



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**“ELABORACIÓN DE ANDAMIOS TISULARES
OBTENIDOS POR ELECTROHILADO A BASE DE
 ϵ -CAPROLACTONA Y BIOVIDRIO TIPO BIOGLASS
45S5[®]”**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO**

**PRESENTA
AMNON GABRIEL ORTOLL BLOCH**



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: María de Lourdes Chávez García

VOCAL: Profesora: Margarita Chávez Martínez

SECRETARIO: Profesor: Filiberto Rivera Torres

1er. SUPLENTE: Profesora: María Elena del Refugio Villafuerte y
Castrejón

2° SUPLENTE: Profesor: Gustavo Tavizón Alvarado

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: INSTITUTO DE
INVESTIGACIONES EN MATERIALES, UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO.**

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Filiberto Rivera Torres

SUPERVISOR TÉCNICO:

Dr. Ricardo Vera Graziano

SUSTENTANTE:

Amnon Gabriel Ortoll Bloch

ÍNDICE

ÍNDICE	iii
Lista de figuras	vi
Lista de tablas	x
RESUMEN	xi
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Justificación	3
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos particulares	4
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES TEÓRICOS	5
2.1 Tejido óseo	5
2.1.1 Generalidades.....	5
2.1.2 Nanoestructura y sub-nanoestructura.....	6
2.1.2.1 Fase orgánica	6
2.1.2.2 Fase inorgánica	7
2.1.3 Microestructura y sub-microestructura.....	7
2.1.4 Macroestructura	8
2.1.5 Propiedades mecánicas.....	9
2.1.6 Regeneración ósea	10
2.1.7 Problemas de salud	10
2.1.8 Desventajas de los sustitutos óseos actuales	11
2.2 Ingeniería de tejidos óseos	12
2.2.1 Generalidades.....	12
2.2.2 Andamios para la regeneración de tejido óseo.....	13
2.3 Biomateriales empleados para la fabricación de andamios para la regeneración de tejido óseo	14
2.3.1 Polímeros biodegradables	14
2.3.1.1 Polímeros biodegradables naturales	15
2.3.1.2 Polímeros biodegradables sintéticos	16
2.3.1.2.1 Poli(ϵ -caprolactona)	17
2.3.1.2.1.1 Propiedades de la Poli(ϵ -caprolactona)	17
2.3.1.2.1.2 Síntesis de la Poli(ϵ -caprolactona).....	18
2.3.1.2.1.3 Aplicaciones biomédicas de la Poli(ϵ -caprolactona)	18
2.3.2 Cerámicas bioactivas.....	19
2.3.2.1 Bioglass 45S5 [®]	24
2.3.2.1.1 Composición química del Bioglass 45S5 [®]	24
2.3.2.1.2 Estructura química del Bioglass 45S5 [®]	25
2.3.2.1.3 Mecanismo de bioactividad del Bioglass 45S5 [®]	26
2.3.2.1.4 Métodos de síntesis del Bioglass 45S5 [®]	28
2.3.2.1.5 Aplicaciones biomédicas del Bioglass 45S5 [®]	30
2.3.2.2 Estado del arte en vidrios bioactivos	31
2.4 Andamios compuestos polímero/cerámico	33

2.4.1 Técnicas de fabricación de andamios de tercera generación para la regeneración de tejido óseo.....	35
2.4.1.1 Electrohilado	39
CAPÍTULO 3: SECCIÓN EXPERIMENTAL.....	43
3.1 Materiales	43
3.1.1 Reactivos para síntesis y molienda ultrasónica del Bioglass 45S5®	43
3.1.2 Reactivos para proceso de electrohilado	43
3.1.3 Reactivos para mediciones de ángulo de contacto	43
3.2 Metodología experimental.....	44
3.2.1 Síntesis del Bioglass 45S5® por el método de fundición	44
3.2.2 Molienda mecánica del Bioglass 45S5®.....	46
3.2.3 Molienda ultrasónica del Bioglass 45S5®	46
3.2.4 Caracterización del Bioglass 45S5®	47
3.2.4.1 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (ATR-FTIR)	47
3.2.4.1.1 FTIR del Bioglass 45S5® de la molienda mecánica.....	48
3.2.4.1.2 FTIR del Bioglass 45S5® de la molienda ultrasónica.....	49
3.2.4.2 Difracción de rayos X (DRX).....	49
3.2.4.2.1 DRX del Bioglass 45S5® de la molienda mecánica	51
3.2.4.2.2 DRX del Bioglass 45S5® de la molienda ultrasónica	51
3.2.4.3 Análisis termogravimétrico (TGA)	52
3.2.4.3.1 TGA del Bioglass 45S5® de la molienda mecánica	52
3.2.4.3.2 TGA del Bioglass 45S5® de la molienda ultrasónica	52
3.2.4.4 Análisis termomecánico (TMA)	53
3.2.4.4.1 TMA del Bioglass 45S5® de la molienda mecánica	54
3.2.4.4.2 TMA del Bioglass 45S5® de la molienda ultrasónica	54
3.2.4.5 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	54
3.2.4.5.1 DSC del Bioglass 45S5® de la molienda mecánica	56
3.2.4.5.1 DSC del Bioglass 45S5® de la molienda ultrasónica	56
3.2.4.6 Microscopía electrónica de transmisión (TEM) del Bioglass 45S5® de la molienda mecánica	56
3.2.4.7 Microscopía de fuerza atómica (AFM) del Bioglass 45S5® de la molienda mecánica.....	57
3.2.4.8 Microscopía electrónica de barrido (SEM) del Bioglass 45S5® de la molienda ultrasónica	58
3.2.5 Obtención de nanofibras de PCL mediante la técnica de electrohilado ...	59
3.2.5.1 Preparación de las disoluciones de PCL	59
3.2.5.2 Electrohilado de disoluciones de PCL	59
3.2.5.3 Optimización de parámetros de electrohilado de PCL.....	60
3.2.6 Obtención de nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5®	61
3.2.6.1 Preparación de la disolución PCL/Bioglass 45S5®	61
3.2.6.2 Electrohilado de la disolución PCL/Bioglass 45S5®.....	62
3.2.7 Caracterización de las nanofibras de PCL y de las nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5®	62
3.2.7.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	62
3.2.7.2 Mediciones de ángulo de contacto	63
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	66
4.1 Caracterización del Bioglass 45S5®	66
4.1.1 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (ATR-FTIR) ...	66
4.1.1.1 FTIR del Bioglass 45S5® de la molienda mecánica.....	66
4.1.1.2 FTIR del Bioglass 45S5® de la molienda ultrasónica.....	67
4.1.2 Difracción de rayos X (DRX).....	68

4.1.2.1 DRX del Bioglass 45S5 [®] de la molienda mecánica	68
4.1.2.2 DRX del Bioglass 45S5 [®] de la molienda ultrasónica, antes de secar....	69
4.1.2.3 DRX del Bioglass 45S5 [®] de la molienda ultrasónica, seco.....	70
4.1.3 Análisis termogravimétrico (TGA)	71
4.1.3.1 TGA del Bioglass 45S5 [®] de la molienda mecánica	71
4.1.3.2 TGA del Bioglass 45S5 [®] de la molienda ultrasónica, antes de secar....	73
4.1.3.3 TGA del Bioglass 45S5 [®] de la molienda ultrasónica, seco.....	74
4.1.4 Análisis termomecánico (TMA)	75
4.1.4.1 TMA del Bioglass 45S5 [®] de la molienda mecánica	75
4.1.4.2 TMA del Bioglass 45S5 [®] de la molienda ultrasónica, antes de secar....	76
4.1.4.3 TMA del Bioglass 45S5 [®] de la molienda ultrasónica, seco.....	77
4.1.5 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	78
4.1.5.1 DSC del Bioglass 45S5 [®] de la molienda mecánica	78
4.1.5.2 DSC del Bioglass 45S5 [®] de la molienda ultrasónica, antes de secar....	79
4.1.5.3 DSC del Bioglass 45S5 [®] de la molienda ultrasónica, seco.....	80
4.1.6 Microscopía electrónica de transmisión (TEM) del Bioglass 45S5 [®] de la molienda mecánica	81
4.1.7 Microscopía de fuerza atómica (AFM) del Bioglass 45S5 [®] de la molienda mecánica.....	82
4.1.8 Microscopía electrónica de barrido (SEM) del Bioglass 45S5 [®] de la molienda ultrasónica	84
4.2 Caracterización de las nanofibras de PCL y de las nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5[®]	86
4.2.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	86
4.2.1.1 SEM de las nanofibras de PCL	86
4.2.1.2 SEM de las nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5 [®]	90
4.2.2 Mediciones de ángulo de contacto	91
4.2.2.1 Ángulo de contacto de las nanofibras de PCL.....	91
4.2.2.2 Ángulo de contacto de las nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5 [®]	92
 CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES	95
RECOMENDACIONES.....	96
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Organización estructural jerárquica del hueso.....	6
Figura 2.2 Esquema que muestra el arreglo de las fibrillas de colágena y los cristales de HA.....	7
Figura 2.3 Lamelas y osteones; hueso compacto y esponjoso.....	8
Figura 2.4 Proceso de regeneración ósea.....	10
Figura 2.5 a) Estructura de triple cadena de la colágena y estructura química de la secuencia tripeptídica más comúnmente encontrada en la colágena, compuesta de glicina, prolina e hidroxiprolina, b) Estructura química representativa del quitosano, c) Estructura química del ácido hialurónico, d) Porción representativa del alginato, e) Estructura química de la celulosa.....	16
Figura 2.6 Estructuras químicas de algunos de los polímeros biodegradables utilizados en ingeniería de tejidos óseos.....	17
Figura 2.7 Reacción de degradación hidrolítica de la PCL.....	18
Figura 2.8 Síntesis de la PCL: Polimerización por apertura de anillo de la ϵ -caprolactona.....	18
Figura 2.9 Diagramas de fase ternarios $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2$ que muestran la dependencia composicional (en %w/w) del enlazamiento de los cerámicos bioactivos a tejido duro y blando.....	20
Figura 2.10 Sección de un modelo de Bioglass 45S5.....	25
Figura 2.11 Esquema de reacciones en el proceso sol-gel: formación de tetraedros de sílice y nanopartículas, a temperatura ambiente.....	29
Figura 2.12 Diagrama que muestra la formación de fibras por electrohilado.....	40
Figura 2.13 Cono de Taylor y cambios en la distribución de cargas en la fibra.....	40
Figura 3.1 Reacciones de descarbonatación de los carbonatos de calcio y sodio.....	44
Figura 3.2 Rampa de calentamiento seguida durante la fundición del Bioglass 45S5.....	45

Figura 3.3 a) Horno CHESA, CE empleado para la síntesis del Bioglass 45S5 por fundición. b) Colada de Bioglass 45S5 recién sacada del horno, durante el proceso de <i>quenching</i> sobre la placa de cobre.....	45
Figura 3.4 a) Molino de bolas Retsch PM 100 empleado para la molienda mecánica del Bioglass 45S5. b) Contenedor del molino con placas del Bioglass 45S5 antes de molerse.....	46
Figura 3.5 Sonda de ultrasonido empleada para la molienda ultrasónica del Bioglass 45S5.....	47
Figura 3.6 Espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 6700.....	48
Figura 3.7 Reflexión de Bragg desde un conjunto de planos cristalográficos con espaciamento d_{hkl}	49
Figura 3.8 a) Difractómetro Siemens D500, y b) el interior del equipo.....	51
Figura 3.9 Analizador termogravimétrico de alta resolución TGA 2950 de TA Instruments.....	52
Figura 3.10 Representación esquemática de los cambios observados después de la temperatura de transición vítrea.....	53
Figura 3.11 Analizador termomecánico TMA 2940 de TA Instruments.....	54
Figura 3.12 Esquema de un sistema de DSC. Los triángulos son amplificadores que determinan la diferencia entre las dos señales de entrada. El poder del calentador de la muestra es ajustado para que la muestra y la referencia se mantengan a la misma temperatura durante el barrido.....	55
Figura 3.13 Equipo DSC 2910 de TA Instruments.....	56
Figura 3.14 a) Microscopio JEOL JEM-1200 EX. b) Diagrama del haz para un microscopio de TEM en modo de imagen.....	57
Figura 3.15 a) Microscopio JEOL JSPM-4210. b) Esquema del cantilever y la punta de un microscopio de AFM barriendo la superficie de una muestra.....	58
Figura 3.16 a) Microscopio JEOL JSM-7600F. b) Esquema de un sistema de SEM.....	59
Figura 3.17 Equipo de electrohilado.....	60
Figura 3.18 Andamio de PCL obtenido sobre colector de aluminio.....	61
Figura 3.19 Aparato JEOL JFC-1100 para <i>sputtering</i> de iones.....	63
Figura 3.20 a) Definición de ángulo de contacto, b) Ángulos de contacto grandes y pequeños.....	64

Figura 3.21 Goniómetro modelo 100-07-00 de Ramé-Hart, Inc., con la fuente de luz de alta intensidad Fiber-Lite A3200 de Dolan-Jenner Industries, Inc...	65
Figura 4.1 Espectro FTIR del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica.....	67
Figura 4.2 Espectro FTIR del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica.....	68
Figura 4.3 Difractograma del Bioglass 45S5 después de la molienda mecánica.....	69
Figura 4.4 Difractograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de secarse.....	70
Figura 4.5 Difractograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco.....	71
Figura 4.6 Termograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica.....	72
Figura 4.7 Reacciones de condensación (o deshidratación) de los grupos silanol en la superficie del biovidrio, que producen enlaces tensos de siloxano que pertenecen a: a) anillos de silicato de tres miembros, b) anillos de silicato de dos miembros, que comparten los bordes.....	73
Figura 4.8 Termograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de secarse.....	74
Figura 4.9 Termograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco.....	75
Figura 4.10 Curva termomecánica del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica.....	76
Figura 4.11 Curva termomecánica del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de secarse.....	77
Figura 4.12 Curva termomecánica del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco.....	78
Figura 4.13 Gráfico de DSC del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica.....	79
Figura 4.14 Gráfico de DSC del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de secarse.....	80
Figura 4.15 Gráfico de DSC del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco.....	81

Figura 4.16 Micrografías del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica, obtenidas por TEM. a) Escala de 500 μm . b) Acercamiento, escala de 100 μm	82
Figura 4.17 a) Determinación por AFM de tamaño de partícula y de perfil de rugosidad. b) c) d) y e) Micrografías de AFM del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica.....	83
Figura 4.18 a) Micrografía de SEM del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco, con 5000x de aumento. b) Micrografía de SEM del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco, con 1000x de aumento.....	84
Figura 4.19 Histograma de frecuencias absolutas para el diámetro de partícula del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica.....	85
Figura 4.20 Micrografía de SEM del andamio de PCL al 6 % w/v, distancia aguja-colector de 20 cm, y voltaje de 15 kV a) con 5000x de aumento y b) con 1000x de aumento.....	86
Figura 4.21 Micrografía de SEM con 5000x de aumento del andamio de PCL al 12 % w/v, voltaje de 8 kV a) con 15 cm de distancia, b) con 20 cm de distancia, y c) con 25 cm de distancia.....	88
Figura 4.22 Micrografía de SEM con 5000x de aumento del andamio de PCL al 12 % w/v, distancia aguja-colector de 25 cm a) con 9 kV de voltaje, b) con 15 kV cm de voltaje, c) con 16 kV de voltaje, y d) con 17 kV de voltaje.....	90
Figura 4.23 Micrografía de SEM con 5000x de aumento del andamio de PCL/Bioglass 45S5 a) con 9 kV de voltaje, b) con 10 kV cm de voltaje, c) con 13 kV de voltaje, y d) con 12 kV de voltaje.....	91
Figura 4.24 Ángulo de contacto de nanofibras de PCL a) con agua, y b) con suero fetal bovino.....	92
Figura 4.25 Ángulo de contacto de nanofibras de PCL/Bioglass 45S5 a) con agua, b) con suero fetal bovino, y c) con yoduro de metileno.....	93
Figura 4.26 Micrografía de SEM del andamio compuesto PCL/Bioglass 45S5 con 1000x de aumento, empleada para calcular el diámetro promedio de poro.....	94

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1 Propiedades mecánicas y densidad relativa de hueso humano sano.....	9
Tabla 2.2 Valores de I_B para varios cerámicos bioactivos.....	20
Tabla 2.3 Composición química del Bioglass 45S5.....	24
Tabla 2.4 Reacciones superficiales del Bioglass 45S5, en orden cronológico.....	27
Tabla 2.5 Técnicas de fabricación de andamios compuestos.....	37
Tabla 3.1 Parámetros propuestos para electrohilado de PCL, con sus respectivas combinaciones.....	61
Tabla 3.2 Parámetros para electrohilado de PCL/Bioglass 45S5.....	62
Tabla 4.1 Diámetros promedio para las nanofibras de PCL al 12 % w/v y voltaje de 8 kV.....	88
Tabla 4.2 Diámetros promedio para las nanofibras de PCL al 12 % w/v y distancia aguja-colector de 25 cm.....	89
Tabla 4.3 Ángulos de contacto de las nanofibras de PCL con diversas sustancias.....	92
Tabla 4.4 Ángulos de contacto de las nanofibras de PCL/Bioglass 45S5 con diversas sustancias.....	93

RESUMEN

La ingeniería de tejidos es un área interdisciplinaria que ha evolucionado en los últimos años y que, entre otras cosas, busca el desarrollo de andamios tisulares, estructuras que simulan el ambiente fisiológico en el que se da el crecimiento celular y que sirven de soporte temporal para la regeneración de tejido. Los andamios compuestos polímero/cerámico son considerados como una alternativa adecuada para la regeneración de tejido óseo, ya que son biodegradables y bioactivos.

El polímero biodegradable elegido para este trabajo es la poli(ϵ -caprolactona) (PCL), debido a que tiene una lenta cinética de degradación, adecuada para la regeneración de tejido óseo. Por otro lado, la cerámica bioactiva elegida para este trabajo es el Bioglass 45S5, ya que es el vidrio bioactivo con mayor índice de bioactividad desarrollado hasta ahora, es decir, el que forma más rápidamente un enlace con el tejido. El objetivo de este trabajo es obtener un andamio a base de nanofibras de PCL cargado con mesopartículas de Bioglass 45S5, mediante la técnica de electrohilado.

En este trabajo, se sintetizó Bioglass 45S5 por el método de fundición. Posteriormente, se redujo su diámetro de partícula mediante dos moliendas: una mecánica y una ultrasónica. Se caracterizó el Bioglass 45S5 después de cada molienda mediante espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier, difracción de rayos X, análisis térmicos (análisis termogravimétrico, análisis termomecánico y calorimetría diferencial de barrido) y microscopías electrónicas (microscopía de fuerza atómica, microscopía electrónica de transmisión y microscopía electrónica de barrido). Asimismo, se optimizó el electrohilado de nanofibras de PCL, caracterizándolas mediante microscopía electrónica de barrido. Finalmente, se obtuvieron nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5 mediante electrohilado, las cuales se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido y mediciones de ángulo de contacto.

Los resultados obtenidos por microscopía electrónica de barrido mostraron que después de la molienda ultrasónica, se obtuvieron partículas de Bioglass 45S5 con diámetros alrededor de los 300 nm. Asimismo, los resultados de difracción de rayos X mostraron la aparición de fases cristalinas después de la molienda ultrasónica. Las micrografías de microscopía electrónica de barrido corroboran la obtención de nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5 con las partículas de biovidrio como inclusiones y adsorbidas sobre la superficie de las fibras. Por lo tanto, del trabajo realizado se concluye que se logró obtener el andamio compuesto de PCL/Bioglass 45S5 al seguir el procedimiento propuesto. Los andamios tisulares fueron obtenidos mediante la técnica de electrohilado.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La mayoría de los efectos adversos de las enfermedades óseas, como la osteoporosis, provienen de las fracturas. De hecho, la reducción de fracturas óseas es una de las intervenciones quirúrgicas más frecuentes en México. Sin embargo, los sustitutos óseos actuales presentan numerosas desventajas, entre las cuales destacan la transmisión de enfermedades y la incompatibilidad entre las propiedades del implante y el tejido óseo. Por ello, en años recientes ha emergido la ingeniería de tejidos, un área interdisciplinaria que busca desarrollar implantes que, en lugar de sustituir al tejido dañado, lo regeneren [1, 2, 5, 6].

Para emplearse en la regeneración de tejido óseo, un andamio debe ser biocompatible, biodegradable, tener propiedades mecánicas que coincidan con las del hueso y propiedades superficiales que favorezcan la adhesión, proliferación y diferenciación celular, así como una estructura porosa tridimensional interconectada. Los andamios compuestos polímero/cerámico son una alternativa prometedora para la regeneración de hueso, debido a que presentan propiedades mecánicas y osteoconductoras mejoradas en comparación con los andamios fabricados con una sola clase de material [2, 7, 8, 10, 11].

Los polímeros biodegradables son componentes importantes de un andamio, debido a que son reemplazados por el tejido regenerado, sirviendo como un soporte temporal durante la formación del mismo. La poli(ϵ -caprolactona) (PCL) es un polímero biodegradable semicristalino con una lenta cinética de degradación, lo cual lo hace apto para aplicaciones en implantes de largo plazo, como aquéllos requeridos para la regeneración de hueso. De hecho,

tiene aprobación por la Food and Drug Administration (FDA) para uso en diversos dispositivos médicos, y se ha empleado en el área de regeneración ósea, tanto puro como reforzado con cerámicos bioactivos [2, 9].

Los cerámicos bioactivos forman un enlace con el tejido huésped. El nivel de bioactividad de un cerámico bioactivo depende de la rapidez con la que éste forme el enlace con el tejido huésped. Dentro de este contexto, el Bioglass 45S5 es un cerámico bioactivo que presenta un alto nivel de bioactividad, es decir, forma un enlace con el tejido huésped de manera rápida. Esto lo logra a través de una serie de reacciones superficiales, al final de las cuales forma una capa de hidroxiapatita carbonatada (HCA), estructuralmente semejante a la hidroxiapatita (HA) fisiológica. La cristalización de HCA sobre la superficie del Bioglass 45S5, favorece la adsorción de factores de crecimiento y varios otros constituyentes biológicos, desencadenando la regeneración de tejido. Por consiguiente, el Bioglass 45S5 ha sido empleado clínicamente para la reparación de defectos óseos variados, incluyendo en aplicaciones maxilofaciales y periodontales [2, 12, 13, 14, 19].

Entre las diversas técnicas de fabricación de andamios compuestos para la ingeniería de tejidos óseos, destaca el electrohilado, el cual permite obtener fibras poliméricas, que van de los 15 nm hasta los 10 μm , con inclusiones de partículas cerámicas. Recientemente, diversos grupos de investigación han sintetizado, mediante electrohilado, andamios compuestos que incluyen tanto PCL como Bioglass 45S5 como componentes, y han demostrado su bioactividad con estudios *in vitro* [29-34]. Lee *et al.*, hicieron un estudio comparativo entre membranas de PCL puro y membranas compuestas PCL/vidrio bioactivo, y comprobaron que la membrana compuesta presenta una mayor bioactividad *in vitro* [35].

1.2 Justificación

La PCL presenta una lenta cinética de degradación y, por tanto, una alta estabilidad estructural, la cual ya ha sido aprovechada en la fabricación de implantes para tratar defectos óseos [9]. Sin embargo, se ha comprobado que los andamios compuestos PCL/cerámico bioactivo presentan una mayor bioactividad [35]. En vista de que el Bioglass 45S5 es, hasta ahora, el cerámico bioactivo con mayor índice de bioactividad, que además ha tenido un alto éxito clínico, el desarrollo de un andamio compuesto PCL/Bioglass 45S5 es bastante prometedor para la reparación de defectos óseos de diferentes tamaños y formas.

Con base en las ideas presentadas y debido a que el electrohilado ha demostrado ser una técnica adecuada para la fabricación de mallas compuestas polímero/cerámico, este trabajo pretende fabricar y caracterizar un andamio de fibras de PCL con inclusiones de partículas de Bioglass 45S5, mediante electrohilado. Para tal fin, se requiere la previa síntesis del Bioglass 45S5 por el método de fundición y la reducción de su tamaño de partícula, mediante moliendas, así como su caracterización.

Se espera que con una molienda mecánica, mediante un molino de bolas, y una posterior molienda ultrasónica, se reduzca el tamaño de partícula del Bioglass 45S5 hasta los 200 nm. La hipótesis de trabajo es que la elaboración de nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5 dará lugar a un producto con propiedades adecuadas para emplearse en la regeneración de tejido duro en sitios de baja carga.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Obtener un andamio híbrido a base de nanofibras de poli(ϵ -caprolactona) cargadas con nanopartículas de Bioglass 45S5, mediante la técnica de electrohilado, para elevar la bioactividad de la poli(ϵ -caprolactona) y así generar un producto para la regeneración de tejido óseo.

1.3.2 Objetivos particulares

- Obtener Bioglass 45S5 por el método de fundición.
- Reducir el diámetro de partícula del Bioglass 45S5 a un intervalo de 200 a 800 μm , mediante una molienda mecánica con un molino de bolas, y obtener la caracterización fisicoquímica del producto de la molienda.
- Reducir el diámetro de partícula del Bioglass 45S5 a menos de 200 nm, mediante una posterior molienda ultrasónica, y obtener la caracterización fisicoquímica del producto de la molienda.
- Optimizar los parámetros de electrohilado para la obtención de nanofibras de poli(ϵ -caprolactona).
- Sintetizar nanofibras compuestas de poli(ϵ -caprolactona)/Bioglass 45S5, mediante la técnica de electrohilado, y obtener su caracterización fisicoquímica.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES TEÓRICOS

2.1 Tejido óseo

2.1.1 Generalidades

El hueso es un tejido duro que lleva a cabo diversas funciones mecánicas, biológicas y químicas en el cuerpo humano, tales como el soporte estructural, el almacenamiento de factores de crecimiento y la homeostasis mineral [1]. El hueso es un material compuesto orgánico-inorgánico nanoestructurado, formado por una matriz orgánica (constituida principalmente por colágena) reforzada con una fase inorgánica, la cual consta de hidroxiapatita (HA). La fase inorgánica abarca el 70% del peso seco del hueso y la matriz orgánica, el resto [2].

El hueso presenta una arquitectura construida a partir de bloques nanoestructurados: fibras mineralizadas de colágena, lo que hace que el hueso sea un material heterogéneo y anisotrópico. Rho *et al.*, proponen que tal arquitectura presenta estructuras en distintos niveles de organización (ver Fig. 2.1): la sub-nanoestructura (por debajo de algunos cientos de nm), la nanoestructura (desde algunos cientos de nm hasta 1 μm), la sub-microestructura (1-10 μm), la microestructura (10-500 μm) y la macroestructura [1].

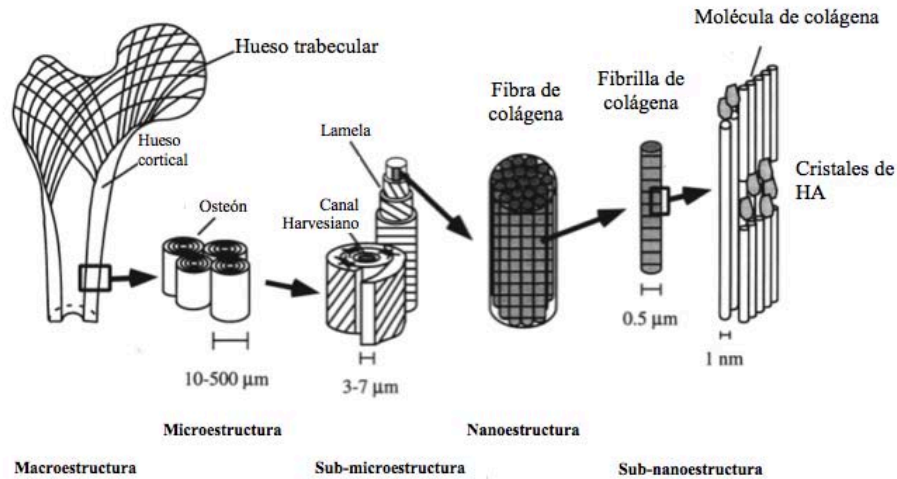


Figura 2.1 Organización estructural del hueso (Adaptado de [1]).

2.1.2 Nanoestructura y sub-nanoestructura

2.1.2.1 Fase orgánica

Aproximadamente el 90% de la fase orgánica del hueso es colágena tipo I. La colágena tipo I forma una red tridimensional en la que crecen los cristales de HA. El bloque básico de la red de colágena es la molécula helicoidal triple, la cual está compuesta de dos cadenas polipeptídicas α_1 idénticas y una cadena α_2 única, produciendo una molécula lineal rígida de 300 nm de longitud. Estas moléculas lineales se autoensamblan en grupos de hélices triples, con una periodicidad de 67 nm, huecos de 40 nm entre las partes finales de las moléculas y poros entre los lados de moléculas paralelas [1].

El 10% restante de la fase orgánica consta de la sustancia basal y las proteínas sin relación con la colágena. Las proteínas sin relación con la colágena, como los factores de crecimiento, las proteínas osteoinductivas y los compuestos de matriz extracelular, son depositadas en los huecos y poros de la red de colágena para promover el crecimiento de cristales de HA. La sustancia basal, formada por proteínas y polisacáridos, ocupa los espacios entre las fibras de colágena y los cristales de HA (ver Figura 2.2) [2].

2.1.2.2 Fase inorgánica

El componente inorgánico del hueso es la HA cristalina, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, la cual tiene una simetría cristalográfica hexagonal. Sin embargo, los cristales no expresan esta simetría en su forma macroscópica, sino que forman platos delgados [3]. Los platos de HA crecen en el restringido espacio de los huecos entre las partes finales de las moléculas, por lo que son discretos y discontinuos. El arreglo de la HA se caracteriza por un eje cristalográfico *c* perpendicular a tres ejes *a* equivalentes, los cuales están a 120° uno del otro. Los ejes cristalográficos *c* de los platos de HA se encuentran aproximadamente alineados con los ejes longitudinales de las fibras de colágena [1]. Las dimensiones promedio de los cristales son 50×25 nm, y el intervalo va desde los 10 nm hasta los 100 nm. El grosor de los cristales es de 2 nm a 3 nm [3].

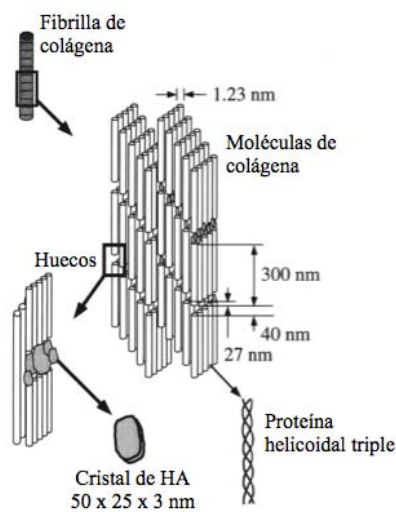


Figura 2.2 Esquema que muestra el arreglo de las fibrillas de colágena y los cristales de HA (Adaptado de [1]).

