

**CONTRATO DE PARTICIPACIÓN EN LA TITULARIDAD DE LA
PATENTE "PROCEDIMIENTO PARA BIOFUNCIONALIZAR LA SUPERFICIE
DE IMPLANTES ORTOPÉDICOS DE TITANIO"
CELEBRADO ENTRE "LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA"
DENOMINADA LA UNAL Y "LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACION A
DISTANCIA (ESPAÑA)" DENOMINADA LA UNED.**

Entre los suscritos, de una parte, D^a **ESTHER SOUTO GALVÁN**, Vicerrectora de Investigación e Internacionalización de la Universidad Nacional de Educación a Distancia (en adelante **UNED**), con CIF Q2818016D y domicilio en C/ Bravo Murillo, 38 – 28015 Madrid - España, nombrada por Resolución rectoral de fecha 21 de enero de 2016 y en virtud de la delegación de competencias aprobada por Resolución de 2 de febrero de 2016 (B.O.E. 04.02.16); por una parte y por la otra, **JAIME FRANKY RODRÍGUEZ**, identificado con cédula de ciudadanía No. **19.343.653** de Bogotá, quien en su condición de Vicerrector de Sede nombrado mediante Resolución No. 561 del 13 de Junio de 2016 y acta de posesión No. 372 del 15 de Junio de 2016, actuando de conformidad con el Artículo 4 numeral 4 literal b, del Manual de Convenios y Contratos adoptado mediante Resolución de Rectoría No. 1551 del 19 de Diciembre de 2014, en nombre y representación de la Universidad Nacional de Colombia, en adelante **LA UNAL**, con domicilio en la Carrera 45 No 26 – 85, Edificio Uriel Gutiérrez de la ciudad de Bogotá D. C. – Colombia, hemos convenido celebrar el presente **CONTRATO DE PARTICIPACIÓN** en la titularidad de la patente denominada "*Procedimiento para biofuncionalizar la superficie de implantes ortopédicos de titanio*" dando así cumplimiento a lo definido en el artículo 10 de la ley 1753 de 2015, previas las siguientes consideraciones:

1. La profesora Aleida Dianey Clavijo Grimaldo, como estudiante del doctorado en Ciencia y Tecnología de Materiales en la Facultad de Ingeniería de **LA UNAL**, consideró aplicar su trabajo de investigación al desarrollo de métodos o procedimientos para lograr la biofuncionalización del titanio empleado en trasplantes quirúrgicos de reemplazo óseo.
2. En el proceso de conformar su proyecto de investigación, la profesora Clavijo Grimaldo estableció contacto con el doctor Álvaro Perea Covarrubias, profesor investigador en la Universidad Nacional de Educación a Distancia de España, UNED.
3. La colaboración entre los profesores de la UNED y la UNAL se formalizó mediante la inscripción del proyecto en el Sistema de Información HERMES de la Universidad Nacional de Colombia (código U-FT-12.001.043).
4. La colaboración entre **LA UNED** y **LA UNAL** permitió plantear y adelantar el proyecto de investigación "Evaluación de la respuesta in vivo de la modificación de superficie del titanio de uso ortopédico con un recubrimiento nanoestructurado de TiO2 obtenido mediante electrospray".
5. La colaboración de **LA UNED** al proyecto se valoró en diez y seis millones de pesos colombianos (\$16'000.000) monto en que se tasó el apoyo prestado por el profesor Perea Covarrubias, en tanto que **LA UNAL** aprobó un apoyo por valor de cuarenta millones de pesos (\$40'000.000) para el proyecto, como fruto de la convocatoria "Proyectos de Investigación, Desarrollo, Innovación y Creación Artística de la DIB - Cuarto Corte", 2012.-
6. El apoyo brindado por LA UNAL se adjudicó específicamente para llevar a cabo el proyecto "Evaluación de la respuesta in vivo de la modificación de



**CONTRATO DE PARTICIPACIÓN EN LA TITULARIDAD DE LA
PATENTE “PROCEDIMIENTO PARA BIOFUNCIONALIZAR LA SUPERFICIE
DE IMPLANTES ORTOPÉDICOS DE TITANIO”**

CELEBRADO ENTRE “LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA”
DENOMINADA **LA UNAL** Y “LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACION A
DISTANCIA (ESPAÑA)” DENOMINADA **LA UNED**.

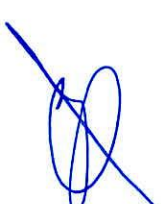
superficie del titanio de uso ortopédico con un recubrimiento nanoestructurado de TiO₂ obtenido mediante electrospray”.

7. La técnica del electrospray fue un aporte tecnológico fundamental del profesor Álvaro Perea Covarrubias de **LA UNED** para la biofuncionalización de la superficie del titanio y el desarrollo del proyecto “Evaluación de la respuesta in vivo de la modificación de superficie del titanio de uso ortopédico con un recubrimiento nanoestructurado de TiO₂ obtenido mediante electrospray.
8. Las partes previeron cuál sería su participación en la propiedad intelectual sobre los resultados del proyecto y así lo consignaron en un preacuerdo definido entre la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia y la Universidad Nacional de Educación a Distancia, UNED.
9. Ante las anteriores consideraciones, el presente acuerdo de cesión se registró por la Resolución de Rectoría No. 1551 del 19 de diciembre de 2014 de la Universidad Nacional de Colombia y los siguientes términos:

PRIMERO.- OBJETO. El objeto del presente contrato es definir la titularidad de los derechos sobre la patente denominada “*Procedimiento para biofuncionalizar la superficie de implantes ortopédicos de titanio*” que viene tramitando **LA UNAL** y **LA UNED**, entendiendo que son ejecutores y financiadores de la invención objeto de patente y que la definición de la titularidad sobre los derechos patrimoniales de la propiedad industrial se realiza de acuerdo con el artículo 31 de la ley 1450 de 2011, vigente al momento del establecimiento del acuerdo.

SEGUNDO.- PROPORCIONES EN LA TITULARIDAD SOBRE LA INVENCION. **LA UNAL** y **LA UNED** acuerdan que su participación en la titularidad sobre los derechos en la invención es de un setenta y uno por ciento (71%) para **LA UNAL** y un veintinueve por ciento (29%) para **LA UNED**, en reconocimiento a los aportes intelectuales de las partes.

