad económico-ambiental de la fundición de aleaciones de Mg con fines biomédicos.

En cuanto a la liberación de iones nocivos, Cicha et al, proponen utilizar elementos ferríticos para aplicaciones cardiovasculares, esto con el fin de poder recuperar iones metálicos disueltos con adherencia de células endoteliales por magnetismo y evaluar el beneficio terapéutico [308][309]. Al utilizar aleaciones

base Mg, esto no sería posible principalmente debido a los iones Mg debido a su característica paramagnética, si este fenómeno de estudio es de interés, una buena estrategia sería dopar Mg con elementos como Nd para promover una recuperación parcial de iones metálicos donde se puede muestrear el efecto sobre los iones Nd. Una ventaja de su uso es que el Nd actúa como refinador de granos, contribuyendo a la integridad mecánica, sin embargo, su potencial toxicológico ha limitado su uso en dispositivos médicos. [310][311], una posible alternativa para usarlo en un límite de exposición seguro y con precauciones de bioseguridad, podría implementarse a través de la técnica de reclutamiento de células magnéticas propuesta por Cicha.

La contribución de la fase $MgCa_2$ al comportamiento mecánico de la aleación está relacionada con la morfología de la fase lamelar eutéctica que proporciona la fragilidad característica y tiene la implicación de que el punto de fusión de la fase está por debajo del punto de fusión de ambos constituyentes principales. La solidificación de las laminillas entrelazadas explica la naturaleza de la fragilidad del material. El desarrollo y uso médico de las aleaciones de Mg se ha visto limitado debido a la mala formación de sistemas deslizantes que inducen baja ductilidad, volviéndose más complicado el agregar elementos aleantes para reforzar la matriz de la aleación.[289]. La adición de elementos puros como Ca y Zn para formar esta aleación de base-Mg estará restringida debido a los límites de solubilidad de los elementos. Entender la formación de cada una de las fases y comprobar la orientación preferencial del grano en la caracterización morfológica indicaría la afectación de las aleaciones de Mg al transformarse por

fusión o deformación mecánica, aportando evidencia de que se produce una recristalización dinámica.[312][313]. Park et al, han informado que tanto la deformación plástica como el proceso de difusión atómica inducen una orientación preferencial del grano [314]. La existencia de anillos de difracción difusa es un indicador del reemplazo de iones Mg por Ca, hubo variación en intensidad y circunferencia, este fenómeno también fue reportado por Bowen. [291]. La orientación cristalina (textura) tiene un impacto en la degradación de las aleaciones de Mg. [315] Este impacto es mayor en la aplicación, si el flujo del fluido corporal afecta la orientación normal a la superficie, cuando la superficie del Mg se expone al flujo de un fluido corporal, la bio-erosión producida por el fluido que incide en el material acelera la degradación, para prolongar la vida de un implante de Mg, se debe recomendar en técnicas quirúrgicas cuidar la colocación, evitando en lo posible que el implante quede expuesto a un flujo sanguíneo que incida perpendicularmente en la superficie, considerando este efecto se puede mejorar el rendimiento de un dispositivo médico fabricado en Mg, adicionalmente trabajo previo de concientización debe hacerse con los fabricantes. Profundizar en la caracterización de la textura de un implante de MgCa depende en gran medida del comportamiento de la aleación, incluso cuando se mejora la textura, el comportamiento de las aleaciones de MgCa mostrará tendencias hacia la fragilidad.[316][317] Se han realizado varios esfuerzos para mejorar el proceso de fundición y, en consecuencia, las propiedades mecánicas de las aleaciones de MgCa. [248] Sin embargo, por mucho que se pueda mejorar el proceso, se debe considerar que las fases lamelares eutécticas que se originan siempre estarán presentes en la

incorporación de Ca a Mg, la homogeneización por las mejoras en el proceso fundición plantean incrementar la biocompatibilidad [318-321], sin embargo, las características de las morfologías reportadas indican una fuerte inclinación hacia la fragilidad.

Las propiedades mecánicas también se ven afectadas por la orientación del grano, provocando cambios microestructurales debido al alargamiento de los propios granos y esto se refleja en sus componentes elásticos, induciendo anisotropía.[322-326]

La combinación de técnicas SEM-EDS, XRD y TEM permite comprender la importancia de cada fase microestructural y su efecto. Los twins dentro de los granos pueden prevenir las dislocaciones de las bandas de deslizamiento. La fase α -Mg normaliza la matriz de MgCa₂ y evita la aceleración de la degradación.[327].

En la [figura 4.1](#) se puede apreciar una morfología no homogeneizada, y es lógico ya que lo ideal es fundir estos materiales al vacío y centrifugarlos, sin embargo, se logra una difusión de Zn sobre MgCa, que es la parte más importante del trabajo porque permite realizar la evaluación de la viabilidad celular directamente a partir del material.

Se observaron rastros de corrosión por picadura durante el análisis SEM-EDS que indican que la aleación es resistente a la corrosión, sin embargo, esta corrosión actuará como un concentrador de esfuerzos y el proceso de degradación comenzará tan pronto como el material sea afectado

superficialmente, disminuyendo las propiedades mecánicas y conduciendo a una eventual disolución[328]. La distribución de los esfuerzos mecánicos no es homogénea en todo el material debido a la orientación cristalográfica y las segundas fases que inician la nucleación del material, generando también grietas, poros y precipitados. Cesarz et al, informaron que las partículas de Ca disueltas pueden precipitar y formar capas anticorrosivas que ralentizan la degradación. [329][330].

Es posible que no se detecte Zn porque solo hay pequeñas cantidades en la aleación, sin embargo, ya se ha reportado que en la difracción de Mg-Zn, solo la intensidad de difracción de la fase α -Mg se ha detectado. Yan Jingli, informó que al disminuir la velocidad de escaneo durante el análisis XRD, se revela la formación de picos de difracción débiles de la fase $MgZn_2$, como los formados y no identificados en el resultado mostrado para XRD (Ver [gráfica 4.1](#)). La falta de identificación de las fases de Zn se puede atribuir a múltiples causas, incluida una posible reorientación preferencial durante la preparación de las muestras, lamentablemente Yan Jingli no reporta una velocidad de escaneo para la detección de las fases de $MgZn_2$ por XRD, el valor utilizado en este el trabajo corresponde a un tiempo de escaneo [s], 59.69, lo que sugiere que se debe usar una velocidad más baja. Un reordenamiento atómico por un mecanismo como el endurecimiento de la deformación aumentará la intensidad de Zn [316]. La disposición reticular estructurada en la generación de fases cuasi cristalinas ha mostrado excelentes propiedades mecánicas, reduciendo el coeficiente de fricción y la resistencia a la corrosión. [331].

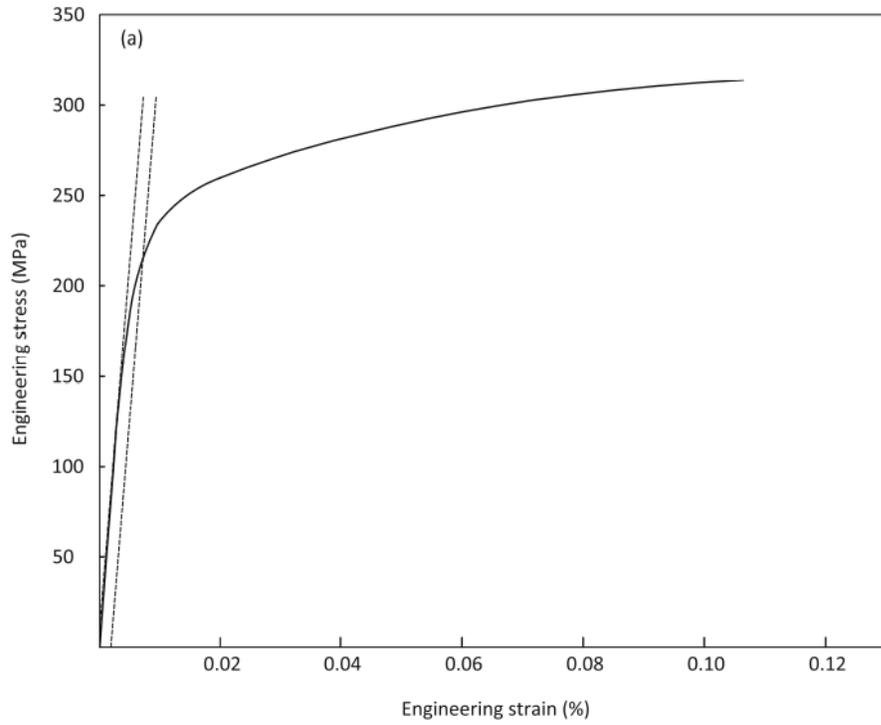
Esta aleación presenta un fenómeno por precipitados donde no aparecen los picos de Zn, podría explicarse como la falta de reordenamiento y lo que existió fue una orientación preferencial debido al proceso de lijado al pulir la muestra, o bien, otra posible causa sería cuando los elementos se fundían se depositaron superficialmente y se aglomeraron, lo que hace que se eliminen con papel de lija cuando se produce un pulido o una reorientación preferencial. Una recomendación en la continuación de este trabajo sería evitar el aumento de la temperatura por encima de 200 ° C en la superficie de un implante hecho de aleación de MgZn, esto minimizará la modificación microestructural [256][332]. La corrosión galvánica que se produce entre el Mg y el Zn genera una rápida disolución de las fases secundarias, debilitando la matriz de Mg, esto explica el potencial bioactivo que generan estos elementos actuando juntos en una aleación. Tripathy, informó que se podrían preparar soluciones sólidas de Zn - Ca en todo el rango de composiciones, aunque se observaron valores incoherentes de los parámetros de rejilla y patrones de difracción, a través del estudio por el método ritveld se determinó que los parámetros cambian al agregar Zn [305][303]. Los resultados mostrados de micro -indentación corresponden al valor promedio de 9 ensayos para orientación longitudinal y transversal, en la mitad superior de la curva carga vs desplazamiento se encuentran los datos con los que se calculan el módulo elástico (E) y la dureza H (VK.), Durante La aplicación de carga, deformaciones elásticas y plásticas ocurren debajo del penetrador a medida que los contactos cambian más profundamente. La parte de descarga de la curva está dominada por desplazamientos elásticos. El penetrador de diamante tiene un $V = 0.07$ y un $E = 1140$ GPa, el material Mg -

25% en peso de Ca + 5% en peso de Zn tiene un $V = 0.30$, a través de estudios de sensibilidad se ha determinado que las variaciones en el rango de 0.2-0.4 en V , presentará una variación del módulo elástico E no mayor al 8%. La determinación del módulo elástico derivado del método de Oliver y Pharr consiste en un promedio de las constantes elásticas isotrópicas, sin embargo, para un material anisotrópico se ha determinado que las medidas están inclinadas hacia el módulo elástico en la dirección del ensayo. Para un material que exhibe una estructura HCP, la determinación del módulo de elasticidad solo considera la dirección normal, subestimando los otros componentes elásticos por monocristalinidad, la influencia de las constantes elásticas que ocurren en un material ortotrópico son de vital importancia para comprender el comportamiento del material. Los resultados de viabilidad celular en la aleación Mg – Ca – Zn muestran, como los fibroblastos tienden a adherirse a la superficie y se observa una morfología poligonal alargada, esto si son sanos y normales. Y si presentan un aspecto degradado y morfología esférica además del desprendimiento de la superficie, suelen indicar muerte celular, que no se observa. Como perspectivas complementarias a la viabilidad celular se recomienda ampliamente utilizar análisis que representen la dinámica celular mediante el monitoreo de las propiedades celulares en tiempo real, se desea conocer la adherencia a superficies no plegables, proliferación y migración celular.[333 - 337] Viz, Yang et al informaron de un aumento en la viabilidad celular de los osteoblastos que reducen el daño del ADN en la formación de hueso nuevo utilizando aleaciones de Zn-Mg. [338].

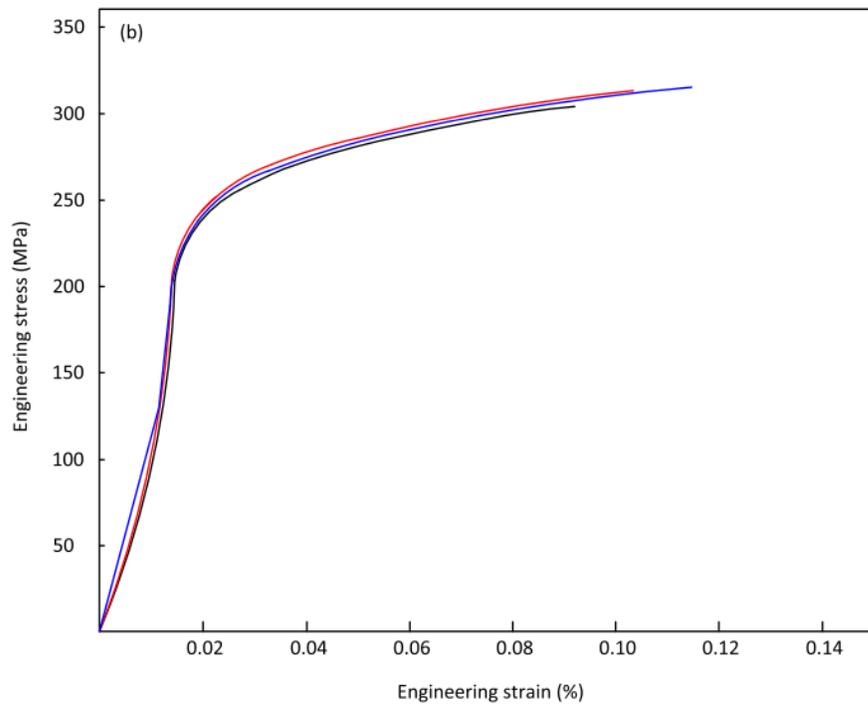
4.8 Pruebas mecánicas – Efectos in vitro.

Efecto de la esterilización sobre la respuesta dinámica de 3 puntos a la flexión in vitro de un implante de Mg.

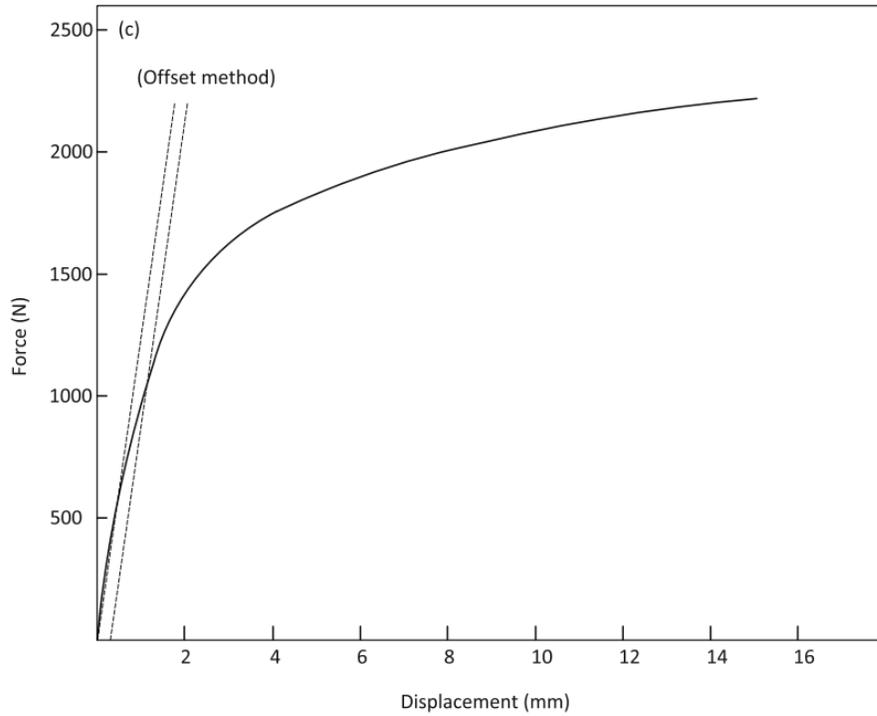
Las gráficas 4.5 y 4.6 muestran la curva de esfuerzo - deformación para el material ensayado, permitiendo un análisis del comportamiento de los materiales a someter a una prueba simple de esfuerzo referida a una deformación del 0,2%. La [gráfica 4.5](#) muestra estabilidad en las tres pruebas con variaciones mínimas en la obtención de los valores medios. El esfuerzo a la fluencia se obtuvo a 212 MPa y la resistencia a la tensión del material de la barra de fundición WE43 fue 314 MPa con un porcentaje de deformación del 10% y un módulo elástico de 40 GPa. Un total de tres pruebas fueron realizadas con la muestra apoyada en los rodillos de sección cónica circular como se muestra en la figura 3.8 b. La aplicación de carga fue utilizando una sección cilíndrica, rodillo montado en el soporte superior. La celda de carga se calibró y se configuró el sistema de adquisición de carga y desplazamiento. Los resultados de las tres pruebas se muestran en la [gráfica 4.8](#) donde se muestran las fuerzas y los desplazamientos máximos. La [gráfica 4.7](#) muestra los valores promedios de fuerzas y desplazamientos de las tres pruebas realizadas en las probetas. En ella se puede observar que la fuerza máxima es 2219.77 N, y el desplazamiento correspondiente es 15,08 mm. La fuerza de flexión soportada por las muestras WE43 de 9.54 X 114 mm (mostrada en las [gráficas 4.7](#) y [4.8](#)) nos permiten realizar un análisis del comportamiento de la muestra cuando se somete a flexión de 3 puntos.



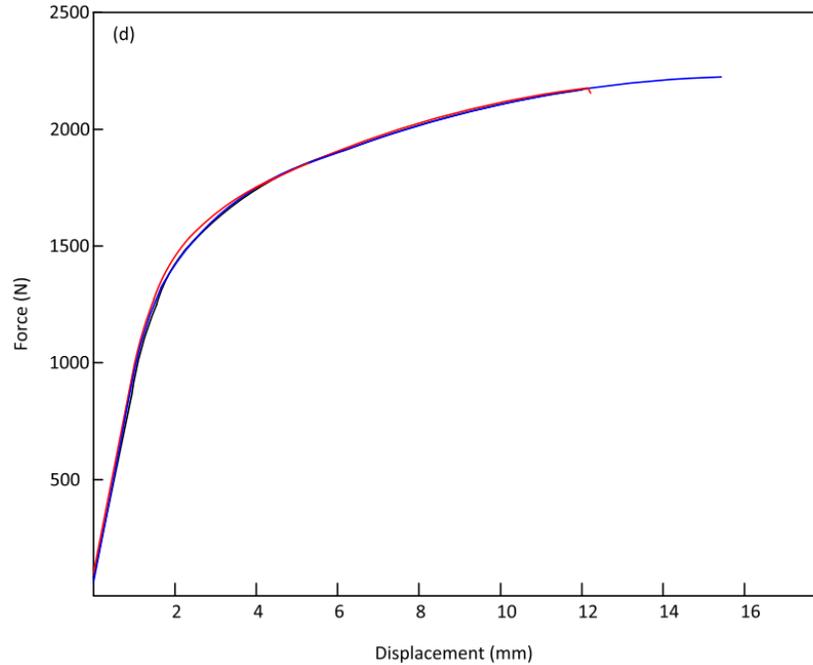
Gráfica 4.5 Curva de esfuerzo-deformación promedio obtenida por tensión simple.