2.1.3 Microestructura y sub-microestructura

Dependiendo de su microestructura, el hueso puede clasificarse en laminar y reticular. El hueso reticular es un hueso sin madurar, compuesto de fibras mineralizadas de colágena acomodadas sin orientación definida y que, por consiguiente, tiene características isotrópicas. En el hueso laminar, las fibras

de colágena forman arreglos planos llamados lamelas, las cuales tiene un grosor de 3 a 7 μm . A su vez, las lamelas se acomodan en anillos concéntricos, formando cilindros de 4 a 20 anillos y de 200 a 250 μm de diámetro, llamados osteones, alrededor de un canal central sanguíneo llamado canal Haversiano. Los osteones se acomodan en forma paralela al eje longitudinal del hueso. En una lamela, las fibras de colágena se encuentran orientadas paralelamente entre sí, resultando en propiedades anisotrópicas con una mayor resistencia mecánica hacia el eje longitudinal de las fibras. Dentro de un osteón, las fibras de colágena cambian de orientación alternadamente de una lamela a la otra [1, 2].

2.1.4 Macroestructura

A nivel macroestructural, el tejido óseo puede ser cortical (compacto) o trabecular (esponjoso). El hueso cortical es anisotrópico con refuerzos a lo largo de su eje de carga, presenta menos de 30% de porosidad, con poros de hasta 1 milímetro de diámetro. Por el contrario, el hueso trabecular es un material isotrópico que presenta una estructura reticular tridimensional similar a una esponja, con una porosidad de 50 a 90% y poros de hasta varios milímetros de diámetro [2]. Generalmente, el hueso trabecular es más activo metabólicamente y, por consiguiente, es remodelado más frecuentemente que el cortical y se considera un hueso “joven” [1].

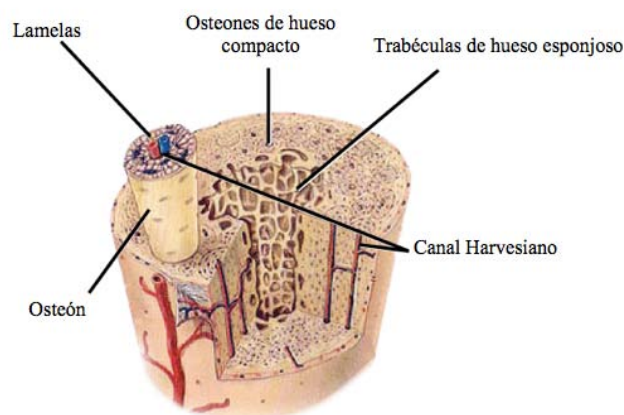


Figura 2.3 Lamelas y osteones; hueso compacto y esponjoso.

2.1.5 Propiedades mecánicas

En general, los valores de las propiedades mecánicas del hueso a nivel macroestructural, como el módulo elástico y el módulo de corte, varían de un hueso a otro, así como entre regiones distintas de un mismo hueso [1]. Las propiedades mecánicas tanto del hueso cortical como del trabecular (ver Tabla 2.1) dependen de la porosidad, la arquitectura, el nivel de mineralización, la organización y los componentes de la matriz sólida [4]. Por lo regular, hay una variación mayor en las propiedades mecánicas del hueso trabecular que en las del cortical. En el hueso trabecular, las propiedades mecánicas varían alrededor de la periferia y a lo largo de un mismo hueso, así como entre huesos distintos en un factor de 2 a 5. Las diferencias entre las propiedades mecánicas de distintos huesos enteros se deben a la variación en su estructura y su función mecánica [1]. El hueso cortical es más denso y, por tanto, tiene una resistencia mecánica mayor que el hueso trabecular (ver Tabla 2.1). La porosidad es un parámetro importante para predecir la resistencia mecánica y la densidad del hueso cortical. La densidad es una función de la porosidad y la mineralización del hueso, por lo que es un indicador del módulo elástico [4]. Las propiedades mecánicas y la densidad son menores en el hueso lesionado, en comparación con el hueso sano.

Tabla 2.1 Propiedades mecánicas y densidad relativa de hueso humano sano.
(Tomado de [3])

Propiedad	Hueso trabecular	Hueso cortical (longitudinal)	Hueso cortical (transversal)
Densidad relativa	0.05-0.7	0.7-1.8	
Elongación (%)	5-7	1-3	
Módulo elástico (GPa)	0.1-0.5	17-30	7-13
Resistencia a la tracción (MPa)	2-20	130-150	50-60

2.1.6 Regeneración ósea

Como todo tejido vivo, el hueso puede cambiar de tamaño, forma, posición y propiedades mediante el proceso de regeneración, con la finalidad de responder de la mejor manera ante el esfuerzo ocasionado por la actividad física y las condiciones de carga. El proceso de regeneración ósea involucra tres tipos de células óseas: los osteoblastos (células encargadas de sintetizar al hueso), los osteocitos (células encargadas de dar mantenimiento al hueso) y los osteoclastos (células encargadas de degradar al hueso). Los osteoclastos son activados por factores de crecimiento, citocinas y las proteínas encargadas de degradar al hueso viejo. Los osteoblastos son activados por factores de crecimiento secretados por los osteoclastos y/o los osteocitos, para depositar minerales que contengan calcio. Finalmente, los osteocitos regulan la formación del nuevo hueso al modular la diferenciación de los osteoblastos a células que depositan calcio [2].

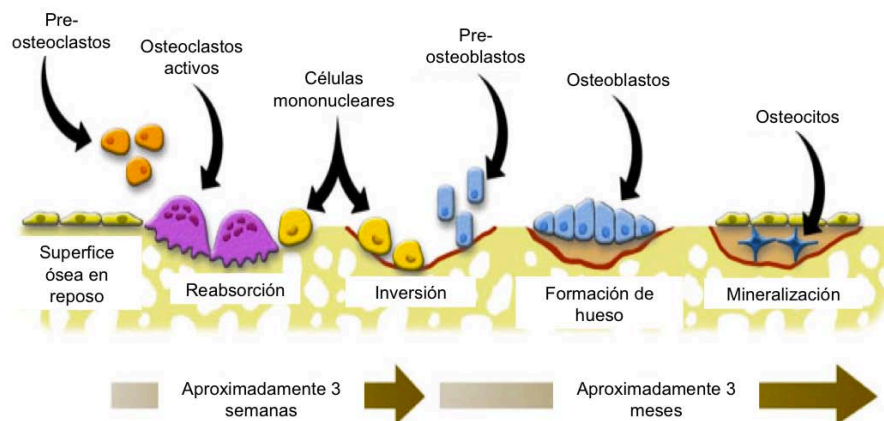


Figura 2.4 Proceso de regeneración ósea.

2.1.7 Problemas de salud

De acuerdo al Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, el padecimiento óseo más común es la osteoporosis, la cual se caracteriza por una masa baja y un deterioro de la estructura del hueso. Al tener una masa baja, los huesos se vuelven débiles y, por tanto, susceptibles a fracturarse o romperse. Otras enfermedades óseas, como la enfermedad

de Paget y la osteogénesis imperfecta, también provocan fracturas frecuentes [5]. De acuerdo a la División Técnica de Información Estadística en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), la reducción de fracturas (abiertas, cerradas y las que requirieron fijación interna) fue la tercera intervención quirúrgica más común en México en el 2004, con un total de 37,715 cirugías para toda la población, y fue la más recurrente en hombres, con 23,020 cirugías [6].

2.1.8 Desventajas de los sustitutos óseos actuales

Actualmente, algunas de las terapias que se utilizan para reparar fracturas y otros defectos óseos son: autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos, implantes metálicos y cerámicos. Sin embargo, cada uno de estos sustitutos presenta sus propias limitaciones y problemáticas [7].

Un autoinjerto es el tejido óseo que se remueve de alguna parte del sistema óseo y que se transfiere a otra ubicación dentro del cuerpo del mismo individuo. Los autoinjertos han sido usados por muchos años para el reemplazo de huesos porque proveen células osteogénicas y factores osteoinductivos, los cuales son necesarios para la regeneración ósea. A pesar de que presentan un alto porcentaje de éxito, el número de casos en los que se puede emplear es limitado, debido a la escasez de autoinjerto que se puede obtener, la morbilidad del sitio donador, el dolor, la reabsorción del injerto y las complicaciones anatómicas y estructurales [8, 9].

Un aloinjerto es el hueso que se transplanta de un miembro de la misma especie a otro genéticamente no idéntico. Presenta propiedades mecánicas pobres, una reabsorción difícil, una capacidad osteogénica y un porcentaje de incorporación menores que el autoinjerto. Además, existe el riesgo de que transmita enfermedades y provoque respuesta inmune y/o infecciones en el cuerpo del receptor después del transplante [8, 9]. Un xenoinjerto es el tejido que se transplanta entre miembros de diferentes especies, y también tiene el riesgo de transmitir enfermedades y provocar respuesta inmune en el organismo receptor [7].

Los metales y los cerámicos han representado una alternativa a los injertos. Los metales y sus aleaciones, aunque proporcionan soporte mecánico inmediato en el sitio del defecto, exhiben una baja integración con el tejido óseo, ya que no presentan las características ni el comportamiento del hueso fisiológico. Asimismo, pueden fallar debido a infecciones, recubrimiento o encapsulamiento de tejido fibroso, corrosión por acción de los fluidos corporales e incompatibilidad entre las propiedades mecánicas del implante y el hueso, lo cual conduce a la necesidad de posteriores cirugías de revisión. A su vez, los cerámicos son frágiles y presentan una resistencia a la rotura baja, por lo que no se usan en posiciones que soporten esfuerzos de torsión, corte y doblado altos [8].

Los problemas clínicos que presentan las terapias mencionadas, demuestran que aún deben desarrollarse sustitutos óseos adecuados, que tengan propiedades, estructura y funciones similares a las del hueso fisiológico. El diseño de prótesis ortopédicas de nuevo cuño, con una mejor eficiencia clínica y mayores tiempos de vida, es una tarea en la que hoy en día trabajan investigadores del área de biomateriales e ingeniería de tejidos.

2.2 Ingeniería de tejidos óseos

2.2.1 Generalidades

La ingeniería de tejidos ha surgido como un área de investigación interdisciplinaria que promete nuevas perspectivas para el tratamiento de diversos problemas de salud, al restaurar, mantener o mejorar la función de los tejidos u órganos dañados. A diferencia de la estrategia clásica de los biomateriales, que consiste en implantar nuevas partes o sustitutos, la ingeniería de tejidos se basa en inducir la formación de nuevos tejidos funcionales. Para tal fin, se construye un sustituto del tejido—llamado andamio tisular—que promueva la regeneración y la reparación del tejido dañado, al combinar células vivientes y/o moléculas biológicamente activas con matrices biodegradables [7-9].

2.2.2 Andamios para la regeneración de tejido óseo

Los andamios ideales funcionan como una matriz tridimensional temporal, sobre la cual las células se adhieren, diferencian, crecen y proliferan, con el consiguiente crecimiento de tejido óseo. El andamio comienza a degradarse desde el momento en el que se implanta, y el tejido también empieza a regenerarse desde entonces. El andamio se habrá degradado por completo sólo hasta que el tejido se haya regenerado completamente y, por consiguiente, no queda dentro del organismo nada extraño a él. Para que un andamio sea apto para la ingeniería de tejidos, debe reunir varias propiedades [2, 8]. Primeramente, el andamio debe ser biocompatible, es decir, debe integrarse adecuadamente con el tejido sin causar ninguna respuesta inmune y debe promover la adhesión, diferenciación y proliferación celular. El andamio, también, tiene que ser biodegradable. La rapidez de degradación del andamio debe acoplarse adecuadamente a la rapidez de formación de nuevo tejido, de tal manera que al momento en el que la herida haya sido regenerada, el andamio se haya degradado. Es decir, el soporte físico que provee el andamio debe mantenerse hasta que el nuevo tejido tenga la integridad mecánica suficiente para darse soporte a sí mismo. Posteriormente, debe tener propiedades mecánicas semejantes a las del hueso, que le permitan soportar presiones hidrostáticas y los esfuerzos fisiológicos cortantes, de compresión, tensión y torsión. Al mismo tiempo, debe reunir propiedades superficiales que permitan la adhesión celular y debe ser osteoinductivo, es decir, debe promover la llegada de células osteoprogenitoras al sitio de la herida y su correspondiente diferenciación [2]. Por último, el andamio debe tener una estructura tridimensional porosa interconectada. La porosidad debe ser mayor al 90% para favorecer la vascularización y la integración del tejido, así como la difusión de nutrientes y la eliminación de desechos metabólicos. A la vez, los poros deben ser de un tamaño adecuado, ya que si son demasiado pequeños, pueden ocluirse por las células, lo cual impide la vascularización del tejido y la penetración celular. Sin embargo, si los poros son demasiado grandes, las propiedades mecánicas del andamio se pueden ver afectadas [2].

2.3 Biomateriales empleados para la fabricación de andamios para la regeneración de tejido óseo

La selección de los materiales apropiados para fabricar un andamio tisular es importante, ya que las propiedades de los materiales constituyentes determinará, en gran medida, las propiedades del andamio resultante. Los biomateriales utilizados para sintetizar andamios para la ingeniería de tejidos óseos son producto del avance que se ha dado de los biomateriales de primera generación, que son biológicamente inertes, a los de segunda generación, que incluyen a los materiales bioactivos y a los biodegradables. La búsqueda de la optimización de los biomateriales de segunda generación ha llevado al desarrollo de los de tercera generación, en los que se combinan materiales bioactivos y biodegradables, haciendo biodegradables a los materiales bioactivos y viceversa. Los biomateriales de tercera generación engloban a los andamios compuestos polímero/cerámico, y buscan estimular respuestas celulares específicas a nivel molecular [10].

2.3.1 Polímeros biodegradables

Los polímeros biodegradables, presentes en los biomateriales de segunda generación, exhiben descomposición y reabsorción controlables. Los productos de degradación de estos polímeros deben ser no tóxicos y serán eliminados a través de vías metabólicas naturales. Los polímeros que experimentan ruptura hidrolítica tienden a tener una rapidez de degradación más predecible que aquéllos que son degradados por enzimas, ya que la actividad enzimática varía ampliamente entre distintos sitios tisulares y entre pacientes. En cambio, la disponibilidad de agua es prácticamente constante en todos los tejidos, tanto duros como blandos, y varía poco entre pacientes. Por otro lado, la rapidez de degradación disminuye conforme aumenta el peso molecular, y entre menor es la cristalinidad, mayor es la probabilidad de que penetren moléculas de agua a la estructura del polímero e inicien la hidrólisis de sus cadenas [2].

A diferencia de los biomateriales inertes (o de primera generación), que presentan problemas interfaciales, los polímeros biodegradables son reemplazados, a fin de cuentas, por el tejido regenerado y, por tanto, al final desaparece la interfase [10]. Las propiedades mecánicas de estos materiales dependen de su estructura química, cristalinidad, peso molecular y orientación molecular. La degradación de estos materiales conduce a una pérdida de propiedades mecánicas y a un aumento de la cristalinidad [2]. Se han utilizado polímeros biodegradables naturales y sintéticos para la fabricación de andamios para la regeneración de tejido óseo.

2.3.1.1 Polímeros biodegradables naturales

Los polímeros biodegradables naturales son aquéllos que se obtienen de fuentes naturales, ya sean animales o vegetales [8]. Estos polímeros son renovables, presentan toxicidad baja y costos de manufactura y eliminación bajos. Una ventaja importante es que promueven la adhesión, diferenciación y proliferación celular. Tienen propiedades mecánicas pobres y, en muchas ocasiones, son solubles en los fluidos corporales, se degradan rápidamente, o pierden sus propiedades biológicas durante su formulación. Además, provocan respuesta inmune y propician la transmisión de enfermedades, por lo que deben revisarse y, en caso de ser necesario, purificarse antes de emplearse como andamios tisulares [9, 11]. Algunos de los polímeros naturales empleados en ingeniería de tejidos son proteínas como son la colágena y la fibronectina, polisacáridos como son el quitosano, el ácido hialurónico y el almidón, y poliésteres microbianos como son los polihidroxicanoatos (ver Figura 2.5) [8, 9, 11].

La colágena, al mantener información biológica y determinadas propiedades fisicoquímicas, se emplea en la elaboración de andamios tisulares para imitar la función de la matriz extracelular en la regeneración de tejido. Su biodegradabilidad, antigenicidad baja y adherencia celular alta, hacen de la colágena un polímero atractivo para aplicaciones de ingeniería de tejidos (ver Figura 2.5). Presenta una alta rapidez de degradación, lo cual conduce a una disminución rápida de las propiedades mecánicas [9].

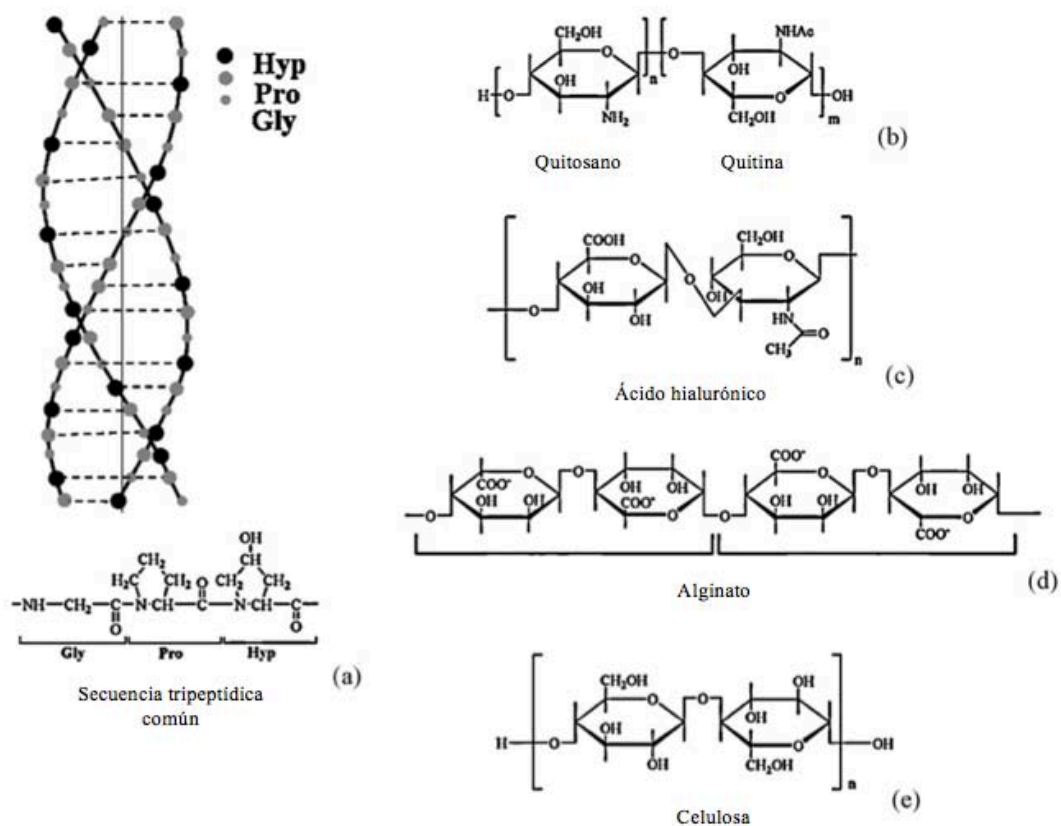


Figura 2.5 a) Estructura de triple cadena de la colágena y estructura química de la secuencia tripeptídica más comúnmente encontrada en la colágena, compuesta de glicina, prolina e hidroxiprolina, **b)** Estructura química representativa del quitosano, **c)** Estructura química del ácido hialurónico, **d)** Porción representativa del alginato, **e)** Estructura química de la celulosa. (Tomada de [9])

2.3.1.2 Polímeros biodegradables sintéticos

Los polímeros biodegradables sintéticos poseen propiedades mecánicas, físicas y químicas predecibles y reproducibles. La composición química y la velocidad de degradación de estos polímeros pueden ajustarse con precisión de acuerdo a su aplicación, por ejemplo, al modificar la proporción de los polímeros que forman un copolímero. Asimismo, son altamente procesables a una gama amplia de formas y tamaños. Los riesgos de toxicidad, generación de respuesta inmune y transmisión de enfermedades son menores para los polímeros sintéticos puros. Carecen de las señales biológicas que promueven respuestas celulares deseadas, por lo que muchas veces no son capaces de integrarse con el tejido huésped [9, 11]. Algunos de los polímeros sintéticos

más empleados en ingeniería de tejidos son los poli(α -hidroxiácidos), como el ácido poliglicólico (PGA), el ácido poli-L-láctico (PLLA), el ácido poli-D-láctico (PDLA) y su copolímero, el ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA), el poli(butileno succinato) (PBSu), los policarbonatos, los polifosfacenos y la poli(ϵ -caprolactona) (PCL) [8, 9, 11].

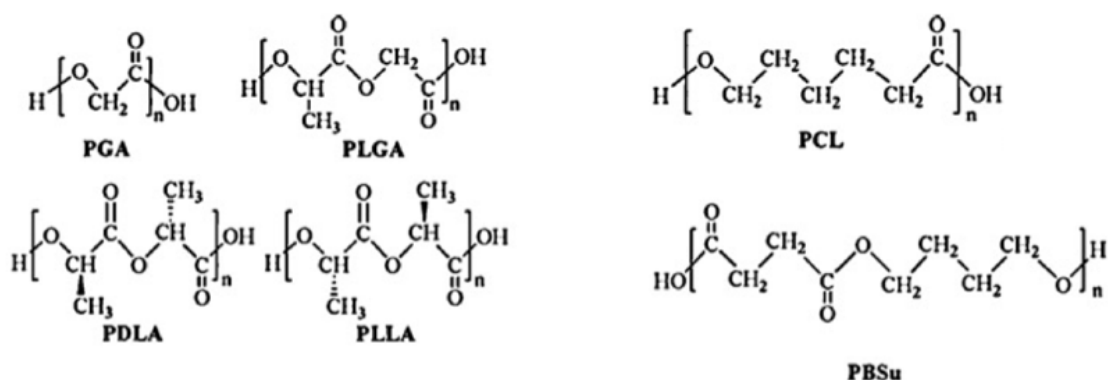


Figura 2.6 Estructuras químicas de algunos de los polímeros biodegradables utilizados en ingeniería de tejidos óseos. (Tomado de [9])

2.3.1.2.1 Poli(ϵ -caprolactona)

2.3.1.2.1.1 Propiedades de la Poli(ϵ -caprolactona)

La PCL es un poliéster alifático lineal, susceptible a sufrir hidrólisis autocatalizada. Debido a su naturaleza semicristalina, alta permeabilidad e hidrofobicidad, la degradación de la PCL es lenta. Los arreglos macromoleculares empaquetados retardan el ingreso de fluidos hacia el volumen interno. Su mecanismo de degradación consta de dos pasos: la ruptura hidrolítica aleatoria de los enlaces éster y la pérdida de masa a través de la difusión de oligómeros del volumen interno (ver Fig. 2.7). Se ha determinado que un sistema de PCL con un alto peso molecular ($M_N = 50,000$) requiere 3 años para eliminarse totalmente del organismo huésped. La copolimerización de la PCL con poli(α -hidroxiácidos) incrementa su rapidez de degradación y mejora su procesabilidad. A pesar de ello, las aplicaciones de estos copolímeros se ha visto limitada debido a sus propiedades mecánicas bajas [9, 25].

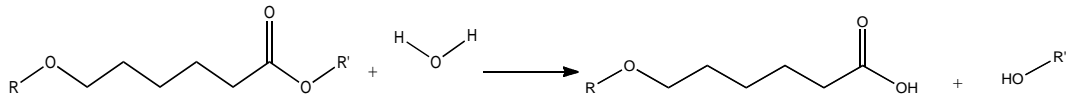


Figura 2.7 Reacción de degradación hidrolítica de la PCL.

2.3.1.2.1.2 Síntesis de la Poli(ϵ -caprolactona)

La ruta adecuada para sintetizar la PCL es la polimerización por apertura de anillo de la ϵ -caprolactona (ver Fig. 2.8). Para que esta reacción se lleve a cabo, se requiere de un iniciador o catalizador que induzca la apertura de anillo de la ϵ -caprolactona. Los catalizadores empleados para esta reacción son carboxilatos metálicos, alcóxidos metálicos y compuestos organometálicos de metales de transición, tales como son Mo, Fe, Zn, y Sn [36].

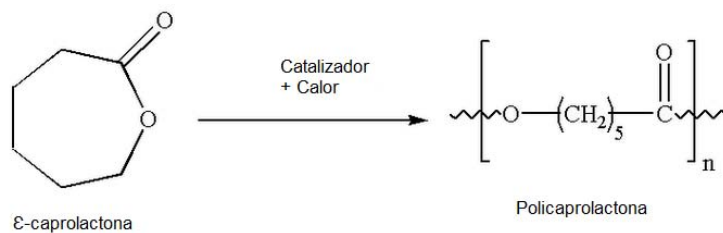


Figura 2.8 Síntesis de la PCL: Polimerización por apertura de anillo de la ϵ -caprolactona.

2.3.1.2.1.3 Aplicaciones biomédicas de la Poli(ϵ -caprolactona)

Debido a su cinética de degradación, la PCL es utilizada como material base para el desarrollo de implantes de largo plazo. Es el polímero sintético más investigado y, de hecho, tiene aprobación por la Food and Drug Administration (FDA) para uso en diversos dispositivos médicos. Los andamios de PCL muestran una buena interacción polímero-osteoblastos, es decir, los andamios de PCL promueven el crecimiento de los osteoblastos. En el área de regeneración ósea, la PCL se ha reforzado con fosfatos de calcio, HA sintética y vidrios bioactivos (ver Sección 2.4) para el tratamiento de fracturas intramedulares y reparación craneofacial, entre otros defectos óseos. Debido a que es altamente permeable, la PCL puede emplearse como sistema de entrega de fármacos y factores bioactivos [9, 25].

2.3.2 Cerámicas bioactivas

Larry Hench definió a un material bioactivo como aquél que produce una respuesta biológica específica en la interfase del material, la cual resulta en la formación de un enlace entre el tejido huésped y el material [12]. La resistencia del enlace formado entre el material y el hueso es generalmente equivalente o mayor a la resistencia del hueso huésped. Los materiales bioactivos incluyen a los vidrios bioactivos, como el Bioglass 45S5, los vitrocerámicos bioactivos, los fosfatos de calcio y la HA sintética. Para aplicaciones biomédicas, estos materiales se presentan en diversos formatos: polvo, piezas porosas, piezas densas, mezclas inyectables y recubrimientos [17].

El nivel de bioactividad de un material bioactivo puede definirse como la rapidez con la que se desarrolla el enlace interfacial entre el material y el tejido huésped. De esta manera, Hench también ha definido el índice de bioactividad (I_B) mediante la siguiente ecuación:

$$I_B = \frac{100}{t_{0.5bb}} \dots\dots\dots(2.1)$$

en donde $t_{0.5bb}$ es el tiempo requerido para que más del 50% de la interfase del material bioactivo se haya enlazado al hueso [12].

De acuerdo al valor de su índice de bioactividad, los materiales bioactivos se clasifican en dos grupos: los de clase A u osteoprodutivos ($I_B > 8$), los cuales se unen tanto a tejido blando como duro, y los de clase B u osteoconductivos ($0 < I_B < 8$), los cuales solamente se unen a tejido duro [12, 18]. La HA sintética es un ejemplo de material bioactivo clase B, mientras que el Bioglass 45S5 es un ejemplo de material bioactivo clase A (ver Tabla 2.2). Los resultados de las pruebas *in vivo* e *in vitro* han demostrado que la única característica en común entre todos los materiales bioactivos es que, a partir

de una fase amorfa de fosfato de calcio, se forma una capa biológicamente activa de hidroxiapatita carbonatada (HCA) en la superficie del material [12].

Tabla 2.2 Valores de I_B para varios cerámicos bioactivos. (Tomado de [14])

Cerámico bioactivo	I_B
Bioglass 45S5 [®]	12.5
Ceravital [®]	5.6
Bioglass 55S4.3	3.7
HA sintética	3.1

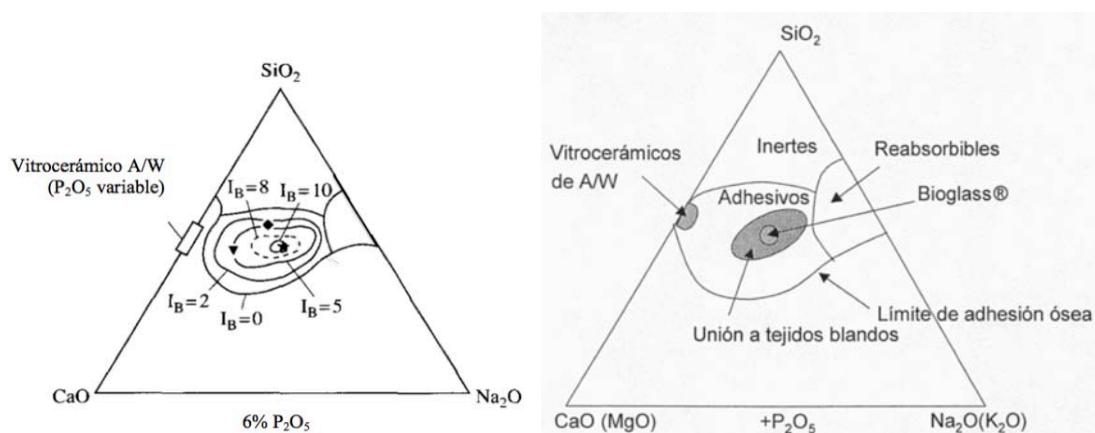


Figura 2.9 Diagramas de fase ternarios Na₂O-CaO-SiO₂ que muestran la dependencia composicional (en %w/w) del enlazamiento de los cerámicos bioactivos a tejido duro y blando. (Adaptados de las Refs. [12] y [20], respectivamente)

Cuando el implante de un material bioactivo de clase A se inmoviliza en la interfase implante-tejido, las fibras de colágena del tejido blando se enlazan con la creciente capa de HCA. Cuando la fase amorfa de fosfato de calcio cristaliza en presencia de fibras de colágena, tanto *in vitro* como *in vivo*, la colágena se integra estructuralmente dentro los aglomerados de HCA, y viceversa [14].

Se dan dos tipos de interacciones entre el material bioactivo y el tejido: la interacción extracelular y la interacción intracelular. La interacción extracelular está determinada por las características superficiales del material, como la porosidad, y determina la adsorción de proteínas. A la vez, el grado de cristalinidad de la HCA formada sobre la superficie del material

bioactivo tiene un efecto sobre la diferenciación de las células troncales. Por otro lado, la interacción intracelular es originada por la liberación de silicio soluble de las superficies de los materiales con valores de I_B más altos [12]. Se ha determinado que entre mayor es la rapidez de disolución del cerámico, mayor es el efecto del crecimiento del tejido óseo [13, 18]. Esto probablemente se deba a que los materiales con una alta solubilidad inducen más rápidamente la precipitación de HCA sobre su superficie [13].