TERCERO.- COMPROMISOS DE LA UNAL. En el ejercicio de la cotitularidad que le corresponde, **LA UNAL** se compromete a:

- 
- a) Dirigir y apoyar la redacción del documento descriptivo de la invención y el diligenciamiento de la documentación adicional que sea necesaria para el trámite;
 - b) Efectuar los trámites internos necesarios y presentar la documentación requerida ante la Superintendencia de Industria y Comercio para el establecimiento de la solicitud correspondiente.
 - c) Realizar el seguimiento que corresponda para lograr el título y los derechos buscados.
 - d) Efectuar el pago correspondiente (71%) de las tasas de solicitud y examen durante el trámite del petitorio y de las de mantenimiento cuando la patente sea otorgada.
 - e) Iniciar el trámite de la solicitud PCT dentro del término de prioridad.

CUARTO.- COMPROMISOS DE LA UNED. **LA UNED** se comprometen a:

- a) Apoyar la redacción del documento descriptivo entregando la información que corresponda y revisando los avances correspondientes;
- 

**CONTRATO DE PARTICIPACIÓN EN LA TITULARIDAD DE LA
PATENTE "PROCEDIMIENTO PARA BIOFUNCIONALIZAR LA SUPERFICIE
DE IMPLANTES ORTOPÉDICOS DE TITANIO"**

CELEBRADO ENTRE "LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA"
DENOMINADA **LA UNAL** Y "LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACION A
DISTANCIA (ESPAÑA)" DENOMINADA **LA UNED**.

- b) Aportar la información necesaria para el diligenciamiento de los formularios y formatos necesarios para la solicitud de la patente;
- c) Acompañar el proceso de trámite y el seguimiento de la solicitud mediante la consulta en línea en la página web de la SIC.
- d) Efectuar el pago correspondiente (29%) de las tasas de solicitud y examen durante el trámite de la solicitud y de las de mantenimiento cuando la patente sea otorgada.
- e) Iniciar el trámite de la solicitud PCT dentro del término de prioridad.

QUINTO.- USO DE LA INVENCION. El procedimiento desarrollado como resultado del proyecto de investigación permite la biofuncionalización de implantes ortopédicos de titanio con raloxifeno y TiO_2 , y ha sido probada su efectividad con modelos vivos a nivel de laboratorio, por tanto, para la aplicación de la invención en actividades terapéuticas en humanos será necesario escalar el sistema de electrospray para recubrir piezas ortopédicas del tamaño adecuado y realizar implantes de prueba en seres humanos, es decir pruebas clínicas. Esas actividades serán adelantadas por las personas o entidades a quienes se les licencie el uso de la invención.

SEXTO.- DURACIÓN DE LA COTITULARIDAD. El término por el cual se entenderán **LA UNAL** y **LA UNED** como cotitulares en los derechos patrimoniales sobre la invención será exactamente el mismo que la vigencia de la patente: veinte años contados desde la fecha de prioridad de la solicitud. Si la patente se solicita y se logra en otros territorios, la cotitularidad se mantendrá en la misma relación aunque el disfrute de regalías u otro tipo de contraprestación varíe según se de cada negociación específica.

SÉPTIMO.- AMBITO DE APLICACIÓN. El presente contrato de cotitularidad se establece y firma en el territorio colombiano, pero su aplicación incluye todos los territorios donde se solicite y logre la patente, independientemente de que en determinados territorios y por motivo del negocio específico que se establezca, aparezca una tercera parte como titular de los derechos en ese territorio. Igualmente, las regalías u otro tipo de contraprestación podrá establecerse en relaciones diferentes a la cotitularidad por motivos específicos de cada negociación, los cuales se abordarán en el contrato específico.

OCTAVO.- VALOR. La cotitularidad establecida mediante el presente contrato no tiene valor comercial por tratarse de un acuerdo sobre un bien desarrollado conjuntamente como parte de compromisos académicos de investigación entre **LA UNED** y **LA UNAL**.

NOVENO.- SOLUCIÓN DE CONTROVERSIAS. Las partes manifiestan que llevarán a cabo de buena fe todas las acciones derivadas del presente contrato, por lo que pondrán todo su empeño para su debido cumplimiento. En caso de desacuerdo, controversia o reclamación, las partes se comprometen a resolver directa y voluntariamente las diferencias que puedan originarse. Parágrafo: En el caso de no llegar a un acuerdo directo entre las partes, se optará por mecanismos alternativos para la solución de controversias como la conciliación, transacción o amigable

**CONTRATO DE PARTICIPACIÓN EN LA TITULARIDAD DE LA
PATENTE "PROCEDIMIENTO PARA BIOFUNCIONALIZAR LA SUPERFICIE
DE IMPLANTES ORTOPÉDICOS DE TITANIO"
CELEBRADO ENTRE "LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA"
DENOMINADA LA UNAL Y "LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACION A
DISTANCIA (ESPAÑA)" DENOMINADA LA UNED.**

composición. No obstante, siempre debe preferirse el arreglo directo o a través de conciliación prejudicial.

DÉCIMO.- TERMINACIÓN DEL CONTRATO. El contrato terminará en los siguientes eventos: 1) Cumplimiento del término de la cláusula sexta del presente contrato. 2) En el momento en que la invención se haga obsoleta o de cualquiera otra forma se extinga o desaparezca. En los anteriores eventos, se entenderá que la cotitularidad dejará de surtir efectos.

DECIMO PRIMERO.- PERFECCIONAMIENTO. El presente contrato se entenderá perfeccionado al momento de ser firmado por las partes.

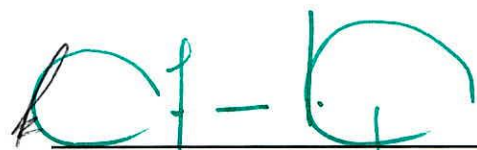
El presente acuerdo se firma el (22) del (diciembre) de 2016 en la ciudad de Bogotá, D.C., y el (26) del (septiembre) de 2016 en la ciudad de Madrid, España, en dos (2) ejemplares de igual contenido.

POR LA UNED:




D^a. ESTHER SOUTO GALVÁN
Vicerrectora de Investigación e Internacionalización
Universidad Nacional de Educación a Distancia, UNED

POR LA UNAL



JAIME FRANKY RODRÍGUEZ
Vicerrector de Sede
Universidad Nacional de Colombia

PROCEDIMIENTO PARA BIOFUNCIONALIZAR LA SUPERFICIE DE IMPLANTES ORTOPÉDICOS DE TITANIO

Sector tecnológico

Esta invención se relaciona con el sector técnico de desarrollo y funcionalización de biomateriales para aplicaciones médicas, biomédicas, biotecnológicas, de bioingeniería y de ingeniería de tejidos *in vivo*. Específicamente, se refiere a la biofuncionalización del titanio con la aplicación de un recubrimiento mediante un procedimiento que modifica la superficie, con el cual se estimula la proliferación osteoblástica y se controla la reabsorción ósea, buscando así mejorar la respuesta y disminuir las complicaciones de los pacientes con osteoporosis que requieren implantes de uso ortopédico.

