

Biopolímero reforzado con nanotubos de carbono para su aplicación como andamios en la Regeneración de Tejido

Óseo

M.L. Flores-Cedillo^{1,*}, M.L. Morales-Barbosa², H.Z. Del Ángel-López³, A.M. Sierra-Guerrero⁴

¹**Resumen**—La Ingeniería Tisular o Ingeniería de Tejidos es una ciencia multidisciplinar que involucra el uso de soportes o *scaffolds* fabricados por diferentes materiales, los cuales como característica principal deben de ser biocompatibles con los sistemas biológicos del cuerpo humano y estar aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA, *Food and Drugs Administration*). En este trabajo se reforzó un soporte de Ácido Poliláctico (PLA) con nanotubos de carbono de pared múltiple para evaluar la posibilidad de utilizarlo como un andamio para la regeneración ósea debido al incremento de propiedades mecánicas del biopolímero. Los resultados arrojan que al reforzar nanoestructuralmente el PLA, aumentó su Módulo elástico asemejándose a la del hueso esponjoso, compacto y cartilago, lo que sugiere estos potenciales usos al validarlos *in vitro* e *in vivo* en las fases experimentales posteriores a esta investigación. Al continuar desarrollando y caracterizando biomateriales, se permitirá ampliar el conocimiento en esta rama de la ciencia y obtener propiedades más prometedoras para ser utilizados como soportes óseos, que es una de las finalidades que persigue la Ingeniería Tisular.

Palabras clave: Ingeniería Tisular, Andamios, Biomateriales, Ácido Poliláctico.

ABSTRACT- Tissue Engineering or Engineering of Tissue is a multidisciplinary science that involves the use of supports or scaffolds manufactured by different materials, which as main characteristic must be biocompatible with the biological systems of the human body and be approved by Food and Drugs Administration (FDA). In this work a support of Polylactic Acid (PLA) with multiple wall carbon nanotubes was reinforced to evaluate the possibility of using it as a scaffold for bone regeneration due to the increase of mechanical properties of the biopolymer. The results show that by reinforcing nanostructurally the PLA, increased its elastic Modulus and its maximum deformation resembling that of spongy, compact bone and cartilage, suggesting these potential uses when validating them *in vitro* and *in vivo* in the experimental phases after this investigation. By continuing to develop and characterize biomaterials, it will

be possible to expand knowledge in this branch of science and obtain more promising properties to be used as bone supports, which is one of the purposes of Tissue Engineering.

Key words: Tissue Engineering, Scaffolds, Biomaterials, Polylactic Acid.

I. INTRODUCCIÓN

La pérdida parcial o total de un tejido u órgano y su función es un grave y costoso problema de salud cuyo campo es atendido por la cirugía reconstructiva y trasplantológica, pero que presenta la limitante de tener una baja cantidad de donantes órganos para trasplantes. Esta creciente necesidad de órganos, llevó a los investigadores a utilizar células autólogas para la reconstrucción de órganos y tejidos así como para atender la pérdida de su función a través de los cuatro procesos básicos: trasplantes, injertos autólogos, prótesis y regeneración tisular [1]; dando lugar a una nueva ciencia para lograr la regenerar un tejido y su función perdida por lesiones, enfermedades y/o malformaciones congénitas, esta es la Ingeniería de tejidos, mejor conocida como Ingeniería Tisular término acuñado a mediados de la década de los 80's por los doctores Robert Langer y Joseph Vacanti [2].

En la Ingeniería Tisular (por sus siglas en inglés TE: *Tissue engineering*) se utilizan estructuras o andamios de materiales que sembrados en el cuerpo sirven como estructura temporal para que las células colonicen hasta formar nuevos tejidos [3].