Solamente dos fosfatos de calcio son estables en medios acuosos: a pH menor a 4.2, la fase estable es $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (fosfato dicálcico), y a pH mayor a 4.3, la fase estable es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (HA). Por lo tanto, todas las fases de fosfato de calcio interaccionan con agua o con los fluidos corporales a 37 °C para formar HA. Los dos fosfatos de calcio más ampliamente usados para aplicaciones clínicas son el β -fosfato tricálcico (β -TCP) y la HA sintética [12, 13, 18]. El β -TCP es reabsorbible, forma HA con los fluidos corporales y, finalmente, es sustituido con tejido natural. Sin embargo, los implantes de este cerámico se disuelven por degradación de frontera de grano, y los granos liberados pueden causar problemas metabólicos debido a su tamaño [12].

La HA sintética es muy diferente a la HA del hueso, tanto en composición como en estructura. La HA biológica es deficiente en calcio, está sustituida con carbonato, es no-estequiométrica, contiene colágena, otros materiales orgánicos (ver sección 2.1.2) y cantidades traza de metales como Mg, Na, K, Sr, Pb y Ba [12, 17]. Estructuralmente, la HA biológica tiende a crecer preferencialmente a lo largo de ciertas direcciones, mientras que la HA sintética es mucho más isotrópica [12]. Otras limitaciones de la HA sintética son su baja capacidad de reabsorción y su limitada osteoconductividad. Al comparar la HA sintética con otros fosfatos de calcio, se ha determinado que la HA es la que se disuelve y precipita más lentamente, además de que la HA que se precipita sobre su superficie no es una biológicamente equivalente, sino un precursor con una relación Ca/P menor a 1.67 [13]. Algunas de las estrategias empleadas para aumentar el I_B de la HA sintética son: la incorporación de entidades biológicas, la impurificación con cantidades de

hasta el 20% en mol de elementos encontrados en el hueso fisiológico, y la preparación de HA sustituida con silicio [18].

Un ejemplo importante de vitrocerámico bioactivo es la apatita/wollastonita (A/W), la cual es un ensamblaje de pequeñas partículas de apatita reforzadas con wollastonita, embebidas en una matriz vítrea. Su composición es: 28% w/w de β -wollastonita ($\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$), 34% w/w de oxifluoroapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{O},\text{F})_2$) y 28% w/w de matriz vítrea (17% w/w de MgO, 24% w/w de CaO, y 59% w/w de SiO_2) [18].

La rapidez de las reacciones superficiales está determinada por la composición del material en cuestión. Los vidrios bioactivos contienen SiO_2 , Na_2O , CaO y P_2O_5 en proporciones específicas, reuniendo tres características clave de composición que los distinguen de los vidrios sódico-cálcicos tradicionales: tienen menos del 60% en mol de SiO_2 , un alto contenido de Na_2O y CaO, y una relación alta de $\text{CaO}:\text{P}_2\text{O}_5$. Los vidrios bioactivos presentan una estructura amorfa, en la cual los átomos de silicio forman la red mediante tetraedros de SiO_4 . Básicamente, un contenido menor de sílice representa una red de sílice menos interconectada, la cual es más susceptible a disolverse y en la cual, por tanto, la formación de la capa de HCA se da más rápidamente [19]. De hecho, los vidrios con un contenido de SiO_2 igual o mayor al 60% en mol no forman una capa de HCA a las 4 semanas y, por tanto, no se consideran bioactivos. Por otro lado, los materiales que presentan una suficiente repolimerización de SiO_2 , se enlazan al hueso aún sin CaO o P_2O_5 , debido a que un pH interfacial básico y SiO_2 repolimerizante *in vivo* bastan para acumular CaO y P_2O_5 de los fluidos corporales y nuclear y crecer la capa de HCA [14]. Otro factor que determina la rapidez con la que cristaliza la capa biológicamente activa de HCA es el grado de cristalinidad del cerámico bioactivo. Peitl Filho *et al.*, emplearon espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) para determinar la rapidez de formación de HCA en muestras de Bioglass 45S5 de diferentes grados de cristalinidad, en presencia de fluidos corporales simulados (SBF). Concluyeron que, a pesar de que los vitrocerámicos con una fase cristalina del 8 al 100% mantienen su bioactividad en SBF, las muestras con una fase

cristalina de menos del 60% formaron HCA en un menor tiempo. Además, demostraron que las muestras con una cristalinidad igual o menor al 36% forman capas de HCA de mayor grosor [15].

La mineralización del hueso involucra un aumento en la concentración de silicio en el frente de mineralización. Es decir, debe haber una concentración crítica de silicio para formar hueso. Esto se debe a que el silicio juega tanto un rol metabólico, en el tejido conectivo a nivel celular, como uno estructural, al combinarse con la sustancia basal ósea (ver Sección 2.1.2.1) [14, 21]. Por ello, la hidrólisis y la condensación de SiO_2 y la mineralización de HCA sobre las superficies de vidrios y vitrocerámicos bioactivos duplica la reparación y el crecimiento naturales del hueso. En el caso de la HA sintética, no hay silicio. Sin embargo, durante el periodo de incubación previo al enlazamiento de los implantes de HA sintética, se concentra silicio biológico en la interface de pH alcalino, lo cual produce una superficie similar a la de los vidrios bioactivos antes de la conversión *in vivo* de los fosfatos de calcio amorfos a HCA cristalina [14].

En los vidrios bioactivos, las adiciones de fluoruro promueven la formación de la capa de HCA y reducen la rapidez de disolución de la red del vidrio. Las sustituciones con MgO , K_2O y B_2O_3 tienen poco efecto en el enlazamiento con el hueso. No obstante, las adiciones de Al_2O_3 , Ta_2O_5 , TiO_2 , Sb_2O_3 y ZrO_2 inhiben el enlazamiento con el hueso y reducen el valor de I_B de los cerámicos bioactivos, debido al aumento en la resistencia a las reacciones superficiales de intercambio iónico y a la precipitación de los iones multivalentes como óxidos, hidróxidos o carbonatos [12]. Además, el osteoide y el condroide persisten en presencia de estos iones multivalentes, lo cual indica la presencia de sustancias que impiden la mineralización del hueso, o bien, la ausencia de aquéllas que la promueven. Se ha demostrado que una adición de tan sólo el 3% de Al_2O_3 al Bioglass 45S5 destruye el enlazamiento al hueso [14].

Comparados con el hueso, los cerámicos bioactivos tienen un módulo elástico mayor y una resistencia a la flexión y a la fractura menores. Debido a

esta compatibilidad biomecánica baja, estos materiales se emplean en situaciones de carga baja o nula, como son la restauración y el aumento de huesos, el relleno de defectos pequeños y la reparación del oído medio. En tales aplicaciones, se aprovecha la bioactividad del material y se minimizan los requerimientos mecánicos [12, 17]. Entre los cerámicos bioactivos, el vitrocerámico A/W presenta los valores más altos de módulo elástico y de resistencias a la flexión y a la fractura. Por ello, se emplea en aplicaciones que requieren carga mayor, como en los reemplazos de vértebras y crestas ilíacas [18].

2.3.2.1 Bioglass 45S5®

2.3.2.1.1 Composición química del Bioglass 45S5®

El Bioglass 45S5 fue inventado por Larry Hench en 1969, en la Universidad de Florida [19]. La composición de este vidrio bioactivo está dada en la Tabla 2.3. La composición fue seleccionada por Hench con el objetivo de proveer una cantidad grande de CaO con algo de P₂O₅ en una matriz de Na₂O-SiO₂. Además, la composición es cercana a un eutéctico ternario en el diagrama de fase ternario Na₂O-CaO-SiO₂ (ver Figura 2.9), lo cual hace que la mezcla sea fácil de fundir [20]. Después de 40 años de investigación, no se ha encontrado una composición de vidrio bioactivo con mejores propiedades biológicas que las de la composición original del Bioglass 45S5 [19].

Tabla 2.3 Composición química del Bioglass 45S5

Compuesto	Porcentaje (% w/w)
SiO ₂	45.0
Na ₂ O	24.5
CaO	24.5
P ₂ O ₅	6.0

El Na₂O abate el punto de fusión de la mezcla, creando dos moles de oxígeno no-enlazante por cada por ciento en mol de Na₂O añadido, y también aumenta la solubilidad del vidrio [14, 19]. La adición de CaO aumenta la

reducción del punto de fusión de la mezcla, pero solamente forma un mol de oxígeno no-enlazante por cada mol de CaO agregado [14]. La formación de oxígenos no-enlazantes rompe la red polimerizada de tetraedros de SiO_4 , en donde cada oxígeno es compartido entre dos tetraedros, lo cual debilita la estructura vítrea. De hecho, Rajendran *et al.*, demostraron que una adición mayor al 45% w/w de SiO_2 disminuye la dureza, la densidad y el módulo elástico debido a la formación de oxígenos no-enlazantes [16].

2.3.2.1.2 Estructura química del Bioglass 45S5®

El Bioglass 45S5, al ser un vidrio, presenta una estructura amorfa, en la cual los átomos de silicio forman la red mediante tetraedros de SiO_4 , en los cuales los átomos de oxígeno actúan como puentes enlazantes entre los átomos de Si. Los átomos de Ca y Na actúan como modificadores de red, interponiéndose en el enlazamiento puente de los oxígenos y volviendo amorfa la estructura del vidrio [19].

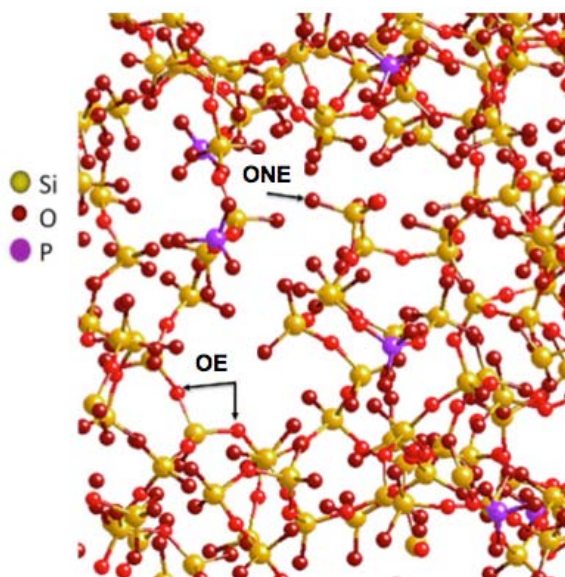
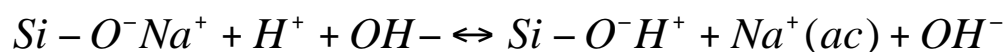


Figura 2.10 Sección de un modelo de Bioglass 45S5, sin los iones Na y Ca para mayor claridad. ONE = oxígeno no-enlazante, OE = oxígeno enlazante (Adaptado de [19])

2.3.2.1.3 Mecanismo de bioactividad del Bioglass 45S5®

La reactividad superficial del Bioglass 45S5 ha sido estudiada extensivamente. Las reacciones superficiales que se desarrollan en la interfase vidrio-tejido se resumen en la Tabla 2.4. Los pasos del 1 al 5 ocurren en secuencia. La primera reacción, el intercambio catiónico, ocurre rápidamente, al cabo de unos cuantos minutos de exposición a los fluidos corporales [21]:



Los iones Ca^{2+} se intercambian por H^+ más lentamente, en comparación con los iones Na^+ . El intercambio catiónico aumenta la concentración de iones hidroxilo en la solución, y un pH interfacial básico conduce al ataque de la red vítrea y a la formación de grupos silanol [14]:

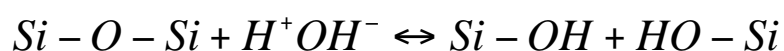


Tabla 2.4 Reacciones superficiales del Bioglass 45S5, en orden cronológico.
(Tomado de [21])

Etapa	Reacción o evento
0	Superficie inicial del vidrio
1	Intercambio iónico sodio-hidrógeno
2-3	Disolución y repolimerización de la superficie de sílice
4	Precipitación de fosfato de calcio amorfo
5	Nucleación y cristalización de fosfato de calcio a HCA
6	Adsorción de entidades biológicas (proteínas, etc.)
7	Acción de macrófagos
8	Adhesión de células troncales
9	Diferenciación de células troncales
10	Acoplamiento de células
11	Cristalización de la matriz

La superficie repolimerizada de SiO_2 funge como una barrera efectiva hacia el intercambio catiónico porque tiene un contenido de SiO_2 mayor que el volumen interno del vidrio. Migran a la superficie grupos Ca^{2+} y PO_4^{3-} , desde el volumen interno del material y también desde los fluidos corporales, formando una película rica en $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ amorfo sobre la capa rica en SiO_2 . Debido al pH alcalino en la interfase vidrio-solución, se incorporan iones OH^- y CO_3^{2-} de la solución, provocando que los grupos CaO y P_2O_5 cristalicen en una fase de HCA. La cristalización de la HCA ocurre rápidamente: en una hora, un implante de Bioglass 45S5 forma una capa de HCA de alrededor de 500 nm de grosor [14] y puede alcanzar un grosor de hasta 100 μm [21].

Los cristales de HCA nuclean y, al ser química y estructuralmente casi idénticos a los de HA fisiológica, se enlazan a constituyentes biológicos, tales

como son las glicoproteínas, los mucopolisacáridos y la colágena. El proceso de incorporación de metabolitos ocurre rápidamente y dentro de la unión de la creciente capa de HCA y la capa rica en SiO₂. Otra de las razones por las que la adición de iones multivalentes, tales como son Al³⁺, Ta⁵⁺, Ti⁴⁺, Sb³⁺ y Zr⁴⁺, reduce el valor de I_B del Bioglass 45S5, es que éstos inhiben la liberación de calcio y silicio solubles, los cuales controlan la concentración y función de las glicoproteínas. Tales iones multivalentes acomplejan a estos adsorbatos metabólicos, desactivándolos, y alteran las propiedades de transporte de las membranas celulares, previniendo la formación de constituyentes requeridos para la mineralización del hueso [14].

Xynos *et al.*, investigaron el efecto de los productos iónicos del Bioglass 45S5 en el perfil de expresión génica de los osteoblastos humanos, mediante el análisis de chips de ADN. Sus estudios demostraron que los productos iónicos de la disolución del Bioglass 45S5 estimulan un patrón de expresión génica reproducible y específico, al inducir un conjunto de genes relacionados a la función de los osteoblastos. Los genes inducidos juegan roles conocidos en los procesos de metabolismo y proliferación de osteoblastos, homeostasis ósea, remodelado de la matriz extracelular, y la promoción de uniones célula-célula y célula-matriz [23].

2.3.2.1.4 Métodos de síntesis del Bioglass 45S5[®]

Existen dos métodos para sintetizar el Bioglass 45S5: el método tradicional de fundición y el método sol-gel. En el método de fundición, se mezclan los componentes del vidrio y se funden en un crisol de platino (Pt), a temperaturas por arriba de los 1300 °C. Una vez terminado el proceso de fundición, se lleva a cabo el enfriamiento brusco (*quenching* en inglés) del material, ya sea sobre moldes de Al o grafito, para obtener placas monolíticas, o sobre un baño de agua, para obtener polvos.

El método sol-gel es una ruta sintética en la cual se mezclan los precursores (alcóxidos, nitratos, fosfatos) para formar una solución acuosa, bajo condiciones de catálisis ácida o básica. En esta solución, llamada *sol*,

ocurren reacciones de hidrólisis y condensación (polimerización) a temperatura ambiente para formar una red tridimensional de nanopartículas, unidas por enlaces Si-O-Si, llamada *gel*. El gel obtenido es húmedo, debido al exceso de agua de los reactivos y al agua y el etanol formados durante las reacciones de condensación. El gel se trata térmicamente para envejecerlo, secarlo y eliminar subproductos, y así obtener el vidrio [19]. Dependiendo del pH con el que se trabaje durante el proceso, se obtienen polvos nanoporosos, fibras, espumas, andamios porosos, recubrimientos, piezas monolíticas o nanopartículas [19, 20]. El tamaño de los poros depende de los precursores utilizados, la composición del vidrio, y del pH del proceso [19].

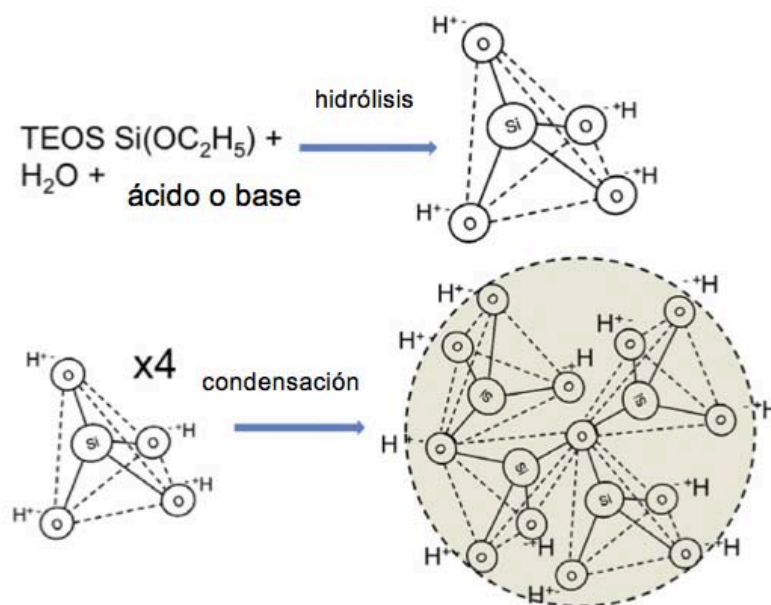


Figura 2.11 Esquema de reacciones en el proceso sol-gel: formación de tetraedros de sílice y nanopartículas, a temperatura ambiente. (Tomado de [19])

El Bioglass 45S5 sintetizado por el método sol-gel tiene, sobre la superficie, una mayor fracción volumen de nanoporosidad, una área superficial mayor por dos órdenes de magnitud y, en la superficie, una mayor concentración de grupos silanol y de anillos metaestables de siloxano de tres y cuatro miembros [12]. También se ha demostrado que el límite de contenido de SiO_2 a partir del cual los vidrios bioactivos obtenidos por sol-gel pierden su bioactividad es de 90% en mol, a diferencia de aquéllos sintetizados por fundición, cuyo límite es de 60% en mol [22]. Por consiguiente, la bioactividad

de los biovidrios obtenidos por sol-gel puede controlarse al regular su actividad química superficial y la rapidez de liberación de grupos solubles silanol, así como al ampliar las composiciones bioactivas. El Bioglass 45S5 obtenido por fundición es denso y permite obtener piezas monolíticas libres de grietas, a diferencia del método sol-gel, en el que se producen grietas durante el secado [19].

2.3.2.1.5 Aplicaciones biomédicas del Bioglass 45S5®

El Bioglass 45S5 ha sido usado en más de 1 millón de pacientes, para reparar defectos óseos en la mandíbula y en ortopedia [19]. Al ser material bioactivo de clase A y unirse tanto a tejido blando como duro, el Bioglass 45S5 se puede emplear en aplicaciones maxilofaciales. Otra manifestación importante de la respuesta combinada de tejido blando y duro a los implantes de Bioglass 45S5 se da en su uso para tratar defectos periodontales. Se ha determinado que la reparación de defectos periodontales con Bioglass 45S5 es más rápida y completa, en comparación con los implantes de HA sintética y TCP [14]. Un considerable número de estudios *in vivo* han demostrado que el Bioglass 45S5 regenera hueso más efectivamente que los cerámicos bioactivos más exitosos comercialmente.

El primer producto clínico del Bioglass 45S5 se empleó en 1984 para restaurar el sentido auditivo de una paciente previamente sorda, al reemplazar sus huesos del oído medio. A partir de ese caso, se empezaron a hacer moldes individuales para cada paciente y, posteriormente, se estandarizaron tres conos de diferentes tamaños, por la compañía Doueck-MED™. El segundo dispositivo comercial del Bioglass 45S5 fue el ERMI®, el cual era un cono que reparaba las raíces dentales y servía de soporte para las dentaduras postizas. Sin embargo, ninguno de estos productos tuvo un amplio uso clínico, debido a que el Bioglass 45S5 monolítico debía ser cortado de acuerdo a la forma específica del defecto del paciente, es decir, los implantes debían ser hechos a la medida. Debido a esto, los productos clínicos a base de Bioglass 45S5 más exitosos comercialmente son aquellos basados en partículas, en lugar de piezas monolíticas [19].

El primer producto particulado a base de Bioglass 45S5 fue el PerioGlas[®], el cual salió a la venta en 1993. El PerioGlas tiene un intervalo de tamaño de partícula de 97 a 710 μm , y se utiliza para reparar defectos en la mandíbula que provengan de enfermedades periodontales. Debido al éxito del PerioGlas en regeneración dental, otro producto particulado, llamado NovaBone[®], salió a la venta en 1999. Con el mismo intervalo de tamaño de partícula que el PerioGlas, el NovaBone usualmente se mezcla con sangre y se emplea para la regeneración ortopédica de hueso en sitios que no requieren soporte de carga. Posteriormente, Biogran[®] salió al mercado, con un intervalo de tamaño de partícula de 300 a 360 μm , usado para reparar defectos óseos en la mandíbula. Hasta la fecha, su mayor éxito comercial ha sido en forma de partículas de 18 μm como agente reparador en pastas dentales para tratar la hipersensibilidad dental, llamado NovaMin[®], el cual salió a la venta en 2004 [19, 20].

El Bioglass 45S5 se ha aplicado como recubrimiento de implantes metálicos para mejorar la estabilidad de éstos, al enlazarlos al hueso. No obstante, estas aplicaciones son limitadas debido a que el Bioglass 45S5 se degrada con el tiempo debido a su alta bioactividad, su coeficiente de dilatación lineal (α) no coincide con el de los metales empleados para los implantes y, además, cristaliza con el sinterizado, el cual es necesario para sintetizar recubrimientos efectivos. Se han investigado vidrios bioactivos con sustituciones de MgO y K₂O con la finalidad de ajustar el coeficiente de dilatación lineal para la fabricación de recubrimientos [19].

2.3.2.2 Estado del arte en vidrios bioactivos

Se ha buscado sintetizar andamios porosos a partir de vidrios bioactivos obtenidos por fundición, lo cual solamente se logra obteniendo primero las partículas del vidrio y sinterizándolas después. Sin embargo, la ventana de sinterización (la diferencia en temperatura entre la T_g, o temperatura de transición vítrea, y la T_c, o temperatura de cristalización) es pequeña para vidrios como el Bioglass 45S5, por lo que éste no puede ser sinterizado sin que ocurra su cristalización. La ventana de sinterización puede ampliarse al

introducir modificadores de la red, como K_2O , MgO y B_2O_3 , y así elevar la energía de activación de la cristalización. Hasta ahora, se han desarrollado dos composiciones de vidrios que pueden ser sinterizados sin cristalizar y que, al mismo tiempo, mantienen su bioactividad: la composición 13-93 (54.6 %mol de SiO_2 , 6 %mol de NaO , 22.1 %mol de CaO , 1.7 %mol de P_2O_5 , 7.9 %mol de K_2O , y 7.7 %mol de MgO), que es menos bioactiva que el Bioglass 45S5, y la composición ICIE16 (49.46 %mol de SiO_2 , 6.6 %mol de NaO , 36.27 %mol de CaO , 1.07 %mol de P_2O_5 , y 6.6 %mol de K_2O) [19].

También se sintetizan andamios de vidrios bioactivos obtenidos por sol-gel, incluyendo al Bioglass 45S5, al agregar un paso de espumado. Se agregan HF y un surfactante al sol, el cual es espumado por agitación. El sol, una vez espumado, se vierte en un molde antes de transformarse en gel. Se obtiene un material con macroporos interconectados y textura nanoporosa, cuya morfología depende principalmente de la concentración de surfactante añadido. Para producir un vitrocerámico, la espuma se sinteriza a $1000\text{ }^\circ\text{C}$ [19].

La morfología de los poros de los andamios se puede controlar más eficientemente mediante técnicas de producción de objetos a partir de modelos de cómputo en 3D. Recientemente, se han sintetizado andamios de vidrios bioactivos mediante un proceso de impresión en 3D llamado moldeo por robot (*robocasting* en inglés). Los andamios obtenidos tienen 60% de porosidad, con poros de hasta más de $500\text{ }\mu\text{m}$, y alcanzan una resistencia a la compresión de más de 150 MPa , la cual se acerca a la del hueso cortical. Otros métodos utilizados recientemente, son la fabricación con extrusión por enfriamiento y el sinterizado selectivo con láser, los cuales también proporcionan andamios con altos valores de resistencia. A pesar de que estos andamios tienen una estructura porosa y una resistencia a la compresión parecidos a los del hueso fisiológico, siguen siendo frágiles y, por tanto, no son aptos para ser implantados en sitios que soportan cargas cíclicas. Se requieren andamios que tengan la bioactividad del Bioglass 45S5, pero que sean menos frágiles. La solución parece ser el desarrollo de andamios compuestos [19].

2.4 Andamios compuestos polímero/cerámico

La fabricación de andamios compuestos polímero/cerámico, biomateriales de tercera generación, no sólo tiene la finalidad de conferir bioactividad a los polímeros biodegradables y biodegradabilidad a los cerámicos bioactivos, sino que también busca aumentar el módulo elástico y la resistencia a la compresión de los polímeros. Es importante obtener un material compuesto que, además de ser biodegradable y bioactivo, presente propiedades mecánicas que coincidan con las del hueso fisiológico. Además, el hueso también es un material compuesto polímero/cerámico.

Bonfield *et al.*, fueron los primeros en desarrollar un andamio compuesto de este tipo, al fabricar un implante de polietileno reforzado con partículas de HA. Determinaron que conforme se aumentaba la fracción volumen de las partículas de HA, aumentaba el módulo elástico y disminuía la resistencia a la fractura. Por lo tanto, recalcaron que es importante encontrar un balance entre el módulo elástico y la resistencia a la fractura, para que coincidan las propiedades del biomaterial con las del hueso. Mediante pruebas in vivo en conejos adultos, corroboraron la nula citotoxicidad y la bioactividad del implante [24].

El grado de bioactividad de un andamio compuesto polímero/cerámico depende la fracción volumen, forma, tamaño y arreglo de las inclusiones cerámicas. Se ha demostrado que la bioactividad se ve favorecida con una mayor fracción volumen y una mayor relación área superficial/volumen para las inclusiones. Por otro lado, es importante que coincidan las cinéticas de degradación de ambos componentes, ya que, de lo contrario, el andamio puede volverse inestable y liberar partículas. Los poliésteres son una elección común para este tipo de andamios, debido a su cinética de degradación. La reducción de pH debido a la hidrólisis de los grupos éster autocataliza la hidrólisis de los demás grupos. No obstante, la liberación de cationes que se da al emplear Bioglass 45S5 como fase de relleno, tiene un efecto buffer

sobre el pH, reduciendo la rapidez de degradación hidrolítica del poliéster [2, 19, 25].

Por otro lado, las inclusiones de Bioglass 45S5 a una matriz de poliéster también tienen sus desventajas: aumentan la hidrofiliidad de la fase polimérica, la cual regularmente es hidrofóbica. Esta alteración aumenta la adsorción de agua y, por consiguiente, inicia el hinchamiento y la degradación del polímero. De hecho, el agua también puede llegar a penetrar las zonas interfaciales. Es importante encontrar un balance entre los efectos de reducción de la rapidez de degradación y de aumento de la hidrofiliidad del polímero, así como dispersar homogéneamente las nanopartículas cerámicas en la matriz polimérica, con tal de disminuir al mínimo la liberación de partículas por parte del andamio [19, 25]. Para poder superar estas dificultades, es importante desarrollar andamios que se asemejen a la estructura del hueso fisiológico. Una de las alternativas es la síntesis de materiales híbridos orgánico/inorgánicos mediante el método sol-gel, formándose, entre ambas fases, ya sean interacciones de Van der Waals o enlaces covalentes. Se han sintetizado materiales híbridos monolíticos y porosos de poli(alcohol vinílico) (PVA)/Bioglass 45S5, al incorporar el PVA en la síntesis sol-gel del vidrio. Sin embargo, el PVA no es biodegradable y, además, los puentes de hidrógeno que unen ambas fases son débiles, haciendo que los andamios no sean aptos para las condiciones fisiológicas [27]. También se han producido materiales híbridos de poli(sebacato de glicerol)/Bioglass 45S5, en los cuales los componentes están unidos entre sí mediante enlaces iónicos y covalentes. Se cree que el Bioglass 45S5 reacciona con los grupos carboxilo del ácido sebácico, pero la evidencia se basa solamente en análisis térmicos [19].

Además, varios estudios *in vitro* señalan que el tamaño de partícula nanométrico es el parámetro más importante para aumentar la citocompatibilidad y la adhesión celular de los cerámicos [2, 9]. Se han comparado andamios de PCL/vidrio bioactivo nanométrico obtenido por sol-gel con andamios PCL/vidrio bioactivo micrométrico, determinando que los andamios con inclusiones de vidrio nanométrico mostraron propiedades

mecánicas y biológicas más altas que las del vidrio micrométrico. Los resultados de este estudio demostraron los beneficios de usar inclusiones de alta relación área superficial/volumen [27].

2.4.1 Técnicas de fabricación de andamios de tercera generación para la regeneración de tejido óseo

El aprovechamiento de las ventajas de los materiales compuestos nanoestructurados para aplicaciones ortopédicas se ha visto restringido debido a la limitación en las técnicas de fabricación. Se deben considerar los volúmenes de producción relativamente bajos y los costos para la selección adecuada del proceso de manufactura. En la Tabla 2.5, se enlistan las técnicas existentes de fabricación para andamios compuestos nanoestructurados, junto con sus ventajas y desventajas.

La separación de fases inducida térmicamente (ver Tabla 2.5) consiste en disolver el polímero en dimetilcarbonato y agregar determinada cantidad del cerámico en polvo. Posteriormente, la solución se enfría bruscamente en nitrógeno líquido, antes de ser almacenada a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Finalmente, el disolvente es sublimado y el material restante es secado. Por esta técnica, se han obtenido andamios de ácido poli-DL-láctico (PDLLA)/Bioglass 45S5, con 40% w/w de Bioglass 45S5, los cuales presentan una alta bioactividad, una porosidad de aproximadamente 97% y una cinética de degradación más lenta que la del PDLLA puro [19, 25]. También se han producido andamios de PLLA con 10, 20 y 30% w/w de nanopartículas de vidrio bioactivo $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ (55:40:5 %mol) obtenidas por sol-gel, empleando dioxano como disolvente para el PLLA. Se corroboró que las inclusiones de vidrio bioactivo aumentaban la ingesta de agua de la matriz de PLLA [28].

La disolución de colada (ver Tabla 2.5) consiste en producir una suspensión del polímero en un disolvente orgánico, a la cual se le agregan las partículas del cerámico. La suspensión es colada en un molde predefinido, y el disolvente se elimina por evaporación. También pueden emplearse sales, como NaCl, llamadas porógenos, cuyos cristales son lixiviados después de

evaporar el disolvente, mediante inmersión en agua, para formar una estructura porosa. De esta manera, el tamaño de los poros es controlado por el tamaño de las partículas de la sal empleada y la porosidad es controlada al modificar la proporción porógeno/material compuesto de matriz polimérica (ver Tabla 2.5). Ha habido poca producción de andamios compuestos polímero/cerámico usando esta técnica, debido a sus desventajas (ver Tabla 2.5). No obstante, se han fabricado andamios con inclusiones de TCP [2, 25].