La biofuncionalización del titanio de uso ortopédico se realiza mediante la modificación de su superficie con una matriz nanoestructurada de dióxido de titanio, depositada por electrospray en la cual se inmoviliza el raloxifeno, medicamento aprobado para la osteoporosis por la Agencia de Alimentos y Medicamentos, FDA (Food and Drug Administration, en inglés).

Estado de la técnica

Las proyecciones sobre población mundial muestran un incremento estimado entre 7,5 miles de millones a 10,5 miles de millones para el año 2050. Para América Latina se calcula que el porcentaje de adultos mayores de 50 años pasará del 13% - 29% en el año 2011 al 28% - 49% en el 2050 y el porcentaje de adultos mayores de 70 años se incrementará en un 280%. Este cambio en la población conlleva un aumento en el número de pacientes con diagnóstico de osteoporosis y sus complicaciones. Actualmente la osteoporosis es el trastorno metabólico óseo más común en Estados Unidos y la causa más frecuente de fracturas en adultos mayores: cerca de 10 millones de individuos tiene osteoporosis y alrededor de 300.000 fracturas de cadera se producen cada año. La postmenopausia incrementa el riesgo de fractura en mujeres en un 40% y meta-análisis recientes muestran que la tasa de mortalidad se incrementa de 5 a 8 veces durante los 3 primeros meses después de la fractura de cadera asociada a osteoporosis, tanto en hombres como en mujeres. En los pacientes con osteoporosis que requieren implantes ortopédicos hay un aumento de la morbilidad y la mortalidad, con gran impacto en la calidad de vida y alto costo económico y social en su manejo. Se estima que para el año 2030: las cirugías para reemplazos totales de cadera se incrementarán en un 174%; las artroplastias de rodilla crecerán en un 673%; las cirugías para revisión de implantes de cadera se incrementarán en un 137%; las cirugías de rodilla en un 607% entre los años 2005 y 2030, con costos calculados en 20 billones de dólares en Estados Unidos y 30 billones de dólares en la Unión Europea. La proyección en nuestro país del tratamiento de fracturas se calcula en más de 200 billones para el año 2015 (García, 2014; Vo-Dinh, T, 2007).

Aunque las técnicas quirúrgicas para artroplastias comenzaron en el siglo XIX, se considera que desde hace unos 50 años se inicia la era de la cirugía moderna para reemplazo de articulaciones, revolucionando el tratamiento de los pacientes con trastornos avanzados de la cadera y la rodilla. Dentro de los biomateriales metálicos más frecuentemente utilizados en ortopedia se encuentra el titanio y sus aleaciones, dada su durabilidad y propiedades mecánicas, especialmente su alta resistencia a la fatiga y bajo módulo elástico, si se compara con otros metales. Sin embargo el titanio no es un material biológicamente activo (bioactivo), es decir, es incapaz de inducir la diferenciación de células madre (células Stem) en células osteogénicas para favorecer su proliferación, estimular funciones específicas y actuar como andamio estructural a través del cual el tejido óseo del huésped

infiltre y regenere. De ésta manera, cuando un dispositivo metálico se implanta es probable que exista una inadecuada integración del biomaterial con el hueso, lo que conlleva a su posible aflojamiento con degradación del hueso adyacente y eventualmente la necesidad de re-intervenir quirúrgicamente al paciente para su revisión y/o remoción (Kyllönen, L. et al, 2014).

“La biofuncionalización se define como una modificación de las propiedades fisicoquímicas de la superficie de cualquier material, que permite incidir en el comportamiento de las células que entren en contacto con el biomaterial (puede ser un implante o una prótesis) a fin de mejorar la respuesta biológica del organismo ante el material con el que se ha fabricado el implante de uso ortopédico” (Rev. Gaceta Dental, 2010).

En este panorama, las técnicas propias de la ingeniería de superficies se han convertido en una alternativa para disminuir las complicaciones de los biomateriales metálicos por medio de tratamientos generalmente posteriores a los procesos de manufactura, los cuales modifican la superficie del material en su composición, estructura y topografía sin alterar las propiedades mecánicas del material bloque. Se han utilizado dos enfoques: la modificación de la topografía de superficie y la funcionalización de la misma. En la modificación de la topografía de superficie generalmente se utilizan métodos mecánicos por ejemplo maquinado, esmerilado, pulido y onda de choque (machining, grinding, polishing and blasting, en inglés) que producen cambios en la rugosidad o en la porosidad de acuerdo a las necesidades de migración celular, pero sin estimular funciones celulares específicas. La biofuncionalización busca incrementar la biocompatibilidad y la bioactividad de los metales. Diversos métodos químicos (tratamiento químico con ácidos y álcalis, recubrimiento mediante sol-gel, oxidación anódica, deposición química mediante vapor y métodos bioquímicos) y físicos (diversas formas de spray, láser y deposición física mediante vapor) han sido utilizados para favorecer la reparación ósea y la respuesta ante fluidos corporales para incrementar la resistencia a la corrosión y controlar los procesos de adsorción de proteínas y la adhesión celular, condiciones necesarias para que se lleve a cabo la osteointegración, se disminuya la respuesta inmune y/o se reduzca el riesgo de infección.

Con el objeto de modificar la topografía de la superficie del titanio y aumentar su bioactividad, se han realizado recubrimientos porosos con fosfato de calcio mediante electrospray (Electrostatic Spray Deposition). También se han realizado recubrimientos compuestos de colágeno-fosfato de calcio Col-CaP y nanocristales de apatita, incluyendo hidroxiapatita HA, HA nanocarbonatada sustituida e HA nanosiliconada sustituida, preparados a partir de precursores. Adicionalmente, se ha combinado el uso de electrospray con electrospinning con el propósito de realizar una matriz de soporte (*scaffolds*, en inglés) que biomimetizará la estructura jerárquica de la matriz extracelular, MEC, del hueso y sirviera de soporte para la reparación por medio de una superficie en el rango nanométrico y con buenas propiedades mecánicas (Kyllönen, L. et al, 2014; Hanawa, T., 2011; Clavijo, D., 2010).

La mayoría de los procesos de biofuncionalización del titanio se han desarrollado desde 1990, siendo los recubrimientos de hidroxiapatita (HA) o fosfato de calcio los más frecuentemente desarrollados y varios de ellos comercializados.