Los biomateriales son materiales diseñados para actuar con sistemas biológicos con el fin de evaluar, tratar, aumentar o reemplazar algún tejido, órgano o función del cuerpo. Deben ser capaces de estar en contacto con tejidos vivos, durante un periodo de tiempo, como parte del tejido, con la finalidad de completar al tejido y/o de ayudar a mejorar el funcionamiento de éste cuando forma parte de un sistema, sin afectar al resto del organismo y sin ser afectado por él, a menos que así se hubiera diseñado, como ocurre con los hilos de sutura para tejidos internos que están diseñados para ser absorbidos por el organismo.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio se prepararon andamios de PLLA que es una matriz polimérica biodegradable aprobada por la

¹ Dra. María Lisseth Flores Cedillo, *maria.flores@tecsuperiorslp.edu.mx

² MASC. Ma. de la Luz Morales Barbosa, luz.morales@tecsuperiorslp.edu.mx

³ MMA. Hulda Zulema del Ángel López, hulda.delangel@tecsuperiorslp.edu.mx

⁴ MPS. Adela Marisol Sierra Guerrero, adela.sierra@tecsuperiorslp.edu.mx

Instituto Tecnológico Superior de San Luis Potosí, Capital; Carretera 57 Méx.-P.N. Tramo Oro.-S.L.P. Km 189.100 No. 6501, Delegación Villa de Pozos, S.L.P.

FDA y sobre la misma se dispersaron de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs, *Multiwall Carbon Nanotubes*, por sus siglas en inglés) oxidados debido a que se ha reportado que, durante este proceso, disminuye su potencial citotoxicidad [4].

Se utilizaron 2g de Ácido Poliláctico (PLA) el cual tiene una temperatura de fusión de El PLLA presenta una temperatura de transición vítrea entre 60-65°C, una temperatura de fusión entre 173-178°C y un módulo de elasticidad entre 2.7 a 16 GPa. Sin embargo, como la mayoría de los polímeros, presenta la incapacidad para soportar cargas y esfuerzos, por lo cual es necesario reforzarlos con nanopartículas o nanomateriales, como es el caso de los nanotubos de carbono [5].

Se utilizaron MWCNTs (Baytubes® C 150P) de la marca Bayer Material Science en forma de aglomerados. Estos nanotubos tienen un diámetro interno de aproximadamente 4 nm, un diámetro exterior de ~13 nm y una longitud de 1 a 4 µm. Estos nanotubos fueron fabricados por deposición química en base de vapor (CVD) y tienen una pureza de 95%.

Primeramente se oxidaron los MWCNTs para modificar la superficie de los MWCNTs siguiendo el método reportado por Avilés et al. con base en un tratamiento de oxidación química con HNO₃ y H₂SO₄ [6]. Luego la disolución se somete a agitación mecánica durante 30 minutos a una temperatura de 60 °C. Transcurrido este tiempo se lleva la disolución al baño de ultrasonido por 2 horas. Al transcurrir este tiempo, se filtran y lavan con agua destilada y por último se secan los MWCNTs oxidados por 4 horas a 150°C en un horno de convección (Ver Figura 1).

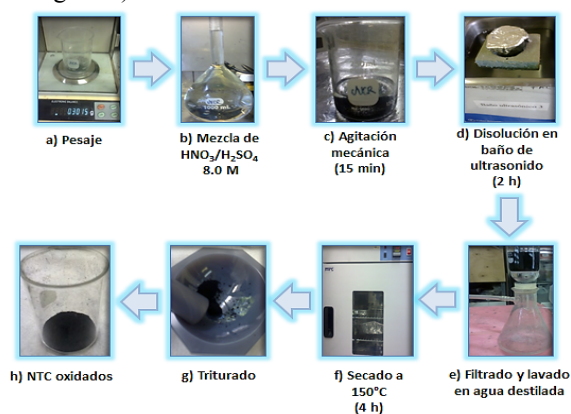


Figura 1. Procedimiento de oxidación ácida.

Se cortaron películas de 5 mm de diámetro que son reportados como defectos óseos de tamaño crítico [7] debido a que se proyecta su evaluación futura sobre biomodelos. El grupo control es el PLA puro.

Como es importante que el disolvente empleado disperse tanto el PLA como los MWCNTs, se utilizó el cloroformo debido a su punto de ebullición similar al del PLA (aproximadamente entre 60 y 62°C) [8].

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para visualizar el patrón de dispersión de los MWCNTs sobre la superficie del PLA, se empleó un microscopio óptico con cámara de la marca Leica DM-LM procesadas con el software TV98®. En la Figura 2 se visualiza una dispersión de los MWCNTs sobre el polímero no homogénea.