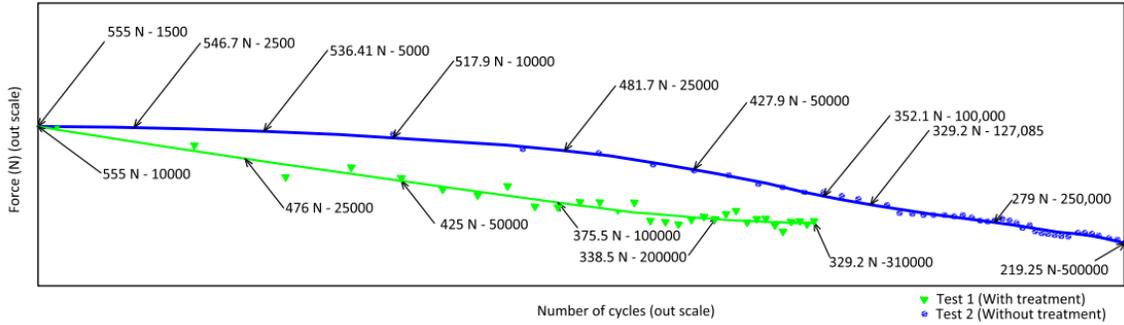
Gráfica 4.6 Curva de esfuerzo-deformación de 3 especímenes probados a tensión simple.



Gráfica 4.7 Valores promedio de fuerza - desplazamiento obtenidos por flexión simple.



Gráfica 4.8 Valores de fuerza – desplazamiento de 3 pruebas a flexión simple.



Gráfica 4.9 Efecto detrimental de la esterilización por autoclave, al compararse prueba 1 (verde) que recibe esterilización y aclimatación en contra del resultado de la prueba 2 (azul) sin esterilización, en ambas pruebas se cumple el protocolo de control aséptico y aclimatación.

La [gráfica 4.8](#) muestra la estabilidad en las pruebas con variaciones mínimas no significativas. Para las tres pruebas, no hubo fracturas o problemas en los especímenes. De acuerdo con la norma ASTM F-1264-03, se demostró que los datos de fuerza y desplazamiento corresponden a 1057,14 N y 1,15 mm, respectivamente. Se muestra en el cálculo inferior, la rigidez de las probetas de 919,13 N /mm. Según lo establecido por la norma ASTM F1264–03, se pueden calcular los datos de fuerza y momento al 0,2%. a 1057,14 N y 23,782 N / mm como se muestra a continuación. Los resultados mostraron estabilidad con variaciones mínimas, no significativas y sin rastro de fracturas superficiales.

$$K = \frac{F}{y} = \frac{1057}{1.15} = \frac{919.13N}{mm} \quad (\text{Ecuación 4.1})$$

$$My = \frac{F0.2\% S}{2} = \frac{1057*45}{2} = 23,782 \frac{N}{mm} \quad (\text{Ecuación 4.2})$$

$$Mmax = \frac{Fmax S}{2} = \frac{2219.77*45}{2} = 49,994 \text{ N/mm} \quad (\text{Ecuación 4.3})$$

$$El e = \frac{s^2(3L-4s)K}{12} = 2525 \frac{(90)919.13}{12} = 13.95 \text{ N/mm} \quad (\text{Ecuación 4.4})$$

Los resultados de las dos pruebas dinámicas de flexión por fatiga del sistema con el dispositivo y la muestra sometidos a carga cíclica de 0 a - 1 que es de 0 a - 555 N y de 0 a 500.000 ciclos se muestran en la [gráfica 4.9](#). Analizando los resultados de las pruebas dinámicas con las condiciones establecidas, el comportamiento dinámico del espécimen y el tiempo de degradación del espécimen bajo carga fueron determinados. Es posible establecer la calidad del elemento ensayado y permitir el siguiente análisis, los resultados de la muestra 1, que previamente fue sometida a un procedimiento de aclimatación y esterilización, presentaron la amplitud de carga frente al número de ciclos donde se puede ver que la fuerza tiene una variación entre 555 y 329,2 N durante toda la prueba, correspondiente a 310.000 ciclos (17 h y 13 min). Por lo tanto, la tasa de pérdida gradual de carga en la duración de la prueba fue de 225,8 N. Al linealizar este gráfico, a lo largo de la prueba hay una tasa de reducción de fuerza de 13,11 N / h. Los resultados de la muestra 2 (azul), que no se sometió al procedimiento de esterilización como la muestra 1, pero se sumergió en la solución de Hank para la prueba, presentó una amplitud de carga frente al número de ciclos, donde se puede observar que la fuerza tiene una variación entre 555 y 219,25 N durante toda la prueba, correspondiente a 500,000 ciclos (27 h y 46 min), por lo que la tasa de pérdida gradual de carga en la duración de la prueba fue de 335,75 N. Al linealizar el resultado, la muestra 2 tuvo una tasa de reducción de fuerza de 12,09 N / h. La [gráfica 4.9](#) proporciona una comparación visual de las dos pruebas, destacando el efecto de la esterilización en el espécimen. El inicio de las grietas por fatiga se produce internamente entre los límites de grano y las fases Intermetálicas a lo largo de las bandas de

deslizamiento, sin embargo, su propagación es independiente de su microestructura, la teoría de Griffith indica que los efectos perjudiciales sobre la integridad mecánica de una aleación de Mg se deben a la formación de las fases. Andrej Atrens et al., han informado que el agrietamiento por tensión puede ocurrir por debajo del 50% del límite elástico en aleaciones de Mg no ferrosas. La aleación WE43 no resiste periodos prolongados a fatiga, con respecto a un número muy alto de ciclos de fatiga, la aleación exhibe un comportamiento de predicción a la fatiga alto, sin embargo, este resultado clasifica a WE43 dentro de un ciclo de fatiga de alto régimen (HCF) 10^4 a $> 10^6$.

4.9 Análisis morfológico SEM-EDS, TEM y XRD – Efectos in vitro.

El análisis de la composición química, microestructura y cristalinidad de la aleación WE43 con respecto al resultado de pruebas mecánicas simples de tensión indica que la estructura cristalina del Mg HCP tiene una baja elongación en el rango de 9 a 11%. La forma en que se mecaniza un implante de Mg depende de la dirección de extrusión o rolado del material para aumentar la resistencia del implante. En general, hay homogeneización y segregación positiva de los elementos en el análisis por SEM-EDS, como se observa en la [figura 4.10](#). La estructura WE43 obtenida por TEM se presenta en la [figura 4.11](#). Imágenes obtenidas a través de HRTEM revelan el espaciado interplanar 0,253 nm, 0,179 nm y de 0,223 nm, respectivamente. [Figura 4.12](#) muestra las segundas fases ricas en α -Mg y Gd, Gd_{9.08} Mg_{45.9}, se detectaron Gd_{0.75} Mg_{0.25}. Los patrones de difracción SAED y los anillos de difracción de α -Mg,

Gd_{9.08} Mg_{45.9} y Gd_{0.75} Mg_{0.25} corresponden a la segunda fase que se pudo apreciar con la ayuda de un análisis XRD, [figura 4.10](#)

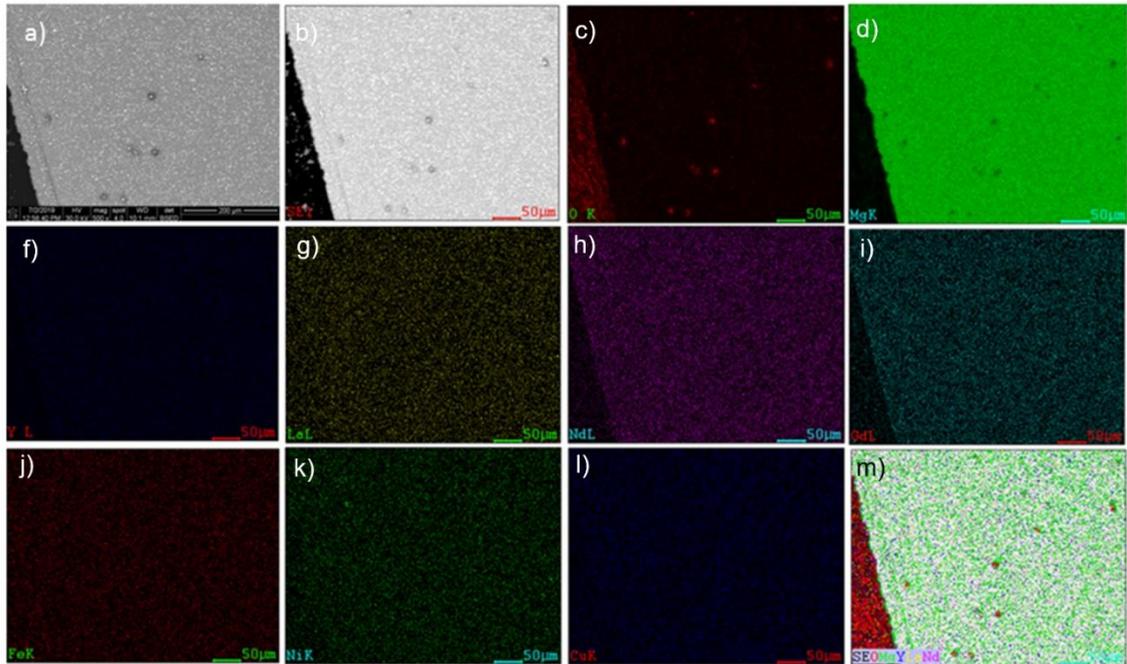


Figura 4.10 Mapeo de elementos mediante análisis de distribución SEM-EDS (O, Mg, Y, La, Nd, Gd, Fe, Ni y Cu) correspondiente a fases secundarias. a) sección analizada. b) muestra de corrosión. c) O. d) Mg. f) Y. g) La. h) Nd. i) Gd. j) Fe. k) Ni. l) Cu. m) señales integradas.

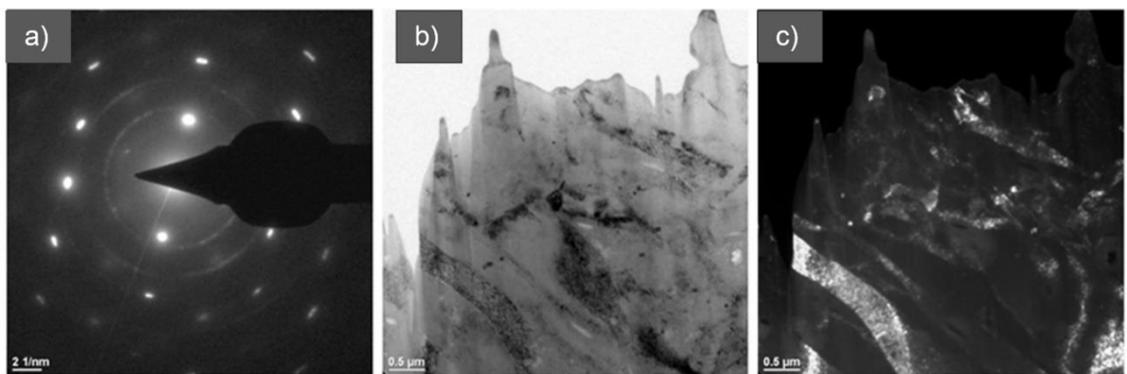


Figura 4.11 Patrón de difracción imagen; bajo examinación por TEM (campo claro, campo oscuro).

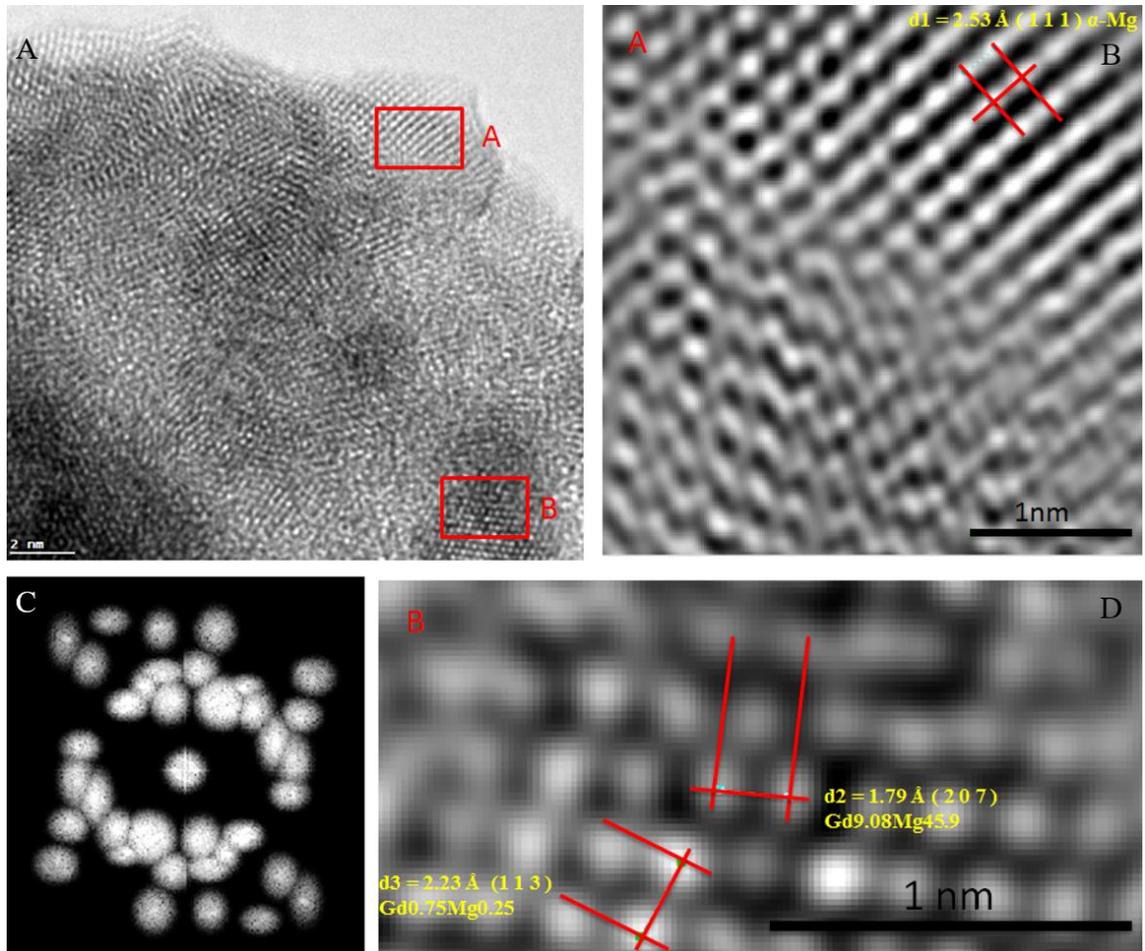


Figura 4.12 Segundas fases identificadas en WE43, α -Mg, $\text{Gd}_{9.08}\text{Mg}_{45.9}$ y $\text{Gd}_{0.75}\text{Mg}_{0.25}$, las imágenes HRTEM se tomaron de sitios específicos marcados con A y B. Imagen inferior izquierda, es un grupo de nanopartículas de tamaño uniforme y geometría cuasi- esférica de aproximadamente 5 nm

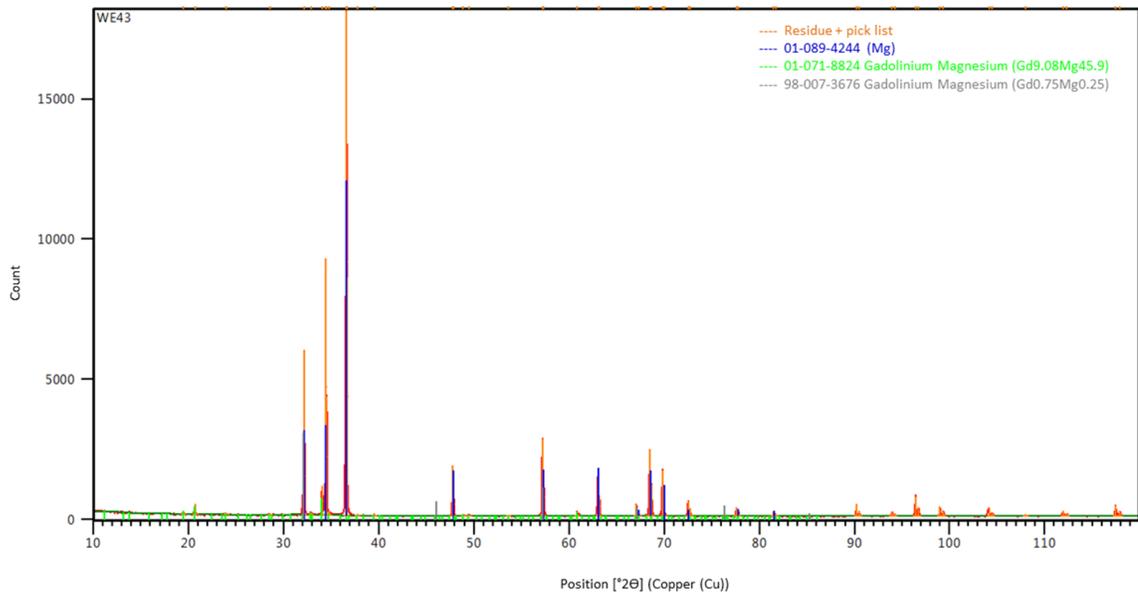
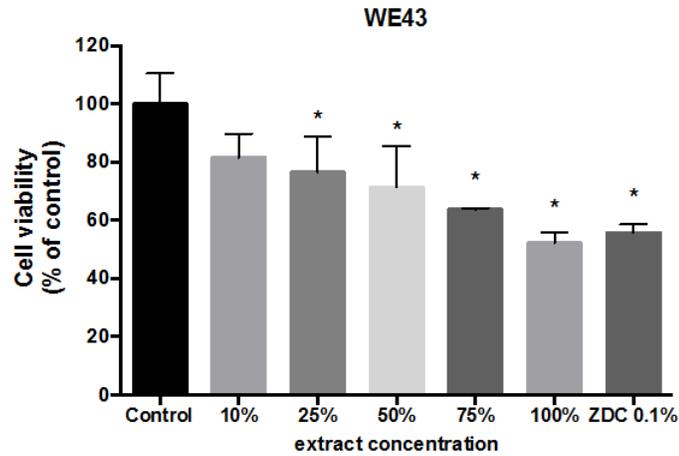


Figura 4.13 Patrones de difracción XRD de la aleación WE43 (No se detecta Zn debido a reorientación preferencial)

4.10 Resultados de citotoxicidad – Efectos in vitro.

Como se muestra en la [gráfica 4.10](#), los fibroblastos murinos L-929 se someten a muerte celular después de 48 h de exposición a concentraciones incrementales de extractos WE43 eluidos en una dosis de respuesta.

El impacto de los extractos de WE43 sin diluir en la viabilidad celular fue comparable a la molécula citotóxica dietilditiocarbamato de zinc (ZDC). Monocapas celulares todavía estaban presentes, pero más del 50% de las células estaban lisadas o redondeadas con intracitoplasma muy evidente, además de gránulos, cambios morfológicos y considerable inhibición del crecimiento fue observada en los extractos originales eluidos de WE43.



Gráfica 4.10 El efecto de los extractos WE43 en la viabilidad de fibroblastos murinos L-929.