El primer implante de este tipo se realizó hacia el año 1989 y su uso se ha incrementado en los últimos doce años. Este tipo de recubrimientos ofrece una fijación estable a largo plazo y facilita el recambio. Sin embargo, meta-análisis concluyen que no existe evidencia clínica ni radiológica de los beneficios de la aplicación de la cobertura de hidroxiapatita, HA, en el componente femoral de la prótesis de cadera. Adicionalmente, se ha evidenciado una muy alta tasa de falla en el componente acetabular recubierto con hidroxiapatita con aumento en las posibilidades de revisión por disolución aséptica del mismo (Faig-Martí J., 2007).

Debido a estos resultados la atención se ha enfocado hacia el acople e inmovilización de grupos químicos funcionales (OH, COOH, CH₃, NH₂), biomoléculas (ejemplo factores de crecimiento, secuencias peptídicas), y medicamentos sobre biomateriales metálicos. El objetivo de este tipo de tratamientos es: promover funciones celulares específicas que favorezcan la adhesión y proliferación celular, especialmente en casos de pacientes con patologías óseas; disminuir la inflamación y los riesgos de infección; incrementar la fijación del implante al tejido óseo; y, modular la respuesta del sistema inmune ante el implante. Los materiales biofuncionalizados con medicamentos, aunque potencialmente útiles para disminuir las complicaciones y mejorar la calidad de vida de los pacientes sometidos a reemplazos articulares, se encuentran aún en fases iniciales de investigación. Los ensayos clínicos con los mismos se limitan a unas pocas experiencias con bifosfonatos, medicamentos con reconocidos efectos secundarios, en donde se han utilizado tratamientos superficiales bastante complejos (Kyllönen, L. et al, 2014).

Ante la evidencia de que, en el entorno mundial, la osteoporosis es el trastorno metabólico óseo más común y la causa más frecuente de fracturas de cadera en pacientes de la tercera edad, la mayoría de las cuales requieren reemplazos articulares, la biofuncionalización de metales con medicamentos se ha dirigido a resolver este problema. Aunque se desconocen los mecanismos exactos, se sabe que la calidad del tejido óseo en la osteoporosis no solo incrementa el riesgo de fracturas sino que también disminuye la eficacia y aumenta las complicaciones de los implantes y reemplazos articulares cuando estos son utilizados en pacientes con esta patología. Se ha postulado que la microarquitectura ósea de hueso trabecular peri-implante, alterada en la osteoporosis, afecta la estabilidad del dispositivo. Las diversas fases de regeneración del tejido óseo, coordinadas en el tejido normal, se encuentran desorganizadas durante la fase inicial de osteointegración de implantes en el hueso osteoporótico. Debido a los resultados obtenidos con el tratamiento con bifosfonatos por vía oral, la investigación se ha dirigido hacia implantes que liberen esos medicamentos para mejorar la calidad del tejido óseo y por tanto la osteointegración cuando un implante es colocado, disminuyendo la posibilidad de aflojamiento del mismo.

Se han ensayado diversas técnicas para incorporar bifosfonatos al titanio y a otros biomateriales, desde la simple inmersión hasta procedimientos bastante complejos. Los primeros ensayos mostraron únicamente inmovilización temporal del medicamento, pero la utilización de otros tratamientos superficiales incrementaron la fijación y produjeron efectos positivos en la diferenciación celular, inhibiendo la proliferación de osteoclastos para estudios *in vitro* y una mayor neoformación de hueso alrededor del implante en animales de experimentación. Ensayos clínicos en seres humanos con titanio biofuncionalizado con bifosfonatos para uso odontológico, mostraron una buena respuesta radiológica de fijación del implante a los dos meses de realizado el procedimiento, pero al ser ésta la primera generación de este tipo de recubrimientos, los efectos benéficos en los pacientes a largo plazo son desconocidos. Una ventaja adicional posible de los recubrimientos con bifosfonatos es considerar que su aplicación es meramente local (área peri-implante) y no sistémica, como ocurre con la administración oral de éste tipo de medicamentos. Esto podría disminuir la posibilidad de efectos secundarios que han sido reportados, los cuales incluyen, paradójicamente, mayor incidencia de fallas en implantes dentales, aumento del riesgo de infección y de necrosis mandibular por lo que es importante dirigir la investigación hacia otro tipo de medicamentos (Kyllönen, L. et al, 2014; Abtahi J, et al, 2012).

Toda esta tecnología ha sido recogida en patentes, como muestra de ello se refieren a continuación cuatro de las más cercanamente relacionadas con lo aquí reivindicado.

La patente china CN202982722 refiere un "Hueso artificial recubierto por oxidación con micro arco sobre superficie de titanio puro o de aleación de titanio". Señala el documento que el objeto de la invención es:

mejorar la actividad biológica del titanio o sus aleaciones; fortalecer sus cualidades de cementación; reducir su tiempo de curado y mantener esas cualidades mientras permanezca implantado en el cuerpo humano. Para lograr esas características y promover la combinación del titanio metal médico y el tejido óseo humano se ha utilizado un plasma de hidroxiapatita rociado hasta cubrir la superficie del material. No obstante, ese tratamiento genera una cobertura y un cuerpo basal que se pueden craquear debido a la baja fortaleza del recubrimiento lo que afecta gravemente su uso real. El hueso artificial con el recubrimiento de oxidación de micro arco sobre el titanio puro, o sobre la superficie de la aleación de titanio, que se reivindica considera un cuerpo basal de hueso artificial en que se forma una capa superficial de titanio puro, o de aleación de titanio, sobre la superficie del cuerpo basal del hueso artificial; y un recubrimiento de micro arco de oxidación se forma en el exterior de una capa superficial de titanio puro o de aleación de titanio. El hueso artificial descrito en la patente es utilizado para elaborar sustitutos de tejidos duros incluyendo huesos humanos y similares.

La solicitud de patente WO2013109078 "Superficie porosa para mejorar la capacidad de cementación del hueso sobre un implante que tiene una estructura de tres partes a escala macro/micro/nano, y el método de producción del mismo", devela un implante basado en titanio para trasplante biológico que cuenta con la apropiada rugosidad y carácter hidrofílico superficial sobre una amplia área del implante. La superficie del implante tiene una estructura de tres partes en las escalas nano, micro y macro. En la escala nano de la estructura, nanopartículas de óxido de titanio forman una superficie hidrofílica y constituyen las superficies internas de los microporos de algunos micrómetros que se forman como áreas asimétricas en la superficie del implante. Las partes asimétricas de la escala micro constituyen una superficie ondulante que tiene una rugosidad en el rango entre 0.5 y 5 μm sobre la escala macro, y forman una pluralidad de áreas sumergidas de decenas a cientos de micrómetros. El implante puede producirse por moldeo del titanio metálico o de aleaciones de titanio dándole la forma que se desee, formando los microporos por erosión con partículas orgánicas sobre la superficie, por medio de un método tal como la abrasión con chorro de arena (*sandblasting*), llevando a cabo entonces el procesamiento ácido del implante y, seguidamente, se producen las nanopartículas de óxido de titanio por oxidación anódica antes de efectuar el tratamiento calórico requerido.