Tabla 2.5 Técnicas de fabricación de andamios compuestos (Adaptado de Refs. [2] y [25])

Técnica de fabricación	Ventajas	Desventajas
Separación de fases inducida térmicamente	<ul style="list-style-type: none"> -Alta porosidad (~95%) -Alta interconectividad de poros -Posibilidad de obtención de poros tubulares y anisotrópicos -Estructura y tamaño de poros controlables 	<ul style="list-style-type: none"> -Largo tiempo de sublimación de disolvente (48 horas) -Problemas de encogimiento -Producción a escala pequeña -Uso de disolventes orgánicos
Disolución de colada/Lixiviación de partículas	<ul style="list-style-type: none"> -Porosidad controlable -Tamaño de poros controlable -Fácil y de bajo costo 	<ul style="list-style-type: none"> -Estructuras isotrópicas -Partículas del porógeno pueden quedar atrapadas y afectar la interconectividad de poros -Uso de disolventes orgánicos y su posible retención dentro del polímero -Limitación en las formas obtenidas
Moldeo por fusión (“Solid free-form fabrication”)	<ul style="list-style-type: none"> -Personalización de estructura porosa de acuerdo al tejido huésped -Posibilidad de encapsulación de proteínas y células -Buena interfase con escaneo médico 	<ul style="list-style-type: none"> -Uso de disolventes orgánicos -Baja resolución a microescala
Sinterizado de microesferas	<ul style="list-style-type: none"> -Obtención de estructuras porosas graduadas -Porosidad controlable -Obtención de formas complejas 	<ul style="list-style-type: none"> -Mala interconectividad de poros -Uso de disolventes orgánicos
Recubrimiento de andamios	<ul style="list-style-type: none"> -Fácil y rápido 	<ul style="list-style-type: none"> -Obstrucción de poros -Uso de disolventes orgánicos -Adhesión del recubrimiento al sustrato puede llegar a ser demasiado débil

En la técnica de moldeo por fusión (*solid free-form fabrication* en inglés) (ver Tabla 2.5), se usan datos digitales producidos por una fuente de escaneo, ya sea de una tomografía o de una resonancia magnética, para diseñar con precisión la estructura del andamio. Esta ruta de fabricación puede combinarse con la técnica de separación de fases o con la de lixiviación de partículas, para producir andamios con estructuras micro y macroporosas. Mediante la técnica de moldeo por fusión, se han fabricado andamios compuestos de PLLA/TCP con porosidades de hasta el 90% y propiedades mecánicas semejantes a las del hueso esponjoso [25].

En el sinterizado de microesferas (ver Tabla 2.5), primeramente se sintetizan microesferas compuestas polímero/cerámico mediante la técnica de emulsión/evaporación de disolvente. Al sinterizar las microesferas compuestas, se obtiene un andamio poroso. Mediante esta ruta, se han obtenido andamios de PLGA/Bioglass 45S5, los cuales presentan una porosidad de 40% y propiedades mecánicas similares a las del hueso trabecular. Se demostró que estos andamios son bioactivos y que el refuerzo con Bioglass 45S5 duplicó la resistencia a la compresión del copolímero [25].

Los andamios poliméricos recubiertos por cerámicos bioactivos (ver Tabla 2.5) han sido producidos como espumas, cuerpos fibrosos o mallas. Se han fabricado espumas macroporosas de PDLLA recubiertas con Bioglass 45S5, por inmersión de las muestras de PDLLA en una lechada de 42% w/w de Bioglass 45S5, la cual fue producida con agua desionizada. Los recubrimientos obtenidos fueron estables, uniformes y reproducibles en grosor y microestructura [26]. Las mallas pueden obtenerse por diferentes técnicas de hilado. Se han sintetizado andamios no-tejidos de PGA y PLLA mediante tecnología textil, los cuales no presentan estabilidad estructural suficiente y se deforman por acción de la carga que ejercen las células. Por ello, se ha recurrido al enlazado de fibras, con el cual se han obtenido mallas de fibras de PGA, y al electrohilado [2].

2.4.1.1 Electrohilado

La técnica de electrohilado permite generar fibras que van desde los 15 nm hasta los 10 μm , mediante la aplicación de una fuerza electrostática. Las fibras son colectadas en una malla no-tejida, con orientación aleatoria, caracterizada por una alta relación área superficial/volumen, en la que gran parte del volumen está en la forma de poros interconectados. Además, las fibras obtenidas tienen flexibilidad en funcionalidades superficiales y presentan propiedades mecánicas superiores que las fibras de diámetros mayores. Los elementos requeridos para el electrohilado son: una solución polimérica, una fuente de alto voltaje y un plato colector. Se han electrohilado fibras de cientos de polímeros naturales y sintéticos desde 1990 [29, 30].

Cuando una diferencia de potencial es aplicada entre la solución polimérica y el plato colector, se acumula carga en la solución. Tal carga es forzada hacia la superficie de la solución, formando una gota emergente en la punta de la aguja metálica (ver Fig. 2.12). La fuerza del campo eléctrico supera la fuerza de cohesión de la solución, la cual es dominada por la tensión superficial, y sale un chorro de solución de polimérica, cargado eléctricamente. Conforme el chorro se mueve hacia el plato colector, es elongado por interacciones electrostáticas entre segmentos cercanos del mismo chorro (ver Fig. 2.13). Al mismo tiempo, el disolvente se va evaporando y, finalmente, el chorro se solidifica en una fibra [29].

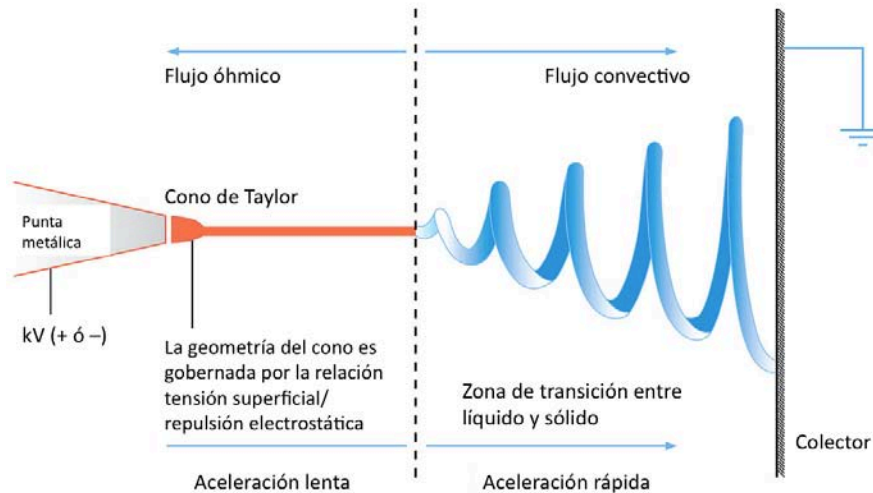


Figura 2.12 Diagrama que muestra la formación de fibras por electrohilado.

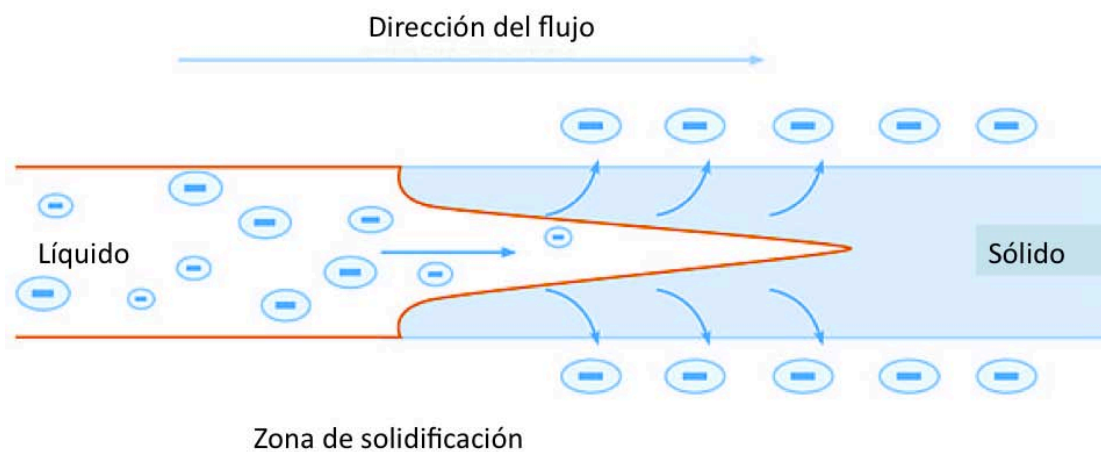


Figura 2.13 Cono de Taylor y cambios en la distribución de cargas en la fibra.

La morfología superficial de las fibras obtenidas por electrohilado depende de varios factores. Se pueden producir bulbos casi esféricos, dependiendo de la volatilidad del disolvente empleado. Si el chorro es colectado antes de que el disolvente se evapore totalmente, las fibras pueden aplanarse al impacto contra la superficie del plato colector, o bien adherirse a otras fibras previamente colectadas, fusionándose con ellas y formando una red conglomerada. También pueden llegar a observarse morfologías de “bulbo-sobre-cuerda”, las cuales pueden atribuirse a una interacción compleja entre la viscosidad de la solución, la densidad de carga y la tensión superficial. Se

ha informado la reducción de presencia de bulbos con la adición de un disolvente secundario que aumente la conducción a través de la solución polimérica [29].

Se ha informado la síntesis mediante electrohilado de una amplia variedad de andamios compuestos. Liao *et al.*, fabricaron membranas compuestas de PLLA/PCL/HA, utilizando $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (3:1) como mezcla de disolventes para el electrohilado, y una relación 1:1 de PLLA:PCL 1:1 en una disolución de HA al 10% w/w. Determinaron que la adición de partículas de HA aumentó la porosidad y la hidrofiliidad de las fibras electrohiladas, contribuyendo a una mejor degradación del andamio [31]. Kim *et al.*, produjeron fibras de PLA/HA, y establecieron que es esencial que el polvo del cerámico sea fino y se mantenga estable en suspensión con el polímero. Por lo tanto, emplearon ácido hidroxiestérico como surfactante para dispersar homogéneamente las nanopartículas de HA en el PLA, el cual estaba disuelto en CHCl_3 . Las partículas de HA se agregaron al 5% w/v, y se emplearon un flujo de 0.1 mL/h, un voltaje de 25 kV y una distancia aguja-plato colector de 15 cm. De esta manera, se lograron obtener fibras uniformes que mostraron alta adhesión y proliferación celular [32].

Yunos *et al.*, sintetizaron andamios de PDLLA/Bioglass 45S5, depositando las fibras electrohiladas de PDLLA sobre pastillas sinterizadas del Bioglass 45S5. Para obtener las fibras de PDLLA, utilizaron una disolución del 5% w/v en dimetilcarbonato, con un voltaje de 8.5 kV y un flujo de 5 $\mu\text{m}/\text{min}$. El andamio probó ser bioactivo, al formar una capa uniforme de HCA a los 14 días de inmersión en SBF [33]. Bretcanu *et al.*, también depositaron fibras de distintos polímeros sobre pastillas de Bioglass 45S5, optimizando los parámetros de electrohilado para cada uno de ellos. Después de obtener andamios con poli(3-hidroxiбутirato), poli(3-hidroxiбутirato-co-hidroxi valerato), y una mezcla de PCL/poli(óxido de etileno) (PEO), concluyeron que los 3 andamios eran altamente bioactivos, formando HCA a partir del día 7. Sin embargo, obtuvieron diferentes morfologías para cada andamio, así como diferencias en la rapidez de formación de HCA y en la estabilidad en SBF. El

único andamio que permaneció estable en SBF después de 14 días fue el de PCL/PEO [34].

Lee *et al.*, fabricaron una membrana compuesta de PCL/vidrio bioactivo $70\text{SiO}_2\text{-}25\text{CaO}\text{-}5\text{P}_2\text{O}_5$. El vidrio bioactivo fue sintetizado por el método sol-gel, y después fue electrohilado con un flujo 0.05 mL/min y un voltaje de 1.5 kV. Las fibras electrohiladas del vidrio fueron tratadas térmicamente a 700 °C durante 3 horas y, posteriormente, mezcladas con una disolución de PCL al 10% w/v en tetrahidrofurano, con una relación vidrio:PCL de 1:4 en peso. Una vez bien agitada, la mezcla se coló en un molde y el disolvente se evaporó, para obtener una membrana de aproximadamente 260 μm de grosor. Se identificó que el vidrio bioactivo se integró uniformemente a la matriz de PCL, aunque en forma de *whiskers*, es decir, las fibras se fragmentaron durante el proceso de mezclado. Por último, se confirmó que la membrana presenta una mayor bioactividad *in vitro* que una membrana de PCL pura [35].

CAPÍTULO 3

SECCIÓN EXPERIMENTAL

3.1 Materiales

3.1.1 Reactivos para síntesis y molienda ultrasónica del Bioglass 45S5®

Carbonato de sodio (Na_2CO_3) (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 99.0\%$), carbonato de calcio (CaCO_3) (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 99.0\%$), óxido de silicio (SiO_2) (Sigma-Aldrich, pureza del 99.0%) y pentóxido de fósforo (P_2O_5) (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 98.0\%$). Como disolvente para la molienda ultrasónica, se utilizó tolueno (C_7H_8) (Sigma-Aldrich, pureza del 99.8%). Todos los reactivos se usaron sin tratamiento previo.

3.1.2 Reactivos para proceso de electrohilado

Poli(ϵ -caprolactona) (PCL) (Sigma-Aldrich, M_n promedio entre 60,000 y 80,000). Como disolventes, se emplearon diclorometano (CH_2Cl_2) (DCM) (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 99.5\%$) y N,N-dimetilformamida ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$) (DMF) (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 99.0\%$). Todos los reactivos se utilizaron sin tratamiento previo.

3.1.3 Reactivos para mediciones de ángulo de contacto

Agua desionizada (resistividad = $18\text{M}\Omega\text{cm}^{-1}$), n-octano (C_8H_{18}) (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 99.0\%$) y yoduro de metileno (CH_2I_2) (Sigma-Aldrich, pureza del 99.0%).

3.2 Metodología experimental

3.2.1 Síntesis del Bioglass 45S5[®] por el método de fundición

Se pesaron cantidades estequiométricas de SiO₂, P₂O₅, CaCO₃ y Na₂CO₃ para preparar una muestra de 15 g y otras tres de 30 g de Bioglass 45S5[®], de acuerdo a la siguiente composición, en %w/w: 45% de SiO₂, 6% de P₂O₅, 24.5% de CaCO₃ y 24.5% Na₂CO₃. En cada muestra para fundir, los reactivos se mezclaron en un vaso de precipitados. Una vez obtenida la mezcla homogénea, ésta se transfiere a un crisol de platino (Pt).

Cabe resaltar que se utilizaron carbonatos de sodio y calcio porque los respectivos óxidos son inestables. Durante el proceso de fundición, se llevan a cabo las correspondientes reacciones de descarbonatación (ver Figura 3.1), las cuales dan como productos a las especies reactivas: los óxidos. La descarbonatación del Na₂CO₃ ocurre a 850 °C, mientras que la del CaCO₃ ocurre a 950 °C [37].

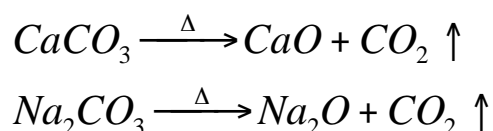


Figura 3.1 Reacciones de descarbonatación de los carbonatos de calcio y sodio.

Se programó una rampa de calentamiento en un horno CHESA, CE (ver Fig. 3.2) y se colocó el crisol con la mezcla a fundir. Una vez terminado el tiempo de la rampa de calentamiento, se retiró el crisol de Pt con la mezcla fundida. Se vertió todo el contenido del crisol sobre una placa de Cu. Una vez frío el biovidrio, se recolectaron los fragmentos.

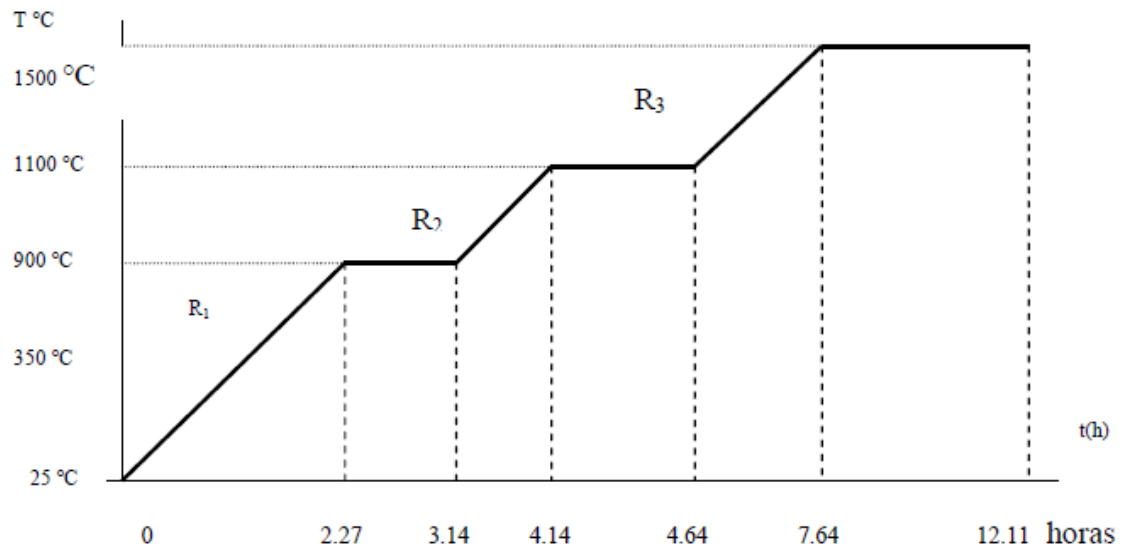


Figura 3.2 Rampa de calentamiento seguida durante la fundición del Bioglass 45S5.



a)



b)

Figura 3.3 a) Horno CHESA, CE empleado para la síntesis del Bioglass 45S5 por fundición.
b) Colada de Bioglass 45S5 recién sacada del horno, durante el proceso de *quenching* sobre la placa de cobre.

3.2.2 Molienda mecánica del Bioglass 45S5[®]

Se reunieron los fragmentos obtenidos de Bioglass 45S5[®] de las 4 muestras y se molieron en un molino de bolas Retsch PM100, empleándose balines de ZrO₂ de 6 y 10 mm de diámetro. La molienda se llevó a cabo a 500 RPM y durante un periodo de 1.5 horas. Las partículas de biovidrio obtenidas fueron, posteriormente, analizadas por microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de fuerza atómica (AFM) para determinar su diámetro promedio.

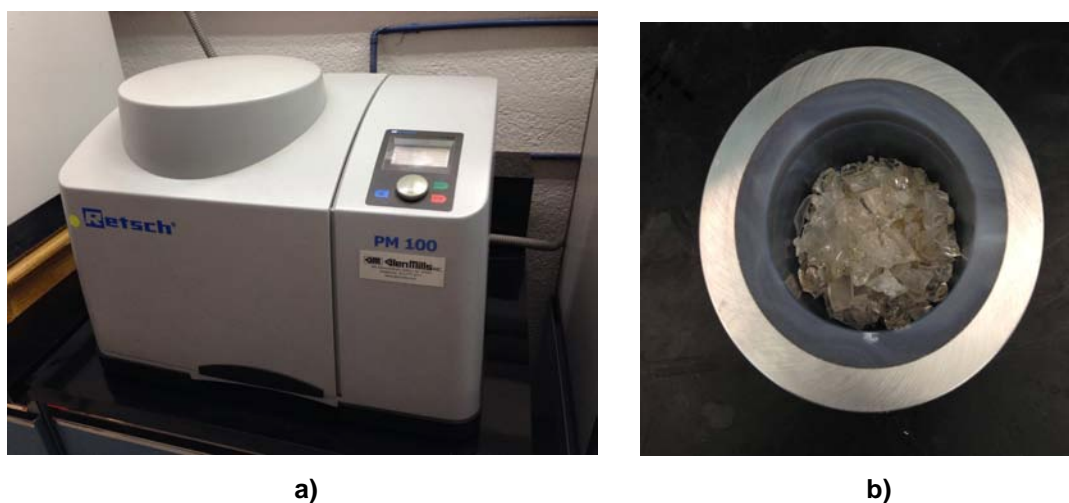


Figura 3.4 a) Molino de bolas Retsch PM 100 empleado para la molienda mecánica del Bioglass 45S5. **b)** Contenedor del molino con placas del Bioglass 45S5 antes de molerse.

3.2.3 Molienda ultrasónica del Bioglass 45S5[®]

Una vez comprobado que el diámetro promedio de las partículas de biovidrio fue del orden de algunas micras, se procedió a realizar una segunda molienda del biovidrio, esta vez para reducir el diámetro de partícula a valores no alcanzados con la molienda mecánica.

Para llevar a cabo la molienda del Bioglass 45S5[®] previamente obtenido, se utilizó un procesador de ultrasonido con sonda Sonics Vibra Cell 505. Se dispersó el biovidrio en 200 mL de tolueno, se colocó la sonda del procesador dentro de la suspensión y se tapó el recipiente. Se utilizó tolueno como disolvente, en lugar de agua, porque el agua induciría transformaciones

superficiales en el biovidrio, formándose una capa de HCA alrededor de cada una de sus partículas del mismo. Para evitar incrementos bruscos de temperatura, se empleó un baño de agua con hielo como sistema de refrigeración. La molienda se llevó a cabo considerando un 70% de amplitud de la máxima frecuencia (20 kHz) y durante un periodo de 1.5 horas, el cual se dividió en 3 ciclos de 30 minutos cada uno. Posteriormente, se dejó sedimentar el biovidrio y se decantó el tolueno. Finalmente, se secó el biovidrio en una mufla Thermolyne 48000, a 180 °C y durante 21 horas, para eliminar el tolueno residual.

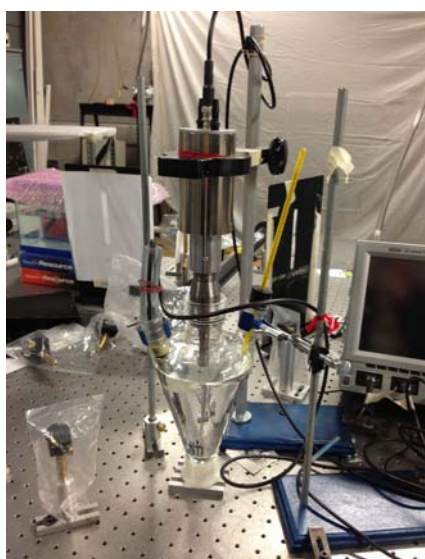


Figura 3.5 Sonda de ultrasonido empleada para la molienda ultrasónica del Bioglass 45S5.

3.2.4 Caracterización del Bioglass 45S5[®]

3.2.4.1 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (ATR-FTIR)

La espectroscopía de infrarrojo es un método usado para el estudio de las estructuras de diversos compuestos, a través de la identificación de sus grupos funcionales. Dicho análisis químico se fundamenta en la absorción de radiación infrarroja por las moléculas de la muestra analizada. La radiación infrarroja induce excitaciones vibracionales entre los átomos enlazados

covalentemente. Una molécula experimenta diversos tipos de vibraciones, las cuales son características de los átomos que la componen, y absorberá la radiación infrarroja correspondiente a la energía requerida para que ocurran las vibraciones. Debido a que cada enlace tiene sus propios requerimientos energéticos para que ocurran las vibraciones, se puede determinar su presencia de manera específica [38].

Para estos análisis, se tomó una muestra de biovidrio y se mezcló con KBr, para posteriormente hacer una pastilla al aplicar presión. Se empleó el espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 6700, con accesorio de reflectancia ATR Smart Orbit. Los espectros se obtuvieron en el intervalo de número de onda de $4000-400\text{ cm}^{-1}$.

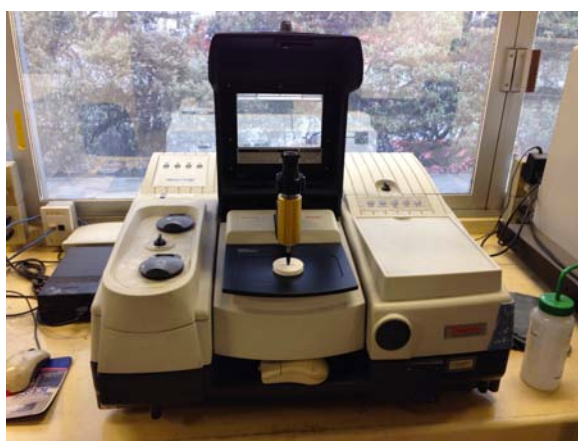


Figura 3.6 Espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 6700.

3.2.4.1.1 FTIR del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

El Bioglass 45S5 utilizado para el análisis fue el producto de la molienda mecánica. Este análisis se llevó a cabo para determinar si los grupos funcionales Si-O-Si, P-O y Si-O (oxígeno no enlazante) estaban presentes en el biovidrio.

3.2.4.1.2 FTIR del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica

El Bioglass 45S5 utilizado para el análisis fue el producto secado de la molienda ultrasónica. Este análisis se llevó a cabo para determinar si hubo formación de enlaces químicos entre la superficie del biovidrio y el tolueno durante la molienda ultrasónica.

3.2.4.2 Difracción de rayos X (DRX)

Los sólidos cristalinos consisten en arreglos regulares de átomos, iones o moléculas con espaciamientos interatómicos del orden de los 100 pm. Para que se dé la difracción, la longitud de onda del haz incidente tiene que ser del mismo orden de magnitud que los espaciamientos de la rejilla. Debido a la naturaleza periódica de su estructura interna, los cristales actúan como una rejilla de difracción tridimensional con los haces de longitud de onda apropiada [39].

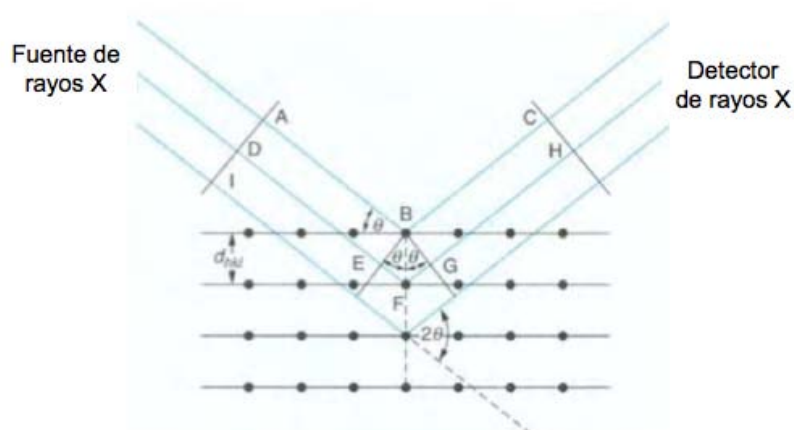


Figura 3.7 Reflexión de Bragg desde un conjunto de planos cristalográficos con espaciamiento d_{hkl} . (Tomado de [39])

Los rayos X son difractados cuando las condiciones satisfacen la ley de Bragg. En la Figura 3.7, se ilustran las condiciones de esta ley. El arreglo de puntos negros en el diagrama representa una sección a través de un cristal, y las líneas uniéndolos corresponden a un conjunto de planos paralelos

con índices de Miller hkl y una distancia interplanar d_{hkl} . Un haz ADI paralelo monocromático de rayos X incide sobre los planos con un ángulo θ_{hkl} . El haz A es dispersado por el átomo en B y el haz D es dispersado por el átomo en F. Para que los haces reflejados emerjan como un solo haz, deben reforzarse, o bien, llegar en fase el uno con el otro, lo cual se conoce como interferencia constructiva. Para que se dé la interferencia constructiva, la diferencia entre las trayectorias de los haces interferentes debe ser igual a un número íntegro n de longitudes de onda. Esta diferencia de longitudes de trayectoria está dada por (ver Fig. 3.7):

$$\Delta L = EF + FG \dots\dots\dots(3.1)$$

Asimismo, se tiene que:

$$EF = FG = d_{hkl} \text{sen} \theta_{hkl} \dots\dots\dots(3.2)$$

Por lo tanto:

$$\Delta L = 2d_{hkl} \text{sen} \theta_{hkl} \dots\dots\dots(3.3)$$

Si la longitud de onda de los rayos X es λ , y como esta diferencia de longitudes debe ser igual a un número íntegro n de λ , entonces:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \text{sen} \theta_{hkl} \dots\dots\dots(3.4)$$

La Ec. 3.4 es conocida como la ley de Bragg, la cual relaciona el espaciamiento entre los planos cristalográficos, d_{hkl} , con el ángulo particular de Bragg, θ_{hkl} , al cual se observan las reflexiones desde estos planos. El subíndice hkl se retira del ángulo de Bragg θ sin ambigüedad, debido a que el ángulo es único para cada conjunto de planos [39]. Para estos análisis, se

utilizó un difractómetro de rayos X de polvos Siemens D500 con lámpara de Cu, línea $k_{\alpha 1}$ y longitud de onda de 0.15406 nm. Las muestras no requirieron tratamiento previo.

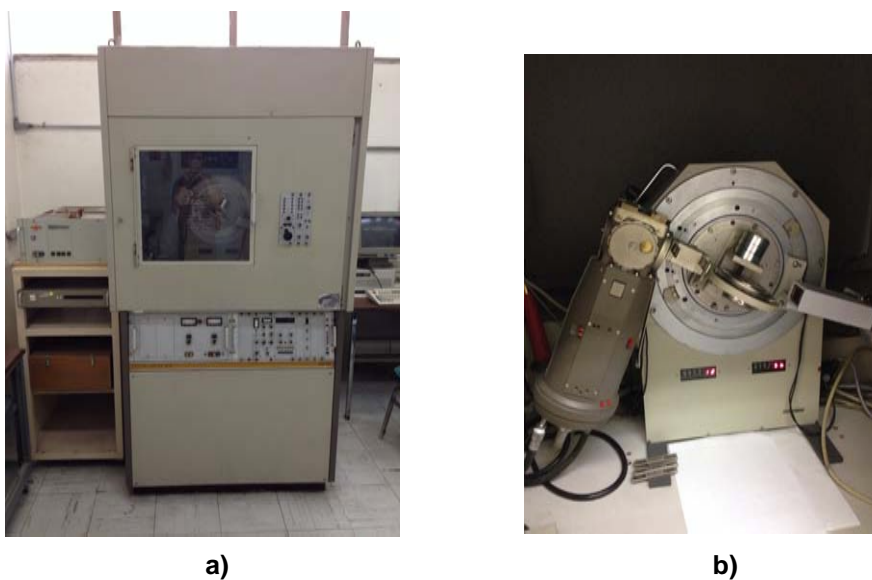


Figura 3.8 a) Difractómetro Siemens D500, y b) el interior del equipo

3.2.4.2.1 DRX del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

Este análisis se llevó a cabo para determinar el estado cristalino o amorfo de las fases presentes en el biovidrio y, en el caso de las fases cristalinas, identificar los compuestos que contienen dichas redes cristalinas.