La gráfica representa los resultados obtenidos después de 48 h de incubación con diluciones no seriadas de extractos de WE43 según lo analizado por el ensayo de rojo neutro (n = 4). Los datos se expresan como la media \pm desviación estándar en porcentaje relativo a las células de control (tratadas con medio de cultivo celular). * $P \leq 0,05$

4.11 Resultados integridad mecánica – Efectos in vitro.

Se realizó una simulación por elemento finito como herramienta para visualizar la integridad mecánica de los límites de grano. Para las áreas de interés, justo en los límites de grano, una malla con escala aproximada al tamaño de grano de la aleación WE43 se utilizó. Vea la [figura 4.14](#)

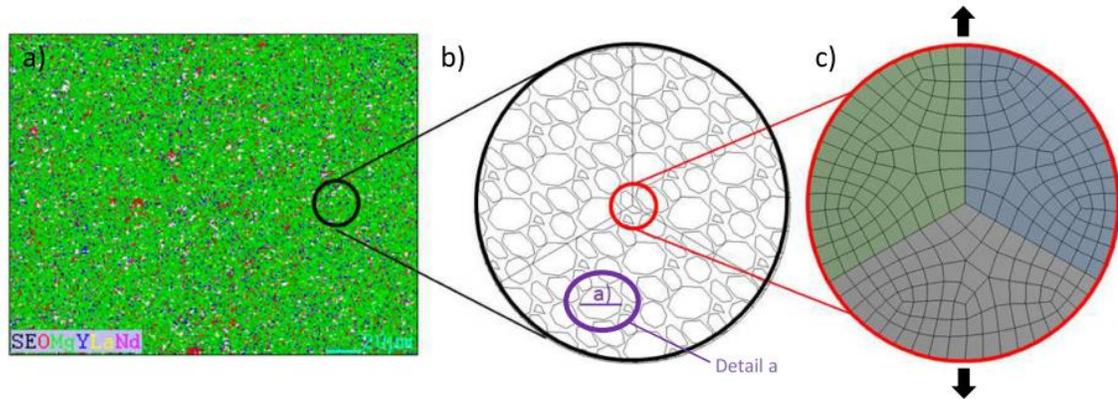


Figura 4.14 a) Microestructura. b) Aproximación al tamaño de grano para una representación de los límites de grano. (Detalle a) c) La malla representa una microestructura real actuando a tensión.

Una forma de lograr la optimización mecánica de implantes fabricados con WE43 podría ser relacionar e identificar la dirección del grano antes de manufacturar; en este trabajo se consideró un alargamiento del grano de forma horizontal. [Figura 4.14 b](#), (detalle [a](#)). Esta aleación está compuesta por fases microestructurales α Mg, Gd9.08 Mg45.9 y Gd0.75 Mg0.25, con granos equiaxiales y twins.

La aleación WE43 presenta granos homogéneos equiaxiales, con una microestructura recristalizada y twins. En la [figura 4.14 b](#), se observa la dirección de alargamiento de los granos equiaxiales obtenidos de un espécimen de WE43. Las aleaciones a base de Mg se componen principalmente de una fase alfa primaria y segundas fases distribuidas a lo largo de los límites de grano, que dependen de la cantidad de elementos de aleación añadidos en la fórmula al desarrollar la aleación.

Se destaca la deformación direccional a lo largo de los límites de grano, causada por la fuerza que actúa en tensión, provocando la dislocación de los granos. Vea la [figura 4.14](#). La deformación total de una aleación WE43 se concentrará hacia las áreas donde los límites de grano de las diferentes fases convergen, provocando el inicio de grietas y reduciendo la ductilidad.

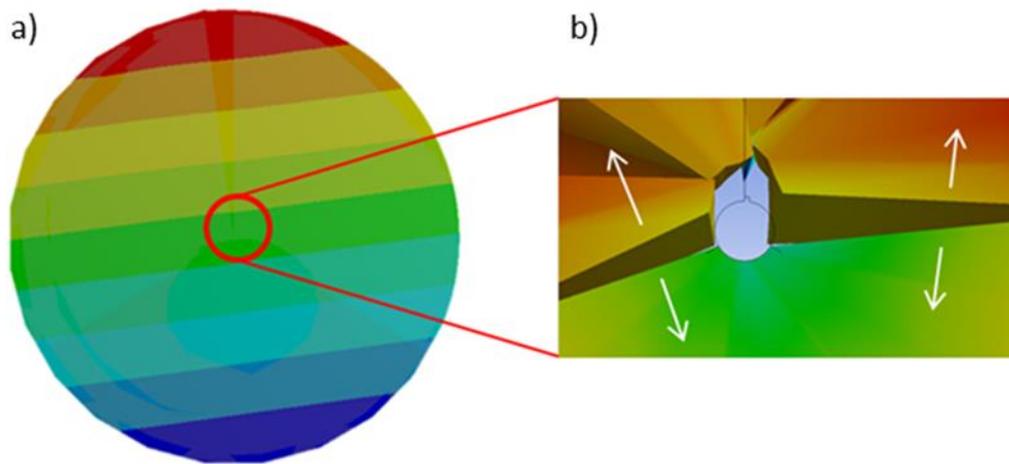


Figura 4.15 a) Deformación direccional. b) Desplazamiento de elementos (granos)

La deformación elástica equivalente estimula la propagación de estas grietas desde los bordes de grano hacia el exterior. En esta simulación, los 3 límites de grano correspondientes a cada fase son hipotéticos ([Figura 4.16 a](#)). La tasa de velocidad de propagación de una grieta implica el crecimiento de la grieta debido al esfuerzo aplicado, comenzando con valores pequeños como 10^{-8} mm / ciclo, aumentando gradualmente y concentrando el esfuerzo en el sitio donde comienza la nucleación ([Figura 4.16 b](#)).

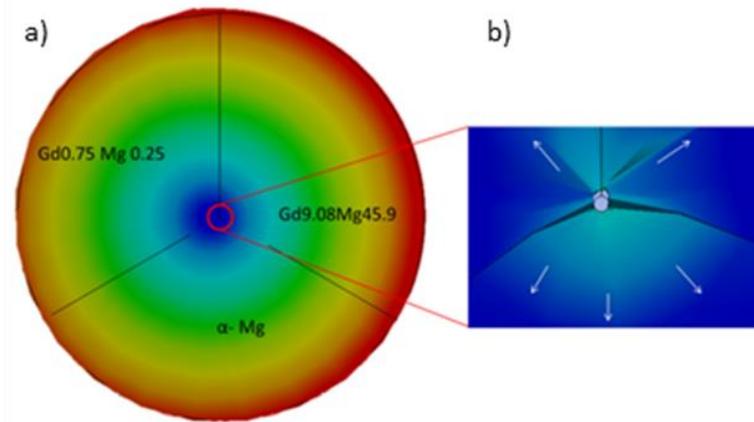


Figura 4.16 a) Concentración de la deformación hacia las fronteras de grano. b) Deformación elástica equivalente, estimula la propagación de las grietas.

El esfuerzo equivalente (Von-Mises) causa momentos en los límites del grano, iniciando la propagación de una grieta por desbridamiento de elementos (granos). La deformación total equivalente actúa desde el interior de los límites del grano al exterior. El esfuerzo se concentra principalmente en las segregaciones de material, debilitando el comportamiento mecánico de la aleación WE43.

La orientación relativa de los granos y cristales, en cuanto a la forma de carga, además de su dirección crean concentradores de esfuerzo e iniciadores de grietas en los límites de los granos. La anisotropía y las propiedades elásticas de una aleación WE43 están relacionadas con el módulo a cortante del material, lo que afectará a la deformación plástica y al movimiento de las dislocaciones. El mecanismo de deformación plástica entre los granos presentará una alta densidad en las dislocaciones, y esto podría conducir a la iniciación de grietas intercrystalinas.

El comportamiento a flexión de la aleación WE43 no es un factor crítico de acuerdo con la experimentación porque no hay fracturas observables. Estos resultados hacen razonable establecer que, para la aleación WE43 obtenida por barra de fundición, determinando la orientación del grano, y relacionarlo con los procedimientos de fabricación podría ser un método eficaz para optimizar sus propiedades mecánicas. El presente trabajo consideró la siguiente identificación a la orientación del grano, alargamiento del grano horizontalmente. [Figura 4.14 \(b\)](#), detalle a.

No hay ninguna indicación macroscópica de advertencia de falla potencial en una prueba de fatiga, a diferencia de la prueba de esfuerzo, un material puede fallar debido a una amplitud de esfuerzo aplicada, incluso al estar por debajo del límite elástico. Esto podría atribuirse al desbridamiento de los átomos en su zona de equilibrio a los esfuerzos residuales del material e incluso a la concentración de esfuerzos o impurezas presentes en el proceso de fundición.

El comportamiento mecánico de la aleación WE43 le permite usarse como material de fabricación de dispositivos médicos ya que se ha adaptado al período de recuperación de una fractura de diáfisis tibial, como punto de partida para idealizar, el punto de recuperación óptimo de una fractura, frente a la integridad del implante, la curva del punto óptimo del material se adaptó al tiempo de degradación y esfuerzo soportado por el cuerpo humano. Ver [figura 2.5](#)

4.12 Discusión: Efecto de la esterilización sobre la respuesta dinámica de 3 puntos a la flexión in vitro de un implante de Mg.

Un implante manufacturado a partir de la aleación WE43 podría usarse en aplicaciones de trauma como un clavo intramedular, con las siguientes consideraciones. Las propiedades mecánicas de la barra fundida de aleación WE43 están muy cerca de las propiedades mecánicas del hueso cortical que se encuentra en el área anatómica de la diáfisis de la tibia. Es extremadamente beneficioso que los módulos elásticos estén cerca (una diferencia de solo 17 GPa), ya que esto ayudará a evitar la deformación ósea. La teoría de la neoformación propuesta por Frost sugiere que la remodelación ósea podría prevenir la acumulación de daño por fatiga en el hueso a través de una secuencia controlada de activación, reabsorción y formación a través de una unidad ósea multicelular. Además, el implante esterilizado sufre una disminución en el número de ciclos, y por lo tanto una vida útil disminuida in vivo. La evidencia de la [gráfica 4.9](#) sugiere un efecto perjudicial de la esterilización. La comparación de los resultados de la prueba de fatiga de una muestra estéril y sin esterilizar proporcionan evidencia de que el comportamiento de esta aleación es alterado significativamente por la esterilización. En una curva que describe la cantidad de fuerza que se aplicaría a un implante resistiendo con el diámetro y la longitud correspondiente a un IIM, lo que podría usarse para relacionar en la práctica clínica a los períodos en los que se permite utilizar estímulos en las etapas de rehabilitación. La diferencia en el alargamiento del 7% de WE43 con respecto al hueso cortical es beneficiosa porque permitirá al hueso flexionarse naturalmente

con solo una ligera resistencia que controlará los micro-macro movimientos del hematoma fracturario, esto beneficiará el período de recuperación de la fractura. Un implante fabricado con WE43 resistirá un esfuerzo mayor que el hueso cortical al 12%, lo que minimizará las cargas cortantes. Además, debido al límite elástico, el implante WE43 soportará el 84% en carga más que el hueso. En la prueba de fatiga, para la muestra 1, con una aclimatación y utilizando tratamiento de esterilización, mientras que para la muestra 2 solo se utilizó el tratamiento de aclimatación. Comparando con el espécimen 1, el espécimen 2 podría soportar 190,000 ciclos adicionales, lo que indica que la esterilización afecta dramáticamente la resistencia. Para la muestra 2, que no fue sometida a procedimiento de esterilización, alcanzó 329.2 N a 127,085 ciclos (7 h y 3 min), correspondiente a un aumento del 40% en la duración de la prueba en comparación con la muestra 1.

Esto establece una clara relación entre la esterilización y la extensión de la vida del espécimen. Esto proporciona evidencia cuantitativa sobre la importancia de prevenir que el Mg sea expuesto a un medio corporal, una estrategia sobre el desarrollo de recubrimientos debe hacerse para aumentar la vida de los implantes de Mg. La reducción de la fuerza en una aleación de Mg WE43 sumergida en la solución de Hank es relevante porque caracteriza el comportamiento mecánico y la degradación del material. Combinando estos parámetros con el tiempo de recuperación de una fractura en la diáfisis tibial y el tiempo que tarda en producirse la degradación del material, crea un punto de

referencia sobre la fuerza del implante, y como dejaría de cargarse el hueso de forma gradual dependiendo de la etapa de curación de una fractura.

La acumulación de daño estructural en el material del implante WE43 no se caracteriza por una condición de esfuerzo cíclico uniforme, por lo que los diagramas Wöhler S / N, no se adaptan a cómo se cargará el implante durante el tiempo en servicio. La distribución de la carga contra el número de ciclos nos ayudará a identificar los rangos de carga en el tiempo durante el cual ocurre la degradación del material. WE43 tiene una microestructura recristalizada con segundas fases homogéneas en la matriz, donde se presentan granos equiaxiales con twins internos. En particular, la resistencia de esta aleación es muy similar a la del hueso cortical (aproximadamente 34 MPa de separación). Además del análisis de las fases secundarias de SEM-EDS también fueron identificadas por XRD. Esto sugiere mejorar la resistencia de esta aleación refinando la microestructura. Los twins dentro de los granos podrían prevenir la dislocación de las bandas, ya que los twins se relacionan con el rendimiento del material y las fases de Gd, normalizar la matriz de Mg puede disminuir la aceleración de la degradación.

La homogeneidad en la microestructura de la aleación se observa al detectar rastros de corrosión por picaduras, lo que indica que es resistente a la corrosión. Sin embargo, cuando ocurre la picadura, actúa mecánicamente como un concentrador de esfuerzo que facilita la rápida corrosión y afecta las propiedades mecánicas al acelerar la degradación de la aleación. Para esta aplicación, el uso de un recubrimiento que ralentice la aparición de picaduras es una estrategia

multidisciplinar, que dependerá totalmente de las primeras semanas en las que el recubrimiento proteja el implante, en las que se requiere mantener la Integridad mecánica del implante al 100%. Esto permite sugerir la evaluación de un recubrimiento que mantenga la superficie del implante intacta durante 5 semanas, para minimizar los lugares donde puede comenzar la propagación de una grieta.

Es recomendable agregar elementos como Y, Zr y Nd en niveles bajos para refinar la microestructura y reducir la degradación. La nucleación comienza en el origen de la corrosión por picaduras que conducen a la formación de grietas por carga cíclica, y se produce su posterior propagación a través de las bandas deslizantes internamente a través de los twins y a lo largo de los límites de los granos. La distribución de los esfuerzos mecánicos no será homogénea a través del material debido a la orientación cristalográfica de las segundas fases y la generación de precipitados y poros. La segregación positiva de los elementos del proceso de fundición fue observada, adicionalmente la orientación del grano en un implante de Mg tiene una relación notable en las propiedades mecánicas. La estructura cristalina HCP de la aleación WE43 tiene un comportamiento mecánico que se representa en las curvas y valores obtenidos de la caracterización mostrada. La segregación positiva es un atributo deseado para elementos como itrio y níquel.

La estructura cristalina del Mg está relacionada con el comportamiento multi-lineal isotrópico. La orientación preferencial del grano horizontalmente es una condición ideal, que según la simulación por elemento finito optimizará las

propiedades mecánicas de la aleación, cuando esté sometido un implante a tensión y flexión. Sin embargo, la orientación de grano preferencial de una aleación WE43 se caracteriza según la orientación de sus planos. La orientación del grano es vital para optimizar la integridad mecánica del implante. La orientación horizontal, como fue utilizado a lo largo de este experimento, muestra evidencia de cómo las propiedades mecánicas son superiores a las normalizadas por convención.

El impacto negativo en las células L-929 adheridas y expuestas a WE43 (evidenciado por bajos niveles de actividad / viabilidad metabólica celular) ha limitado la aprobación de las aleaciones WE43 para DM. Sin embargo, se ha permitido el uso de WE43 en aplicaciones clínicas, debido a solicitudes de agencias reguladoras en Europa, usando WE43 como base, siempre que el itrio y el níquel estén controlados microestructuralmente y mantenidos en porcentajes bajos para evitar problemas toxicológicos, esto ha permitido que la industria médica avance, en el desarrollo de protocolos de pruebas clínicas, que permiten la evaluación de la bioseguridad a largo plazo. El efecto del itrio y el níquel sobre la interacción celular ha demostrado que reduce el potencial biológico de WE43, ya que la toxicidad de estos elementos afecta la viabilidad celular y su entorno biológico. Sin embargo, si se mantienen en los límites más bajos de su composición química y la tasa de degradación in vivo se ralentiza por un recubrimiento que ayuda a dosificar su disolución, el resultado de la viabilidad celular sería positivamente diferente, como se implica en las aprobaciones que se esperan en la revisión de ISO 10993-15:2019 /Etapa 60.60.

Una estrategia para utilizar aleaciones WE43 en la fabricación de DM, y específicamente IIM, sería mantener elementos como el itrio dentro del rango mínimo permitido. Además, sería beneficioso controlar el proceso de fundición para evitar la contaminación de elementos tales como níquel, que debe ser menor o igual al 0,005% por peso. El proceso de segregación de elementos que ocurre después de la fundición debería resolver el problema de homogeneidad dispersión y preferiblemente evitar las aglomeraciones de estos elementos. Fabricar un IIM basado en la aleación WE43 debe considerar la dosis de ingesta permitida que el cuerpo humano puede tolerar para el itrio y el níquel. La liberación gradual al cuerpo debido a la degradación de la matriz de Mg en pequeñas dosis podría desencadenar respuestas fisiopatológicas y toxicológicas. Aunque, sin exceder el límite como se sugiere, no se garantiza evitar una sobredosis, los valores de los elementos disueltos en el suero sanguíneo tienen límites experimentales de exposición al itrio: $< 47 \mu\text{g}$ y níquel: 0,05-0,23 lg/L , como criterios de aceptación, para el uso de la aleación base WE43 Mg se deben considerar los efectos que puedan surgir.

5 CONCLUSION

5.1 Bio-Fabricación y validación experimental de una aleación de Mg - 25 Ca - 5 Zn propuesta para un andamio metálico poroso.

- (1) La optimización del proceso de fundición de una aleación de Mg-Ca-Zn tiene un límite microestructural, que se debe a la mezcla eutéctica, aun cuando el proceso esté optimizado, seguirá apareciendo una fina dispersión entre fases, dando como resultado un origen a la nucleación de grietas. El período de exposición a elementos como Mg, Ca y Zn dentro del organismo hace que ocurra la fisiopatología típica a estos elementos, tener claro el período de exposición en días para que ocurran los efectos es un factor clave para comprender el efecto beneficioso que pueden aportar antes de degradación hidrolítica in vivo.
- (2) El Zn mejora la respuesta mecánica al endurecer este tipo de aleaciones, sin embargo, sobrepasar los límites permitidos daña el límite toxicológico lo que repercutirá en la viabilidad celular.
- (3) Un proceso de recocido en esta aleación disolverá las fases intermetálicas y ayudará a homogenizar la distribución de los solutos en la matriz de Mg, sin embargo, los precipitados podrían tener un efecto perjudicial sobre la velocidad de corrosión.
- (4) La fusión de Mg, Ca y Zn y su modificación por difusión son posibles a partir de aleaciones maestras de MgCa, este proceso logra difundir Zn en polvo sobre MgCa, el uso de un sistema de vacío permitirá tener una

atmósfera limpia. La microestructura de la aleación y el tamaño de grano serán más finos.

- (5) El módulo de elasticidad fue 74.2 GPa para la dirección longitudinal y 66.2 GPa en la dirección transversal, se ha determinado a partir de las repeticiones del ensayo que el módulo de elasticidad fue siempre mayor en la dirección longitudinal, la dureza sigue un patrón similar siendo los valores reportados 278,9 y 264,3 HV en dirección longitudinal y transversal, respectivamente. Una condición de anisotropía entre la dirección longitudinal y transversal se cumple al tener un módulo de elasticidad y una dureza diferentes. La determinación del módulo de elasticidad y dureza en cada tríada para cada grado de libertad podría ser útil para relacionarse con la orientación de los planos y tener el comportamiento de las constantes elásticas caracterizadas.
- (6) La aplicación ideal para este tipo de aleación corresponde a sitios anatómicos donde solo está expuesta a la gravedad y fuerzas provocadas por músculos como el movimiento de las extremidades superiores y el cráneo.