La patente CN 102181842 "Método para modificar la superficie del titanio" describe un procedimiento para modificar la superficie del titanio, el cual comprende la implantación del ion tantalio o el enchape sobre la superficie del titanio mediante el uso de una tecnología de implantación o deposición por plasma de inmersión iónico para obtener una capa modificada de tantalio y/o óxido de tantalio. La superficie del titanio es modificada, en forma tal que sus especiales propiedades mecánicas se preservan, la resistencia a la corrosión y la bioactividad del material se mejoran y su alta biocompatibilidad puede mantenerse. La superficie de titanio modificada que es sometida a la implantación o deposición de titanio no requiere ser sometida a ningún tratamiento posterior, se puede inducir la formación y crecimiento de apatita similar al hueso sobre la superficie cuando la superficie de titanio es remojada en un fluido corporal simulado, y se obtiene un material sustituto de hueso artificial con alto desempeño integral.

La solicitud de patente WO2005014069, "Recubrimiento de dispositivos quirúrgicos", presenta un método para el revestimiento de dispositivos quirúrgicos fundamentado en la deposición electrostática de polvos. El dispositivo considerado puede usarse en procedimientos quirúrgicos o diagnósticos, incluyendo dispositivos procedimentales o quirúrgicos también como implantables. Debido a que el recubrimiento se aplica electrostáticamente, es atraído a todas las partes del dispositivo, sin incluir aquellos lugares que se encuentran en la línea visual del rociador, como sucede con los recubrimientos de rociado líquido convencional. El proceso permite que se depositen cantidades uniformes y reproducibles y así pueden aplicarse exactamente

recubrimientos de medicamentos que se eluyan a cánulas y otros dispositivos quirúrgicos, resultando en control preciso sobre la liberación del medicamento. Adicionalmente, los recubrimientos de medicamentos eluyentes pueden aplicarse en un solo paso, aunque múltiples capas pueden aplicarse fácilmente si se desea para crear un perfil específico de liberación de medicamentos.

La patente CN203107779, "Prótesis de articulaciones recubiertas con dióxido de titanio que contiene cristales nanométricos de alta actividad biológica", reivindica una prótesis de articulación que presenta un recubrimiento con cristales nanométricos de dióxido de titanio de alta actividad biológica. La prótesis de articulación revestida con el recubrimiento de cristales nanométricos de dióxido de titanio de alta actividad biológica está compuesta por una matriz, sobre cuya superficie se ubica el recubrimiento de cristal nanométrico de dióxido de titanio de alta actividad biológica. La prótesis de articulación se utiliza para reemplazar articulaciones.

El recubrimiento de implantes con medicamentos es un área de investigación reciente pero muy explotada debido a su potencial traslacional. En el contexto de la osteoporosis, la liberación local de medicamentos va dirigida a la estimulación del tejido óseo para incrementar la estabilidad del implante.

Como se mencionó, se han realizado investigaciones con diversos factores de crecimiento (p. ej. BMP-2), la mayoría de las cuales se basan en la adsorción del medicamento sobre el titanio. También se han realizado recubrimientos con Ranelato de Estroncio, con los cuales se ha mejorado la reparación de fracturas, sin embargo, este medicamento no está aprobado por la FDA debido a sus efectos secundarios dentro de los cuales se encuentra un aumento en el riesgo de infarto del miocardio.

Aunque los modulares selectivos de los receptores de estrógenos (SERM), como el Raloxifeno, se han utilizado con aprobación de la FDA desde el 2006 en el tratamiento de la osteoporosis, mostrando una reducción del 50% en la incidencia de fracturas vertebrales secundarias a osteoporosis, a la fecha sólo se ha encontrado en la literatura una referencia de inmovilización de Raloxifeno sobre Titanio, combinado con bifosfonato e inmovilizado por adsorción al sumergir el titanio en una solución de raloxifeno en dimetilsulfóxido. Se ha evidenciado en estudios sobre la inmovilización, donde se ha realizado por adsorción, que la fijación del medicamento es pobre y no garantiza la permanencia del medicamento (Kyllönen L. et al., 2014; Abtahi J. et al., 2012; Harmankaya N. et al, 2013).

Una patente que refiere el uso de medicamentos, diferentes al empleado en la tecnología aquí descrita, es la DE102011006278, Biofuncionalización con una capa de recubrimiento que provee una cobertura con grupos libres funcionales, e inmoviliza diferentes biomoléculas sobre la superficie de la cobertura, de forma que las biomoléculas son enlazadas covalentemente a la superficie. Se reivindica la biofuncionalización con recubrimiento que comprende: (a) proporcionar una capa de recubrimiento que tenga grupos funcionales libres en su superficie y (b) inmovilizar muchas biomoléculas diferentes sobre la superficie de la capa de recubrimiento, de modo que las biomoléculas estén enlazadas covalentemente a la superficie de la capa de revestimiento. Las reivindicaciones independientes reclaman: (1) la superficie biofuncionalizada por una capa de recubrimiento lograda según lo describe el procedimiento; (2) un artículo compuesto por un objeto y por la capa de recubrimiento adherida a él; y (3) un objeto con una superficie biofuncional que comprende la aplicación de la capa de recubrimiento sobre el objeto y la biofuncionalización de la capa de recubrimiento.

Los hechos hasta aquí planteados permiten concluir que se han probado diversos métodos para mejorar las características biofuncionales del titanio con el propósito de mejorar sus características mecánicas y su función biológica en relación con el hueso, de manera que sea posible optimizar su comportamiento al ser usado en implantes, especialmente cuando deben realizarse implantes a pacientes afectados por osteoporosis. A pesar de

que existan muchas soluciones al problema, todavía no se logra una que resuelva los inconvenientes comunes a las demás técnicas, razón por la cual se ha abordado el reto con esta creación, en la cual se propone una modificación en la forma de activar la superficie del titanio y la adición de raloxifeno como medio para promover la formación de hueso sobre el implante.