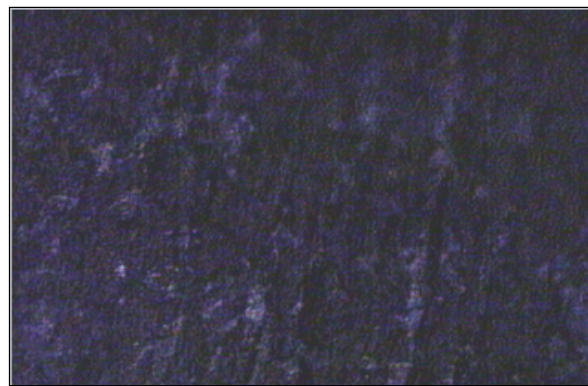


Figura 2. MWCNTs dispersos en la película.

En la Figura 3, se observan los resultados de esfuerzo mecánico, se observó el Módulo elástico del PLA como se muestra en el andamio de MWCNTs/PLA se visualizó un incremento muy significativo en el polímero al reforzarlo con los MWCNTs.

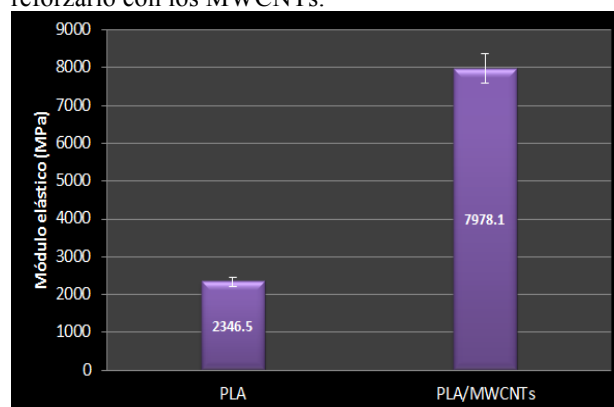


Figura 3. Modulo elástico del PLA y del PLA/MWCNTs.

Esta técnica experimental sirvió para determinar la cantidad de calor que absorbe o libera el material, cuando se calentó y enfrió incrementando 10 °C cada minuto en un intervalo de temperaturas de 0-180 °C.

En la Figura 4 se muestran las temperaturas de fusión del polímero, en el PLA se observa que se encuentra en 148-150°C en el primer y segundo calentamiento, respectivamente. En el andamio con MWCNTs/PLA se observa un ligero aumento de 2-3°C, lo cual indica que al añadir los MWCNTs al polímero, se aumenta la cristalinidad del polímero y requiere una mayor temperatura para fundirlos.