5.2 Efecto de la esterilización sobre la respuesta dinámica de 3 puntos a la flexión in vitro de un implante de Mg.

- (1) Disminuir la exposición de Mg in vivo puede aumentar el tiempo que un material a base de Mg funcione dentro del organismo, seleccionar cuidadosamente el método de esterilización de los recubrimientos será clave como estrategia en la reducción de la degradación. A medida que se reduce la tasa de degradación, es más probable que los materiales a base de Mg puedan ser aceptados por las agencias reguladoras.
- (2) El rendimiento de una aleación WE43 a fatiga, podría ser mejorado para su uso en implantes intramedulares mejorando la microestructura. Homogenizar la aleación y hacer granos finos y pequeños a través de la molienda de elementos y minerales, permite una fácil dispersión que contribuye a la segregación positiva durante el proceso de fundición, el cual debe ser monitoreado regularmente.
- (3) La elección del recubrimiento para cualquier DM es muy importante dependiendo de la aplicación médica; los recubrimientos utilizados para las aleaciones de Mg determinarán el tiempo que la aleación proporcionará resistencia mecánica a una fractura.
- (4) Un implante WE43 puede resistir una prueba de 5×10^5 ciclos. Este es el mismo estándar tradicional para biomateriales clasificados en el régimen HCF. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el titanio o los implantes de acero inoxidable pueden, en comparación, soportar 1×10^6 ciclos. Estos biomateriales clásicos que soportan este elevado número de ciclos

pueden permanecer in vivo hasta por 30 años en el organismo de los pacientes, porque la eliminación de estos provoca más complicaciones. De hecho, la disminución de la longevidad de un implante fabricado en WE43 en 50% en la predicción de la vida por fatiga, plantea más de una pregunta para la comunidad científica. Sin embargo, debería ser considerado que el implante de WE43, solo debe permanecer intacto mecánicamente durante el período de consolidación de la fractura (aproximadamente 6 meses). Después de aproximadamente 16 meses, el implante de WE43 estará casi completamente excretado por los mecanismos biológicos del cuerpo humano.

- (5) Este trabajo establece que la orientación del grano debe ser horizontal a la carga, lo que permite un aumento óptimo de la resistencia, como se muestra por la simulación FEM que representa el comportamiento a la fatiga de la aleación.
- (6) Los fibroblastos murinos L-929 experimentaron un resultado citotóxico en una respuesta a la dosis cuando se exponen durante 24 h o 48 h hasta concentraciones incrementales de extractos originales de WE43. El efecto del extracto de WE43 sobre la viabilidad celular fue comparable al de la molécula citotóxica dietilditiocarbamato de zinc. Los cultivos expuestos a extractos WE43 todavía presentan adherencia celular, pero hay gránulos intracitoplasmáticos muy evidentes y cambios morfológicos, con lisis celular ocasional. Se observa más del 50% de inhibición del crecimiento.

6 TRABAJOS FUTUROS

Las tres recomendaciones finales para continuar con el desarrollo de este trabajo a futuro.

- (1) Experimentar con técnicas de control de textura en aleaciones de Mg podría ser una estrategia eficaz para determinar el método ideal para fabricar implantes basados en Mg. Sin embargo, el comportamiento mecánico del Mg depende de la relación adecuada entre la fracción volumétrica de elementos y la formación de fases secundarias del orden de apilamiento laminar de largo período (LPSO).[332][340][341].
- (2) Se sugiere evaluar la radiación gamma como método de esterilización, lo cual podría reducir el efecto perjudicial sobre las aleaciones de Mg
- (3) Los recubrimientos sobre aleaciones de Mg son muy importantes dependiendo del tipo de aplicación médica para la que se requiera su uso, un recubrimiento usado en aleaciones de Mg tiene el propósito de aumentar el tiempo de implantación in vivo, que proporcionará resistencia mecánica a la fractura, para esta aplicación, utilizar un recubrimiento que reduzca la aparición de corrosión por picaduras es una estrategia multidisciplinaria que dependerá completamente de las primeras semanas en las que, se requiera mantener la integridad mecánica del implante, se sugiere evaluar un recubrimiento a base de quitosano que permite mantener intacta la superficie del implante durante 6 semanas para minimizar los lugares donde puede comenzar la propagación de grietas.

7 BIBLIOGRAFÍA

- [1] G. Eddy Jai Poinern, S. Brundavanam, and D. Fawcett, "Biomedical Magnesium Alloys: A Review of Material Properties, Surface Modifications and Potential as a Biodegradable Orthopaedic Implant," *Am. J. Biomed. Eng.*, vol. 2, no. 6, pp. 218–240, 2013, doi: 10.5923/j.ajbe.20120206.02.
- [2] D. Zhao, F. Witte, F. Lu, J. Wang, J. Li, and L. Qin, "Current status on clinical applications of magnesium-based orthopaedic implants: A review from clinical translational perspective," *Biomaterials*, vol. 112, pp. 287–302, 2017, doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.017.
- [3] "FEUM," 2018. .
- [4] Y. Xin, T. Hu, and P. K. Chu, "In vitro studies of biomedical magnesium alloys in a simulated physiological environment: A review," *Acta Biomater.*, vol. 7, no. 4, pp. 1452–1459, 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2010.12.004.
- [5] N. S. Manam *et al.*, "Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review," *J. Alloys Compd.*, vol. 701, pp. 698–715, 2017, doi: 10.1016/j.jallcom.2017.01.196.
- [6] M. B. Kannan and R. K. S. Raman, "In vitro degradation and mechanical integrity of calcium-containing magnesium alloys in modified-simulated body fluid," *Biomaterials*, vol. 29, no. 15, pp. 2306–2314, 2008, doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.02.003.
- [7] Y. Chen, Z. Xu, C. Smith, and J. Sankar, "Recent advances on the development of magnesium alloys for biodegradable implants," *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 11, pp. 4561–4573, 2014, doi: 10.1016/j.actbio.2014.07.005.
- [8] D. Zander and N. A. Zumdick, "Influence of Ca and Zn on the microstructure and corrosion of biodegradable Mg-Ca-Zn alloys," *Corros. Sci.*, vol. 93, pp. 222–233, Apr. 2015, doi: 10.1016/j.corosci.2015.01.027.
- [9] H. Wang, Z. Hao, and S. Wen, "Do biodegradable magnesium alloy intramedullary interlocking nails prematurely lose fixation stability in the treatment of tibial fracture? A numerical simulation," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 65, pp. 117–126, 2017, doi: 10.1016/j.jmbbm.2016.08.014.
- [10] L. Pompa, Z. U. Rahman, E. Munoz, and W. Haider, "Surface characterization and cytotoxicity response of biodegradable magnesium alloys," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 49, pp. 761–768, 2015, doi: 10.1016/j.msec.2015.01.017.
- [11] Y. Lu, A. R. Bradshaw, Y. L. Chiu, and I. P. Jones, "Effects of secondary phase and grain size on the corrosion of biodegradable Mg-Zn-Ca alloys," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 48, pp. 480–486, 2015, doi: 10.1016/j.msec.2014.12.049.
- [12] G. Regazzoni, "High mechanical strength magnesium alloys and process for obtaining these alloys by rapid solidification.," Pat., 4997622, 1991.
- [13] S. Agarwal, J. Curtin, B. Duffy, and S. Jaiswal, "Biodegradable magnesium

- alloys for orthopaedic applications: A review on corrosion, biocompatibility and surface modifications,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 68, pp. 948–963, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.06.020.
- [14] J. M. Seitz, M. Durisin, J. Goldman, and J. W. Drelich, “Recent Advances in Biodegradable Metals for Medical Sutures: A Critical Review,” *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 4, no. 13, pp. 1915–1936, 2015, doi: 10.1002/adhm.201500189.
- [15] G. Song, “Control of biodegradation of biocompatible magnesium alloys,” *Corros. Sci.*, vol. 49, no. 4, pp. 1696–1701, Apr. 2007, doi: 10.1016/J.CORSCI.2007.01.001.
- [16] H. S. Brar, M. O. Platt, M. Sarntinoranont, P. I. Martin, and M. V. Manuel, “Magnesium as a biodegradable and bioabsorbable material for medical implants,” *Jom*, vol. 61, no. 9, pp. 31–34, 2009, doi: 10.1007/s11837-009-0129-0.
- [17] T. Kraus, S. F. Fischerauer, A. C. Hänzi, P. J. Uggowitzer, J. F. Löffler, and A. M. Weinberg, “Magnesium alloys for temporary implants in osteosynthesis: In vivo studies of their degradation and interaction with bone,” *Acta Biomater.*, vol. 8, no. 3, pp. 1230–1238, 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2011.11.008.
- [18] J. M. Seitz, A. Lucas, and M. Kirschner, “Magnesium-Based Compression Screws: A Novelty in the Clinical Use of Implants,” *Jom*, vol. 68, no. 4, pp. 1177–1182, 2016, doi: 10.1007/s11837-015-1773-1.
- [19] J. Hofstetter *et al.*, “High-strength low-alloy (HSLA) Mg-Zn-Ca alloys with excellent biodegradation performance,” *Jom*, vol. 66, no. 4, pp. 566–572, 2014, doi: 10.1007/s11837-014-0875-5.
- [20] R. Harrison, D. Maradze, S. Lyons, Y. Zheng, and Y. Liu, “Corrosion of magnesium and magnesium-calcium alloy in biologically-simulated environment,” *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.*, vol. 24, no. 5, pp. 539–546, 2014, doi: 10.1016/j.pnsc.2014.08.010.
- [21] A. Alabbasi, S. Liyanaarachchi, and M. B. Kannan, “Polylactic acid coating on a biodegradable magnesium alloy: An in vitro degradation study by electrochemical impedance spectroscopy,” *Thin Solid Films*, vol. 520, no. 23, pp. 6841–6844, 2012, doi: 10.1016/j.tsf.2012.07.090.
- [22] K. F. Farraro, K. E. Kim, S. L. Y. Woo, J. R. Flowers, and M. B. McCullough, “Revolutionizing orthopaedic biomaterials: The potential of biodegradable and bioresorbable magnesium-based materials for functional tissue engineering,” *J. Biomech.*, vol. 47, no. 9, pp. 1979–1986, 2014, doi: 10.1016/j.jbiomech.2013.12.003.
- [23] L. Shi *et al.*, “Mechanical properties and corrosion behavior of Mg–Gd–Ca–Zr alloys for medical applications,” *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 47, pp. 38–48, 2015, doi: 10.1016/j.jmbbm.2015.03.003.
- [24] S. Ramakrishna, J. Mayer, E. Wintermantel, and K. W. Leong, “Biomedical applications of polymer-composite materials: a review,” *Compos. Sci. Technol.*, vol. 61, pp. 1189–1224, 2001, doi: 10.1016/S0266-3538(00)00241-4.
- [25] A. Barquet, G. Mayora, J. M. Guimaraes, R. Suárez, and P. V. Giannoudis, “Avascular necrosis of the femoral head following trochanteric fractures in adults: A systematic review,” *Injury*, vol. 45, no. 12, pp. 1848–1858, 2014,

- doi: 10.1016/j.injury.2014.10.054.
- [26] M. Krämer *et al.*, “Corrosion behavior, biocompatibility and biomechanical stability of a prototype magnesium-based biodegradable intramedullary nailing system,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 59, pp. 129–135, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2015.10.006.
- [27] Y. Xin, K. Huo, H. Tao, G. Tang, and P. K. Chu, “Influence of aggressive ions on the degradation behavior of biomedical magnesium alloy in physiological environment,” *Acta Biomater.*, vol. 4, no. 6, pp. 2008–2015, 2008, doi: 10.1016/j.actbio.2008.05.014.
- [28] B. Song *et al.*, “Biomechanical comparison of pure magnesium interference screw and polylactic acid polymer interference screw in anterior cruciate ligament reconstruction—A cadaveric experimental study,” *J. Orthop. Transl.*, vol. 8, pp. 32–39, 2017, doi: 10.1016/j.jot.2016.09.001.
- [29] B. P. Singh, “Fabrication of Biodegradable Porous Mg-Zn- Mn-HA Alloy by Spark Plasma Sintering for Orthopaedic Applications Fabrication of Biodegradable Low Elastic Porous Mg-Zn-Mn- HA Alloy by Spark Plasma Sintering for Orthopaedic Applications,” 2017, no. June.
- [30] K. Jähn *et al.*, *Intramedullary Mg2Ag nails augment callus formation during fracture healing in mice*, vol. 36, no. March. Acta Materialia Inc., 2016.
- [31] C. A. Stüpp *et al.*, “Powder Metallurgical Synthesis of Biodegradable Mg-Hydroxyapatite Composites for Biomedical Applications,” *Mater. Sci. Forum*, vol. 828–829, no. 2015, pp. 165–171, 2015, doi: 10.4028/www.scientific.net/MSF.828-829.165.
- [32] N. Hort *et al.*, “Magnesium alloys as implant materials-Principles of property design for Mg-RE alloys,” *Acta Biomater.*, vol. 6, no. 5, pp. 1714–1725, 2010, doi: 10.1016/j.actbio.2009.09.010.
- [33] R. A. Lindtner *et al.*, “Comparative biomechanical and radiological characterization of osseointegration of a biodegradable magnesium alloy pin and a copolymeric control for osteosynthesis,” *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 28, pp. 232–243, 2013, doi: 10.1016/j.jmbbm.2013.08.008.
- [34] H. R. Bakhsheshi-Rad, E. Hamzah, M. Kasiri-Asgarani, S. N. Saud, F. Yaghoubidoust, and E. Akbari, “Structure, corrosion behavior, and antibacterial properties of nano-silica/graphene oxide coating on biodegradable magnesium alloy for biomedical applications,” *Vacuum*, vol. 131, pp. 106–110, 2016, doi: 10.1016/j.vacuum.2016.05.021.
- [35] X. Zhang, X. Li, J. Li, and X. Sun, “Processing, microstructure and mechanical properties of biomedical magnesium with a specific two-layer structure,” *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.*, vol. 23, no. 2, pp. 183–189, 2013, doi: 10.1016/j.pnsc.2013.03.006.
- [36] S. Hoffmann, R. Paetzold, D. Stephan, K. Püschel, V. Buehren, and P. Augat, “Biomechanical evaluation of interlocking lag screw design in intramedullary nailing of unstable pertrochanteric fractures.,” *J. Orthop. Trauma*, vol. 27, no. 9, pp. 483–90, 2013, doi: 10.1097/BOT.0b013e3182a1f54b.
- [37] N. T. Kirkland, “Magnesium biomaterials: past, present and future,” *Corros. Eng. Sci. Technol.*, vol. 47, no. 5, pp. 322–328, 2012, doi: 10.1179/1743278212Y.0000000034.

- [38] L. C. Singh Raman, R. K., "Cracking of magnesium-based biodegradable implant alloys under the combined action of stress and corrosive body fluid: a review," *Eur. Cells Mater.*, vol. 26, no. page 22, p. 2262, 2013.
- [39] S. C. Cifuentes, R. Gavilán, M. Lieblich, R. Benavente, and J. L. González-Carrasco, "In vitro degradation of biodegradable polylactic acid/magnesium composites: Relevance of Mg particle shape," *Acta Biomater.*, vol. 32, pp. 348–357, 2016, doi: 10.1016/j.actbio.2015.12.037.
- [40] S. Zhang *et al.*, "Research on an Mg-Zn alloy as a degradable biomaterial," *Acta Biomater.*, vol. 6, no. 2, pp. 626–640, 2010, doi: 10.1016/j.actbio.2009.06.028.
- [41] A. Feng and Y. Han, "Mechanical and in vitro degradation behavior of ultrafine calcium polyphosphate reinforced magnesium-alloy composites," *Mater. Des.*, vol. 32, no. 5, pp. 2813–2820, 2011, doi: 10.1016/j.matdes.2010.12.054.
- [42] W. He, E. Zhang, and K. Yang, "Effect of Y on the bio-corrosion behavior of extruded Mg-Zn-Mn alloy in Hank's solution," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 30, no. 1, pp. 167–174, 2010, doi: 10.1016/j.msec.2009.09.014.
- [43] B. Heublein, R. Rohde, V. Kaese, M. Niemeyer, W. Hartung, and A. Haverich, "Biocorrosion of magnesium alloys: a new principle in cardiovascular implant technology?," *Heart*, vol. 89, no. 6, pp. 651–656, 2003, doi: 10.1136/heart.89.6.651.
- [44] Y. Zhang *et al.*, "A study of degradation resistance and cytocompatibility of super-hydrophobic coating on magnesium," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 78, pp. 405–412, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.04.057.
- [45] R. Xu, X. Yang, K. W. Suen, G. Wu, P. Li, and P. K. Chu, "Improved corrosion resistance on biodegradable magnesium by zinc and aluminum ion implantation," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 263, pp. 608–612, 2012, doi: 10.1016/j.apsusc.2012.09.116.
- [46] K. Y. Liping Xu, Guoning Yu, Erlin Zhang, Feng Pan, "In vivo corrosion behavior of Mg-Mn-Zn alloy for bone implant application," *J. Biomed. Mater. Res. Part A DOI 10.1002/jbm.a*, p. 9, 2007, doi: 10.1002/jbm.a.
- [47] C. K. Yuen and W. Y. Ip, "Theoretical risk assessment of magnesium alloys as degradable biomedical implants," *Acta Biomater.*, vol. 6, no. 5, pp. 1808–1812, 2010, doi: 10.1016/j.actbio.2009.11.036.
- [48] M. Niinomi, M. Nakai, and J. Hieda, "Development of new metallic alloys for biomedical applications," *Acta Biomater.*, vol. 8, no. 11, pp. 3888–3903, 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2012.06.037.
- [49] C. Hampp, N. Angrisani, J. Reifenrath, D. Bormann, J. M. Seitz, and A. Meyer-Lindenberg, "Evaluation of the biocompatibility of two magnesium alloys as degradable implant materials in comparison to titanium as non-resorbable material in the rabbit," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, no. 1, pp. 317–326, 2013, doi: 10.1016/j.msec.2012.08.046.
- [50] M. F. F. A. Hamidi *et al.*, "A review of biocompatible metal injection moulding process parameters for biomedical applications," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 78, pp. 1263–1276, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.05.016.
- [51] C. Xianhua, G. Yuxiao, and P. Fusheng, "Research Progress in Magnesium Alloys as Functional Materials," *Rare Met. Mater. Eng.*, vol. 45, no. 9, pp.