Descripción de las Figuras

La Figura 1 presenta una microfotografía electrónica de barrido realizada sobre una muestra de la superficie del titanio recubierta con la matriz de nanopartículas de TiO_2 en las cuales se ha inmovilizado el Raloxifeno mediante el procedimiento aquí descrito; la microfotografía se realizó con un aumento de 3000X. Esa microfotografía se compara con microfotografías en aumento de 1000X para superficies de titanio tratadas por ataque ácido (i) y plasma spray de titanio (ii y iii) en tornillos de titanio comerciales (Sardinha, S. C. S. et al, 2013).

La Figura 2 exhibe los resultados de aplicar microscopía confocal sobre: la matriz de dióxido de titanio puro, ampliada a 20X (Figura 2A); raloxifeno puro, ampliada a 40x (Figura 2B); y sobre la matriz o recubrimiento de dióxido de titanio sobre el que se ha inmovilizado raloxifeno, ampliada a 20 y a 40X (Figuras 2C y 2D).

La Figura 3 despliega el espectro resultante al aplicar la espectroscopía Raman sobre el raloxifeno inmovilizado sobre la matriz de TiO_2 . El detalle en el recuadro muestra la deconvolución de la zona entre 1500 y 1650 cm^{-1} .

La Figura 4 corresponde a los resultados de ensayos *in vitro* del ensayo MTT realizado para determinar la proliferación de osteoblastos a las 72 horas frente a vidrio (control negativo, 1), titanio sin modificación en la superficie (2) y titanio recubierto según esta invención (3). El análisis de varianza muestra diferencias significativas ($p=0,035$) a favor del titanio con la modificación de superficie realizada según el procedimiento descrito.

La Figura 5 presenta las principales etapas del procedimiento quirúrgico en los ensayos *in vivo* definidos como implante en ratas Wistar de un par de tornillos de titanio, el uno sin modificación y el otro modificado con el recubrimiento aquí descrito. Las fotografías detallan: la inducción anestésica (Figura 5A) en una rata Wistar; el abordaje lateral del fémur de la rata (Figura 5B); el implante de los tornillos de titanio, uno sin modificación (parte distal del fémur) y el otro biofuncionalizado con el recubrimiento (proximal) (Figura 5C); y, finalmente, el cierre quirúrgico post-implante (Figura 5D).

En la Figura 6 se exhiben las radiografías realizadas a dos especímenes de ratas Wistar, practicadas 80 días post-implante. Nótese las diferencias en la densidad ósea en el área peri-implante de cada tornillo. En el área peri-implante del tornillo biofuncionalizado con raloxifeno (proximal) se observa una mayor densidad ósea si se le compara con el área perimplante del tornillo sin biofuncionalizar (distal).

La Figura 7 muestra el aspecto macroscópico del fémur luego de la eutanasia a uno de los especímenes intervenidos. La flecha de color negro muestra el área donde se encontraba el tornillo biofuncionalizado y la flecha de color gris el área donde se encontraba el tornillo sin biofuncionalizar.

Descripción de la invención

Esta invención desarrolla un procedimiento y un recubrimiento para biofuncionalizar la superficie del titanio mediante la técnica de electrospray, inmovilizando Raloxifeno en una matriz nanoestructurada de dióxido de

titanio, con el objetivo de mejorar la microarquitectura del hueso en pacientes con osteoporosis que requieren un implante y/o un reemplazo articular ortopédico de ese metal, buscando de esta manera mejorar la reparación de fracturas y disminuir las complicaciones post-operatorias relacionadas con la calidad del tejido óseo.

El electrospray (Electrostatic Spray Deposition – ESD) es un método de atomización de un líquido por medio de fuerzas eléctricas. La aguja por donde el líquido atomizado es rociado generalmente es un capilar metálico, el cual es sometido a un alto voltaje. Controlando el caudal y el voltaje, el menisco formado en la punta del capilar adopta una forma cónica conocida como Cono de Taylor. El campo eléctrico cerca del vértice del cono es tan intenso que se produce emisión de masa y carga en forma de un chorro estacionario de diámetro pequeño, el cual se rompe en un spray o atomizado de gotas que se autodispersan debido a la repulsión entre ellas (fuerzas de Coulomb), permitiendo que el recubrimiento formado sea una capa monodispersada y homogénea del mismo espesor en toda la superficie del sustrato. La uniformidad y la porosidad del recubrimiento pueden controlarse modificando la temperatura del sustrato (Jaworek, A. , 2007).

El procedimiento para realizar el recubrimiento del titanio se lleva a cabo bajo condiciones ambientales con humedad relativa entre 50% - 70% y bajo nivel de vibración de 0,28 mm/s a 2,0 mm/s, en una cabina de electrospray.

Este procedimiento se realiza en dos etapas: en la primera etapa se realiza una matriz nanoestructurada de dióxido de titanio y en la segunda se incorpora el raloxifeno a esa matriz.

Para lograr una matriz nanoestructurada de dióxido de titanio, sobre el titanio de uso ortopédico, se procede de la siguiente manera:

- Se limpia la pieza de titanio para eliminar la grasa y posibles agentes contaminantes. Entre las opciones para ésta limpieza están: realizar baño de ultrasonido de manera secuencial con acetona, isopropanol o alcohol isopropílico (2-propanol) y agua destilada; o cualquier otra forma de limpieza conocida en el estado de la técnica para la pieza de titanio.
- Se prepara la suspensión de nanopartículas de TiO_2 : mezclando etanol-agua destilada, en relación 40% - 60% etanol y 60% - 40% agua destilada, con la cual se realiza la suspensión de nanopartículas de TiO_2 con diámetros entre 25 nm y 100 nm, pureza superior a 98%, con composición peso/volumen entre el 0,5% - 0,6% P/V, la suspensión se mantiene en un baño de ultrasonido a una frecuencia entre 30 Hz y 35 Hz, temperatura entre 24°C y 28°C por un tiempo entre 20 minutos y 40 minutos, necesario para lograr la suspensión completa de las nanopartículas de TiO_2 .
- Se establecen las condiciones de deposición mediante electrospray: la suspensión del ítem anterior se introduce en un reservorio conectado a la aguja para electrospray, se establecen los parámetros que permitan una configuración de cono de Taylor-chorro-spray estable, típica del proceso de electrospray. Se utiliza un sistema de polarización simple, ajustando inicialmente el voltaje entre 2 kV y 10 kV, con pasos de 100 V. Posteriormente, se ajusta el flujo de la solución en la bomba de la jeringa entre 0,05 ml/hora y 2 ml/hora. Se establece la distancia aguja-sustrato en la cual la configuración permanece estable, con distancias entre 20 mm y 60 mm; para capas de dióxido de titanio con adecuada porosidad y rugosidad. El proceso de deposición se realiza entre 20 minutos y 50 minutos.
- Se realiza la fijación de la capa de dióxido de titanio obtenida, mediante tratamiento térmico, con gradiente de calentamiento entre 3°C a 10°C por minuto, hasta alcanzar una temperatura entre 400°C a 600°C, la cual se mantiene un tiempo entre 25 a 35 minutos. Las muestras se someten a enfriamiento con un gradiente entre 10°C a 20°C por minuto, hasta alcanzar la temperatura ambiente.