3.2.4.2.2 DRX del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica

Este análisis se llevó a cabo en dos muestras del producto de la molienda ultrasónica: una del biovidrio antes de secar y la otra del biovidrio seco, para determinar si las fases presentes en el material se habían modificado debido al contacto con el tolueno durante la molienda ultrasónica.

3.2.4.3 Análisis termogravimétrico (TGA)

En el análisis termogravimétrico (de experimento dinámico), se registra, de manera continua, la masa de una muestra colocada en una atmósfera controlada, conforme se aumenta la temperatura. Se obtiene un termograma o curva de descomposición térmica, gráfico en el que se representa la masa, o porcentaje de masa, en función de la temperatura [40]. Esta técnica se empleó para estudiar la estabilidad térmica y los cambios de fase del biovidrio, así como la presencia de contaminantes y de agua en la superficie y los poros. La curva termogravimétrica se obtuvo mediante un analizador termogravimétrico de alta resolución TA Instruments TGA 2950. Las muestras se calentaron con una rapidez de calentamiento de 10 °C/min. Las mediciones se llevaron a cabo bajo atmósfera de nitrógeno.



Figura 3.9 Analizador termogravimétrico de alta resolución TGA 2950 de TA Instruments.

3.2.4.3.1 TGA del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

Se usó una muestra de 17.7210 mg, la cual fue calentada desde temperatura ambiente (aproximadamente de 25 °C) hasta los 800 °C.

3.2.4.3.2 TGA del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica

Se llevó a cabo el análisis en dos muestras del producto de la molienda ultrasónica: una del biovidrio antes de secar y otra del biovidrio seco. Se usó una muestra de 11.7000 mg del biovidrio antes de secar y una de 9.5580 mg

del biovidrio seco. Ambas muestras fueron calentadas desde temperatura ambiente (aproximadamente de 25 °C) hasta los 800 °C.

3.2.4.4 Análisis termomecánico (TMA)

El análisis termomecánico determina cambios dimensionales de una muestra en función de la temperatura y el tiempo, bajo una fuerza mecánica definida. Durante el calentamiento de la muestra, se aplica una fuerza constante. Generalmente, el análisis termomecánico se utiliza para caracterizar la expansión lineal, la temperatura de transición vítrea (T_g) y los puntos de reblandecimiento de los materiales [40]. Esta técnica se utilizó para determinar el coeficiente de dilatación lineal (α) (ver Ec. 3.2) del biovidrio. La curva termomecánica se obtuvo a través de un analizador termomecánico TA Instruments TMA 2940. Las muestras se calentaron con una rapidez de calentamiento de 10 °C/min. Las mediciones se llevaron a cabo bajo atmósfera de nitrógeno.

$$\alpha = \frac{1}{L_0} \frac{\Delta L}{\Delta T} \dots\dots\dots(3.5)$$

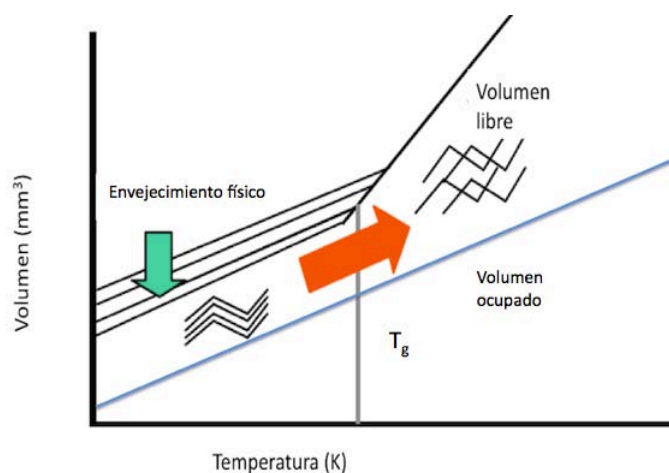


Figura 3.10 Representación esquemática de los cambios observados después de la temperatura de transición vítrea.



Figura 3.11 Analizador termomecánico TMA 2940 de TA Instruments.

3.2.4.4.1 TMA del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

Se usó una muestra de caras paralelas con un espesor de 0.5014 mm, la cual fue calentada desde temperatura ambiente (aproximadamente de 25 °C) hasta los 220 °C.

3.2.4.4.2 TMA del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica

Se llevó a cabo el análisis en dos muestras del producto de la molienda ultrasónica: una del biovidrio antes de secar y otra del biovidrio seco. Se usó una muestra de caras paralelas con un espesor de 0.7314 mm para el biovidrio antes de secar y una de 0.3684 mm para el biovidrio seco. Ambas muestras fueron calentadas desde temperatura ambiente (aproximadamente de 25 °C) hasta los 700 °C.

3.2.4.5 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La técnica de calorimetría diferencial de barrido registra la diferencia en el cambio de entalpía (ΔH) entre la muestra analizada y un material inerte de referencia, ya sea en función de la temperatura o del tiempo. La muestra y el material de referencia se colocan en dos crisoles idénticos, los cuales se calientan a través de resistencias independientes bajo un programa controlado de temperaturas. Cuando ocurre una transición térmica, es decir,

un cambio físico o químico que produce una liberación o absorción de calor, se adiciona energía térmica, ya sea a la muestra o al material de referencia, con la finalidad de mantener a ambos a la misma temperatura. Como la energía térmica es equivalente en magnitud a la energía absorbida o liberada durante la transición, el balance de energía proporciona una medición de la energía de la transición [40]. Esta técnica se empleó para determinar las temperaturas a las cuales se dan las transiciones significativas del biovidrio debido a cambios a nivel microscópico, como la temperatura de transición vítrea (T_g) (ver Fig. 3.10). Las mediciones se obtuvieron mediante un equipo de DSC modulado TA Instruments DSC 2910. Las muestras se calentaron con una rapidez de calentamiento de $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$. Las mediciones se llevaron a cabo bajo atmósfera de nitrógeno.

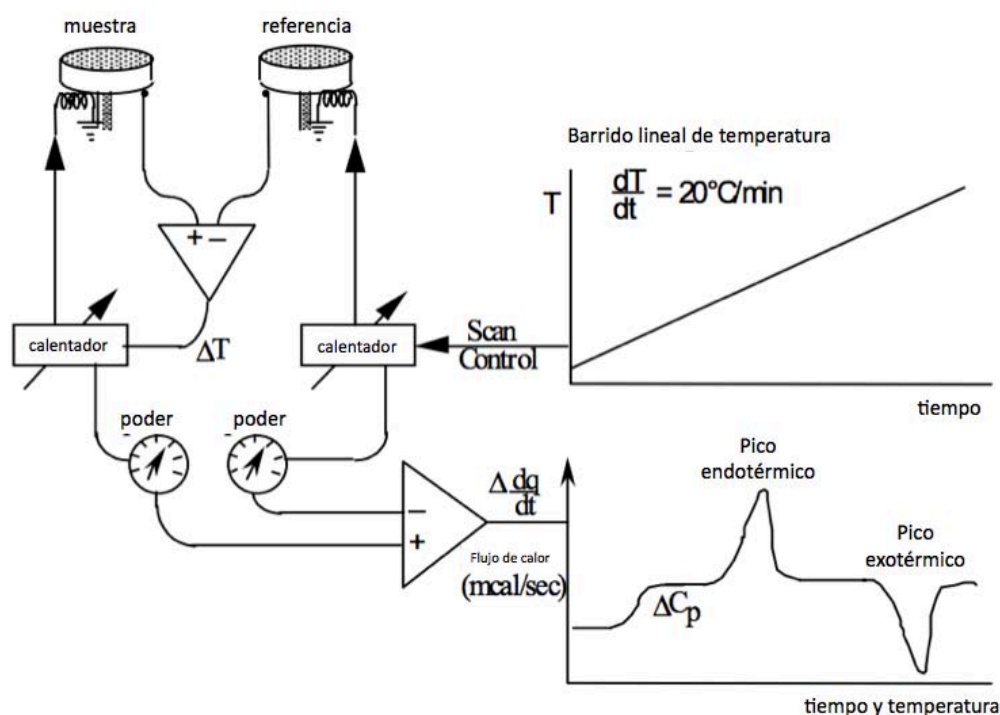


Figura 3.12 Esquema de un sistema de DSC. Los triángulos son amplificadores que determinan la diferencia entre las dos señales de entrada. El poder del calentador de la muestra es ajustado para que la muestra y la referencia se mantengan a la misma temperatura durante el barrido.



Figura 3.13 Equipo DSC 2910 de TA Instruments.

3.2.4.5.1 DSC del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

Se usó una muestra de 6.9400 mg, la cual fue calentada desde temperatura ambiente (aproximadamente de 25 °C) hasta los 600 °C.

3.2.4.5.2 DSC del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica

Se llevó a cabo el análisis en dos muestras del producto de la molienda ultrasónica: una del biovidrio antes de secar y otra del biovidrio seco. Se usó una muestra de 5.9500 mg del biovidrio antes de secar y una de 6.4800 mg del biovidrio seco. Ambas muestras fueron calentadas desde temperatura ambiente (aproximadamente de 25 °C) hasta los 350 °C.

3.2.4.6 Microscopía electrónica de transmisión (TEM) del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

En un microscopio electrónico de transmisión (TEM), la iluminación proviene de un haz de electrones emitido por un filamento de wolframio (W). Los electrones son acelerados por una diferencia de potencial aplicada, que va de 100 a 1000 kV, y son focalizados mediante dos lentes condensadoras sobre una muestra delgada, transparente a los electrones. Después de atravesar la muestra, los electrones son recolectados y focalizados por la lente objetivo dentro de una imagen intermedia ampliada. La imagen es ampliada aún más mediante las lentes proyectoras, y la imagen final es proyectada sobre una

pantalla fluorescente o una película fotográfica (ver Fig. 3.14 b) [40]. Esta técnica se utilizó para determinar el diámetro de partícula y el grado de cristalinidad del biovidrio. Las imágenes se obtuvieron con un microscopio JEOL JEM-1200EX.

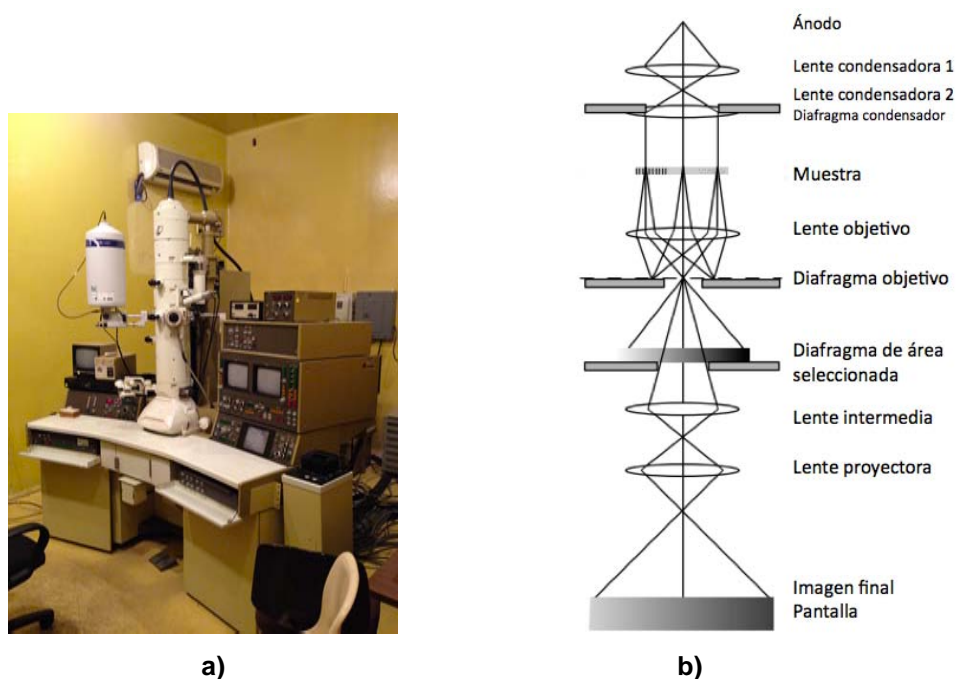


Figura 3.14 a) Microscopio JEOL JEM-1200 EX. b) Diagrama del haz para un microscopio de TEM en modo de imagen.

3.2.4.7 Microscopía de fuerza atómica (AFM) del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

En un microscopio de fuerza atómica, se registra continuamente la topografía, a nivel atómico, de una muestra, la cual es barrida con una punta afilada de forma piramidal o cónica. La sonda va acoplada a un *cantilever* o palanca microscópica flexible (ver Fig. 3.15 b). Esta técnica se empleó para estudiar la morfología de las partículas de biovidrio y el perfil de rugosidad de las pastillas estudiadas. Las imágenes se obtuvieron con un microscopio JEOL JSPM-4210.

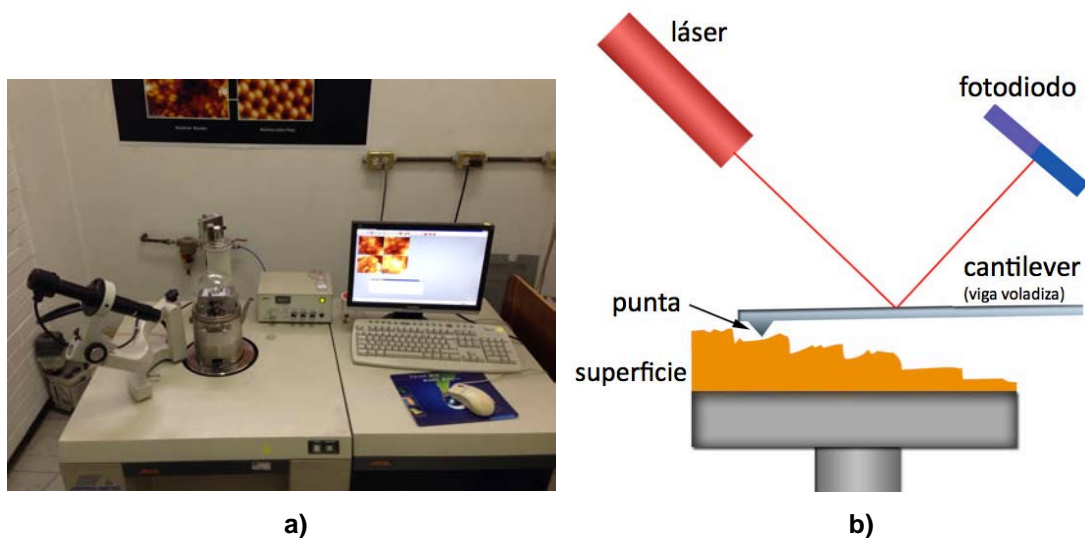


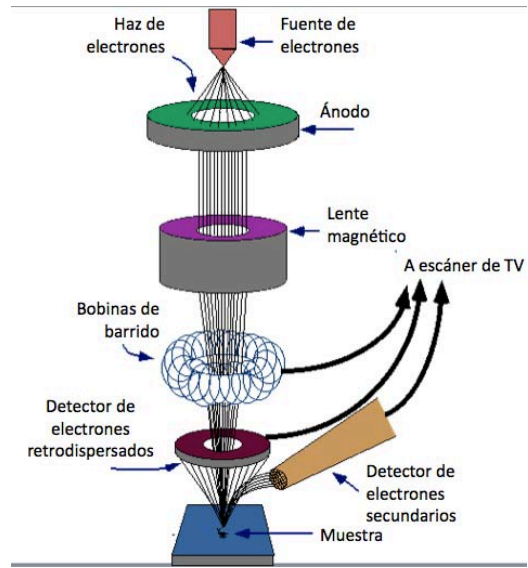
Figura 3.15 a) Microscopio JEOL JSPM-4210. b) Esquema del cantilever y la punta de un microscopio de AFM barriendo la superficie de una muestra.

3.2.4.8 Microscopía electrónica de barrido (SEM) del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica

En un microscopio electrónico de barrido, un haz de electrones se focaliza y rastrea la superficie de la muestra. A diferencia de la TEM, los electrones no atraviesan la muestra, sino que son absorbidos por la superficie de la misma. Esto produce una emisión secundaria de electrones, los cuales son capturados por un sistema integrador y transductor de imagen (ver Fig. 3.16 b). De esta forma, se observa la imagen en un monitor. Es necesario que las muestras sean conductoras, por lo que, en caso de no serlo, deben recubrirse con un metal, el cual generalmente es oro [40]. Esta técnica se utilizó para estudiar la morfología y el diámetro de las partículas del biovidrio seco. Las muestras no requirieron preparación previa. Las imágenes se obtuvieron con un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo térmico de alta resolución JEOL JSM-7600F.



a)



b)

Figura 3.16 a) Microscopio JEOL JSM-7600F. b) Esquema de un sistema de SEM.

3.2.5 Obtención de nanofibras de PCL mediante la técnica de electrohilado

3.2.5.1 Preparación de las disoluciones de PCL

Se prepararon disoluciones al 6 y 12% w/v de PCL, con un sistema de disolventes de DCM/DMF (DCM:DMF 4:1), en matraces aforados de 10.0 mL. Cada disolución se dejó en agitación durante por lo menos 24 horas.

3.2.5.2 Electrohilado de disoluciones de PCL

Se coloca la cantidad a inyectar de disolución de PCL en una jeringa de 5 mL, con una aguja de punta roma de calibre 21G (0.8 mm), y se eliminan las burbujas de aire. Posteriormente, se fija la jeringa en el inyector de la bomba New Era Pump Systems Inc. NE-1600, y se programa el flujo a emplear y el volumen deseado de disolución. Se coloca el colector de aluminio sobre su base y se fija a la distancia establecida. Después de esto, se conecta un electrodo a la aguja y el otro al colector, y se aplica la diferencia de potencial deseada, con una fuente Glassman High Voltage Inc. Serie EH. Una vez

realizado todo esto, se presiona el botón de inicio de bombeo, con lo que se empieza a electrohilar la disolución de PCL en DCM/DMF. Cuando el colector se haya recubierto con el andamio polimérico, se desprende la placa de la base y se almacena en una bolsa de plástico para su posterior caracterización.



Figura 3.17 Equipo de electrohilado.

3.2.5.3 Optimización de parámetros de electrohilado de PCL

Se propone un diseño de experimentos, el cual involucra cambios en varios parámetros: concentración de PCL, voltaje y distancia aguja-colector. A cada parámetro se le asignaron distintos valores y se llevaron a cabo diversas combinaciones, con la finalidad de encontrar las condiciones adecuadas para obtener fibras con diámetros homogéneos. El flujo se mantuvo constante a 0.5 mL/h. En la tabla 3.1, se muestran las condiciones que se emplearon para electrohilar las disoluciones de PCL. Se tomaron como punto de partida las condiciones empleadas por la M. en C. Selene Alcántara Barrera [41].

Tabla 3.1 Parámetros propuestos para electrohilado de PCL, con sus respectivas combinaciones.

Parámetro	Valores propuestos					
Concentración PCL (% p/V)	6			12		
Distancia aguja-colector (cm)	15	20	25	15	20	25
Voltaje (kV)	8	10	15	8	17	8

*Valores de voltaje (kV): 8, 9, 12, 15, 16, 17



Figura 3.18 Andamio de PCL obtenido sobre colector de aluminio.

3.2.6 Obtención de nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5[®]

3.2.6.1 Preparación de la disolución PCL/Bioglass 45S5[®]

Se preparó una disolución al 12% w/v de PCL, con una adición del 4% w/w del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, con respecto al contenido de PCL. Para ello, se mezclaron 1.2004 g de PCL y 48.1 mg de Bioglass 45S5 en un matraz aforado de 10.0 mL. Se llevó al aforo con una mezcla de disolventes DCM/DMF (DCM:DMF 4:1) y se dejó la mezcla en agitación durante 5 días. Además, justo antes de electrohilar la disolución, se agitó con ultrasonido durante 30 minutos.

3.2.6.2 Electrohilado de la disolución PCL/Bioglass 45S5®

Se obtuvieron 6 placas de electrohilado, para cada una de las cuales se siguió el mismo procedimiento que el descrito en la sección 3.2.5.2. Las condiciones empleadas para cada placa se encuentran en la tabla 3.2. El flujo se mantuvo constante a 0.5 mL/h.

Tabla 3.2 Parámetros para electrohilado de PCL/Bioglass 45S5.

Parámetros	Valores propuestos					
	1 ^a corrida	2 ^a corrida	3 ^a corrida	4 ^a corrida	5 ^a corrida	6 ^a corrida
Distancia (cm)	25	25	25	25	25	25
Voltaje (kV)	15	12	10	8	13	12

3.2.7 Caracterización de las nanofibras de PCL y de las nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5®

3.2.7.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Esta técnica se utilizó para estudiar la morfología y el diámetro de las fibras de los andamios. En el caso de los andamios compuestos, también se empleó esta técnica para verificar que las nanopartículas de Bioglass 45S5 se integraran como inclusiones dentro de las fibras, o bien, se adsorbieran sobre la superficie. Las muestras fueron previamente recubiertas en oro, para hacerlas eléctricamente conductoras. El recubrimiento se realizó al vacío en un aparato de *sputtering* de iones JEOL JFC-1100 (ver Fig. 3.19), con una corriente 30 mA y durante 3 minutos. Las imágenes se obtuvieron con un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo térmico de alta resolución JEOL JSM-7600F.



Figura 3.19 Aparato JEOL JFC-1100 para *sputtering* de iones.

3.2.7.2 Mediciones de ángulo de contacto

El ángulo de contacto es una medida de la humectabilidad de la superficie estudiada, es decir, de la capacidad de un líquido para extenderse sobre la superficie de un sólido. El ángulo de contacto permite comparar la atracción entre las moléculas que conforman a la gota con la atracción o repulsión que experimentan las moléculas de la gota hacia las moléculas superficiales del sólido. El ángulo de contacto se define como el ángulo entre la tangente a la superficie de la gota y la tangente a la superficie de la intersección vapor-líquido-sólido. Como medida matemática de la humectabilidad, se considera el ángulo de contacto, θ , que es el que forma el líquido con la superficie sólida (ver Fig. 3.20 a). Un ángulo de contacto grande (mayor a 90°) significa que la superficie es hidrofóbica y tiene una baja energía superficial, mientras que un ángulo de contacto pequeño (menor de 90°) indica que la superficie es hidrofílica y tiene una alta energía superficial (ver Fig. 3.20 b), siendo un ángulo de contacto de 0° referencia de un impregnado perfecto [41].

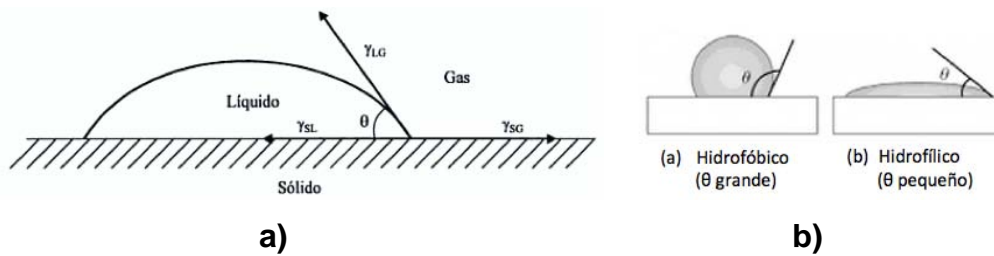


Figura 3.20 a) Definición de ángulo de contacto, **b)** Ángulos de contacto grandes y pequeños (Tomadas de [41])

Para cada medición, se cortó un cuadrado de 1 cm x 1 cm del andamio sobre aluminio. Cada tipo de andamio se analizó con 4 líquidos distintos: agua desionizada, diiodometano, n-octano y suero fetal bovino. Primeramente, se vertió una pequeña cantidad del líquido en un vial limpio, el cual posteriormente se colocó dentro de una cámara de aluminio con ventanas de cuarzo colocada sobre un riel óptico en el goniómetro modelo 100-07-00 de Ramé-Hart, Inc. Un par de minutos después de haber colocado el vial, alcanzadas las condiciones de presión de vapor en el equilibrio (utilizando el líquido de prueba), la muestra se colocó dentro de la cámara. Se tomó una pequeña cantidad del líquido con la microjeringa del goniómetro y ésta se colocó dentro del sostenedor correspondiente. Se aseguró de que el sustrato se mantuviera horizontal, para evitar errores en la geometría de la gota por efectos de la aceleración gravitacional. Se encendió la fuente de luz de alta intensidad Fiber-Lite A3200 de Dolan-Jenner Industries, Inc., la cual estaba acoplada al goniómetro. Una vez realizados estos ajustes, se procedió a grabar la imagen mediante el programa computacional Pinnacle Studio. Con la microjeringa, se colocó un volumen de gota de 8 μL sobre el andamio soportado dentro de la cámara del goniómetro. Se dejó correr la grabación hasta que se observara que la gota se hubiera extendido al menor ángulo de contacto posible para el líquido en cuestión. Una vez terminada la grabación, se retiró la muestra y se vació el vial, el cual se limpió con acetona y se llenó con el siguiente líquido a utilizar. El mismo procedimiento se utilizó para cada muestra.

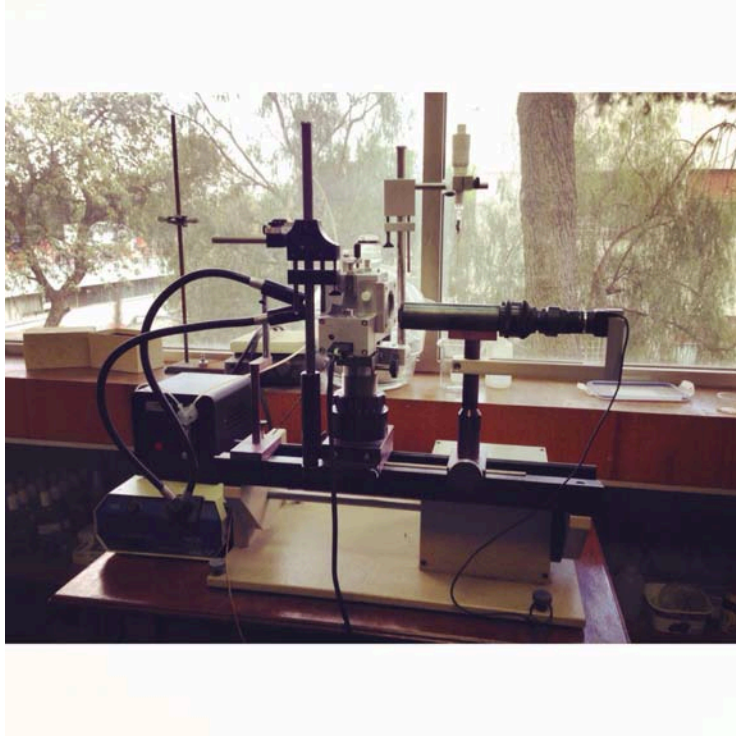


Figura 3.21 Goniómetro modelo 100-07-00 de Ramé-Hart, Inc., con la fuente de luz de alta intensidad Fiber-Lite A3200 de Dolan-Jenner Industries, Inc.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización del Bioglass 45S5[®]

4.1.1 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (ATR-FTIR)

4.1.1.1 FTIR del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

La Figura 4.1 muestra el espectro de FTIR del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica, en donde se aprecian las bandas características de este vidrio. Se observa una señal alrededor de los 1050 cm^{-1} , la cual se atribuye al estiramiento de los grupos PO_4 , y que traslapa con una señal de la región $1000\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$, que corresponde a la vibración asimétrica del Si-O-Si. El pico alrededor de los 460 cm^{-1} se adjudica al tijereteo del Si-O-Si, mientras que el de entre $900\text{-}920\text{ cm}^{-1}$ se debe al estiramiento del enlace Si-O (oxígeno no-enlazante). La señal de baja intensidad alrededor de los 780 cm^{-1} corresponde al enlazamiento tetraédrico de los grupos SiO_4 . Adicionalmente, el pico observado alrededor de los 1470 cm^{-1} probablemente se atribuya a los sitios terminales de Na^+ en la red vítrea [42, 43].

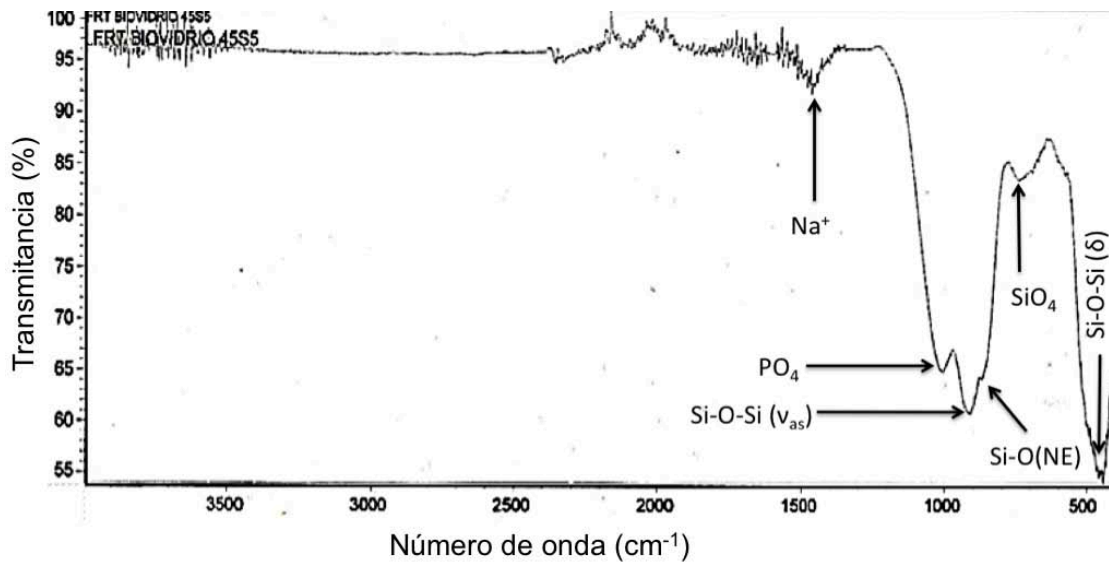


Figura 4.1 Espectro FTIR del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica. NE = no enlazante.

4.1.1.2 FTIR del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica

La Figura 4.2 muestra el espectro de FTIR del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, en el cual se observan bandas similares a las del espectro FTIR del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica. Se observa una señal alrededor de los 1050 cm^{-1} , la cual se atribuye al estiramiento de los grupos PO_4 , y que traslapa con una señal de la región $1000\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$, que corresponde a la vibración asimétrica del Si-O-Si. El pico alrededor de los 460 cm^{-1} se adjudica al tijereteo del Si-O-Si, mientras que el de entre $900\text{-}920\text{ cm}^{-1}$ se debe al estiramiento del enlace Si-O (oxígeno no-enlazante). La señal de baja intensidad alrededor de los 780 cm^{-1} corresponde al enlazamiento tetraédrico de los grupos SiO_4 . Adicionalmente, el pico observado alrededor de los 1470 cm^{-1} probablemente se atribuya a los sitios terminales de Na^+ en la red vítrea [42, 43]. Esto confirma que el biovidrio no presentó ninguna transformación química durante el proceso de molienda ultrasónica, es decir, no reaccionó con el tolueno.