- 2269–2274, 2016, doi: 10.1016/S1875-5372(17)30015-2.
- [52] Y. Wu and W. Hu, “Comparison of the Solid Solution Properties of Mg-RE (Gd, Dy, Y) Alloys with Atomistic Simulation,” *Res. Lett. Phys.*, vol. 2008, pp. 1–4, 2008, doi: 10.1155/2008/476812.
- [53] L. Hou *et al.*, “In vitro and in vivo studies on biodegradable magnesium alloy,” *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.*, vol. 24, no. 5, pp. 466–471, 2014, doi: 10.1016/j.pnsc.2014.09.002.
- [54] X. Cui, Y. Yang, E. Liu, G. Jin, J. Zhong, and Q. Li, “Corrosion behaviors in physiological solution of cerium conversion coatings on AZ31 magnesium alloy,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 257, no. 23, pp. 9703–9709, 2011, doi: 10.1016/j.apsusc.2011.04.141.
- [55] D. Zhao *et al.*, “Visual H₂ sensor for monitoring biodegradation of magnesium implants in vivo,” *Acta Biomater.*, vol. 45, pp. 399–409, 2016, doi: 10.1016/j.actbio.2016.08.049.
- [56] J. Ma, M. Thompson, N. Zhao, and D. Zhu, “Similarities and differences in coatings for magnesium-based stents and orthopaedic implants,” *J. Orthop. Transl.*, vol. 2, no. 3, pp. 118–130, 2014, doi: 10.1016/j.jot.2014.03.004.
- [57] A. K. Khanra, H. W. A. C. Jung, S. H. Yu, and K. U. G. S. U. N. Hong, “Microstructure and mechanical properties of Mg – HAP composites,” *Bull. Mater. Sci.*, vol. 33, no. 1, pp. 43–47, 2010.
- [58] L. Wolters *et al.*, “Degradation behaviour of LAE442-based plate-screw-systems in an in vitro bone model,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 49, pp. 305–315, 2015, doi: 10.1016/j.msec.2015.01.019.
- [59] Z. Li, S. Shizhao, M. Chen, B. D. Fahlman, Debao Liu, and H. Bi, “In vitro and in vivo corrosion, mechanical properties and biocompatibility evaluation of MgF₂-coated Mg-Zn-Zr alloy as cancellous screws,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 75, pp. 1268–1280, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.02.168.
- [60] C. Castellani *et al.*, “Bone–implant interface strength and osseointegration: Biodegradable magnesium alloy versus standard titanium control,” *Acta Biomater.*, vol. 7, no. 1, pp. 432–440, Jan. 2011, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2010.08.020.
- [61] R. Xu, G. Wu, X. Yang, T. Hu, Q. Lu, and P. K. Chu, “Controllable degradation of biomedical magnesium by chromium and oxygen dual ion implantation,” *Mater. Lett.*, vol. 65, no. 14, pp. 2171–2173, 2011, doi: 10.1016/j.matlet.2011.04.043.
- [62] M. Ramya, M. M. Pillai, R. Selvakumar, B. Raj, and K. R. Ravi, “Hydroxyapatite particle (HAp) reinforced biodegradable Mg-Zn-Ca metallic glass composite for bio-implant applications,” *Biomed. Phys. Eng. Express*, vol. 4, no. 2, 2018, doi: 10.1088/2057-1976/aa85be.
- [63] F. Feyerabend, A. Möhring, R. Willumeit, and C. Kiel, “Increase of in vitro cell adhesion to magnesium and its alloys by preincubation,” *Eur. Cells Mater.*, vol. 26, no. August, p. 2013, 2013.
- [64] T. F. Da Conceição, N. Scharnagl, W. Dietzel, and K. U. Kainer, “Controlled degradation of a magnesium alloy in simulated body fluid using hydrofluoric acid treatment followed by polyacrylonitrile coating,” *Corros. Sci.*, vol. 62, pp. 83–89, 2012, doi: 10.1016/j.corsci.2012.04.041.
- [65] N. H. Maier, Petra, C.L. Mendis, “Precipitation hardening on mechanical

- and corrosion properties of extruded Mg10Gd modified with Nd and La,” in *2nd Conference & Exhibition on Light Materials*, 2017, no. November, pp. 3–5.
- [66] M. Haghshenas, “Mechanical characteristics of biodegradable magnesium matrix composites: A review,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 5, no. 2, pp. 189–201, 2017, doi: 10.1016/j.jma.2017.05.001.
- [67] N. Li and Y. Zheng, “Novel Magnesium Alloys Developed for Biomedical Application: A Review,” *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 29, no. 6, pp. 489–502, 2013, doi: 10.1016/j.jmst.2013.02.005.
- [68] H. Leonhardt, A. Franke, N. M. H. McLeod, G. Lauer, and A. Nowak, “Fixation of fractures of the condylar head of the mandible with a new magnesium-alloy biodegradable cannulated headless bone screw,” *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 55, no. 6, pp. 623–625, 2017, doi: 10.1016/j.bjoms.2017.04.007.
- [69] W. Wu *et al.*, “Experimental data confirm numerical modeling of the degradation process of magnesium alloys stents,” *Acta Biomater.*, vol. 9, no. 10, pp. 8730–8739, 2013, doi: 10.1016/j.actbio.2012.10.035.
- [70] F. Feyerabend, “In vitro analysis of magnesium corrosion in orthopaedic biomaterials,” in *Magnesium corrosion in orthopaedic biomaterials*, Helmholtz-Zentrum Geesthacht, Germany, 2014, pp. 225–269.
- [71] R. Biber, J. Pauser, M. Geßlein, and H. J. Bail, “Magnesium-Based Absorbable Metal Screws for Intra-Articular Fracture Fixation,” 2016. doi: 10.1155/2016/9673174.
- [72] Global Data, “Mexico orthopedic devices market outlook to 2016,” 2016. .
- [73] Instituto Mexicano del Seguro Social, “Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento de Fractura de la Diáfisis de Tibia.” Mexico, pp. 1–87, 2010.
- [74] M. P. Staiger, A. M. Pietak, J. Huadmai, and G. Dias, “Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 9, pp. 1728–1734, 2006, doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.10.003.
- [75] X. N. Gu *et al.*, “Degradation, hemolysis, and cytotoxicity of silane coatings on biodegradable magnesium alloy,” *Mater. Lett.*, vol. 193, pp. 266–269, 2017, doi: 10.1016/j.matlet.2017.01.136.
- [76] A. Hartwig, “Role of magnesium in genomic stability,” *Micronutr. Genomic Stab.*, vol. 475, no. 1–2, pp. 113–121, 2001, doi: 10.1016/S0027-5107(01)00074-4.
- [77] I. N. de C. M. y N. S. Zubirán, “Atropometria Manual.” Instituto nacional de ciencias medicas y nutrición Salvador Zubirán, Vasco de Quiroga No.15 Col Sección XVI, Tlalpan. C.P 14000, México, D.F, p. 17, 2004, doi: ISBN 968-6499-42-3.
- [78] N. T. Kirkland, J. Lespagnol, N. Birbilis, and M. P. Staiger, “A survey of bio-corrosion rates of magnesium alloys,” *Corros. Sci.*, vol. 52, no. 2, pp. 287–291, 2010, doi: 10.1016/j.corosci.2009.09.033.
- [79] F. Witte *et al.*, “Degradable biomaterials based on magnesium corrosion,” *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, vol. 12, no. 5–6, pp. 63–72, 2008, doi: 10.1016/j.cossms.2009.04.001.
- [80] International Organization for Standardization, “ISO 10993 Biological evaluation of medical devices,” 2019. .

- [81] J. Fei *et al.*, “Biocompatibility and neurotoxicity of magnesium alloys potentially used for neural repairs,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 78, pp. 1155–1163, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.04.106.
- [82] L. Xu, G. Yu, E. Zhang, F. Pan, and K. Yang, “In vivo corrosion behavior of Mg-Mn-Zn alloy for bone implant application,” *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 83, no. 3, pp. 703–711, 2007, doi: 10.1002/jbm.a.31273.
- [83] X. Li, X. Liu, S. Wu, K. W. K. Yeung, Y. Zheng, and P. K. Chu, “Design of magnesium alloys with controllable degradation for biomedical implants: From bulk to surface,” *Acta Biomater.*, vol. 45, pp. 2–30, 2016, doi: 10.1016/j.actbio.2016.09.005.
- [84] O. V. der B. Iñigo Marco, Frank Feyerabend, Regine Willumeit-Römer, “Influence of testing environment in the degradation behavior of magnesium alloys for bioabsorbible implants,” *TMS 2015 144th Annu. Meet. & Exhib.*, no. February, pp. 2–7, 2016, doi: 10.1007/978-3-319-48127-2.
- [85] L. Yang, N. Hort, R. Willumeit, and F. Feyerabend, “Effects of corrosion environment and proteins on magnesium corrosion,” *Corros. Eng. Sci. Technol.*, vol. 47, no. 5, pp. 335–339, 2012, doi: 10.1179/1743278212Y.0000000024.
- [86] A. Gil-Santos, I. Marco, N. Moelans, N. Hort, and O. Van der Biest, “Microstructure and degradation performance of biodegradable Mg-Si-Sr implant alloys,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 71, pp. 25–34, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2016.09.056.
- [87] J. Wang *et al.*, “Magnesium alloy based interference screw developed for ACL reconstruction attenuates peri-tunnel bone loss in rabbits,” *Biomaterials*, vol. 157, no. December, pp. 86–97, 2018, doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.12.007.
- [88] M. B. Kannan, “Electrochemical deposition of calcium phosphates on magnesium and its alloys for improved biodegradation performance: A review,” *Surf. Coatings Technol.*, vol. 301, pp. 36–41, 2016, doi: 10.1016/j.surfcoat.2015.12.044.
- [89] M. Ramya, S. G. Sarwat, V. Udhayabanu, S. Subramanian, B. Raj, and K. R. Ravi, “Role of partially amorphous structure and alloying elements on the corrosion behavior of Mg-Zn-Ca bulk metallic glass for biomedical applications,” *Mater. Des.*, vol. 86, pp. 829–835, 2015, doi: 10.1016/j.matdes.2015.07.154.
- [90] R. Zeng, J. Chen, W. Dietzel, N. Hort, and K. U. Kainer, “Electrochemical behavior of magnesium alloys in simulated body fluids,” *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*, vol. 17, no. 1, pp. s166–s170, 2007.
- [91] C. Rössig *et al.*, “In vivo evaluation of a magnesium-based degradable intramedullary nailing system in a sheep model,” *Acta Biomater.*, vol. 25, pp. 369–383, 2015, doi: 10.1016/j.actbio.2015.07.025.
- [92] Y. Jang *et al.*, “Understanding corrosion behavior of Mg-Zn-Ca alloys from subcutaneous mouse model: Effect of Zn element concentration and plasma electrolytic oxidation,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 48, pp. 28–40, 2015, doi: 10.1016/j.msec.2014.11.029.
- [93] A. Burmester, R. Willumeit-Römer, and F. Feyerabend, “Behavior of bone cells in contact with magnesium implant material,” *J. Biomed. Mater. Res. -*

- Part B Appl. Biomater.*, vol. 105, no. 1, pp. 165–179, 2017, doi: 10.1002/jbm.b.33542.
- [94] E. L. Evans, T.C., Gavrilovich, E., Mihai, R.C. and Isbasescu, I., “Method for producing corrosion-inhibiting coating on an implant made of a biocorrosible magnesium alloy and implant produced according to the method,” Pat, US 2010/0131052A1, 2010.
- [95] Z. Liu *et al.*, “Influence of the Microstructure and Silver Content on Degradation, Cytocompatibility, and Antibacterial Properties of Magnesium-Silver Alloys in Vitro,” *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2017, no. June, 2017, doi: 10.1155/2017/8091265.
- [96] X. N. Gu and Y. F. Zheng, “A review on magnesium alloys as biodegradable materials,” *Front. Mater. Sci. China*, vol. 4, no. 2, pp. 111–115, 2010, doi: 10.1007/s11706-010-0024-1.
- [97] F. Witte *et al.*, “In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 17, pp. 3557–3563, 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.09.049.
- [98] R. K. Singh Raman, S. Jafari, and S. E. Harandi, “Corrosion fatigue fracture of magnesium alloys in bioimplant applications: A review,” *Eng. Fract. Mech.*, vol. 137, pp. 97–108, 2015, doi: 10.1016/j.engfracmech.2014.08.009.
- [99] a and A. M. Dharam Persaud-Sharma, “Biodegradable Magnesium alloys: A review of material development and applications.,” *J Biomim Biomater Tissue Eng.*, no. 1, p. 18, 2012, doi: 10.1086/498510.Parasitic.
- [100] D. Xue, Y. Yun, Z. Tan, Z. Dong, and M. J. Schulz, “In Vivo and In Vitro Degradation Behavior of Magnesium Alloys as Biomaterials,” *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 28, no. 3, pp. 261–267, 2012, doi: 10.1016/S1005-0302(12)60051-6.
- [101] J. Tang *et al.*, “Surface coating reduces degradation rate of magnesium alloy developed for orthopaedic applications,” *J. Orthop. Transl.*, vol. 1, no. 1, pp. 41–48, 2013, doi: 10.1016/j.jot.2013.06.003.
- [102] G. Song and A. Atrens, “Understanding Magnesium Corrosion—A Framework for Improved Alloy Performance,” *Adv. Eng. Mater.*, vol. 5, no. 12, pp. 837–858, 2003, doi: 10.1002/adem.200310405.
- [103] F. Cecchinato *et al.*, “Influence of magnesium alloy degradation on undifferentiated human cells,” *PLoS One*, vol. 10, no. 11, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0142117.
- [104] J. Gonzalez, R. Q. Hou, E. P. S. Nidadavolu, R. Willumeit-Römer, and F. Feyerabend, “Magnesium degradation under physiological conditions – Best practice,” *Bioact. Mater.*, vol. 3, no. 2, pp. 174–185, 2018, doi: 10.1016/j.bioactmat.2018.01.003.
- [105] A. Zomorodian, C. Santos, M. J. Carmezim, T. M. E. Silva, J. C. S. Fernandes, and M. F. Montemor, “‘In-vitro’ corrosion behaviour of the magnesium alloy with Al and Zn (AZ31) protected with a biodegradable polycaprolactone coating loaded with hydroxyapatite and cephalixin,” *Electrochim. Acta*, vol. 179, pp. 431–440, 2015, doi: 10.1016/j.electacta.2015.04.013.
- [106] J. Wang *et al.*, “Recommendation for modifying current cytotoxicity testing

- standards for biodegradable magnesium-based materials,” *Acta Biomater.*, vol. 21, pp. 237–249, 2015, doi: 10.1016/j.actbio.2015.04.011.
- [107] T. A. Grünewald *et al.*, “Magnesium from bioresorbable implants: Distribution and impact on the nano- and mineral structure of bone,” *Biomaterials*, vol. 76, pp. 250–260, 2016, doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.10.054.
- [108] P. R. Walker, J. LeBlanc, and M. Sikorska, “Effects of aluminum and other cations on the structure of brain and liver chromatin,” *Biochemistry*, vol. 28, no. 9, pp. 3911–3915, 1989, doi: 10.1021/bi00435a043.
- [109] Z. Li, X. Gu, S. Lou, and Y. Zheng, “The development of binary Mg-Ca alloys for use as biodegradable materials within bone,” *Biomaterials*, vol. 29, no. 10, pp. 1329–1344, 2008, doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.12.021.
- [110] X. N. Gu, W. Zheng, Y. Cheng, and Y. F. Zheng, “A study on alkaline heat treated Mg-Ca alloy for the control of the biocorrosion rate,” *Acta Biomater.*, vol. 5, no. 7, pp. 2790–2799, 2009, doi: 10.1016/j.actbio.2009.01.048.
- [111] S. Shadanbaz and G. J. Dias, “Calcium phosphate coatings on magnesium alloys for biomedical applications: A review,” *Acta Biomater.*, vol. 8, no. 1, pp. 20–30, 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2011.10.016.
- [112] M. E. Ibrahim, Hamdy, “Mechanical and In Vitro Corrosion Properties of a Heat-Treated Mg-Zn-Ca-Mn Alloy as a Potential Bioresorbable Material,” *Metall. Mater Eng*, vol. 1, no. 1, pp. 1–7, 2017.
- [113] L. Xu, F. Pan, G. Yu, L. Yang, E. Zhang, and K. Yang, “In vitro and in vivo evaluation of the surface bioactivity of a calcium phosphate coated magnesium alloy,” *Biomaterials*, vol. 30, no. 8, pp. 1512–1523, 2009, doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.12.001.
- [114] Y. Ding, C. Wen, P. Hodgson, and Y. Li, “Effects of alloying elements on the corrosion behavior and biocompatibility of biodegradable magnesium alloys: a review,” *J. Mater. Chem. B*, vol. 2, no. 14, pp. 1912–1933, 2014, doi: 10.1039/C3TB21746A.
- [115] T. D. B. N. Sohrab Khalifeh, “Super-Hydrophobic Stearic Acid Layer Formed on Anodized High Purified Magnesium for Improving Corrosion Resistance of Biodegradable Implants,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 6, no. 4, pp. 327–336, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jma.2018.08.003>.
- [116] W. Zhang *et al.*, “Strengthened corrosion control of poly (lactic acid) (PLA) and poly (ϵ -caprolactone) (PCL) polymer-coated magnesium by imbedded hydrophobic stearic acid (SA) thin layer,” *Corros. Sci.*, vol. 112, pp. 327–337, 2016, doi: 10.1016/j.corsci.2016.07.027.
- [117] H. Shao *et al.*, “3D printing magnesium-doped wollastonite/ β -TCP bioceramics scaffolds with high strength and adjustable degradation,” *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 36, no. 6, pp. 1495–1503, 2015, doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2016.01.010.
- [118] P. Tian, X. Liu, and C. Ding, “In vitro degradation behavior and cytocompatibility of biodegradable AZ31 alloy with PEO/HT composite coating,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 128, pp. 44–54, 2015, doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.02.011.
- [119] S. V. Dorozhkin, “Calcium orthophosphate coatings on magnesium and its biodegradable alloys,” *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 7, pp. 2919–2934, 2014,

- doi: 10.1016/j.actbio.2014.02.026.
- [120] M. Yazdimamaghani, M. Razavi, D. Vashaei, and L. Tayebi, "Development and degradation behavior of magnesium scaffolds coated with polycaprolactone for bone tissue engineering," *Mater. Lett.*, vol. 132, pp. 106–110, 2014, doi: 10.1016/j.matlet.2014.06.036.
- [121] G. Wu, J. M. Ibrahim, and P. K. Chu, "Surface design of biodegradable magnesium alloys - A review," *Surf. Coatings Technol.*, vol. 233, pp. 2–12, 2013, doi: 10.1016/j.surfcoat.2012.10.009.
- [122] E. Willbold *et al.*, "Magnesium alloys: A stony pathway from intensive research to clinical reality. Different test methods and approval-related considerations," *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 105, no. 1, pp. 329–347, 2017, doi: 10.1002/jbm.a.35893.
- [123] J. Kuhlmann *et al.*, "Fast escape of hydrogen from gas cavities around corroding magnesium implants," *Acta Biomater.*, vol. 9, no. 10, pp. 8714–8721, 2013, doi: 10.1016/j.actbio.2012.10.008.
- [124] S. Rahim MI, Weizbauer A, Evertz F, Hoffmann A, Rohde M, Glasmacher B, Windhagen H, Gross G, M. P. 2017. D. magnesium implant corrosion coat formation and contribution to bone bonding. J. B. J-M, and M. R. P. A. 2017:105A:697–709., "Differential magnesium implant corrosion coat formation and contribution to bone bonding," *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 105, no. 3, pp. 697–709, 2017, doi: 10.1002/jbm.a.35943.
- [125] P.-R. Cha *et al.*, "Biodegradability engineering of biodegradable Mg alloys: Tailoring the electrochemical properties and microstructure of constituent phases," *Sci. Rep.*, vol. 3, no. 1, p. 2367, 2013, doi: 10.1038/srep02367.
- [126] K. Törne, A. Örnberg, and J. Weissenrieder, "Influence of strain on the corrosion of magnesium alloys and zinc in physiological environments," *Acta Biomater.*, vol. 48, pp. 541–550, 2017, doi: 10.1016/j.actbio.2016.10.030.
- [127] X. Liu *et al.*, "Microstructure, mechanical properties, in vitro degradation behavior and hemocompatibility of novel Zn-Mg-Sr alloys as biodegradable metals," *Mater. Lett.*, vol. 162, pp. 242–245, 2016, doi: 10.1016/j.matlet.2015.07.151.
- [128] A. E. C. Henry A. Briceño, Ludwing F. Cáceres, Juan C. Joya, Juan D. Barajas Fernando Viejo, "Aleaciones de magnesio: Una alternativa potencial en la fabricación de implantes biomédicos," *Rev. Colomb. Mater.*, vol. 5, pp. 256–261, 2013.
- [129] H. Yang *et al.*, "Growth, in vitro biodegradation and cytocompatibility properties of nano-hydroxyapatite coatings on biodegradable magnesium alloys," *J. Alloys Compd.*, vol. 672, pp. 366–373, 2016, doi: 10.1016/j.jallcom.2016.02.156.
- [130] Y. F. F. Zheng, X. N. N. Gu, and F. Witte, "Biodegradable metals," *Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 77, pp. 1–34, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.mser.2014.01.001.
- [131] J. Fischer, D. Pröfrock, N. Hort, R. Willumeit, and F. Feyerabend, "Reprint of: Improved cytotoxicity testing of magnesium materials," *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.*, vol. 176, no. 20, pp. 1773–1777, 2011, doi: 10.1016/j.mseb.2011.06.002.