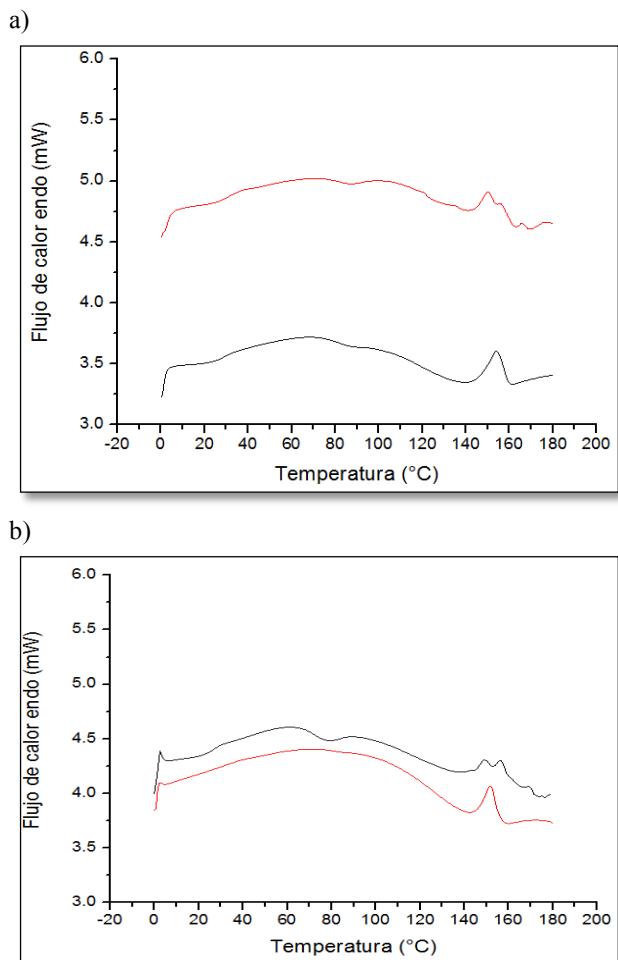


Figura 4. a) Curvas promedio de Calorimetría Diferencial de Barrido del PLA y, b) andamio MWCNTs/PLA. (Color rojo: primer calentamiento, color negro: segundo calentamiento). En la Figura 5 se observan los resultados del ensayo colorimétrico de Vida-Muerte, después de sembrar células madre de pulpa dental (HDPSCs, *Human Dental Pulp Stem Cells*) por 14 días los cuales muestran que se presenta una viabilidad superior en los soportes con PLA/MWCNTs hasta un 30% mayor a los del PLA puro.

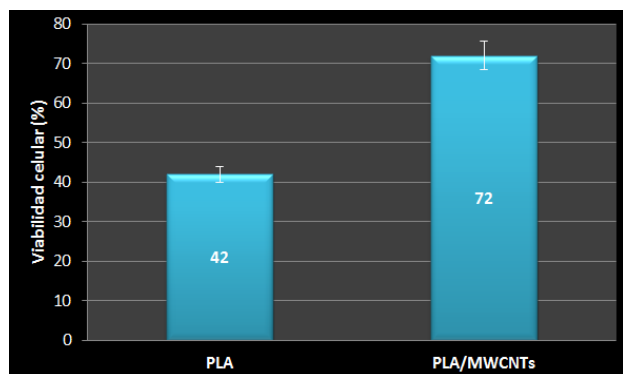


Figura 5. Ensayo de vida-muerte de PLA vs PLA/MWCNTs.

IV. CONCLUSIONES

Al continuar investigando y desarrollando biomateriales, se podrán desarrollar sustitutos biológicos que permitan restaurar, mantener y mejorar la función de los tejidos, superando las limitaciones de los tratamientos convencionales, los cuales irán en función del tipo de tejido que se desea regenerar.

En este estudio, se lograron mejorar las propiedades mecánicas del PLA gracias al refuerzo con nanotubos de carbono, debido a que el tejido óseo, requiere un elevado Módulo elástico, lo que sugiere que se pueda emplear en la regeneración de hueso compacto, esponjoso y cartílago. Sin embargo, debe ser sometido a exhaustivas pruebas *in vitro* antes de su aplicación sobre biomodelos con ensayos *in vivo*.

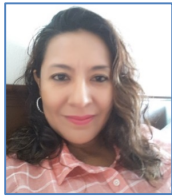
El ensayo de Vida-Muerte presentó un incremento del 42% al 72% en la viabilidad celular con células madre de pulpa dental (HDPSCs) a los 14 días, lo que plantearía la posibilidad de poderse emplear en un sistema biológico sin ser citotóxico.

La Ingeniería Tisular persigue desarrollar biomateriales que se mimeticen con el tipo y características de cada tejido de acuerdo a sus propiedades específicas, las cuales se deben considerar desde su fase de diseño y validarlas al caracterizar el biomaterial.