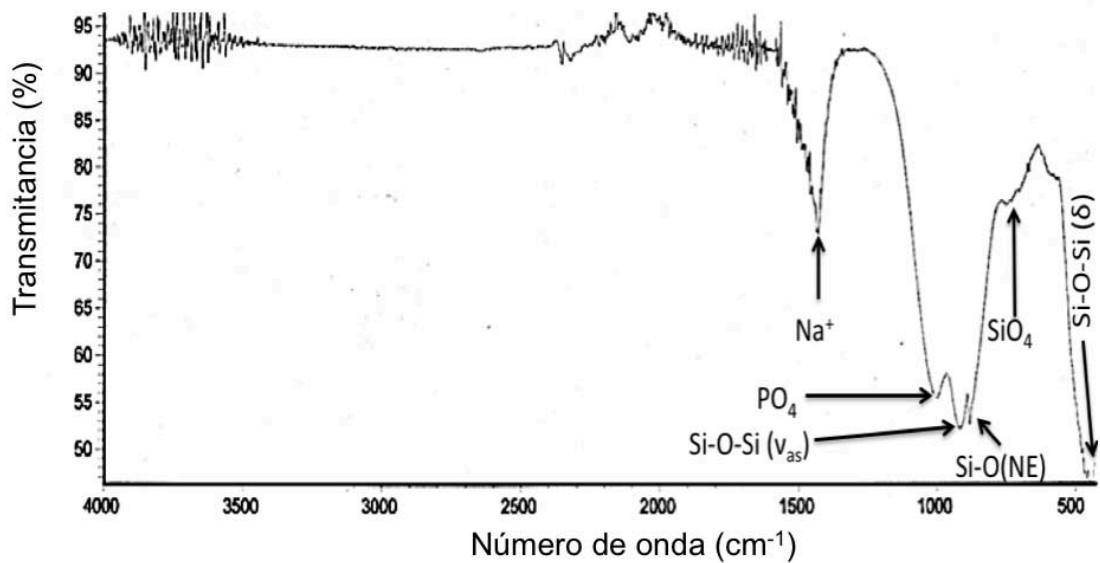


Figura 4.2 Espectro FTIR del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica. NE = no enlazante.

4.1.2 Difracción de rayos X (DRX)

4.1.2.1 DRX del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

La Figura 4.3 muestra el difractograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica. Mediante los cálculos correspondientes, se determinó que la muestra es en un 9.1% fase cristalina y en un 90.9% fase amorfa. Se observaron algunas señales relacionadas a fases cristalinas, sin lograr identificar las fases que las originaron. Esto confirma la obtención de un producto mayoritariamente amorfo.

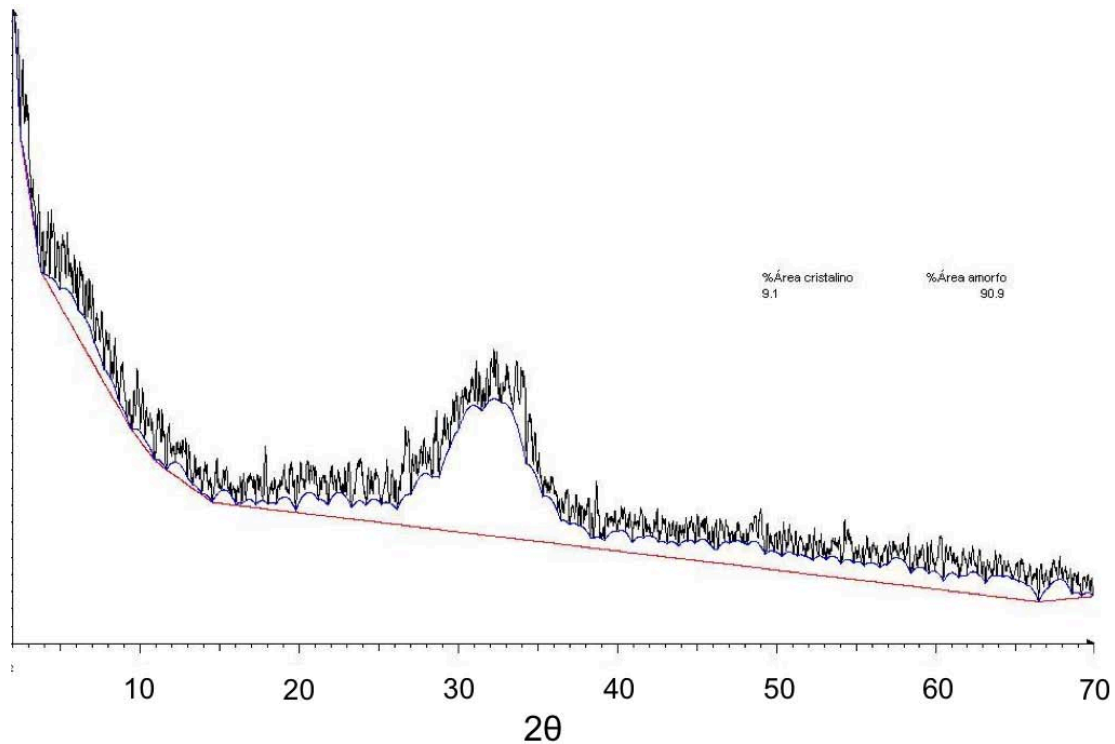


Figura 4.3 Diffractograma del Bioglass 45S5 después de la molienda mecánica.

4.1.2.2 DRX del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica, antes de secar

La Figura 4.4 muestra el diffractograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de ser secado. Mediante los cálculos correspondientes, se determinó que la muestra tiene un área de fase cristalina del 32.2%, mientras que el área de fase amorfa fue de 67.8%. Las fases cristalinas corresponden a: pisionita ($\text{Na}_2\text{Ca}(\text{CO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), combeita ($\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$), y trona ($\text{Na}_3\text{H}(\text{CO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Se ha informado la formación de combeita al sinterizar el Bioglass 45S5 [44]. Esto corrobora que la presencia de un alto porcentaje de humedad en el biovidrio puede favorecer la formación de fases cristalinas, debido a que el ingreso de moléculas de agua a la estructura del Bioglass 45S5 provoca el reacomodo de los átomos de la red.

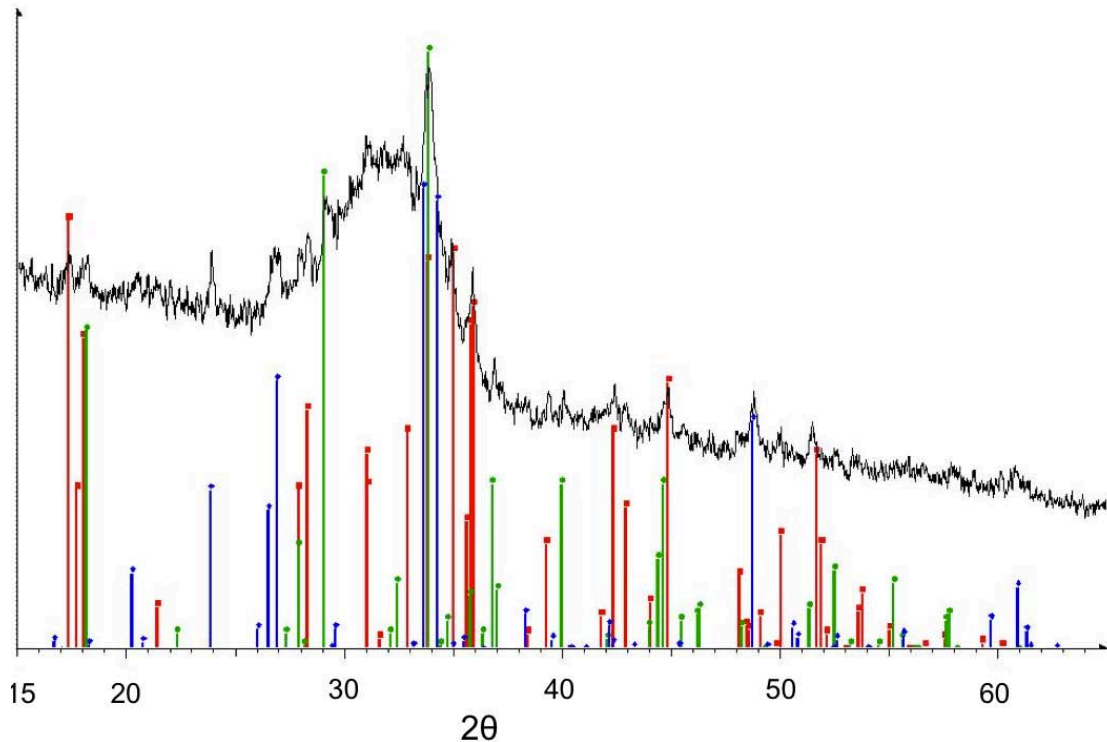


Figura 4.4 Difractograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de secarse. Señales rojas: Pisonita, $\text{Na}_2\text{Ca}(\text{CO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, señales azules: Combeita, $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$, señales verdes: Trona, $\text{Na}_3\text{H}(\text{CO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

4.1.2.3 DRX del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica, seco

En la Figura 4.5, se observa el difractograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, después de secarse. A diferencia del biovidrio antes de secarse, el producto secado presentó un área de fase cristalina del 27.2%, mientras que el área de fase amorfa fue de 72.8%. Para el producto seco, se observaron señales correspondientes a la fase combeita ($\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$). Estos resultados permiten pensar que el uso de tolueno en la molienda ultrasónica y el posterior proceso de secado generan una fase cristalina sobre las partículas de Bioglass 45S5 procedentes de la molienda mecánica. De hecho, se ha informado que al sinterizar el Bioglass 45S5 para darle diferentes grados de cristalinidad, la fase cristalina principal presente es la combeita [44]. Los análisis térmicos (ver Secciones 4.1.3, 4.1.4 y 4.1.5) proporcionan información sobre las transformaciones que sufre el biovidrio al calentarse y que, probablemente, sean la causa de la observación de

distintas fases entre el producto de la molienda ultrasónica sin secar y el seco. Debido a que la pisionita y la trona contienen moléculas de agua dentro de la estructura de su red cristalina, la eliminación de agua durante el proceso de secado del Bioglass 45S5 provocó el reacomodo de los átomos de la red. Por ello, de las fases cristalinas formadas durante la molienda ultrasónica, sólo quedó la combeita, la cual no contiene moléculas de agua dentro de la estructura de su red cristalina.

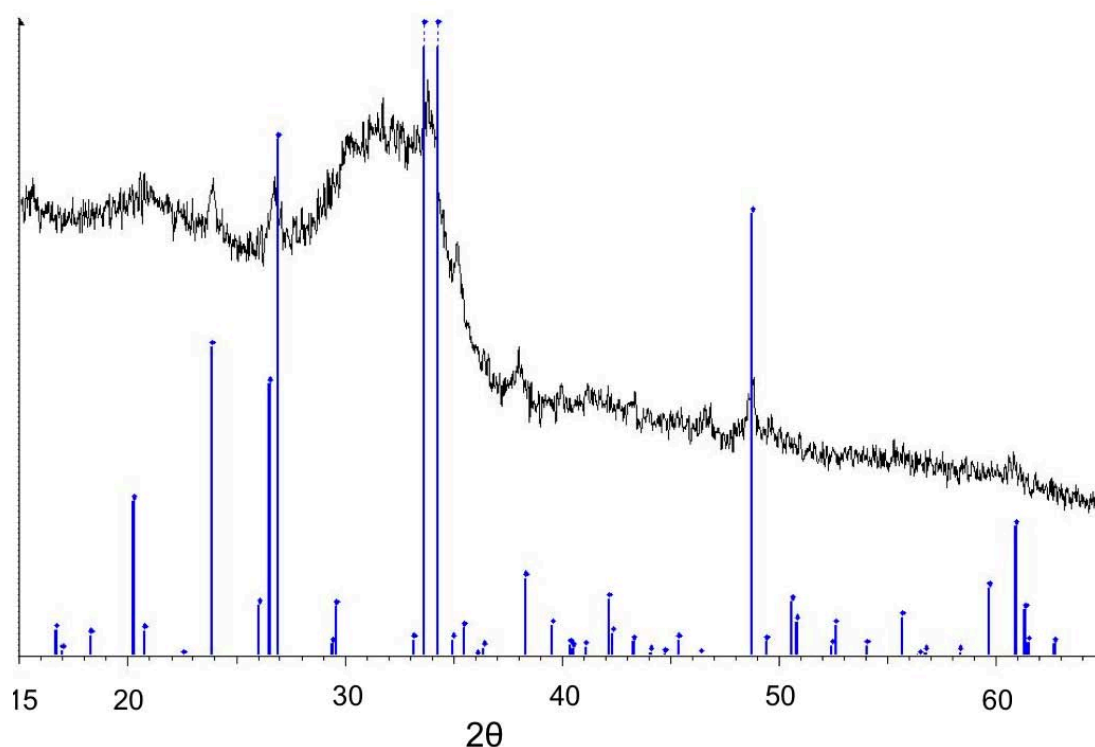


Figura 4.5 Difractograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco. Las señales azules corresponden a la fase combeita: $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$.

4.1.3 Análisis termogravimétrico (TGA)

4.1.3.1 TGA del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

La Figura 4.6 muestra el termograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica, en donde se observan 3 pérdidas de peso. La primera pérdida de peso, de alrededor de 0.6 % y a 84.67 °C, se debe a la eliminación de agua adsorbida superficialmente. La segunda pérdida, de

aproximadamente 0.1 % y a 178.51 °C, se debe a la eliminación de agua absorbida, es decir, aquella que se encontraba dentro de los poros del material [45]. La tercera pérdida, de aproximadamente 0.9% y a 400.00 °C, corresponde a la condensación de los grupos silanol superficiales, reacción por la cual también se elimina agua (ver Fig. 4.7) [43, 46, 47]. De hecho, la pérdida de peso a los 178.51 °C podría deberse también, en parte, a una reacción de condensación de los grupos silanol superficiales, que da un diferente arreglo de enlaces siloxano en el biovidrio (ver Fig. 4.7) [46]. Estos resultados indican que el Bioglass 45S5 es un material higroscópico, el cual requiere de un proceso de secado antes de su aplicación.

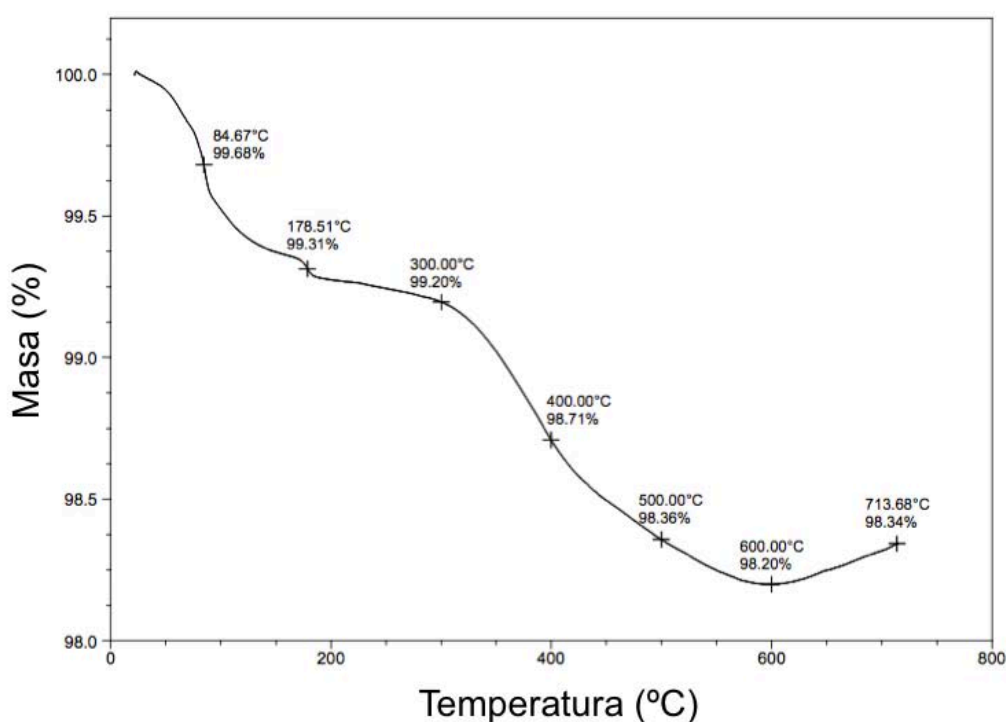
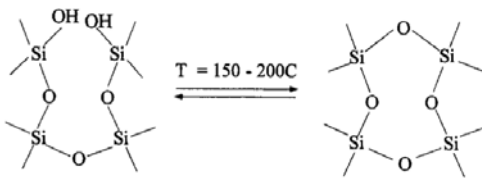


Figura 4.6 Termograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica.

a.



b.

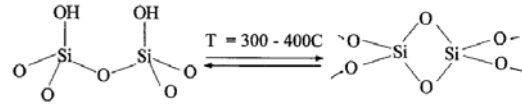


Figura 4.7 Reacciones de condensación (o deshidratación) de los grupos silanol en la superficie del biovidrio, que producen enlaces tensos de siloxano que pertenecen a: **a)** anillos de silicato de tres miembros, **b)** anillos de silicato de dos miembros, que comparten los bordes. (Tomada de [46])

4.1.3.2 TGA del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica, antes de secar

La Figura 4.8 muestra el termograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de secarse, el cual es parecido al de la Figura 4.7. Se observan 3 pérdidas de peso prácticamente a las mismas temperaturas que aquéllas que presentó el Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica. La primera pérdida, de aproximadamente 1.5% y a alrededor de los 85 °C, corresponde a la eliminación de agua fisioadsorbida sobre la superficie. La segunda pérdida, de aproximadamente 1.0% y a 178.12 °C, corresponde a la eliminación de agua absorbida y a la eliminación de agua por reacciones de condensación de grupos silanol superficiales (ver Fig. 4.6 a) [45, 46]. La tercera pérdida, de aproximadamente 2.5% y a alrededor de los 400 °C, corresponde a la pérdida de agua por reacciones de condensación de grupos silanol superficiales (ver Fig. 4.6 b) [43, 46, 47]. Los resultados proporcionados por este análisis de TGA confirman que era necesario secar el Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica. Además, debido a la similitud entre los resultados de este termograma y el del producto de la molienda mecánica (ver Sección 4.1.3.1), se corrobora que el Bioglass no presentó cambios importantes durante la molienda ultrasónica.

La observación de las pérdidas iniciales de agua indican que probablemente fue el agua proveniente de la molienda ultrasónica la responsable de la

formación de las fases cristalinas observadas en el difractograma de la Figura 4.4 (ver Sección 4.1.2.2).

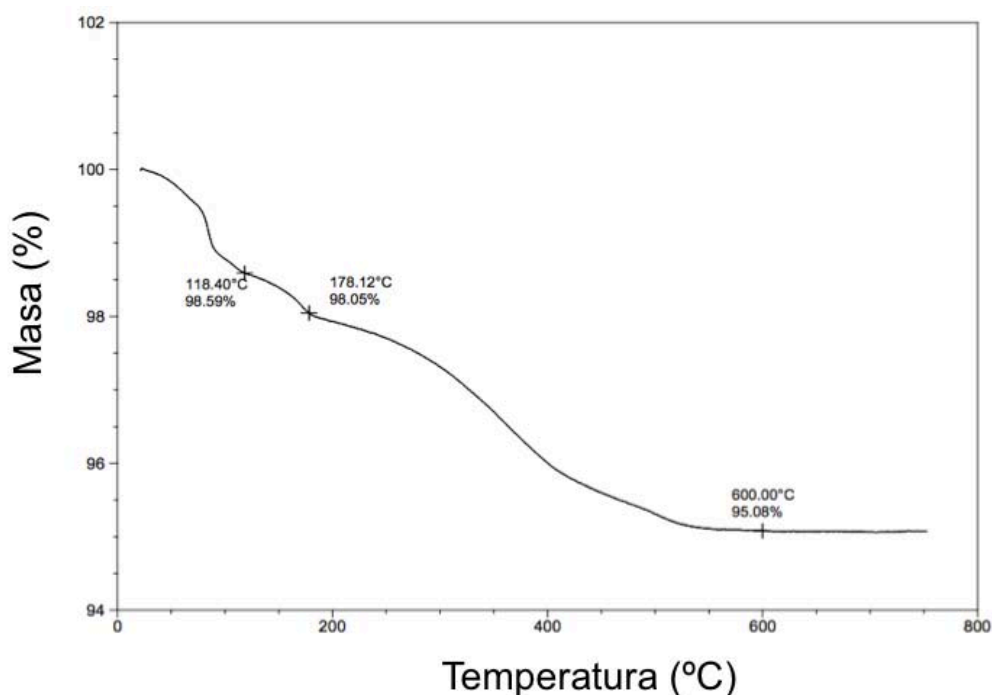


Figura 4.8 Termograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de secarse.

4.1.3.3 TGA del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica, seco

La Figura 4.9 muestra el termograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, después de secarse. A diferencia del termograma del producto antes de secar (ver Fig. 4.8 y Sección 4.1.3.2), para el producto seco sólo se observa una pérdida importante de peso, de aproximadamente 2.5% y a alrededor de los 360 °C, la cual corresponde a la eliminación de agua por la condensación de grupos silanol superficiales (ver Fig. 4.6) [43, 46, 47]. El hecho de que sólo se observe una pérdida sutil previa a la de esta temperatura (de alrededor de 0.5%, pero sin curva apreciable) es prueba de que el proceso de secado del producto de la molienda ultrasónica fue exitoso y suficiente, ya que prácticamente no hubo agua que eliminar.

El termograma de la Figura 4.9 confirma la ausencia de agua en el biovidrio debido al proceso de secado. Se observa que el contacto del biovidrio con la humedad del tolueno durante la molienda ultrasónica produce transformaciones de fase irreversibles. Es decir, la formación de la fase cristalina combeita (ver Fig. 4.5 y Sección 4.1.2.3), no se revierte con la eliminación de agua durante el secado.

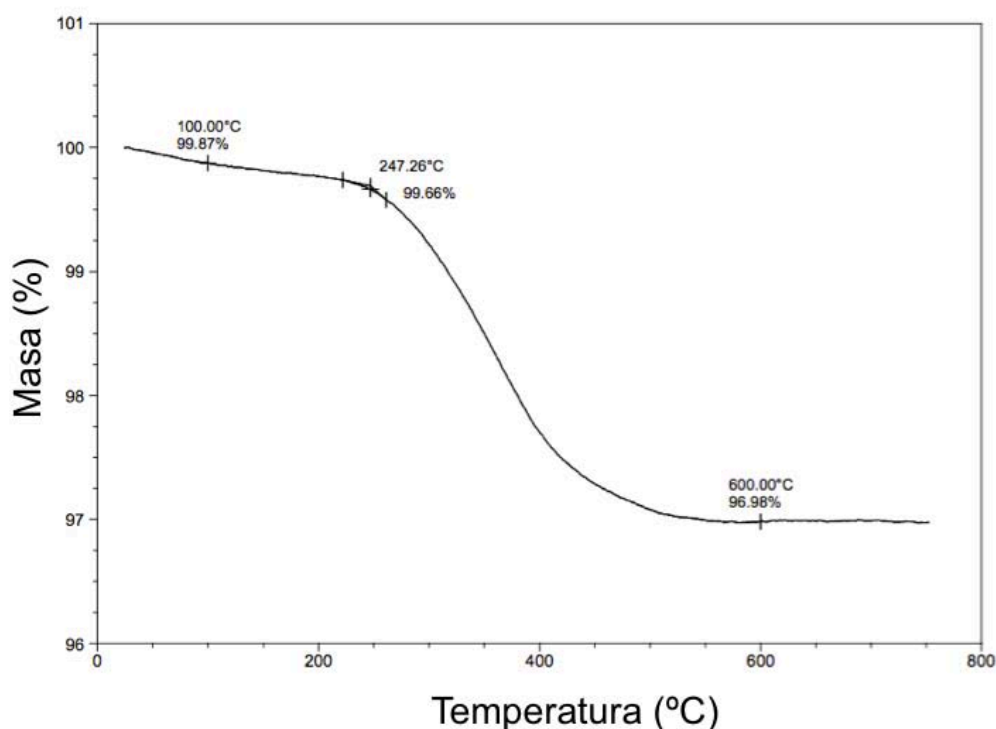


Figura 4.9 Termograma del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco.

4.1.4 Análisis termomecánico (TMA)

4.1.4.1 TMA del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

La Figura 4.10 muestra la curva termomecánica del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica, en donde se observa, primeramente, una contracción y, posteriormente, una expansión del vidrio. La disminución inicial de dimensiones se presenta debido a la eliminación de agua fisioadsorbida sobre la superficie. El biovidrio presenta una contracción desde el inicio del calentamiento hasta los 115.27 °C, debido a la pérdida de masa por la

eliminación de agua fisioadsorbida. El posterior incremento de dimensiones corresponde al coeficiente de dilatación lineal (α), el cual, experimentalmente, fue de $14.65 \mu\text{m}/(\text{m}^\circ\text{C})$.

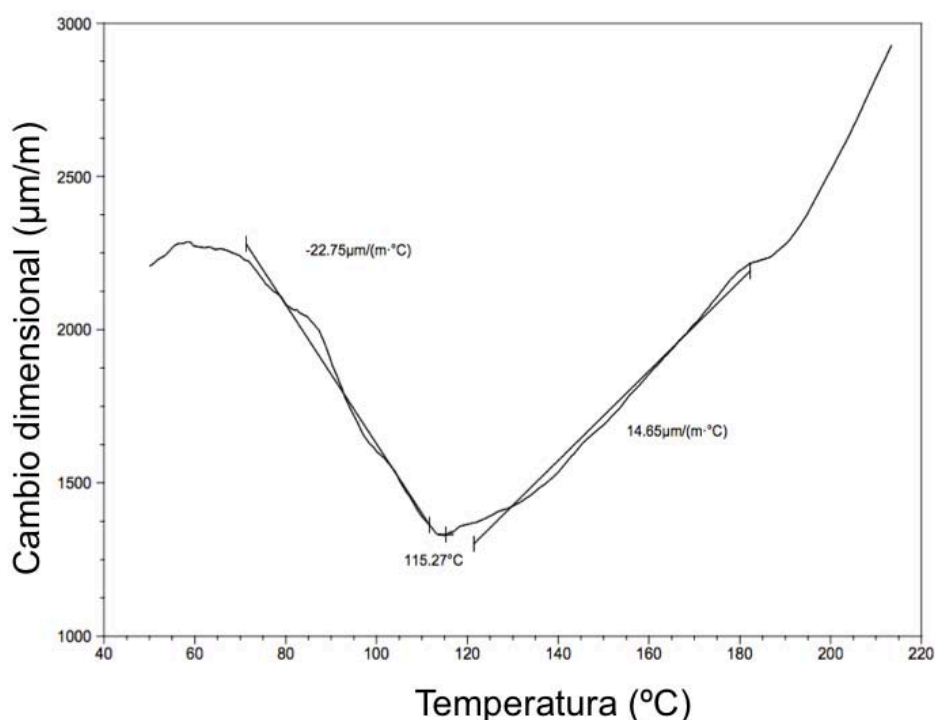


Figura 4.10 Curva termomecánica del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica.

4.1.4.2 TMA del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica, antes de secar

La Figura 4.11 muestra la curva termomecánica del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de secarse, en la cual se observan dos contracciones: la primera desde los 197.88°C a los 210.60°C , y la segunda desde los 476.84°C a los 600°C . La primera reducción de dimensiones se debe a la eliminación de agua. El segundo cambio de dimensiones corresponde a un intervalo en donde se observó la temperatura de transición vítrea (T_g). Debido a que la T_g es un punto de inflexión en la curva termomecánica, se calculó su valor mediante el trazo de dos rectas que cruzan en tal punto. Una de las rectas toca la curva antes del punto de inflexión, mientras que la otra toca la curva después del punto. El valor

calculado para la T_g fue de aproximadamente 550 °C, el cual es cercano al valor de la literatura de 560 °C [44].

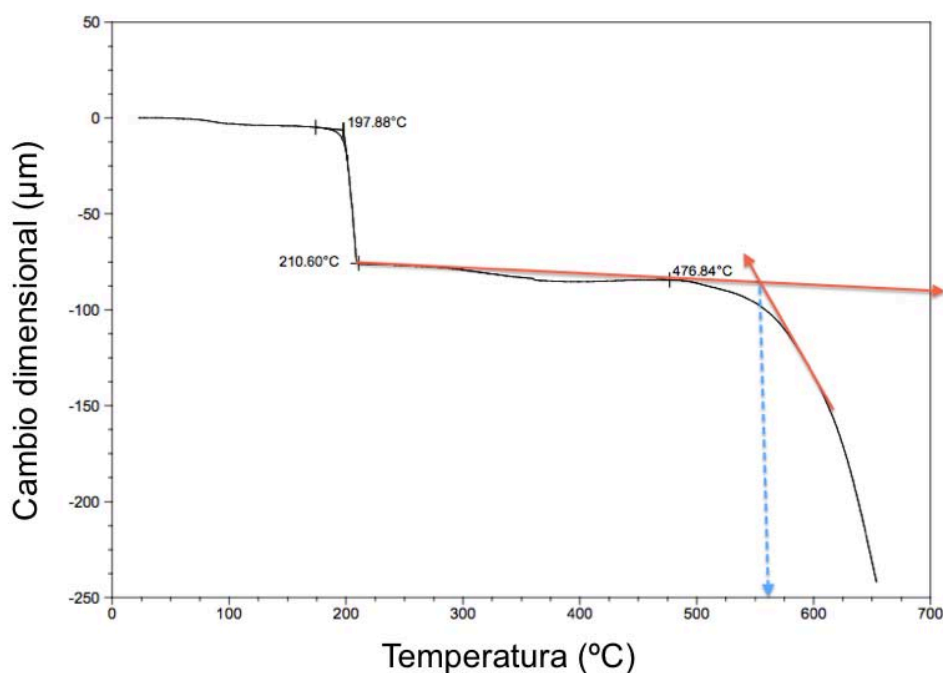


Figura 4.11 Curva termomecánica del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de secarse.

4.1.4.3 TMA del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica, seco

La Figura 4.12 muestra la curva termomecánica del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, después de secarse, en la cual solamente se observa un cambio de dimensiones. La ausencia de un primer cambio de dimensiones, como el que se observó en el termograma del producto antes de secarse (ver Fig. 4.11), confirma de nuevo que el proceso de secado del producto de la molienda ultrasónica fue efectivo y que la muestra analizada ya no tenía agua que eliminar. Por otro lado, el único cambio de dimensiones observado en este caso, como para el producto sin secar, corresponde a la temperatura de transición vítrea (T_g). De la misma manera que para el termograma de la Fig. 4.11 (ver Sección 4.1.4.2), se calculó la T_g mediante el trazo de dos rectas. El valor calculado para la T_g fue de aproximadamente 570 °C, el cual tampoco está alejado del valor de la literatura de 550 °C [44].