- [132] L. Zhang, C. Yang, J. Li, Y. Zhu, and X. Zhang, "High extracellular magnesium inhibits mineralized matrix deposition and modulates intracellular calcium signaling in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 450, no. 4, pp. 1390–1395, Aug. 2014, doi: 10.1016/J.BBRC.2014.07.004.
- [133] F. Striggow and B. E. Ehrlich, "Ligand-gated calcium channels inside and out," *Curr. Opin. Cell Biol.*, vol. 8, no. 4, pp. 490–495, Aug. 1996, doi: 10.1016/S0955-0674(96)80025-1.
- [134] S. Ghazi Sarwat, M. Ramya, P. Sabahut Ali, B. Raj, and K. R. Ravi, "A new thermodynamic parameter GCEfor identification of glass forming compositions," *J. Alloys Compd.*, vol. 627, pp. 337–343, 2015, doi: 10.1016/j.jallcom.2014.11.214.
- [135] X. Gu and G. J. Shiflet, "Mg – Ca – Zn bulk metallic glasses with high strength and significant ductility," *J.Mater. Res*, vol. 20, pp. 1935–1938, 2005, doi: 10.1557/JMR.2005.0245.
- [136] O. N. Senkov and J. M. Scott, "Glass forming ability and thermal stability of ternary Ca-Mg-Zn bulk metallic glasses," *J. Non. Cryst. Solids*, vol. 351, no. 37–39, pp. 3087–3094, 2005, doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2005.07.022.
- [137] P. Wan, L. Tan, and K. Yang, "Surface Modification on Biodegradable Magnesium Alloys as Orthopedic Implant Materials to Improve the Bioadaptability: A Review," *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 32, no. 9, pp. 827–834, 2016, doi: 10.1016/j.jmst.2016.05.003.
- [138] P. D. Buddy D. Ratner, *Biomaterials Science, An Introduction to Materials in Medicine 2nd Edition.*, Second. University of Washington, Seattle, WA USA: Elsevier, 2004.
- [139] F. Feyerabend *et al.*, "Evaluation of short-term effects of rare earth and other elements used in magnesium alloys on primary cells and cell lines," *Acta Biomater.*, vol. 6, no. 5, pp. 1834–1842, 2010, doi: 10.1016/j.actbio.2009.09.024.
- [140] B. P. Zhang, Y. Wang, and L. Geng, "Research on Mg-Zn-Ca alloy as degradable biomaterial.," *Biomater. - Phys. Chem.*, pp. 184–204, 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2009.06.028.
- [141] J. Jun, "Effect of Zn Content and Solution Treatment on Damping Capacities of Mg - Zn Casting Alloys," *Mater. Trans.*, vol. 56, no. 9, pp. 1609–1612, 2015, doi: <https://doi.org/10.2320/matertrans.M2015203>.
- [142] G. Katarivas Levy, J. Goldman, and E. Aghion, "The Prospects of Zinc as a Structural Material for Biodegradable Implants—A Review Paper," *Metals (Basel)*, vol. 7, no. 10, p. 402, Oct. 2017, doi: 10.3390/met7100402.
- [143] X. Liu *et al.*, "Effects of alloying elements (Ca and Sr) on microstructure, mechanical property and in vitro corrosion behavior of biodegradable Zn-1.5Mg alloy," *J. Alloys Compd.*, vol. 664, pp. 444–452, 2016, doi: 10.1016/j.jallcom.2015.10.116.
- [144] L. M. Plum, L. Rink, and H. Hajo, "The essential toxin: Impact of zinc on human health," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 7, no. 4, pp. 1342–1365, 2010, doi: 10.3390/ijerph7041342.
- [145] J. Kubásek, D. Vojtěch, E. Jablonská, I. Pospíšilová, J. Lipov, and T. Ruml, "Structure, mechanical characteristics and in vitro degradation, cytotoxicity,

- genotoxicity and mutagenicity of novel biodegradable Zn-Mg alloys,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 58, pp. 24–35, 2015, doi: 10.1016/j.msec.2015.08.015.
- [146] D. Vojtěch, J. Kubásek, J. Šerák, and P. Novák, “Mechanical and corrosion properties of newly developed biodegradable Zn-based alloys for bone fixation,” *Acta Biomater.*, vol. 7, no. 9, pp. 3515–3522, 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2011.05.008.
- [147] Straganov et al., “Magnesium-base alloy for use in bone surgery,” Pat, 3687135, 1972.
- [148] P. Patnaik, *Handbook of Inorganic Chemicals*. New York: McGraw-Hill, 2003.
- [149] J. Vormann, “Magnesium: Nutrition and homoeostasis,” *AIMS Public Heal.*, vol. 3, no. 2–3, p. 13, 2016, doi: 10.1016/S0098-2997(02)00089-4.
- [150] J. A. Kim, J. Lim, R. Naren, H. suk Yun, and E. K. Park, “Effect of the biodegradation rate controlled by pore structures in magnesium phosphate ceramic scaffolds on bone tissue regeneration in vivo,” *Acta Biomater.*, vol. 44, pp. 155–167, 2016, doi: 10.1016/j.actbio.2016.08.039.
- [151] A. Chaya et al., “In vivo study of magnesium plate and screw degradation and bone fracture healing,” *Acta Biomater.*, vol. 18, pp. 262–269, 2015, doi: 10.1016/j.actbio.2015.02.010.
- [152] N. Ahmad and F. Feyerabend, “Magnesium corrosion under physiological conditions,” in *European Cells and Materials*, 2014, no. August, pp. 2–3, doi: 10.13140/RG.2.1.2805.9689.
- [153] L. Choudhary and R. K. Singh Raman, “Mechanical integrity of magnesium alloys in a physiological environment: Slow strain rate testing based study,” *Eng. Fract. Mech.*, vol. 103, pp. 94–102, 2013, doi: 10.1016/j.engfracmech.2012.09.016.
- [154] M. Eshwara Phani Shubhakar, F.Feyerabend, T. Ebel, R. Willumeit, Dahms, “Degradation behavior of as cast and powder metallurgy processed Mg-Ca alloys,” in *Proceedings of 4th Euro BioMAT*, 2017, pp. 18–21.
- [155] H. N. Lu Y., Huang Y., Feyerabend F., Willumeit-Römer R., Kainer K.U., “Microstructure and mechanical properties of Mg-Gd alloys as biodegradable implant materials,” in *TMS 2018 147th Annual Meeting & Exhibition Supplemental Proceedings*, 2018, no. Feb, pp. 253–262, doi: 10.1007/978-3-319-51493-2.
- [156] K. Lietaert, L. Weber, J. Van Humbeeck, A. Mortensen, J. Luyten, and J. Schrooten, “Open cellular magnesium alloys for biodegradable orthopaedic implants,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 1, no. 4, pp. 303–311, 2013, doi: 10.1016/j.jma.2013.11.004.
- [157] M. Salahshoor and Y. B. Guo, “Biodegradation control of magnesium-calcium biomaterial via adjusting surface integrity by synergistic cutting-burnishing,” in *2nd CIRP Conference on Surface Integrity (CSI) Biodegradation*, 2014, vol. 13, pp. 143–149, doi: 10.1016/j.procir.2014.04.025.
- [158] P. K. Bowen, J. Drelich, and J. Goldman, “A new in vitro-in vivo correlation for bioabsorbable magnesium stents from mechanical behavior,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, no. 8, pp. 5064–5070, 2013, doi: 10.1016/j.msec.2013.08.042.

- [159] Y. C. Li, M. H. Li, W. Y. Hu, P. D. Hodgson, and C. E. Wen, "Biodegradable Mg-Ca and Mg-Ca-Y Alloys for Regenerative Medicine," *Mater. Sci. Forum*, vol. 654–656, no. October 2015, pp. 2192–2195, 2010, doi: 10.4028/www.scientific.net/MSF.654-656.2192.
- [160] M. A. Surmeneva, T. M. Mukhametkaliyev, H. Khakbaz, R. A. Surmenev, and M. Bobby Kannan, "Ultrathin film coating of hydroxyapatite (HA) on a magnesium-calcium alloy using RF magnetron sputtering for bioimplant applications," *Mater. Lett.*, vol. 152, pp. 280–282, 2015, doi: 10.1016/j.matlet.2015.03.140.
- [161] M. Mohedano *et al.*, "Bioactive plasma electrolytic oxidation coatings on Mg-Ca alloy to control degradation behaviour," *Surf. Coatings Technol.*, vol. 315, pp. 454–467, 2017, doi: 10.1016/j.surfcoat.2017.02.050.
- [162] S. Medina, E. Mendoza, and J. M. Meza, "Comportamiento microestructural de una fundición de magnesio puro con control en la temperatura de solidificación," *Univ. Tecnológica Pereira, Scientia Tech. Año XXII*, vol. 22, no. 2, pp. 145–149, 2017, doi: DOI: <http://dx.doi.org/10.22517/23447214.14281>.
- [163] R. Uchida, "Magnesium alloy and magnesium alloy member superior in corrosion resistance.," Pat, 6846451B2, 2005.
- [164] C. Liu, Y. Xin, G. Tang, and P. K. Chu, "Influence of heat treatment on degradation behavior of bio-degradable die-cast AZ63 magnesium alloy in simulated body fluid," *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 456, no. 1–2, pp. 350–357, 2007, doi: 10.1016/j.msea.2006.12.020.
- [165] L. Tan *et al.*, "Loss of mechanical properties in vivo and bone-implant interface strength of AZ31B magnesium alloy screws with Si-containing coating," *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 5, pp. 2333–2340, 2014, doi: 10.1016/j.actbio.2013.12.020.
- [166] I. Marco, F. Feyerabend, R. Willumeit-Römer, and O. Van Der Biest, "Degradation testing of Mg alloys in Dulbecco's modified eagle medium: Influence of medium sterilization," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 62, no. January, pp. 68–78, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.01.039.
- [167] N. Maruyama, D. Mori, S. Hiromoto, K. Kanazawa, and M. Nakamura, "Fatigue strength of 316L-type stainless steel in simulated body fluids," *Corros. Sci.*, vol. 53, no. 6, pp. 2222–2227, Jun. 2011, doi: 10.1016/J.CORSCI.2011.03.004.
- [168] M. Niinomi, "Fatigue characteristics of metallic biomaterials," *Int. J. Fatigue*, vol. 29, no. 6, pp. 992–1000, Jun. 2007, doi: 10.1016/j.ijfatigue.2006.09.021.
- [169] Y. Okazaki, S. Rao, Y. Ito, and T. Tateishi, "Corrosion resistance, mechanical properties, corrosion fatigue strength and cytocompatibility of new Ti alloys without Al and V," *Biomaterials*, vol. 19, no. 13, pp. 1197–1215, Jun. 1998, doi: 10.1016/S0142-9612(97)00235-4.
- [170] A. Sharif, "Development of Zn-Mg Alloys as a Degradable Biomaterial Development of Zn-Mg Alloys as a Degradable Biomaterial," *Adv. Alloy. Compd.*, vol. 1, no. July, 2016, doi: 10.7726/aac.2016.1001.
- [171] S. Hiromoto, M. Inoue, T. Taguchi, M. Yamane, and N. Ohtsu, "In vitro and in vivo biocompatibility and corrosion behaviour of a bioabsorbable

- magnesium alloy coated with octacalcium phosphate and hydroxyapatite,” *Acta Biomater.*, vol. 11, no. 1, pp. 520–530, 2015, doi: 10.1016/j.actbio.2014.09.026.
- [172] M. Vlcek *et al.*, “Microhardness and in vitro corrosion of heat-treated Mg-Y-Ag biodegradable alloy,” *Materials (Basel)*., vol. 10, no. 1, 2017, doi: 10.3390/ma10010055.
- [173] E. P. Shubhakar Nidadavolu, F. Feyerabend, T. Ebel, R. Willumeit-R??mer, and M. Dahms, “On the determination of magnesium degradation rates under physiological conditions,” *Materials (Basel)*., vol. 9, no. 8, 2016, doi: 10.3390/ma9080627.
- [174] J. Hofstetter *et al.*, “Influence of trace impurities on the in vitro and in vivo degradation of biodegradable Mg-5Zn-0.3Ca alloys,” *Acta Biomater.*, vol. 23, no. May, pp. 347–353, 2015, doi: 10.1016/j.actbio.2015.05.004.
- [175] M. B. Kannan, H. Khakbaz, and A. Yamamoto, “Understanding the influence of HEPES buffer concentration on the biodegradation of pure magnesium: An electrochemical study,” *Mater. Chem. Phys.*, vol. 197, pp. 47–56, 2017, doi: 10.1016/j.matchemphys.2017.05.024.
- [176] F. Witte *et al.*, “In vitro and in vivo corrosion measurements of magnesium alloys,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 7, pp. 1013–1018, 2006, doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.07.037.
- [177] T. Li, H. Zhang, Y. He, N. Wen, and X. Wang, “Microstructure, Mechanical Properties and In Vitro Degradation Behavior of a Novel Biodegradable Mg–1.5Zn–0.6Zr–0.2Sc Alloy,” *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 31, no. 7, pp. 1–7, 2015, doi: 10.1016/j.jmst.2015.02.001.
- [178] F. El-Taib Heakal, O. S. Shehata, and N. S. Tantawy, “Degradation behaviour of AZ80E magnesium alloy exposed to phosphate buffer saline medium,” *Corros. Sci.*, vol. 86, pp. 285–294, 2014, doi: 10.1016/j.corsci.2014.06.008.
- [179] G. L. Song and Z. Shi, “Corrosion mechanism and evaluation of anodized magnesium alloys,” *Corros. Sci.*, vol. 85, pp. 126–140, 2014, doi: 10.1016/j.corsci.2014.04.008.
- [180] Z. Yao, L. Li, and Z. Jiang, “Adjustment of the ratio of Ca/P in the ceramic coating on Mg alloy by plasma electrolytic oxidation,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 255, no. 13–14, pp. 6724–6728, 2009, doi: 10.1016/j.apsusc.2009.02.082.
- [181] F. Witte, “Reprint of: The history of biodegradable magnesium implants: A review,” *Acta Biomater.*, vol. 23, no. S, pp. S28–S40, 2015, doi: 10.1016/j.actbio.2015.07.017.
- [182] L. Liu, J. Wang, T. Russell, J. Sankar, and Y. Yun, “The Biological Responses to Magnesium-Based Biodegradable Medical Devices,” *Metals (Basel)*., vol. 7, no. 12, p. 514, 2017, doi: 10.3390/met7110514.
- [183] M. K. Wakefield, “Lessons learned from correlations of bench testing and clinical performance.,” *ASTM international-Food and drug administration workshop on absorbable medical devices*, vol. 79, no. 122. US, pp. 88–89, 2014.
- [184] H. Hermawan, H. Alamdari, D. Mantovani, and D. Dubé, “Iron–manganese: new class of metallic degradable biomaterials prepared by powder metallurgy,” *Powder Metall.*, vol. 51, no. 1, pp. 38–45, 2008, doi:

10.1179/174329008X284868.

- [185] R. W. Frank Feyerabend, "Behavior of bone cells due to contact to magnesium implant material," in *European Cells and Materials Vol.*, 2014, vol. 28, no. August, p. 28.
- [186] H. Hornberger, S. Virtanen, and A. R. Boccaccini, "Biomedical coatings on magnesium alloys - A review," *Acta Biomater.*, vol. 8, no. 7, pp. 2442–2455, 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2012.04.012.
- [187] A. Witecka, A. Yamamoto, J. Idaszek, and A. Chlanda, "Influence of biodegradable polymer coatings on corrosion, cytocompatibility and cell functionality of Mg-2.0Zn-0.98Mn magnesium alloy," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 144, pp. 284–292, 2016, doi: 10.1016/j.colsurfb.2016.04.021.
- [188] C. L. Zhang, F. Zhang, L. Song, R. C. Zeng, S. Q. Li, and E. H. Han, "Corrosion resistance of a superhydrophobic surface on micro-arc oxidation coated Mg-Li-Ca alloy," *J. Alloys Compd.*, vol. 728, no. September, pp. 815–826, 2017, doi: 10.1016/j.jallcom.2017.08.159.
- [189] R. Walter and M. B. Kannan, "In-vitro degradation behaviour of WE54 magnesium alloy in simulated body fluid," *Mater. Lett.*, vol. 65, no. 4, pp. 748–750, 2011, doi: 10.1016/j.matlet.2010.11.051.
- [190] R. Willumeit, F. Feyerabend, and N. Huber, "Magnesium degradation as determined by artificial neural networks," *Acta Biomater.*, vol. 9, no. 10, pp. 8722–8729, 2013, doi: 10.1016/j.actbio.2013.02.042.
- [191] M. Dahms, D. Höche, N. Ahmad Agha, F. Feyerabend, and R. Willumeit-Römer, "A simple model for long-time degradation of magnesium under physiological conditions," *Mater. Corros.*, no. February, 2017, doi: 10.1002/maco.201709461.
- [192] H. Dieringa and N. Hort, "Magnesium-Based Metal Matrix Nanocomposites — Processing and Properties," in *TMS 2018 147th Annual Meeting & Exhibition Supplemental Proceedings*, 2018, pp. 679–691.
- [193] I. Adekanmbi, C. Z. Mosher, H. H. Lu, M. Riehle, H. Kubba, and K. E. Tanner, "Mechanical behaviour of biodegradable AZ31 magnesium alloy after long term in vitro degradation," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 77, pp. 1135–1144, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.03.216.
- [194] M. Wolff *et al.*, "Metal Injection Molding (MIM) of Magnesium and Its Alloys," *Metals (Basel)*, vol. 6, no. 5, p. 118, 2016, doi: 10.3390/met6050118.
- [195] W. H. Sillekens, "Method of manufacturing a porous magnesium, or magnesium alloy, biomedical implant or medical appliance. Method of manufacturing a porous magnesium, or magnesium alloy, biomedical implant or medical appliance.," 2008.
- [196] W. H. Sillekens, "Process for manufacturing magnesium alloy based products," Pat, 2012/0046732A1, 2012.
- [197] E. Müge, "Process for manufacturing magnesium alloy based products," Pat, EP 2224032A1, 2008.
- [198] P. Minárik *et al.*, "Effect of equal channel angular pressing on in vitro degradation of LAE442 magnesium alloy," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 73, pp. 736–742, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2016.12.120.
- [199] C. Listy, P. Ascr, and S. Mosaics, "Magnesium - The Metal for Medicine and