En la segunda etapa se incorpora el raloxifeno a la matriz nanoestructurada de dióxido de titanio mediante las siguientes etapas:

- Preparación de la solución de raloxifeno: se realiza una solución de etanol 98% de pureza, entre 80% - 99%, con agua destilada, 1% - 20%, se añade un polímero soluble en agua (polivinilpirrolidona) en una proporción peso/volumen entre 0,5% - 6% P/V, la solución se mantiene en el baño de ultrasonido a una frecuencia entre 30 Hz y 35 Hz, temperatura entre 24°C y 28°C, un tiempo entre 20 minutos y 40 minutos para lograr la disolución completa. Se incorporan nanopartículas de dióxido de titanio con diámetros entre 25 nm y 100 nm, pureza superior al 98%, entre 0,5% a 6% P/V y clorhidrato de raloxifeno en una relación entre 1% y 3% P/V; la suspensión se mantiene en baño de ultrasonido a una frecuencia entre 30 Hz y 35 Hz, temperatura entre 24°C y 28°C, un tiempo entre 20 minutos y 60 minutos. Para lograr la disolución completa del raloxifeno, se añade dimetil-sulfóxido con pureza superior al 99%, gota a gota hasta estabilizar la solución, siempre inmersa en el baño de ultrasonido.
- Establecer las condiciones de deposición mediante electrospray; la suspensión del ítem anterior se introduce en un reservorio conectado a la aguja para electrospray, se establecen los parámetros que permitan una configuración de cono de Taylor-chorro-spray estable, típica del proceso de electrospray; se utiliza un sistema de polarización simple, ajustando inicialmente el voltaje entre 2 kV y 10 kV, con pasos de 100 V; se ajusta el flujo de la suspensión en la bomba de la jeringa entre 0,05 ml/hora y 2 ml/hora; se establece la distancia aguja-sustrato en la cual la configuración permanece estable, con distancias entre 20 mm y 60 mm; para asegurar adecuada porosidad y rugosidad, el proceso de deposición se realiza entre 20 minutos y 50 minutos; para incrementar la porosidad el sustrato se mantiene a temperatura entre 60°C y 90°C durante el recubrimiento.
- Fijación de recubrimiento: se realiza mediante tratamiento térmico, con gradiente de calentamiento de 3°C a 10°C por minuto hasta alcanzar una temperatura entre 100°C y 200°C; se mantiene un tiempo de 25 minutos a 35 minutos; las muestras de material recubierto se someten a un gradiente de enfriamiento de 10°C a 20°C por minuto hasta llegar a temperatura ambiente.

In vitro se observaron óptimos resultados desde el punto de vista de la biocompatibilidad y diferencias estadísticamente significativas en la proliferación osteoblástica si se compara el titanio biofuncionalizado con el titanio sin biofuncionalizar. Para las pruebas *in vivo* se implantaron tornillos biofuncionalizados en ratas Wistar mayores a un año y medio de vida, mostrando un incremento significativo en la densidad ósea en el área peri-implante de los tornillos biofuncionalizados versus los no biofuncionalizados. Las pruebas se realizaron de acuerdo a los lineamientos y protocolos de la FDA.

Mejor manera conocida para reproducir la invención

El tratamiento o recubrimiento de la superficie de implantes de titanio es una tecnología ampliamente estudiada, como se reporta en el estado de la técnica, pero lograr un procedimiento cuya eficiencia se pueda comprobar experimentalmente significa alcanzar resultados verdaderamente valiosos. Por ello, al considerar la aplicación práctica de la invención no solo se aborda la deposición de los materiales considerados para la bioactivación de la superficie de los implantes de titanio, sino que igualmente se revisan, mediante técnicas reconocidas, las características físicas y biológicas del recubrimiento y su bioactividad en ensayos *in vitro* y *in vivo*.

Ejemplo 1. Recubrimiento de dos tornillos de titanio para implante experimental

Inicialmente, es necesario limpiar las piezas a recubrir, por lo cual, los dos tornillos de titanio se introducen en un baño de ultrasonido que contiene, en la primera etapa, acetona y posteriormente alcohol isopropílico y agua destilada.

Se prepara una suspensión de 0,5 a 0,6% p/v de nanopartículas de TiO_2 de pureza superior al 98% en tamaños entre 25 y 100 nm, en una solución de etanol puro en agua destilada en relación recíproca 40% a 60%, la cual se mantiene por ultrasonido en frecuencia de 30 a 35 Hz, temperatura entre 24 y 28 °C y tiempo entre 20 y 40 minutos.

Se dispone el equipo de electrospray para realizar el recubrimiento sobre los tornillos de titanio introduciendo la suspensión de TiO_2 en agua-etanol en el reservorio desde el que se inyecta la aguja de rociado, estableciendo los parámetros típicos del procedimiento para una polarización simple con voltaje entre 2 kV y 10 kV que aumenta en pasos de 100 V. Se ajusta el flujo de inyección de la bomba a la jeringa entre 0.05 y 2 ml/h y una distancia respecto al tornillo a recubrir (sustrato) entre 20 y 60 mm. Se realiza la deposición con un cono de Taylor de chorro estable por 20 a 50 minutos.

La capa de dióxido de titanio depositada sobre los tornillos se fija por tratamiento térmico en un horno cuya temperatura varía entre 400 y 600 °C con un gradiente entre 3 y 10 °C por minuto. Posteriormente son enfriados con un gradiente entre 10 y 20 °C por minuto hasta alcanzar la temperatura ambiente.

Ejemplo 2. Determinación de la calidad físico química del recubrimiento

Una vez recubiertos los tornillos, se examinó su superficie con la ayuda de la microscopía electrónica de barrido. La microfotografía resultante con un aumento de 3000X se muestra en la figura 1 y se compara con mediciones experimentales realizadas por Sardinha, S. C. S. et al (2013) sobre tornillos de titanio comercialmente disponibles, tratados por ataque ácido y por plasma spray de titanio. De las microfotografías es evidente la uniformidad en el tamaño de las partículas dispuestas por el procedimiento aquí reivindicado y las características que pueden esperarse de un material que propicia la formación de hueso sobre el implante no sólo por la deposición de dióxido de titanio sino además por la ubicación del raloxifeno en el lugar que debe rendir sus mejores características.