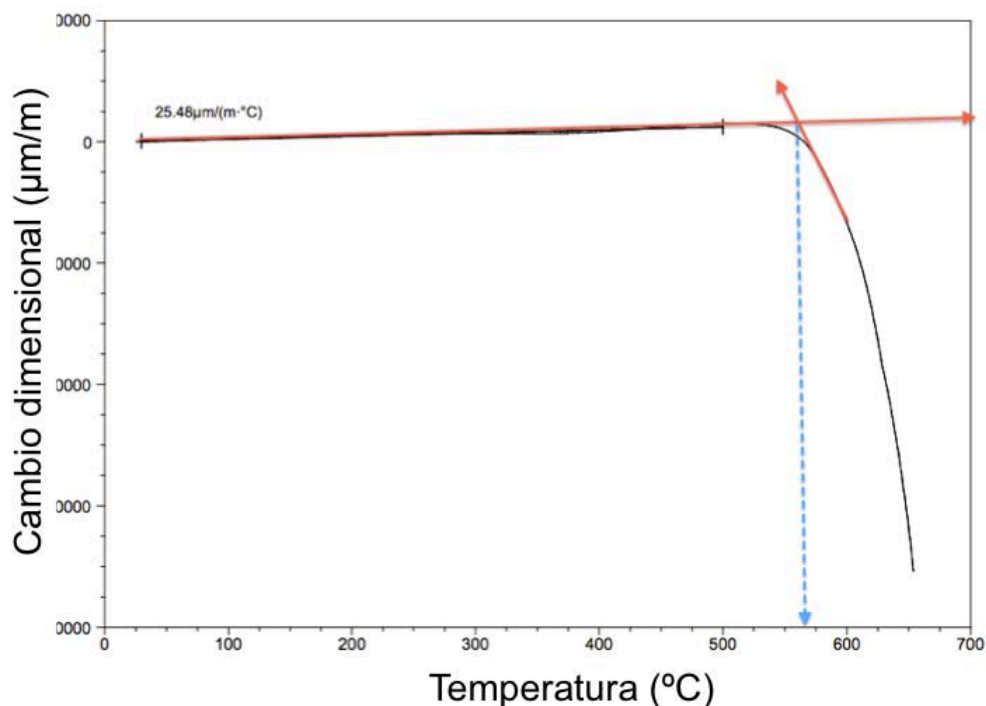


Figura 4.12 Curva termomecánica del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco.

4.1.5 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

4.1.5.1 DSC del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

El gráfico de DSC de la Figura 4.13 muestra cuatro señales endotérmicas. La primera señal, a 98.76 °C, corresponde a la pérdida de agua adsorbida superficialmente. La segunda, a 171.98 °C, corresponde a la pérdida de moléculas de agua absorbidas, es decir, aquellas que estaban dentro de los poros del vidrio. La tercera, a 398.05 °C, corresponde a la condensación de los grupos silanol de la superficie del vidrio, reacción por la cual también se elimina agua (ver Fig. 4.13) [43, 45, 46]. La cuarta señal, la cual se encuentra alrededor de los 530 °C, aunque de baja intensidad, corresponde a la temperatura de transición vítrea. El valor experimental observado en este gráfico para la T_g no está alejado del valor de la literatura de 550 °C [44]. Estos resultados concuerdan con aquéllos obtenidos del TGA (ver Sección 4.1.3.1), y confirman el carácter higroscópico del Bioglass 45S5 y las

transformaciones superficiales que éste sufre con la temperatura, debido a la deshidratación de los grupos silanol.

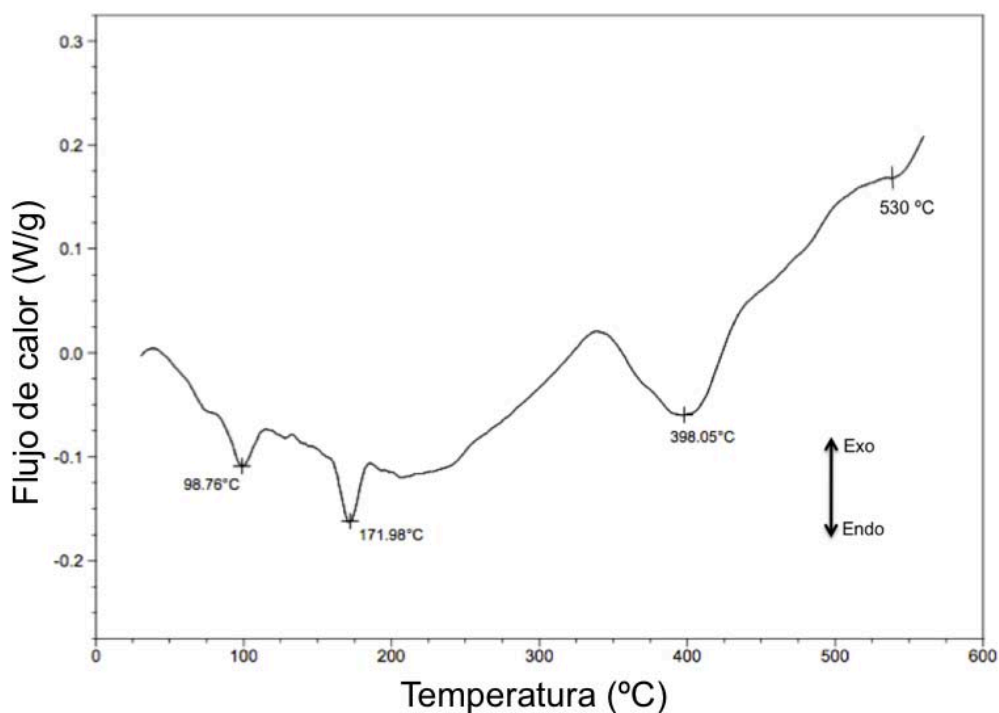


Figura 4.13 Gráfico de DSC del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica.

4.1.5.2 DSC del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica, antes de secar

El gráfico de DSC de la Fig. 4.14 muestra dos señales endotérmicas. La primera, a 97.85 °C, corresponde a la eliminación de agua fisioadsorbida sobre la superficie. La segunda, a 170.19 °C, se debe a la eliminación de agua absorbida y de aquella que se pierde por las reacciones de condensación de los grupos silanol (ver Fig. 4.6) [45, 46]. Los resultados provenientes de este gráfico confirman de nuevo que sí se requería de un secado para el producto de la molienda ultrasónica.

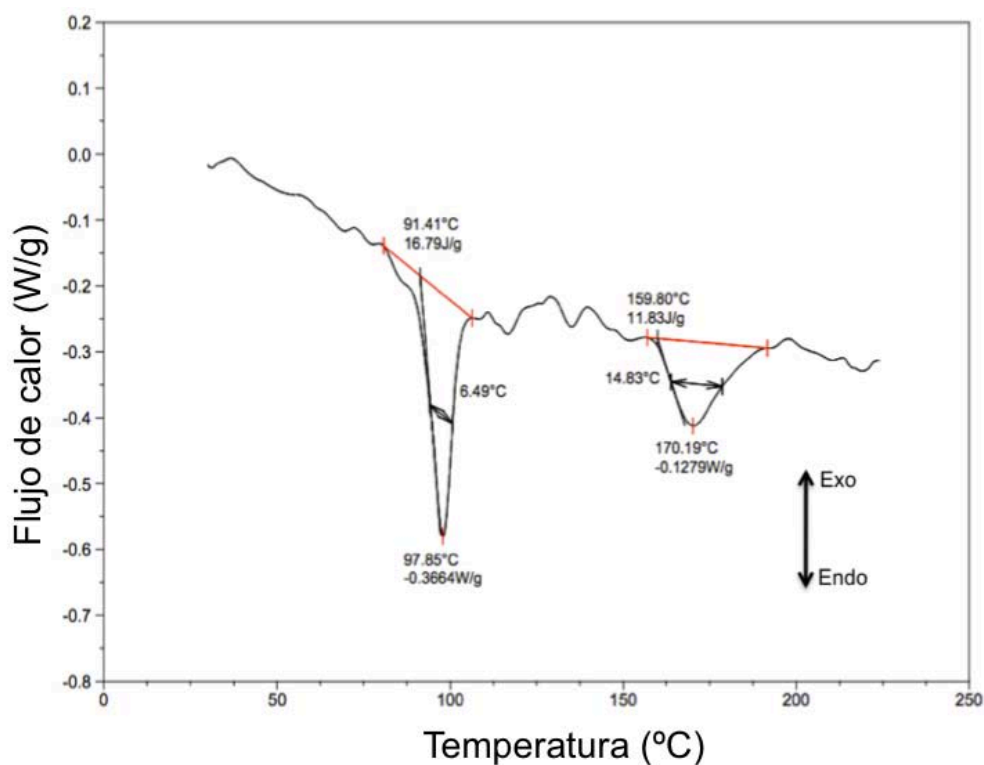


Figura 4.14 Gráfico de DSC del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, antes de secarse.

4.1.5.3 DSC del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica, seco

El gráfico de DSC de la Figura 4.15 no muestra ninguna señal relevante en el intervalo de temperaturas analizado (25-350 °C). Esto confirma, una vez más, que el proceso de secado del producto de la molienda ultrasónica fue efectivo y que la temperatura a la cual se realizó tal secado fue adecuada.

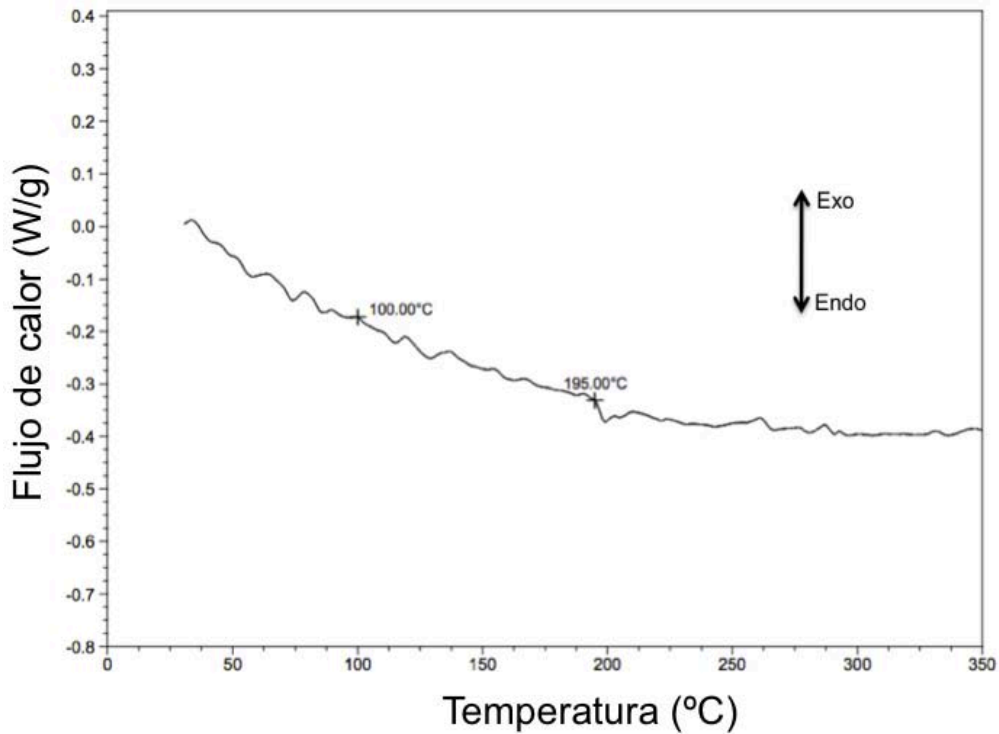


Figura 4.15 Gráfico de DSC del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco.

4.1.6 Microscopía electrónica de transmisión (TEM) del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

Mediante las micrografías obtenidas por TEM (ver Fig. 4.16), se determinó el diámetro mínimo de partícula mediante el programa ImageJ, el cual fue de 377 nm. Sin embargo, se observó que se tienen conglomerados de partículas pequeñas, los cuales alcanzan diámetros de hasta 1.71 μm . Se obtuvo un halo difuso para la difracción de electrones de la muestra, lo cual confirma que se obtuvo un material amorfo.

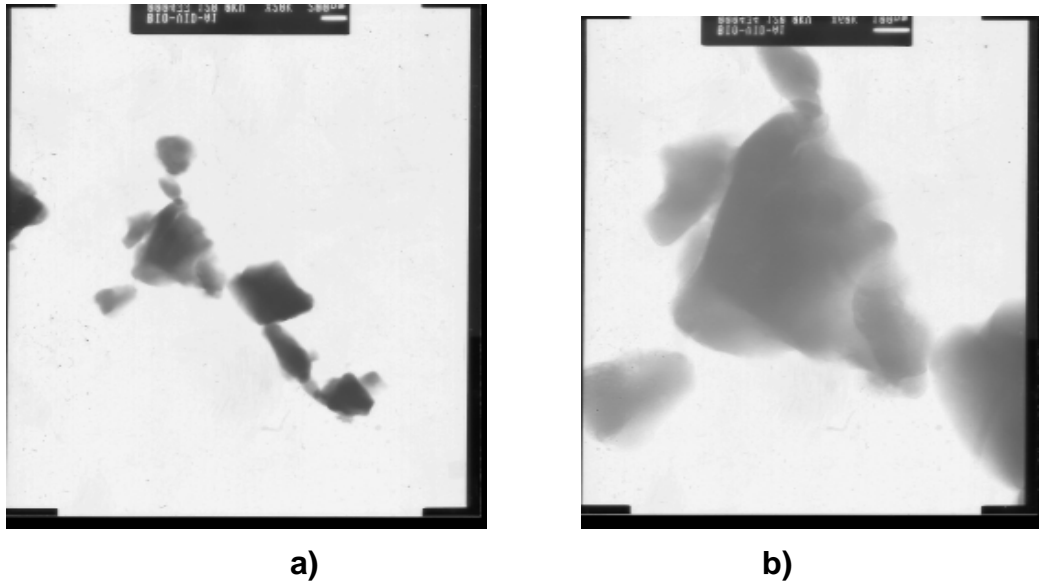
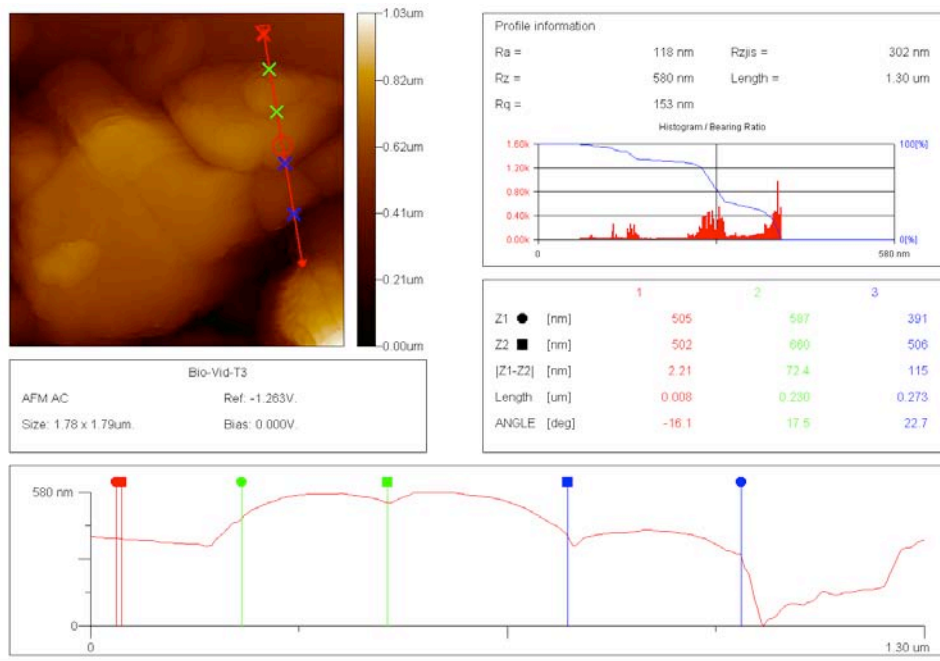


Figura 4.16 Micrografías del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica, obtenidas por TEM. a) Escala de 500 μm . b) Acercamiento, escala de 100 μm .

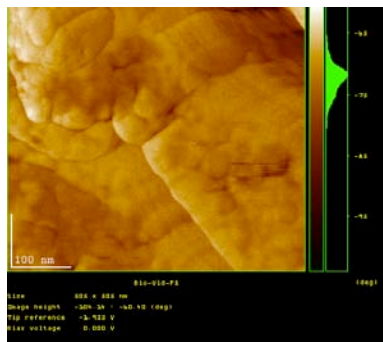
4.1.7 Microscopía de fuerza atómica (AFM) del Bioglass 45S5[®] de la molienda mecánica

A través de AFM, se confirmó de nuevo la existencia de cúmulos de partículas más pequeñas. Asimismo, se determinó el perfil de rugosidad de tales aglomerados. Los diámetros calculados fueron de 230 y 273 nm para dos partículas que formaban parte de uno de los cúmulos presentes en la muestra analizada (ver Fig. 4.17 a).

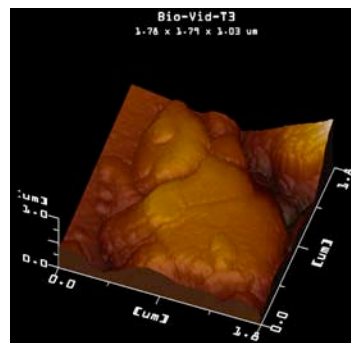
Los resultados obtenidos de TEM y AFM permiten pensar que a través del procedimiento seguido para obtener partículas de Bioglass 45S5 (método de fundición y posterior molienda mecánica), los tamaños de partícula aún se encuentran en el orden de las micras. Cada partícula está formada a su vez por fases más pequeñas de biovidrio. Los aglomerados están conformados por fases amorfas del biovidrio. La morfología que se observa (ver Fig. 4.17) es la de una serie de partículas con un alto grado de rugosidad, por lo que se puede considerar el principio de una porosidad cerrada. Los poros cerrados no cruzan el material, es decir, no conectan con el exterior, por lo que no permiten el flujo de fluidos a través de ellos.



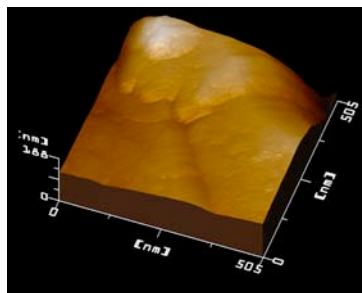
a)



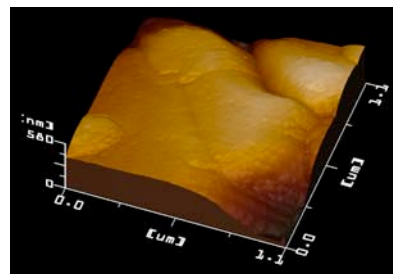
b)



c)



4..



e)

Figura 4.17 a) Determinación por AFM de tamaño de partícula y de perfil de rugosidad.

a) c) d) y e) Micrografías de AFM del Bioglass 45S5 producto de la molienda mecánica.

4.1.8 Microscopía electrónica de barrido (SEM) del Bioglass 45S5[®] de la molienda ultrasónica

Debido a que la molienda mecánica dio como resultado un diámetro de partícula que aún es del orden de las micras, con rugosidades evaluadas en 580 nm de altura (ver Fig. 4.17 e), se confirma la necesidad de realizar una segunda molienda para reducir el diámetro de partícula al orden de los 200 nm como máximo.

Mediante las micrografías de SEM obtenidas (ver Fig. 4.18) y el programa ImageJ, se determinó el diámetro promedio de partícula, considerando una muestra de 25 partículas tomadas al azar de la micrografía de la Figura 4.18 a). De las 25 partículas analizadas, el diámetro mínimo de partícula encontrado fue de 311 nm, y el máximo fue de 1.357 μm . El diámetro promedio de partícula fue de 632 nm, con una desviación estándar de 324 nm. Por otro lado, se observa que aún después de la molienda ultrasónica, existe un número considerable de cúmulos de partículas y placas con diámetros de varios μm . Es posible que las partículas de biovidrio se hayan reaglomerado durante el proceso de sedimentación posterior a la molienda ultrasónica.

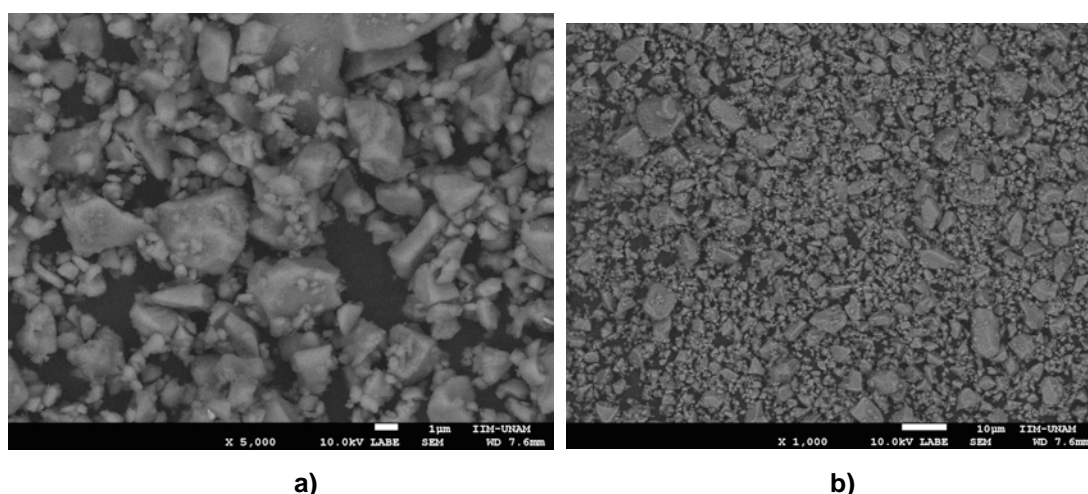


Figura 4.18 a) Micrografía de SEM del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco, con 5000x de aumento. **b)** Micrografía de SEM del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica, seco, con 1000x de aumento.

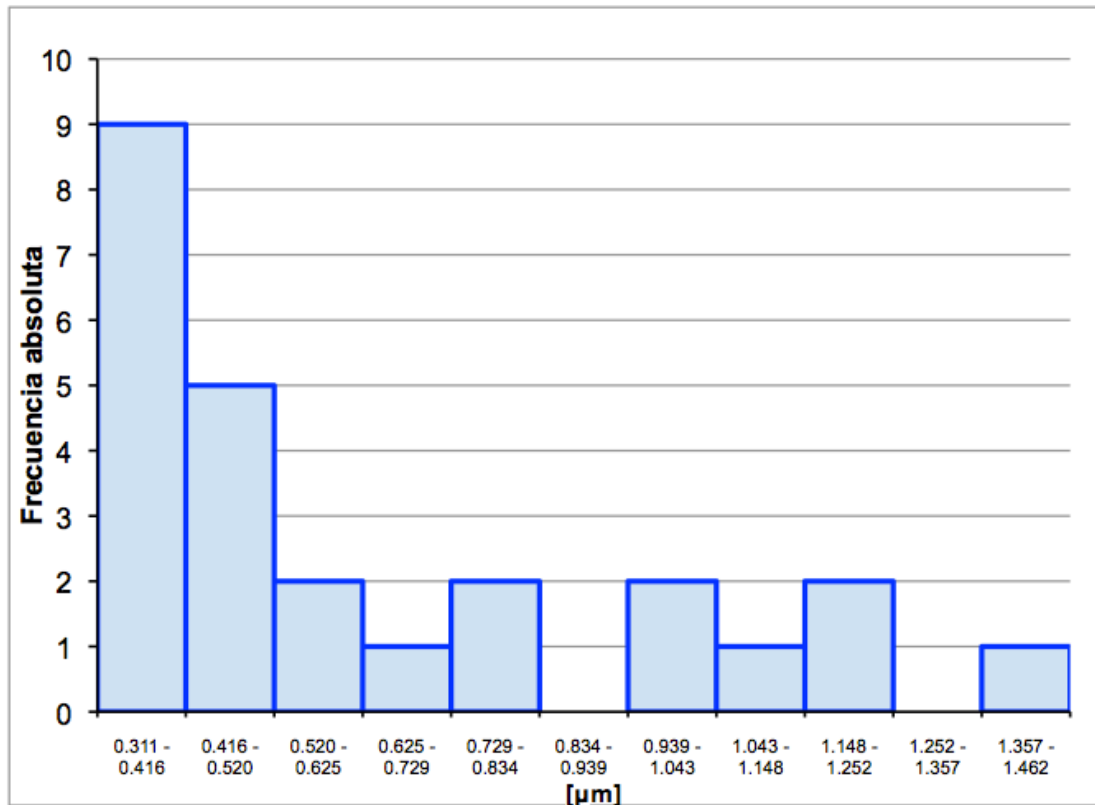


Figura 4.19 Histograma de frecuencias absolutas para el diámetro de partícula del Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica.

Con base en el histograma de la Figura 4.19, puede establecerse que a pesar de la presencia de cúmulos de partículas, hay un número aceptable de partículas que caen dentro del intervalo de diámetros que va de los 311 a los 416 nm. Por ello, se decidió llevar a cabo el electrohilado de las nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5, ya que se cree que un porcentaje razonable de partículas del mencionado intervalo de diámetros quedarán como inclusiones dentro de la estructura de las fibras.

4.2 Caracterización de las nanofibras de PCL y de las nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5[®]

4.2.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

4.2.1.1 SEM de las nanofibras de PCL

El electrohilado de la solución de PCL al 6 % w/v generó fibras con bulbos, con un gran porcentaje de fibras de tamaño nanométrico (ver Fig. 4.20). La aparición de bulbos probablemente se deba a que el chorro de solución fue colectado antes de que la mezcla de disolventes se evaporara [29].

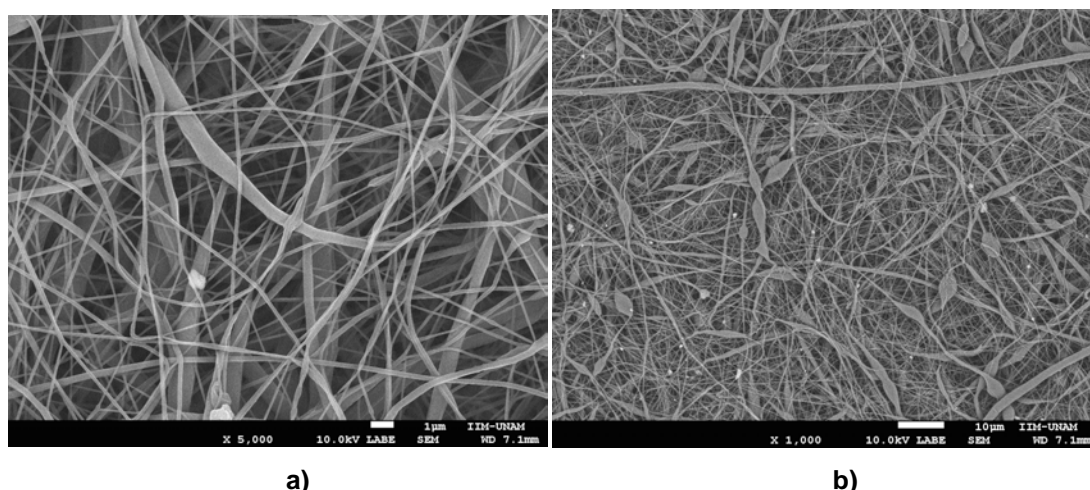


Figura 4.20 Micrografía de SEM del andamio de PCL al 6 % w/v, distancia aguja-colector de 20 cm, y voltaje de 15 kV **a)** con 5000x de aumento y **b)** con 1000x de aumento.

Para la solución de PCL al 12 % w/v, al mantener el voltaje constante a 8 kV y modificar la distancia aguja-colector, se determinó que a 25 cm de distancia se obtuvieron fibras con una incertidumbre menor (ver Tabla 4.1 y Fig. 4.20), o bien, fibras con una distribución de diámetros más homogénea. Además, a 25 cm de distancia también se obtuvieron las fibras de diámetro menor. Sin embargo, la morfología de las fibras no es uniforme (ver Fig. 4.20 c), por lo que se prosiguió a probar diferentes voltajes con la distancia aguja-colector de 25 cm.

Para cada muestra de nanofibras, se analizó la micrografía de SEM de 5000x de aumento. Para cada micrografía de SEM de las nanofibras, se determinó el diámetro ϕ de 20 fibras. Una vez calculado el diámetro promedio de las 20 fibras, se obtuvo la desviación estándar $S(\phi)$ mediante la ecuación siguiente:

$$S(\phi) = \sqrt{\frac{\sum(\phi_i - \bar{\phi})^2}{19}} \dots\dots\dots(4.1)$$

Posteriormente, se calculó la incertidumbre tipo A $u_A(\phi)$ mediante la ecuación siguiente:

$$u_A(\phi) = \frac{S(\phi)}{\sqrt{20}} \dots\dots\dots(4.2)$$

Debido a que se determinaron los diámetros de las fibras utilizando las barras de escala de las micrografías analizadas, se calculó la incertidumbre tipo B $u_B(\phi)$ considerando la resolución igual a 1 μm :

$$u_B(\phi) = \frac{1\mu\text{m}}{2} = 0.5\mu\text{m} \dots\dots\dots(4.3)$$

Una vez calculadas las incertidumbres tipo A y tipo B, se procedió a obtener la incertidumbre combinada $u_c(\phi)$ a través de la ecuación siguiente:

$$u_c(\phi) = \sqrt{u_A^2(\phi) + u_B^2(\phi)} \dots\dots\dots(4.4)$$

Finalmente, se calculó la incertidumbre expandida para cada muestra, considerando un factor de cobertura k de 2:

$$U = ku_c(\phi) = 2u_c(\phi) \dots\dots\dots(4.5)$$

Cabe resaltar que se empleó el mismo tratamiento estadístico a todas las muestras que se analizaron en la presente sección del trabajo.

Tabla 4.1 Diámetros promedio para las nanofibras de PCL al 12 % w/v y voltaje de 8 kV.