- for Hydrogen Storage,” *Chem. List.*, vol. 105, no. August 2017, pp. 678–683, 2011.
- [200] M. Carboneras, B. T. Pérez-Maceda, J. A. Del Valle, M. C. García-Alonso, R. M. Lozano, and M. L. Escudero, “In vitro performance of magnesium processed by different routes for bone regeneration applications,” *Mater. Lett.*, vol. 65, no. 19–20, pp. 3020–3023, 2011, doi: 10.1016/j.matlet.2011.06.041.
- [201] R. W. Frank Feyerabend, “Mechanical properties of extruded antimicrobial Mg-Ag alloys,” in *Conference: 6th Symposium on Biodegradable Metals*, 2014, no. August.
- [202] A. A. C. Asselli, S. F. Santos, and J. Huot, “Hydrogen storage in filed magnesium,” *J. Alloys Compd.*, vol. 687, pp. 586–594, 2016, doi: 10.1016/j.jallcom.2016.06.109.
- [203] H. Dieringa *et al.*, “Mg alloys: Challenges and achievements in controlling performance, and future application perspectives,” in *Minerals, Metals and Materials Series*, 2018, vol. Part F7, pp. 3–14, doi: 10.1007/978-3-319-72332-7_1.
- [204] H. F. Sun, C. J. Li, Y. Xie, and W. Bin Fang, “Microstructures and mechanical properties of pure magnesium bars by high ratio extrusion and its subsequent annealing treatment,” *Trans. Nonferrous Met. Soc. China (English Ed.)*, vol. 22, no. SUPPL.2, pp. s445–s449, 2012, doi: 10.1016/S1003-6326(12)61744-0.
- [205] S. K. Ahmed, J. P. Ward, and Y. Liu, “Numerical modelling of effects of biphasic layers of corrosion products to the degradation of magnesium metal in vitro,” *Materials (Basel)*, vol. 11, no. 1, pp. 1–25, 2017, doi: 10.3390/ma11010001.
- [206] J. Hofstetter *et al.*, “Assessing the degradation performance of ultrahigh-purity magnesium in vitro and in vivo,” *Corros. Sci.*, vol. 91, pp. 29–36, 2015, doi: 10.1016/j.corsci.2014.09.008.
- [207] O. N. Senkov, D. B. Miracle, and J. M. Scott, “Development and characterization of Ca-Mg-Zn-Cu bulk metallic glasses,” *Intermetallics*, vol. 14, no. 8–9, pp. 1055–1060, 2006, doi: 10.1016/j.intermet.2006.01.024.
- [208] J. R. Scully, A. Gebert, and J. H. Payer, “Corrosion and related mechanical properties of bulk metallic glasses,” *J. Mater. Res.*, vol. 22, no. 02, pp. 302–313, 2007, doi: 10.1557/jmr.2007.0051.
- [209] Y. Y. Zhao, E. Ma, and J. Xu, “Reliability of compressive fracture strength of Mg-Zn-Ca bulk metallic glasses: Flaw sensitivity and Weibull statistics,” *Scr. Mater.*, vol. 58, no. 6, pp. 496–499, 2008, doi: 10.1016/j.scriptamat.2007.10.052.
- [210] D. Holtzclaw, N. Toscano, L. Eisenlohr, and D. Callan, “The safety of bone allografts used in dentistry: A review,” *J. Am. Dent. Assoc.*, vol. 139, no. 9, pp. 1192–1199, 2008, doi: 10.14219/jada.archive.2008.0334.
- [211] K. E. Salyer and D. P. Taylor, “Bone grafts in craniofacial surgery,” *Clin. Plast. Surg.*, vol. 14, no. 1, pp. 27–35, 1987, doi: 10.1055/s-0029-1215875.
- [212] J. C. Wang *et al.*, “A comparison of commercially available demineralized bone matrix for spinal fusion,” *Eur. Spine J.*, vol. 16, no. 8, pp. 1233–1240, 2007, doi: 10.1007/s00586-006-0282-x.

- [213] H. J. Maier *et al.*, “Magnesium Alloys for Open-Pored Bioresorbable Implants,” *Jom*, vol. 72, no. 5, pp. 1859–1869, 2020, doi: 10.1007/s11837-020-04078-8.
- [214] C. Liu, Z. Ren, Y. Xu, S. Pang, X. Zhao, and Y. Zhao, “Biodegradable Magnesium Alloys Developed as Bone Repair Materials: A Review,” *Scanning*, vol. 2018, 2018, doi: 10.1155/2018/9216314.
- [215] J. F. Ramirez Patino, “Bioresorbable magnesium-based sponge and foam materials. Methods and devices,” WO 2018/187756 A1, 2018.
- [216] L. H. Campos Becerra, M. H. R., H. Esquivel Solís, R. Lesso Arroyo, and A. Torres Castro, “Bio-inspired biomaterial Mg-Zn-Ca: a review of the main mechanical and biological properties of Mg-based alloys.,” *Biomed. Phys. Eng. Express*, May 2020, doi: 10.1088/2057-1976/ab9426.
- [217] X. Li *et al.*, “Preparation and osteogenic properties of magnesium calcium phosphate biocement scaffolds for bone regeneration,” *J. Instrum.*, vol. 8, no. 7, 2013, doi: 10.1088/1748-0221/8/07/C07010.
- [218] J. Deng *et al.*, “ZnO and Hydroxyapatite-Modified Magnesium Implant with a Broad Spectrum of Antibacterial Properties and a Unique Minimally Invasive Defined Degrading Capability,” *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 5, no. 9, pp. 4285–4292, 2019, doi: 10.1021/acsbiomaterials.9b00650.
- [219] M. Alshaaer, E. Abdel-Fattah, I. Saadeddin, F. Al Battah, K. Issa, and G. Saffarini, “The effect of natural fibres template on the chemical and structural properties of Biphasic Calcium Phosphate scaffold,” *Mater. Res. Express*, vol. 7, no. 6, 2020, doi: 10.1088/2053-1591/ab9993.
- [220] S. T. Ehsanollah Moradi, Mehdi Ebrahimian-Hosseini, Mohammad Khodaei, “Magnesium/Nano-Hydroxyapatite porous biodegradable composite for biomedical applications,” *Mater. Res. Express*, vol. in press, pp. 0–31, 2019.
- [221] K. L. Ong, B. M. Yun, and J. B. White, “New biomaterials for orthopedic implants,” *Orthop. Res. Rev.*, vol. 7, no. September 2015, pp. 107–130, 2015, doi: 10.2147/ORR.S63437.
- [222] U.S Food & drug administration, “Jurisdictional Update: Human Demineralized Bone Matrix,” 2018. .
- [223] J. L. Wang, J. K. Xu, C. Hopkins, D. H. K. Chow, and L. Qin, “Biodegradable Magnesium-Based Implants in Orthopedics—A General Review and Perspectives,” *Adv. Sci.*, vol. 7, no. 8, 2020, doi: 10.1002/advs.201902443.
- [224] C. Gao, S. Peng, P. Feng, and C. Shuai, “Bone biomaterials and interactions with stem cells,” *Bone Res.*, vol. 5, no. May, pp. 1–33, 2017, doi: 10.1038/boneres.2017.59.
- [225] F. Amerstorfer *et al.*, “Long-term in vivo degradation behavior and near-implant distribution of resorbed elements for magnesium alloys WZ21 and ZX50,” *Acta Biomater.*, vol. 42, pp. 440–450, 2016, doi: 10.1016/j.actbio.2016.06.025.
- [226] S. Lesz, J. Kraczla, and R. Nowosielski, “Structure and compression strength characteristics of the sintered Mg–Zn–Ca–Gd alloy for medical applications,” *Arch. Civ. Mech. Eng.*, vol. 18, no. 4, pp. 1288–1299, 2018, doi: 10.1016/j.acme.2018.04.002.
- [227] H. R. Bakhsheshi-Rad, M. Abdollahi, E. Hamzah, A. F. Ismail, and M.

- Bahmanpour, "Modelling corrosion rate of biodegradable magnesium-based alloys: The case study of Mg-Zn-RE-xCa (x = 0, 0.5, 1.5, 3 and 6 wt%) alloys," *J. Alloys Compd.*, vol. 687, pp. 630–642, 2016, doi: 10.1016/j.jallcom.2016.06.149.
- [228] Y. Wang, G. Liu, Y. Wei, and Y. Qiao, "Effects of Magnesium-Calcium Alloys with Different Calcium Content on Their Mechanical Properties," *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 735, p. 012010, 2020, doi: 10.1088/1757-899x/735/1/012010.
- [229] N. Sezer, Z. Evis, S. M. Kayhan, A. Tahmasebifar, and M. Koç, "Review of magnesium-based biomaterials and their applications," *J. Magnes. Alloy.*, vol. 6, no. 1, pp. 23–43, 2018, doi: 10.1016/j.jma.2018.02.003.
- [230] N. Pulido-gonzález, B. Torres, P. Rodrigo, N. Hort, and J. Rams, "Microstructural , mechanical and corrosion characterization of an as-cast Mg – 3Zn – 0 . 4Ca alloy for biomedical applications," *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.02.007.
- [231] R. Radha and D. Sreekanth, "Insight of magnesium alloys and composites for orthopedic implant applications – a review," *J. Magnes. Alloy.*, vol. 5, no. 3, pp. 286–312, 2017, doi: 10.1016/j.jma.2017.08.003.
- [232] S. P. N. Thomas O. Xu, Hyun S. Kim, Tyler Stahl, "Self-neutralizing PLGA/magnesium composites as novel biomaterials for tissue engineering," *Biomed. Mater.*, vol. in press, pp. 0–31, 2018.
- [233] M. Alshaaer, E. Abdel-Fattah, I. Saadeddin, F. Al Battah, K. Issa, and G. Saffarini, "The effect of natural fibres template on the chemical and structural properties of Biphasic Calcium Phosphate scaffold," *Mater. Res. Express*, vol. 7, no. 6, p. 065405, 2020, doi: 10.1088/2053-1591/ab9993.
- [234] X. N. Gu *et al.*, "Corrosion resistance and surface biocompatibility of a microarc oxidation coating on a Mg-Ca alloy," *Acta Biomater.*, vol. 7, no. 4, pp. 1880–1889, 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2010.11.034.
- [235] M. B. Sedelnikova *et al.*, "Characterization of the Micro-Arc coatings containing β -tricalcium phosphate particles on Mg-0.8Ca alloy," *Metals (Basel)*, vol. 8, no. 4, pp. 1–15, 2018, doi: 10.3390/met8040238.
- [236] S. Farahany, H. R. Bakhsheshi-Rad, M. H. Idris, M. R. Abdul Kadir, A. F. Lotfabadi, and A. Ourdjini, "In-situ thermal analysis and macroscopical characterization of Mg-xCa and Mg-0.5Ca-xZn alloy systems," *Thermochim. Acta*, vol. 527, pp. 180–189, 2012, doi: 10.1016/j.tca.2011.10.027.
- [237] R. Zeng, Z. Lan, L. Kong, Y. Huang, and H. Cui, "Characterization of calcium-modified zinc phosphate conversion coatings and their influences on corrosion resistance of AZ31 alloy," *Surf. Coatings Technol.*, vol. 205, no. 11, pp. 3347–3355, 2011, doi: 10.1016/j.surfcoat.2010.11.027.
- [238] S. Z. Qing Yu, Chengye Wang, Jingxin Yang, Changwu Guo, "Mineralized collagen/Mg-Ca alloy combined scaffolds with improved biocompatibility for enhanced bone response following tooth extraction.," *Biomed. Mater.*, vol. 13, no. 6, pp. 1–23, 2018.
- [239] R. W. F. Feyerabend¹, F. Witte², C. Vogt², J. Fischer¹, A. Schreyer¹, K. U. Kainer¹, N. Hort¹, "In Vitro Testing of Magnesium Alloys - Challenges and Options," *Wiley-VCH Books*.

- [240] P. Sharma, S. Chattopadhyaya, and N. K. Singh, "A review on magnetically supported gas metal arc welding process for magnesium alloys," *Mater. Res. Express*, vol. 6, no. 8, 2019, doi: 10.1088/2053-1591/ab1e67.
- [241] S. Toghyani and M. Khodaei, "Fabrication and characterization of magnesium scaffold using different processing parameters," *Mater. Res. Express*, vol. 5, no. 3, 2018, doi: 10.1088/2053-1591/aab6db.
- [242] R. G. Guan *et al.*, "Development and evaluation of a magnesium-zinc-strontium alloy for biomedical applications - Alloy processing, microstructure, mechanical properties, and biodegradation," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, no. 7, pp. 3661–3669, 2013, doi: 10.1016/j.msec.2013.04.054.
- [243] D. Annur, P. Franciska, A. Erryani, M. I. Amal, L. S. Sitorus, and I. Kartika, "The synthesis and characterization of Mg-Zn-Ca alloy by powder metallurgy process," *AIP Conf. Proc.*, vol. 1725, no. April 2016, 2016, doi: 10.1063/1.4945486.
- [244] C. Jin and R. J. Narayan, "Structural and optical properties of hexagonal Mg xZn 1-xO thin films," *J. Electron. Mater.*, vol. 35, no. 5, pp. 869–876, 2006, doi: 10.1007/BF02692542.
- [245] V. Mironov, T. Trusk, V. Kasyanov, S. Little, R. Swaja, and R. Markwald, "Biofabrication: A 21st century manufacturing paradigm," *Biofabrication*, vol. 1, no. 2, 2009, doi: 10.1088/1758-5082/1/2/022001.
- [246] M. Ni, W. Niu, D. W. C. Wong, W. Zeng, J. Mei, and M. Zhang, "Finite element analysis of locking plate and two types of intramedullary nails for treating mid-shaft clavicle fractures," *Injury*, vol. 47, no. 8, pp. 1618–1623, 2016, doi: 10.1016/j.injury.2016.06.004.
- [247] X. Gu, Y. Zheng, S. Zhong, T. Xi, J. Wang, and W. Wang, "Corrosion of, and cellular responses to Mg-Zn-Ca bulk metallic glasses," *Biomaterials*, vol. 31, no. 6, pp. 1093–1103, 2010, doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.11.015.
- [248] V. Geanta, I. Voiculescu, H. Kelemen, D. Manu, G. Molnár, and G. Kelemen, "Mg-Ca-Zn bio-degradable light alloys produced in a levitation induction melting furnace," *Int. J. Appl. Electromagn. Mech.*, vol. 63, no. S1, pp. S69–S78, 2020, doi: 10.3233/JAE-209113.
- [249] B. Hrapkowicz and S. T. Lesz, "Characterization of Ca 50 Mg 20 Zn 12 Cu 18 Alloy," *Arch. Foundry Eng.*, vol. 19, no. 1, pp. 75–82, 2019, doi: 10.24425/afe.2018.125195.
- [250] S. Ma, F. Xing, N. Ta, and L. Zhang, "Kinetic modeling of high-temperature oxidation of pure Mg," *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, no. 3, pp. 819–831, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2019.12.005.
- [251] Z. Shahri, S. R. Allahkaram, R. Soltani, and H. Jafari, "Optimization of plasma electrolyte oxidation process parameters for corrosion resistance of Mg alloy," *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, no. 2, pp. 431–440, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2018.10.001.
- [252] A. Kumar and P. M. Pandey, "Development of Mg based biomaterial with improved mechanical and degradation properties using powder metallurgy," *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, no. 3, pp. 883–898, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.02.011.

- [253] M. Yang, D. Liu, R. Zhang, and M. Chen, "Microstructure and Properties of Mg-3Zn-0.2Ca Alloy for Biomedical Application," *Xiyou Jinshu Cailiao Yu Gongcheng/Rare Met. Mater. Eng.*, vol. 47, no. 1, pp. 93–98, 2018, doi: 10.1016/s1875-5372(18)30078-x.
- [254] C. E. Smith, "Aggie Digital Collections and Scholarship Processing And Characterization Of Innovative Magnesium Alloys For Biodegradable Orthopaedic Implants," 2015.
- [255] S. Bell, E. Ajami, and J. E. Davies, "An improved mechanical testing method to assess bone-implant anchorage," *J. Vis. Exp.*, no. 84, pp. 1–10, 2014, doi: 10.3791/51221.
- [256] S. F. Fischerauer, "Preclinical Characterization of Bioresorbable Magnesium Implants for," 2015.
- [257] C. Liu *et al.*, "Enhanced osteoinductivity and corrosion resistance of dopamine/gelatin/rhBMP-2-coated β -TCP/Mg-Zn orthopedic implants: An in vitro and in vivo study," *PLoS One*, vol. 15, no. 1, pp. 1–24, 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0228247.
- [258] S. Hiromoto, S. Itoh, N. Noda, T. Yamazaki, H. Katayama, and T. Akashi, "Osteoclast and osteoblast responsive carbonate apatite coatings for biodegradable magnesium alloys," *Sci. Technol. Adv. Mater.*, vol. 21, no. 1, pp. 346–358, 2020, doi: 10.1080/14686996.2020.1761237.
- [259] Y. H. Chang, C. C. Tseng, C. Y. Chao, C. H. Chen, S. Y. Lin, and J. K. Du, "Mg-Zn-Ca alloys for hemostasis clips for vessel ligation: In vitro and in vivo studies of their degradation and response," *Materials (Basel)*, vol. 13, no. 13, 2020, doi: 10.3390/ma13133039.
- [260] K. Sarkar, V. Kumar, K. B. Devi, D. Ghosh, S. K. Nandi, and M. Roy, "Anomalous in Vitro and in Vivo Degradation of Magnesium Phosphate Bioceramics: Role of Zinc Addition," *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 5, no. 10, pp. 5097–5106, 2019, doi: 10.1021/acsbiomaterials.9b00422.
- [261] N. Ostrowski, B. Lee, D. Hong, P. N. Enick, A. Roy, and P. N. Kumta, "Synthesis, Osteoblast, and Osteoclast Viability of Amorphous and Crystalline Tri-Magnesium Phosphate," *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 1, no. 1, pp. 52–63, 2015, doi: 10.1021/ab500073c.
- [262] H. Ibrahim, S. N. Esfahani, B. Poorganji, D. Dean, and M. Elahinia, "Resorbable bone fixation alloys, forming, and post-fabrication treatments," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 70, pp. 870–888, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2016.09.069.
- [263] J. H. Gao *et al.*, "Fabrication and characterization of rod-like nano-hydroxyapatite on MAO coating supported on Mg-Zn-Ca alloy," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 257, no. 6, pp. 2231–2237, 2011, doi: 10.1016/j.apsusc.2010.09.080.
- [264] P. Sharma, S. Chattopadhyaya, and N. K. Singh, "A review on magnetically supported gas metal arc welding process for magnesium alloys," *Mater. Res. Express*, vol. 6, no. 8, 2019, doi: 10.1088/2053-1591/ab1e67.
- [265] O. N. Senkov and J. M. Scott, "Glass forming ability and thermal stability of ternary Ca-Mg-Zn bulk metallic glasses," *J. Non. Cryst. Solids*, vol. 351, no. 37–39, pp. 3087–3094, 2005, doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2005.07.022.
- [266] A. Kumar and P. M. Pandey, "Development of Mg based biomaterial with