No obstante, la uniformidad de la superficie no resulta concluyente respecto a la calidad del recubrimiento logrado. Por ello, se recurrió a la microscopía confocal para revisar la matriz de distribución del dióxido de titanio, del raloxifeno puro y del recubrimiento de dióxido de titanio con el raloxifeno inmovilizado. La Figura 2A muestra una de las imágenes alcanzadas en el microscopio confocal con un aumento de 20X (A) para la matriz del dióxido de titanio. La Figura 2B es la imagen confocal de la matriz de raloxifeno puro aumentada a 40x. Las Figuras 2C y 2D presentan la imagen confocal del recubrimiento de dióxido de titanio con el raloxifeno inmovilizado en aumentos de 20X y 40X respectivamente. Estas imágenes permiten concluir que el recubrimiento, logrado por el procedimiento aquí reivindicado, reúne las características de uniformidad buscadas para brindar las condiciones adecuadas para el desarrollo de osteoblastos.

Finalmente, la calidad del revestimiento logrado se determinó aplicando la espectroscopía Raman al raloxifeno inmovilizado sobre la matriz de TiO_2 . La Figura 3 presenta el espectrograma resultante y de él se detalla en el recuadro la deconvolución de la zona entre 1500 y 1650 cm^{-1} en la cual se registran los picos correspondientes

al raloxifeno además de un pico secundario para el dióxido de titanio en la banda G a 1580 cm^{-1} . Los cuatro picos principales para el dióxido de titanio aparecen entre los 140 y 640 cm^{-1} , confirmándose así que el recubrimiento contiene las sustancias de interés y brinda una superficie adecuada para el crecimiento de osteoblastos.

Ejemplo 3. Ensayos *in vitro* sobre la calidad del recubrimiento

Los tornillos de titanio recubiertos con dióxido de titanio y raloxifeno se prueban en condiciones *in vitro* recurriendo al método colorimétrico basado en la reducción del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol, conocido como MTT, el cual permite determinar la supervivencia y proliferación celular, o dicho de otra manera, permite establecer la toxicidad del recubrimiento. Para el efecto se utilizaron como sustratos: vidrio, como control negativo (muestra 1 en la Figura 4); titanio metálico, material con reconocidas cualidades de biocompatibilidad (muestra 2 en la Figura 4); y titanio metálico recubierto con el procedimiento aquí reivindicado (muestra 3 en la Figura 4). La Figura 4 recoge los resultados del ensayo MTT realizado con los sustratos descritos, el cual al cabo de 72 horas reporta la proliferación de osteoblastos que presenta la gráfica. Como se conoce: en vidrio se presenta la menor supervivencia o proliferación celular; en el titanio sin modificación la situación es un tanto mejor para la proliferación de osteoblastos; pero el titanio recubierto con el procedimiento aquí reivindicado supera por un gran margen a los sustratos con que se comparó. Al aplicar un análisis de varianza a los resultados se establecen diferencias significativas ($p=0,035$) a favor del titanio con la modificación de superficie reivindicada.

Ejemplo 4. Ensayos *in vivo* sobre la biocompatibilidad del recubrimiento

Para establecer la biocompatibilidad del recubrimiento alcanzado por el procedimiento aquí reivindicado se definió utilizar ratas Wistar, mayores a un año y medio de vida, a las que se le implantaron tornillos de titanio en uno de sus fémures, aplicando un tornillo sin tratamiento y otro recubierto con dióxido de titanio con raloxifeno inmovilizado en él.

El procedimiento para la prueba de biocompatibilidad se abordó en dos etapas generales: la implantación de los tornillos en los fémures de las ratas mediante un procedimiento quirúrgico; y, el seguimiento del comportamiento óseo en torno a las dos probetas implantadas en los fémures, el cual se desarrolló recurriendo a la radiografía convencional de rayos X. La Figura 5 presenta cuatro escenas del procedimiento quirúrgico correspondientes a: la insensibilización de la rata; el abordaje lateral al fémur de la rata; el implante de los tornillos de titanio con y sin recubrimiento; y, el cierre quirúrgico post-implante, en las fotografías rotuladas como A, B, C y D correspondientemente. Este procedimiento se llevó a cabo en 11 especímenes.

Las radiografías de seguimiento del implante se realizaron ochenta días después de introducidas las probetas, tiempo en el que es posible evidenciar diferencias en la densidad ósea en el área en torno al implante de cada tornillo. La Figura 6 muestra estas diferencias en dos especímenes intervenidos. En ambos especímenes se observa en el área peri-implante del tornillo biofuncionalizado con raloxifeno (proximal) una mayor densidad ósea si se le compara con el área peri-implante del tornillo sin biofuncionalizar (distal). Para evaluar de manera objetiva estas diferencias, se realizó el procesamiento de las imágenes radiológicas obtenidas, comparando las diferencias en la densidad ósea "fémur proximal" versus "fémur distal" (tornillos biofuncionalizados versus tornillos no biofuncionalizados) mediante el algoritmo de segmentación de imágenes Watershed para gradiente de grises. Una vez obtenidos los valores

de las áreas de interés, se obtuvieron diferencias altamente significativas en la densidad ósea del área peri-implante del tornillo biofuncionalizado.

Estas diferencias se pudieron corroborar luego de la eutanasia de los especímenes al observar el aspecto macroscópico del fémur luego de retirar los implantes (Figura 7). La flecha de color negro muestra el área donde se encontraba el tornillo biofuncionalizado y el la flecha de color gris donde se encontraba el tonillo sin biofuncionalizar.

Aunque, obviamente existen claras diferencias entre la respuesta del tejido óseo a un biomaterial en los seres humanos y en el modelo animal, los efectos de la liberación local de raloxifeno desde la matriz nanoestructurada de TiO₂ observados representan una ventaja significativa para los pacientes con osteoporosis que requieren implantes ortopédicos con relación a la administración sistémica de este medicamento en cuanto a los efectos y el tiempo en que se observaron los cambios sobre el tejido óseo.

Las etapas clínicas de la aplicación de la invención están pendientes pues es necesario cumplir con todos los requisitos legales para abordar la aplicación en humanos, pero los resultados alcanzados hasta este punto permiten prever una opción muy favorable para los pacientes con osteoporosis que deben ser sometidos a implantes ortopédicos.