Distancia aguja-colector (cm)	Diámetro de fibras (μm)
15	(0.873 ± 1.03)
20	(0.966 ± 1.04)
25	(0.778 ± 1.02)

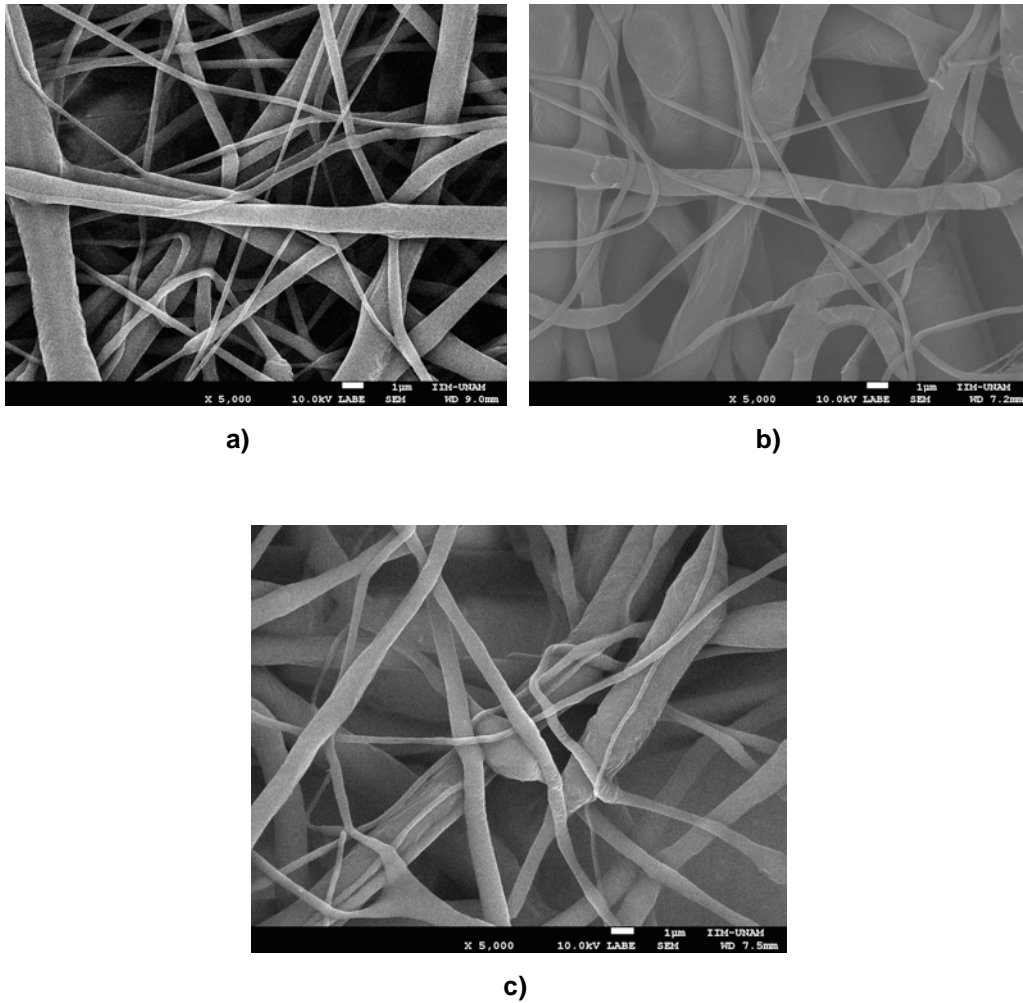


Figura 4.21 Micrografía de SEM con 5000x de aumento del andamio de PCL al 12 % w/v, voltaje de 8 kV **a)** con 15 cm de distancia, **b)** con 20 cm de distancia, y **c)** con 25 cm de distancia

Al mantener constante la distancia aguja-colector a 25 cm, se encontró que conforme se aumentaba el voltaje, se reducía el diámetro promedio de las fibras (ver Tabla 4.2). Por otro lado, a voltajes mayores de 9 kV, se obtuvieron incertidumbres altas, es decir, la distribución de diámetros de las

fibras fue poco homogénea (ver Tabla 4.2 y Fig. 4.21). Debido a que la distancia aguja-colector de 25 cm resultó ser la más favorable para obtener una distribución de diámetros homogénea, se decidió emplear tal distancia y variar el voltaje para el electrohilado de la solución PCL/Bioglass 45S5 (ver Tabla 3.2).

Tabla 4.2 Diámetros promedio para las nanofibras de PCL al 12 % w/v y distancia aguja-colector de 25 cm.

Voltaje (kV)	Diámetro de fibras (μm)
9	(0.927 \pm 1.01)
15	(0.896 \pm 1.05)
16	(0.649 \pm 1.03)
17	(0.586 \pm 1.01)

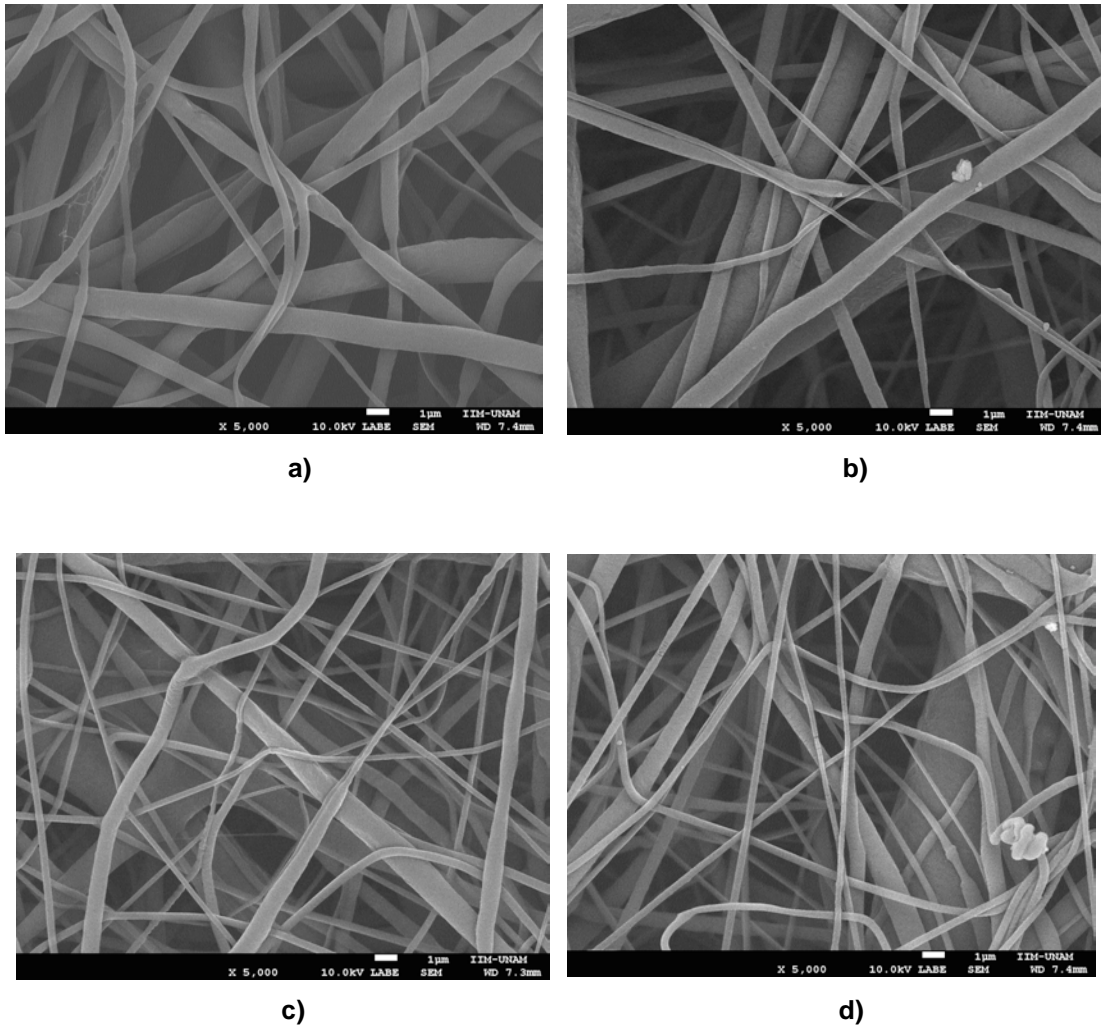


Figura 4.22 Micrografía de SEM con 5000x de aumento del andamio de PCL al 12 % w/v, distancia aguja-colector de 25 cm **a)** con 9 kV de voltaje, **b)** con 15 kV cm de voltaje, **c)** con 16 kV de voltaje, y **d)** con 17 kV de voltaje

4.2.1.2 SEM de las nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5®

El electrohilado de la solución PCL/Bioglass 45S5 generó varias fibras con inclusiones de Bioglass 45S5. Algunas partículas de Bioglass 45S5 se adsorbieron sobre la superficie de las fibras. Esto es favorable para el desempeño del andamio, ya que los distintos grupos biológicos (ver Sección 2.3.2.1.3) se adsorberían sobre las capas de HCA que cristalizan sobre las partículas adsorbidas de Bioglass 45S5.

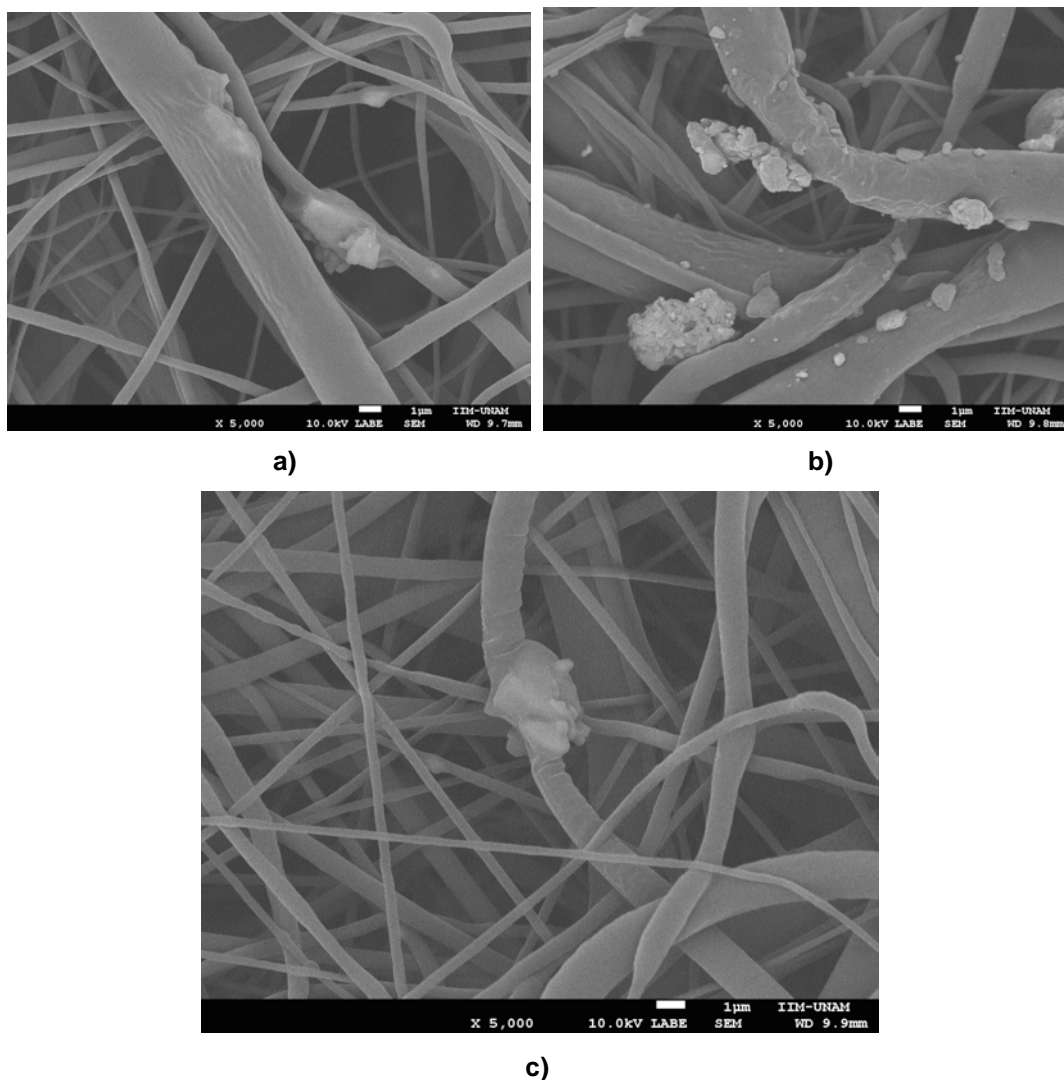


Figura 4.23 Micrografía de SEM con 5000x de aumento del andamio de PCL/Bioglass 45S5 **a)** con 9 kV de voltaje, **b)** con 10 kV cm de voltaje, **c)** con 13 kV de voltaje, y **d)** con 12 kV de voltaje

4.2.2 Mediciones de ángulo de contacto

4.2.2.1 Ángulo de contacto de las nanofibras de PCL

Se confirmó el carácter hidrofóbico de la PCL, al observar altos ángulos de contacto con agua y suero fetal bovino (ver Tabla 4.3). Asimismo, las gotas de ambas sustancias orgánicas consideradas, n-octano (sustancia no polar) y yoduro de metileno (sustancia relativamente polar), se extendieron completamente sobre la superficie, dando ángulos de contacto de cero.

Debido a que el andamio de PCL es altamente hidrofóbico, era de esperarse que el ángulo de contacto con una sustancia no polar, como el n-octano, fuera de cero. Sin embargo, a pesar de que el yoduro de metileno es relativamente polar, también forma un ángulo de contacto de cero, lo cual confirma la afinidad de la superficie de PCL por compuestos orgánicos, aunque éstos presenten cierto grado de polaridad.

Tabla 4.3 Ángulos de contacto de las nanofibras de PCL con diversas sustancias.

Sustancia	Ángulo de contacto (°)
Agua desionizada	(179.22 ± 1)
Suero fetal bovino	(176.95 ± 1)
n-octano	(0 ± 1)
Yoduro de metileno	(0 ± 1)

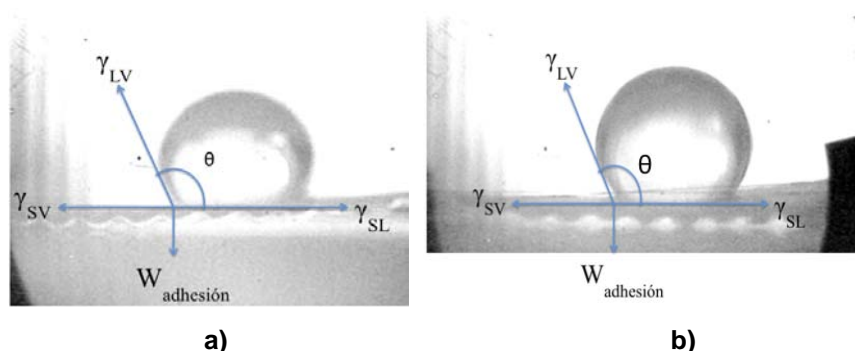


Figura 4.24 Ángulo de contacto de nanofibras de PCL **a)** con agua, y **b)** con suero fetal bovino

4.2.2.2 Ángulo de contacto de las nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5[®]

Se observó una ligera disminución del ángulo de contacto con agua en las nanofibras compuestas, en comparación con el que se obtuvo con las nanofibras de PCL (ver Tabla 4.4 y Fig. 4.25). Esto se adjudica a que la adición de Bioglass 45S5 incrementa ligeramente la hidrofiliidad de la PCL, aunque de manera casi nula. De hecho, el ángulo de contacto de yoduro de metileno aumentó ligeramente, lo cual también concuerda con el aumento de

la hidrofiliidad de la PCL con las inclusiones de Bioglass 45S5. Por otro lado, la hidrofiliidad no aumentó lo suficiente como para aumentar el ángulo de contacto con n-octano, el cual sigue teniendo una alta afinidad con las nanofibras compuestas. Estos resultados indican que probablemente se deba integrar un porcentaje w/w mayor de Bioglass 45S5 a la solución de PCL/Bioglass 45S5 para poder aumentar la hidrofiliidad del andamio de forma considerable.

Tabla 4.4 Ángulos de contacto de las nanofibras de PCL/Bioglass 45S5 con diversas sustancias.

Sustancia	Ángulo de contacto (°)
Suero fetal bovino	(177.68 ± 1)
Agua desionizada	(176.75 ± 1)
Yoduro de metileno	(11.16 ± 1)
n-octano	(0 ± 1)

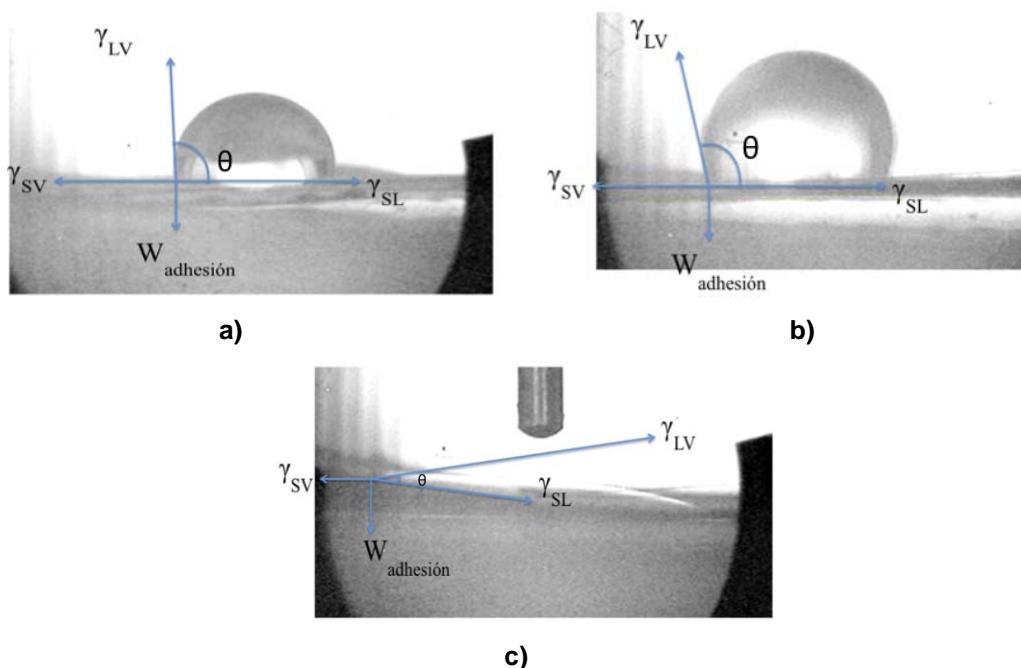


Figura 4.25 Ángulo de contacto de nanofibras de PCL/Bioglass 45S5 **a)** con agua, **b)** con suero fetal bovino, y **c)** con yoduro de metileno

Se eligió la micrografía de SEM de la muestra de la 1ª corrida de electrohilado de PCL/Bioglass 45S5 (ver condiciones en Sección 3.2.6.2), con 1000x de aumento, para calcular el diámetro de los poros mediante el programa ImageJ (ver Fig. 4.26). Se determinó el diámetro de 20 poros, y se utilizó el mismo tratamiento estadístico descrito en la Sección 4.2.1.1, considerando que la resolución es igual a 10 μm . Se determinó que el diámetro promedio de los poros es de $(5.384 \pm 10.03) \mu\text{m}$. A pesar de que el andamio compuesto presenta poros de este tamaño, la humectabilidad del mismo sigue siendo limitada, debido a la baja hidrofiliidad de la PCL. Los resultados de ángulo de contacto indican que la porosidad no tiene un efecto considerable en la humectabilidad del andamio, la cual es, principalmente, determinada por la hidrofiliidad de las fibras que lo componen.

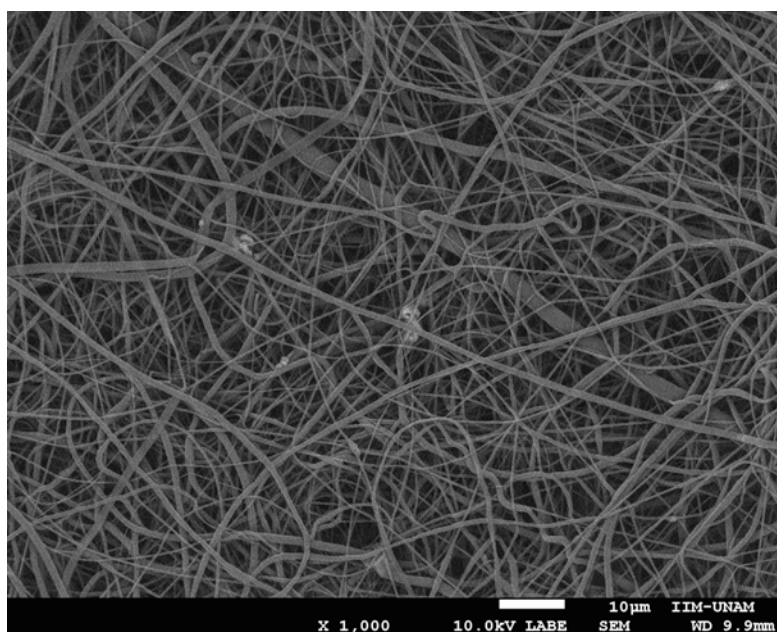


Figura 4.26 Micrografía de SEM del andamio compuesto PCL/Bioglass 45S5 con 1000x de aumento, empleada para calcular el diámetro promedio de poro.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

Se sintetizó Bioglass 45S5 amorfo a través del método de fundición. Mediante dos moliendas, una mecánica y una ultrasónica, se logró reducir el diámetro de partícula del biovidrio a valores alrededor de los 300 nm, aunque con la presencia de aglomerados de varias micras de diámetro.

Los análisis de FTIR comprobaron que el tolueno empleado como disolvente en la molienda ultrasónica no se enlaza químicamente a la superficie del vidrio.

Los análisis de DRX confirmaron la presencia de fases cristalinas en el biovidrio producto de la molienda ultrasónica, lo cual probablemente se deba al íntimo contacto con el agua presente en el tolueno durante la molienda.

Los análisis térmicos (TGA, TMA y DSC) indicaron la necesidad de secar el biovidrio a por lo menos 180 °C para eliminar toda el agua presente en el material.

Se obtuvieron nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5 mediante la técnica de electrohilado. Las partículas de biovidrio dentro del intervalo de 311 a 416 nm de diámetro fueron lo suficientemente pequeñas para quedar como inclusiones dentro de las nanofibras compuestas. Asimismo, otra porción de las partículas de biovidrio quedaron adsorbidas sobre la superficie de las nanofibras. Las mediciones de ángulo de contacto permitieron determinar que la hidrofiliidad de los andamios compuestos varió muy poco con respecto a los de PCL, debido al alto carácter hidrofóbico de la PCL, y que la porosidad no logra contrarrestar tal hidrofobicidad.

RECOMENDACIONES

- Llevar a cabo variaciones en las condiciones de la molienda mecánica (tiempo y frecuencia de molienda, diámetro de balines empleados) y de la molienda ultrasónica (tiempo y amplitud de molienda), con el fin de reducir aún más el diámetro de partícula del Bioglass 45S5.
- Llevar a cabo un tamizado de las partículas de Bioglass 45S5 producto de la molienda ultrasónica.
- Realizar pruebas de biocompatibilidad y crecimiento celular a los andamios compuestos obtenidos durante este trabajo.
- Realizar pruebas mecánicas a los andamios compuestos obtenidos durante este trabajo.
- Sintetizar nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5 con soluciones que contengan un mayor porcentaje w/w de Bioglass 45S5 con respecto a la PCL.
- Llevar a cabo un análisis extenso del efecto en la variación de los parámetros de electrohilado sobre la morfología de las nanofibras compuestas de PCL/Bioglass 45S5.
- Sintetizar vidrios bioactivos de otras composiciones mediante el método sol-gel, y obtener andamios compuestos mediante electrohilado con tales biovidrios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Rho, J. Y., Kuhn-Spearing, L., Zioupos, P. (1998) Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Medical Engineering & Physics*. **20**: 92-102.
- [2] Webster, T. J. (2007) *Nanotechnology for the Regeneration of Hard and Soft Tissues*. World Scientific Publishing Co. E.U.A.
- [3] Weiner, S., Traub, W. (1992) Bone structure: from ångstroms to microns. *The FASEB Journal*. **6**: 879-885.
- [4] Rho, J. Y., Hobatho, M. C., Ashman, R. B. (1995) Relations of mechanical properties to density and CT numbers in human bone. *Medical Engineering & Physics*. **17**: 347–55.
- [5] Smith, R. (2004) *Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General*. U.S. Department of Health and Human Services, Office of the Surgeon General.
- [6] Fernández-Cantón, S. (2005) El IMSS en Cifras. Las intervenciones quirúrgicas. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. **43**(6): 511-520.
- [7] Wei, G., Ma, P. X. (2004) Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. **25**(19): 4749-4757.
- [8] Salgado, A. J., Coutinho, O. P., Reis, R. L. (2004) Bone tissue engineering: state of the art and future trends. *Macromolecular Bioscience*. **4**(8): 743-765.

- [9] Puppi, D., Chiellini, F., Piras, A. M., Chiellini, E. (2010) Polymeric materials for bone and cartilage repair. *Progress in Polymer Science*. **35**: 403-440.
- [10] Hench, L. L., Polak, J. M. (2010) Third-generation Biomedical Materials. *Science*. **295**: 1014-1017.
- [11] Chen, Q., Roether, J. A., Boccaccini, A. R. (2008) Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials. *Topics in Tissue Engineering*, Vol. 4, Capítulo 6.
- [12] Cao, W., Hench, L. L. (1996) Bioactive Materials. *Ceramics International*. **22**: 493-507.
- [13] Ducheyne, P., Qiu, Q. (1999) Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials*. **20**: 2287-2303.
- [14] Hench, L. L. (1988) Bioactive Ceramics. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **523**: 54-71.
- [15] Peitl Filho, O., LaTorre, G. P., Hench, L. L. (1996) Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5. *Journal of Biomedical Materials Research*. **30**: 509-514.
- [16] Rajendran, V., Nishara Begum, A., Azooz, M. A., El Batal, F. H. (2002) Microstructural dependence on relevant physical-mechanical properties on SiO₂-Na₂O-CaO-P₂O₅ biological glasses. *Biomaterials*. **23**: 4263-4275.
- [17] Vallet-Regí, M. (2010) Evolution of bioceramics within the field of biomaterials. *C. R. Chimie*. **13**: 174-185.

- [18] Best, S. M., Porter, A. E., Thian, E. S., Huang, J. (2008) Bioceramics: Past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society*. **28**: 1319-1327.
- [19] Jones, J. R. (2013) Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomaterialia*. **9**: 4457-4486.
- [20] Hench, L. L. (2006) The story of Bioglass[®]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. **17**: 967-978.
- [21] Greenspan, D. C. (1999) Bioactive glass: mechanisms of bone bonding. *Tandläkartidningen*. **91**(8): 31-35.
- [22] Li, R., Clark, A. E. and Hench, L. L. (1991), An investigation of bioactive glass powders by sol-gel processing. *Journal of Applied Biomaterials*. **2**: 231-239.
- [23] Xynos, I. D., Edgar, A. J., Buttery, L. D., Hench, L. L., Polak, J. M. (2001) Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass 45S5 dissolution. *Journal of Biomedical Materials Research*. **55**(2): 151-157.
- [24] Bonfield, W. (1988), Hydroxyapatite-Reinforced Polyethylene as an Analogous Material for Bone Replacement. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **523**: 173–177.
- [25] Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J., Boccaccini, A. R. (2006) Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. **27**: 3413-3431.
- [26] Roether, J. A., Boccaccini, A. R., Hench, L. L., Maquet, V., Gautier, S., Jérôme, R. (2002) Development and in vitro characterisation of novel bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams

and Bioglass[®] for tissue engineering applications. *Biomaterials*. **23**: 3871-3878.

[27] Allo, B. A., Costa, D. O., Dixon, S. J., Menquanint, K., Rizkalla, A. S. (2012) Bioactive and Biodegradable Nanocomposites and Hybrid Biomaterials for Bone Regeneration. *Journal of Functional Biomaterials*. **3**:432-463.

[28] Hong, Z., Reis, R. L., Mano, J. F. (2008) Preparation and in vitro characterization of scaffolds of poly(L-lactic acid) containing bioactive glass ceramic nanoparticles. *Acta Biomaterialia*. **4**: 1297-1306.

[29] Lannutti, J., Reneker, D., Ma, T., Tomasko, D., Farson, D. (2007) Electrospinning for tissue engineering scaffolds. *Materials Science and Engineering C*. **27**: 504-509.

[30] Beachley, V., Wen, X. (2009) Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length. *Materials Science and Engineering C*. **29**: 663-668.

[31] Liao, G., Jiang, S., Xu, X., Ke, Y. (2012) Electrospun aligned PLLA/PCL/HA composite fibrous membranes and their in vitro degradation behaviors. *Materials Letters*. **82**: 159-162.

[32] Kim, H-W, Lee, H-H, Knowles, J. C. (2006) Electrospinning biomedical nanocomposite fibers of hydroxyapatite/poly(lactic acid) for bone regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. **79**: 643-649.

[33] Yunos, D. M., Ahmad, Z., Boccaccini, A. R. (2010) Fabrication and characterization of electrospun poly-DL-lactide (PDLLA) fibrous coatings on 45S5 Bioglass[®] substrates for bone tissue regeneration applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. **85**: 768-774.

[34] Bretcanu, O., Misra, S. K., Yunos, D. M., Boccaccini, A. R., Roy, I., Kowalczyk, T., Blonski, S., Kowalewski, T. A. (2009) Electrospun nanofibrous

biodegradable polyester coatings on Bioglass[®]-based glass-ceramics for tissue engineering. *Materials Chemistry and Physics*. **118**: 420-426.

[35] Lee, H-H, Yu, H-S, Jang, J-H, Kim, H-W. (2008) Bioactivity improvement of poly(ϵ -caprolactone) membrane with the addition of nanofibrous bioactive glass. *Acta Biomaterialia*. **4**: 622-629.

[36] Báez García, J. E. (2006) *Síntesis y caracterización de la poli(ϵ -caprolactona) y copoliésteres por catálisis de compuestos de molibdeno*. Tesis de doctorado. Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México.

[37] Rivera Torres, F. (2011) *Estudio de nuevos compuestos acrílicos para uso dental*. Tesis de doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

[38] Wade, L. J. Jr. (2004) *Química Orgánica* (5a ed.). Madrid, España: Pearson Educación.

[39] Smart, L. E., Moore, E. A. (2005) *Solid State Chemistry: An Introduction* (3a ed.). E.U.A.: Taylor and Francis Group.

[40] Ospina Orejarena, A. (2011) *Obtención y caracterización de nanofibras de poli(ácido láctico) modificado con colageno mediante la técnica de electrohilado*. Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

[41] Alcántara Barrera, S. (2014) *Obtención de nanofibras modificadas de poli(ϵ -caprolactona) por electrohilado para aplicaciones biomédicas*. Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

[42] Chatzistavrou, X., Zorba, T., Chrissafis, K., Kaimakamis, G., Kontonasaki, E., Koidis, P., Paraskevopoulos, K. M. (2006) Influence of particle size on the crystallization process and the bioactive behavior of a bioactive glass system. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **85**(2): 253–259.

- [43] Lefebvre, L., Chevalier, J., Gremillard, L., Zenati, R., Thollet, G., Bernache-Assolant, D., Govin, A. (2007) Structural transformations of bioactive glass 45S5 with thermal treatments. *Acta Materialia*. **55**: 3305–3313.
- [44] Plewinski, M., Schickle, K., Lindner, M., Kirsten, A., Weber, M., Fische, H. (2013) The effect of crystallization of bioactive glass 45S5 on apatite formation and degradation. *Dental Materials*. **29**: 1256-1264.
- [45] Jones, J. R., Ehrenfried, L. M., Hench, L. L. (2006) Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. **27**: 964-973.
- [46] D'Souza, A. S., Pantano, C. G. (2002) Hydroxylation and Dehydroxylation Behavior of Silica Glass Fracture Surfaces. *Journal of the American Ceramic Society*. **85**(6): 1499-1504.
- [47] D'Souza, A. S., Pantano, C. G. (1999) Mechanisms for Silanol Formation on Amorphous Silica Fracture Surfaces. *Journal of the American Ceramic Society*. **82**(5): 1289-1293.