- improved mechanical and degradation properties using powder metallurgy,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, pp. 883–898, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.02.011.
- [267] Y. Xin, T. Hu, and P. K. Chu, “Influence of Test Solutions on In Vitro Studies of Biomedical Magnesium Alloys,” *J. Electrochem. Soc.*, vol. 157, no. 7, p. C238, 2010, doi: 10.1149/1.3421651.
- [268] Y. Yan *et al.*, “A homogenous microstructural Mg-based matrix model for orthopedic application with generating uniform and smooth corrosion product layer in Ringer’s solution: Study on biodegradable behavior of Mg-Zn alloys prepared by powder metallurgy as a case,” *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.03.010.
- [269] A. Vinogradov, E. Vasilev, V. I. Kopylov, M. Linderov, A. Brilevesky, and D. Merson, “High performance fine-grained biodegradable Mg-Zn-Ca alloys processed by severe plastic deformation,” *Metals (Basel)*, vol. 9, no. 2, 2019, doi: 10.3390/met9020186.
- [270] T. H. Priyanto, A. Insani, R. Muslih, and Bharoto, “Texture Analysis on the AZ31 Magnesium Alloy Using Neutron Diffraction Method,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1436, no. 1, 2020, doi: 10.1088/1742-6596/1436/1/012061.
- [271] M. Park and K. Kim, “Basal texture formation behavior of M1 magnesium alloy during high-temperature compression deformation,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1270, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1742-6596/1270/1/012043.
- [272] J. Xie *et al.*, “Towards developing Mg alloys with simultaneously improved strength and corrosion resistance via RE alloying,” *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.08.016.
- [273] P. Du, S. Furusawa, and T. Furushima, “Microstructure and performance of biodegradable magnesium alloy tubes fabricated by local-heating-assisted dieless drawing,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, no. 3, pp. 614–623, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.05.009.
- [274] Z. Z. Shi, H. T. Chen, K. Zhang, F. Z. Dai, and X. F. Liu, “Crystallography of precipitates in Mg alloys,” *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx, pp. 1–16, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.06.013.
- [275] R. Afandi, Sutiyoko, and Lutiyaatmi, “Characteristic modifications of magnesium and its alloy for future implant material - Review,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1517, no. 1, 2020, doi: 10.1088/1742-6596/1517/1/012061.
- [276] M. Janeček, T. Krajňák, P. Minárik, J. Čížek, J. Stráská, and J. Stráský, “Structural stability of ultra-fine grained magnesium alloys processed by equal channel angular pressing,” *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 194, no. 1, 2017, doi: 10.1088/1757-899X/194/1/012022.
- [277] M. Zheng, G. Xu, D. Liu, Y. Zhao, B. Ning, and M. Chen, “Study on the Microstructure, Mechanical Properties and Corrosion Behavior of Mg-Zn-Ca Alloy Wire for Biomaterial Application,” *J. Mater. Eng. Perform.*, vol. 27, no. 4, pp. 1837–1846, 2018, doi: 10.1007/s11665-018-3278-x.
- [278] Y.-H. Kim, H.-S. Yoo, and H.-T. Son, “Microstructure and Mechanical Properties of Mg–11Li–6Zn–0.6Zr–0.4Ag–0.2Ca–x Y Alloys,” *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 18, no. 9, pp. 6304–6308, 2018, doi: 10.1166/jnn.2018.15637.
- [279] T. Li, Y. He, H. Zhang, and X. Wang, “Microstructure, mechanical property

- and in vitro biocorrosion behavior of single-phase biodegradable Mg-1.5Zn-0.6Zr alloy,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 2, no. 2, pp. 181–189, 2014, doi: 10.1016/j.jma.2014.05.006.
- [280] M. Prakasam, J. Locs, K. Salma-Ancane, D. Loca, A. Largeteau, and L. Berzina-Cimdina, “Biodegradable Materials and Metallic Implants—A Review,” *J. Funct. Biomater.*, vol. 8, no. 4, p. 44, 2017, doi: 10.3390/jfb8040044.
- [281] M. Sikora-Jasinska, E. Mostaed, A. Mostaed, R. Beanland, D. Mantovani, and M. Vedani, “Fabrication, mechanical properties and in vitro degradation behavior of newly developed Zn Ag alloys for degradable implant applications,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 77, pp. 1170–1181, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.04.023.
- [282] Y. Wang, G. Liu, Y. Wei, and Y. Qiao, “Effects of magnesium-calcium alloys with different calcium content on their mechanical properties,” *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 735, no. 1, 2020, doi: 10.1088/1757-899X/735/1/012010.
- [283] H. M. Jia, X. H. Feng, and Y. S. Yang, “Microstructure of directionally solidified Mg-Zn alloy with different growth rates,” *Mater. Sci. Forum*, vol. 816, pp. 411–417, 2015, doi: 10.4028/www.scientific.net/MSF.816.411.
- [284] H. R. Bakhsheshi-Rad *et al.*, “Microstructure and bio-corrosion behavior of Mg-Zn and Mg-Zn-Ca alloys for biomedical applications,” *Mater. Corros.*, vol. 65, no. 12, pp. 1178–1187, 2014, doi: 10.1002/maco.201307588.
- [285] F. Zivić, N. Grujović, G. Manivasagam, C. Richard, J. Landoulsi, and V. Petrović, “The potential of magnesium alloys as bioabsorbable / biodegradable implants for biomedical applications,” *Tribol. Ind.*, vol. 36, no. 1, pp. 67–73, 2014.
- [286] J. X. Tao *et al.*, “Influence of graphene oxide (GO) on microstructure and biodegradation of ZK30-xGO composites prepared by selective laser melting,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, no. 3, pp. 952–962, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2019.10.004.
- [287] K. Wang *et al.*, “Achieving enhanced mechanical properties in Mg-Gd-Y-Zn-Mn alloy by altering dynamic recrystallization behavior via pre-ageing treatment,” *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 790, no. June, p. 139635, 2020, doi: 10.1016/j.msea.2020.139635.
- [288] P. M. Jardim, G. Solórzano, and J. B. V. Sande, “Second phase formation in melt-spun Mg-Ca-Zn alloys,” *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 381, no. 1–2, pp. 196–205, 2004, doi: 10.1016/j.msea.2004.04.043.
- [289] S. Dutta, S. Gupta, and M. Roy, “Recent Developments in Magnesium Metal-Matrix Composites for Biomedical Applications: A Review,” *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 17, no. Table 1, 2020, doi: 10.1021/acsbomaterials.0c00678.
- [290] V. Bazhenov *et al.*, “Gallium-containing magnesium alloy for potential use as temporary implants in osteosynthesis,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, no. 2, pp. 352–363, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.02.009.
- [291] P. K. Bowen, C. T. McNamara, O. P. Mills, J. Drelich, and J. Goldman, “FIB-TEM Study of Magnesium Corrosion Products after 14 Days in the Murine Artery,” *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 1, no. 10, pp. 919–926, 2015, doi:

10.1021/acsbiomaterials.5b00044.

- [292] N. Moritz *et al.*, “Mechanical properties and in vivo performance of load-bearing fiber-reinforced composite intramedullary nails with improved torsional strength,” *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 40, pp. 127–139, 2014, doi: 10.1016/j.jmbbm.2014.08.020.
- [293] ISO, “ISO 10993-12:2012(en), Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials.” .
- [294] X. Gai *et al.*, “A novel method for evaluating the dynamic biocompatibility of degradable biomaterials based on real-time cell analysis,” *Regen. Biomater.*, vol. 7, no. 3, pp. 321–329, 2020, doi: 10.1093/rb/rbaa017.
- [295] Y. Zhuang, Q. Liu, G. Jia, H. Li, G. Yuan, and H. Yu, “A Biomimetic Zinc Alloy Scaffold Coated with Brushite for Enhanced Cranial Bone Regeneration,” *ACS Biomater. Sci. Eng.*, 2020, doi: 10.1021/acsbiomaterials.9b01895.
- [296] R. G. Guan *et al.*, “Electrodeposition of hydroxyapatite coating on Mg-4.0Zn-1.0Ca-0.6Zr alloy and in vitro evaluation of degradation, hemolysis, and cytotoxicity,” *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 100 A, no. 4, pp. 999–1015, 2012, doi: 10.1002/jbm.a.34042.
- [297] N. A. Cahyono, L. D. Sulistyani, A. S. Santosa, and B. S. Latief, “Analysis of the mechanical properties of magnesium equal-channel angular pressing of a plate on mandibular fracture through bending and ductility tests in physiological fluids of Dulbecco’s Modified Eagle Medium,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1073, no. 6, 2018, doi: 10.1088/1742-6596/1073/6/062008.
- [298] T. Mayama, M. Tane, and Y. Tadano, “Crystal plasticity analysis of anisotropic deformation behavior of porous magnesium with oriented pores,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1063, no. 1, 2018, doi: 10.1088/1742-6596/1063/1/012047.
- [299] A. Fattah-alhosseini, R. Chaharmahali, and K. Babaei, “Effect of particles addition to solution of plasma electrolytic oxidation (PEO) on the properties of PEO coatings formed on magnesium and its alloys: A review,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, no. 3, pp. 799–818, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.05.001.
- [300] L. L. Mguni, M. Mukenga, E. Muzenda, K. Jalama, and R. Meijboom, “Expanding the synthesis of Stöber spheres: Towards the synthesis of nano-magnesium oxide and nano-zinc oxide,” *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, vol. 66, no. 1, pp. 91–99, 2013, doi: 10.1007/s10971-013-2971-3.
- [301] A. Kanti De, A. Mukhopadhyay, S. Sen, and I. K. Puri, “Numerical simulation of early stages of oxide formation in molten aluminium-magnesium alloys in a reverberatory furnace,” *Model. Simul. Mater. Sci. Eng.*, vol. 12, no. 3, pp. 389–405, 2004, doi: 10.1088/0965-0393/12/3/003.
- [302] E. A. Gulbransen, “The Oxidation and Evaporation of Magnesium at Temperatures from 400° to 500° C,” *Trans. Electrochem. Soc.*, vol. 87, no. 1, p. 589, 1945, doi: 10.1149/1.3071667.
- [303] F. Ren, R. Xin, X. Ge, and Y. Leng, “Characterization and structural analysis of zinc-substituted hydroxyapatites,” *Acta Biomater.*, vol. 5, no. 8, pp. 3141–3149, 2009, doi: 10.1016/j.actbio.2009.04.014.
- [304] L. G. J. LeGeros RZ, “Dense hydroxyapatite. An introduction to bioceramics.,” *World Sci.*, vol. 1, 1993.

- [305] A. P. N.K. Tripathy, P.N. Patel, "Preparation, IR, and lattice constant measurements of mixed (Ca+Cu+Zn) hydroxylapatites," *J. Solid State Chem.*, vol. 80, no. 1, pp. 1–5, 1989.
- [306] S. Paul *et al.*, "New Mg-Ca-Zn amorphous alloys: Biocompatibility, wettability and mechanical properties," *Materialia*, vol. 12, no. February, 2020, doi: 10.1016/j.mtla.2020.100799.
- [307] A. Fazel Anvari-Yazdi *et al.*, "Cytotoxicity assessment of adipose-derived mesenchymal stem cells on synthesized biodegradable Mg-Zn-Ca alloys," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 69, pp. 584–597, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.07.016.
- [308] I. Cicha, R. Singh, C. D. Garlich, and C. Alexiou, "Nano-biomaterials for cardiovascular applications: Clinical perspective," *J. Control. Release*, vol. 229, pp. 23–36, 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.03.015.
- [309] S. Dasgupta, S. S. Banerjee, A. Bandyopadhyay, and S. Bose, "Zn- and Mg-doped hydroxyapatite nanoparticles for controlled release of protein," *Langmuir*, vol. 26, no. 7, pp. 4958–4964, 2010, doi: 10.1021/la903617e.
- [310] N. Nassif and I. Ghayad, "Corrosion protection and surface treatment of magnesium alloys used for orthopedic applications," *Adv. Mater. Sci. Eng.*, vol. 2013, 2013, doi: 10.1155/2013/532896.
- [311] L. M. Rueda, C. Nieves, C. A. Hernández Barrios, A. E. Coy, and F. Viejo, "Design of TEOS-GPTMS sol-gel coatings on rare-earth magnesium alloys employed in the manufacture of orthopaedic implants," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 687, no. 1, 2016, doi: 10.1088/1742-6596/687/1/012013.
- [312] H. Search *et al.*, "Study on constitutive model and dynamic recrystallization softening behavior of AZ80A magnesium alloy," 2017.
- [313] R. J. Gummow and Y. He, "Morphology and Preferred Orientation of Pulse Electrodeposited Magnesium," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 157, no. 4, p. E45, 2010, doi: 10.1149/1.3298883.
- [314] M. Park and K. Kim, "Basal texture formation behavior of M1 magnesium alloy during high-temperature compression deformation," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1270, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1742-6596/1270/1/012043.
- [315] T. H. Priyanto, A. Insani, R. Muslih, and Bharoto, "Texture Analysis on the AZ31 Magnesium Alloy Using Neutron Diffraction Method," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1436, no. 1, 2020, doi: 10.1088/1742-6596/1436/1/012061.
- [316] J. Yan, Z. Qin, and K. Yan, "Mechanical properties and microstructure evolution of Mg-6 wt % Zn alloy during equal-channel angular pressing," *Metals (Basel)*, vol. 8, no. 10, 2018, doi: 10.3390/met8100841.
- [317] Y. Wang, G. Liu, Y. Wei, and Y. Qiao, "Effects of magnesium-calcium alloys with different calcium content on their mechanical properties," *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 735, no. 1, 2020, doi: 10.1088/1757-899X/735/1/012010.
- [318] X. N. Gu *et al.*, "Corrosion resistance and surface biocompatibility of a microarc oxidation coating on a Mg-Ca alloy," *Acta Biomater.*, vol. 7, no. 4, pp. 1880–1889, 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2010.11.034.
- [319] X. Tong, G. Wu, L. Zhang, Y. Wang, W. Liu, and W. Ding, "Microstructure and mechanical properties of repair welds of low-pressure sand-cast Mg–Y–RE–Zr alloy by tungsten inert gas welding," *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx,

- 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.07.009.
- [320] X. Yao *et al.*, “Surface modification of biomedical Mg-Ca and Mg-Zn-Ca alloys using selective laser melting: Corrosion behaviour, microhardness and biocompatibility,” *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.08.011.
- [321] J. Chen, J. Feng, L. Yan, H. Li, C. Xiong, and S. Ma, “In situ growth process of Mg–Fe layered double hydroxide conversion film on MgCa alloy,” *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.05.019.
- [322] 2018 Milkoreit *et al.*, “Ac ce pte d M us pt,” *Geophys. Res. Lett.*, vol. in press, pp. 0–31, 2017.
- [323] K. Krishnan, “Effect of microstructures and textures on the anisotropy of mechanical properties of AZ31 magnesium alloy sheets subjected to high strain rate rolling,” *J. Phys. D Appl. Phys.*, vol. in press, pp. 0–31, 2019.
- [324] T. Mayama, M. Tane, and Y. Tadano, “Crystal plasticity analysis of anisotropic deformation behavior of porous magnesium with oriented pores,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1063, no. 1, 2018, doi: 10.1088/1742-6596/1063/1/012047.
- [325] J. Lee, Y.-S. Lee, M.-G. Lee, and D. Kim, “Constitutive modelling of magnesium alloy sheets under strain path changes,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 734, p. 032135, 2016, doi: 10.1088/1742-6596/734/3/032135.
- [326] B. Sułkowski, M. Janoska, G. Boczkal, R. Chulist, M. Mroczkowski, and P. Palka, “The effect of severe plastic deformation on the Mg properties after CEC deformation,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, no. 3, pp. 761–768, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.04.005.
- [327] A. Atrens, M. Liu, and N. I. Zainal Abidin, “Corrosion mechanism applicable to biodegradable magnesium implants,” *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.*, vol. 176, no. 20, pp. 1609–1636, 2011, doi: 10.1016/j.mseb.2010.12.017.
- [328] L. An, Y. Ma, L. Sun, Z. Wang, and S. Wang, “Investigation of mutual effects among additives in electrolyte for plasma electrolytic oxidation on magnesium alloys,” *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, no. 2, pp. 523–536, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2019.09.003.
- [329] K. Cesarz-Andraczke and R. Nowosielski, “Surface Structure and Corrosion Behavior of Mg 68–x Zn 28+x Ca 4 (x = 0.4) Bulk Metallic Glasses after Immersion in Ringer’s Solution,” *J. Mater. Eng. Perform.*, vol. 28, no. 4, pp. 2365–2377, 2019, doi: 10.1007/s11665-019-04001-6.
- [330] B. Langelier, X. Wang, and S. Esmaeili, “Evolution of precipitation during non-isothermal ageing of an Mg-Ca-Zn alloy with high Ca content,” *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 538, pp. 246–251, 2012, doi: 10.1016/j.msea.2012.01.038.
- [331] X. Wang, W. Du, Z. Wang, K. Liu, and S. Li, “Stable icosahedral phase in Mg₄₄Zn₄₄Gd₁₂ alloy,” *J. Rare Earths*, vol. 30, no. 5, pp. 503–506, 2012, doi: 10.1016/S1002-0721(12)60080-5.
- [332] D. J. Li, X. Q. Zeng, J. Dong, C. Q. Zhai, and W. J. Ding, “Microstructure evolution of Mg-10Gd-3Y-1.2Zn-0.4Zr alloy during heat-treatment at 773 K,” *J. Alloys Compd.*, vol. 468, no. 1–2, pp. 164–169, 2009, doi: 10.1016/j.jallcom.2008.01.078.
- [333] V. B. Damodaran and S. N. Murthy, “Bio-inspired strategies for designing

- antifouling biomaterials," *Biomater. Res.*, vol. 20, no. 1, pp. 1–11, 2016, doi: 10.1186/s40824-016-0064-4.
- [334] X. Li *et al.*, "Bio-modulation of scaring Glaucoma Filtration Surgery using a novel application of coated magnesium," *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.02.025.
- [335] A. Gungor and A. Incesu, "Effects of alloying elements and thermomechanical process on the mechanical and corrosion properties of biodegradable Mg alloys," *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.09.009.
- [336] M. Rahman, Y. Li, and C. Wen, "HA coating on Mg alloys for biomedical applications: A review," *J. Magnes. Alloy.*, vol. 8, no. 3, pp. 929–943, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.05.003.
- [337] R. Chaharmahali, A. Fattah-alhosseini, and K. Babaei, "Surface characterization and corrosion behavior of calcium phosphate (Ca-P) base composite layer on Mg and its alloys using plasma electrolytic oxidation (PEO): A review," *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.07.004.
- [338] H. Yang *et al.*, "Enhanced Osseointegration of Zn-Mg Composites by Tuning the Release of Zn Ions with Sacrificial Mg-Rich Anode Design," *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 5, no. 2, pp. 453–467, 2019, doi: 10.1021/acsbomaterials.8b01137.
- [339] Y. Zhao *et al.*, "Enhanced antimicrobial properties, cytocompatibility, and corrosion resistance of plasma-modified biodegradable magnesium alloys," *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 1, pp. 544–556, 2014, doi: 10.1016/j.actbio.2013.10.012.
- [340] S. Wasiur-Rahman and M. Medraj, "Critical assessment and thermodynamic modeling of the binary Mg-Zn, Ca-Zn and ternary Mg-Ca-Zn systems," *Intermetallics*, vol. 17, no. 10, pp. 847–864, 2009, doi: 10.1016/j.intermet.2009.03.014.
- [341] H. Liao *et al.*, "Effect of heat treatment on LPSO morphology and mechanical properties of Mg–Zn–Y–Gd alloys," *J. Magnes. Alloy.*, no. xxxx, pp. 4–11, 2020, doi: 10.1016/j.jma.2020.06.009.