V. REFERENCIAS

- [1] M. S. Chapekar, "Tissue engineering: challenges and opportunities," *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 53, no. 6, pp. 617–620, 2000.
- [2] R. Langer and J. P. Vacanti, "Tissue engineering," *Science*, vol. 260, no. 5110, pp. 920–926, May 1993.
- [3] A. K. Saxena and others, "Tissue engineering: Present concepts and strategies," *J. Indian Assoc. Pediatr. Surg.*, vol. 10, no. 1, p. 14, 2005.
- [4] A. Bianco, K. Kostarelos, C. D. Partidos, and M. Prato, "Biomedical applications of functionalised carbon nanotubes," *Chem. Commun.*, no. 5, p. 571, 2005.
- [5] M. L. Flores-Cedillo *et al.*, "Multiwall carbon nanotubes/polycaprolactone scaffolds seeded with human dental pulp stem cells for bone tissue regeneration," *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 27, no. 2, Feb. 2016.
- [6] F. Avilés, J. V. Cauich-Rodríguez, L. Moo-Tah, A. May-Pat, and R. Vargas-Coronado, "Evaluation of mild acid oxidation treatments for MWCNT functionalization," *Carbon*, vol. 47, no. 13, pp. 2970–2975, Nov. 2009.
- [7] S. Ochandiano Caicoya, "Relleno de cavidades óseas en cirugía maxilofacial con materiales aloplásticos," *Rev. Esp. Cir. Oral Maxilofac.*, vol. 29, no. 1, pp. 21–32, Feb. 2007.
- [8] Espinoza González C. J., "Dispersión de nanotubos de carbono en polímeros. Limitaciones y retos," *Ideas CONCYTEG*, vol. 6, no. 72, pp. 760–771, 2011.

VI. BIOGRAFÍAS



Flores-Cedillo, M. L. Nacida en San Luis Potosí, S.L.P. Actualmente es Profesora Investigadora en la División de Ingeniería Industrial del Instituto Tecnológico Superior de San Luis Potosí, Capital.

Tiene una maestría en Ciencia de la Ingeniería Mecánica y un Doctorado en Ingeniería y Ciencia de los Materiales.

Es líder del Cuerpo Académico de Ingeniería Industrial del ITSSLPC, participa como asesora de diferentes proyectos de innovación y desarrollo tecnológico, residencias profesionales, proyectos integradores y proyectos vinculados con empresas e instituciones de la región. Colabora con un grupo de investigación de la FESI-UNAM sintetizando y caracterizando materiales que puedan tener potenciales usos en la Regeneración de tejidos.

Morales-Barbosa, M. L. Nació en San Luis Potosí, S.L.P.



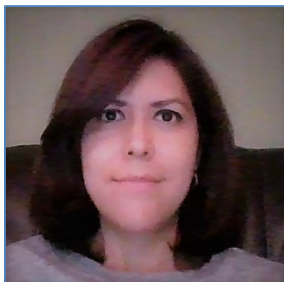
Es Profesora Investigadora en la División de Ingeniería Industrial del Instituto Tecnológico Superior de San Luis Potosí, Capital y formo parte de su Cuerpo Académico.

Tiene una maestría en Administración de Sistemas de

Calidad.

Aporta su experiencia de más de 25 años en la iniciativa privada en las aulas y está certificada en Sistemas de Calidad.

Asesora a estudiantes con proyectos de residencia profesional, tutorías, innovación tecnológica y lidera proyectos institucionales de Seguridad e Higiene, Protección Civil y el Capítulo de Ingeniería Industrial



Del Ángel-López H. Z. Potosina de nacimiento. Es maestra en Manufactura Avanzada, tiene 6 años de experiencia en la Industria, desempeñándose en el área de Calidad y Logística principalmente en el arranque de plantas, implementación de sistemas

de calidad y control de documentos, calidad proveedores, etc. Durante 6 años se ha desempeñado como docente en el área de Ingeniería Industrial, impartiendo materias de especialidad, manufactura, logística y estadísticas. Actualmente es miembro del Cuerpo Académico de Ingeniería Industrial del Instituto Tecnológico Superior de San Luis Potosí, Capital, tiene publicaciones científicas y

académicas y participado en el desarrollo de diferentes proyectos de impacto tecnológico en empresas de la región.



Sierra-Guerrero A. M. Es nacida en San Luis Potosí, S.L.P. Tiene una maestría en Planeación y Sistemas por la Facultad de Ingeniería División Posgrado UASLP.

Cuenta con 10 años de experiencia en la industria Metal Mecánica, Textil y de Servicios.

Es auditora Certificado con la ISO 9001-2008.

Tiene 14 años de experiencia en la docencia, a nivel licenciatura y posgrado y publicaciones técnico-científicas.