



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO DE CIENCIAS E INGENIERÍA DE MATERIALES
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

“FABRICACIÓN DE ANDAMIOS TUBULARES DE POLI(GLICEROL SEBACATO) Y
POLI(ϵ -CAPROLACTONA) PARA LA REGENERACIÓN DE ARTERIAS”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS E INGENIERÍA DE MATERIALES

PRESENTA:

I.Q. ANDRÓMEDA ANNIE LOUZ MONROY BRERA

TUTOR

DR. RICARDO VERA GRAZIANO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES (UNAM)

MIEMBROS DE COMITÉ TUTOR

DR. LUIS FELIPE DEL CASTILLO DAVILA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES (UNAM)

DR. JOAQUÍN PALACIOS ALQUISIRA
FACULTAD DE QUÍMICA (UNAM)

MÉXICO, D.F. JUNIO, 2015



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.

DEDICATORIA

A mi esposo Raúl

A mis hijos Luis, Paula y Damara

A mis padres Rubén y Ana Luz

A mis Hermanos Rubén, Cisne Deneb, Zavy y Dubhé.

A mis cuñados Juan Carlos y Adrián

A mis sobrinos Samantha, Ian, Valeria, Valentina y Ximenita

AGRADECIMIENTOS

A los donativos de DGAPA UNAM, Proyecto PAPIIT IN108913 y CONACYT, Proyecto CNPq 117373.

Al posgrado en Ciencias e Ingeniería de Materiales por permitirme formarme y al grupo de profesores e investigadores que ayudaron en la formación de nuevos investigadores de calidad.

Al Instituto de Investigaciones en Materiales por acogerme en sus instalaciones.

Al Dr. Ricardo Vera Graziano, por dirigir mi tesis, ser además de mi tutor una gran persona

Al Dr. Luis Felipe del Castillo y al Dr. Joaquín Palacios por formar parte de mi comité tutorial.

A los doctores miembros del jurado: Dr. Mikhail Zolotukhin, Dr. Ricardo Vera Graziano, Dr. Humberto Vázquez Torres, Dr. Alejandro Ramírez Reivich y Dr. Filiberto Rivera Torres.

Al Dr. Filiberto Rivera Torres por su gran apoyo en la realización de esta tesis.

Al Dr. Alfredo Maciel Cerda por su interés en este trabajo de tesis.

A la QFB. Damaris Cabrero por su colaboración en los análisis térmicos.

Al M. en C. Salvador López Morales por su colaboración en las mediciones de análisis de GPC.

Al Ing. Químico Gerardo Cedillo Valverde por su colaboración en las mediciones de análisis de NMR.

Al Químico Miguel Canseco por colaboración en los análisis de FTIR.

Al Dr. Omar Novelo Peralta por su colaboración y estudios de SEM.

A la M. en C. Adriana Tejeda Cruz por su colaboración en las mediciones de difracción de rayos-X.

A los Ingenieros en computación Alberto López Vivas, Caín González Sánchez y Joaquín Morales Rosales por su colaboración en la instalación de programas y por ayudarme en momentos difíciles, gracias

Al Dr. Raúl Montiel Campos por su colaboración en la realización de esta tesis y particularmente en el diseño y fabricación de instrumentación necesaria para la realización de este trabajo de tesis.

Al Dr. Humberto Vázquez por el apoyo y colaboración del este trabajo de tesis al permitirme usar las instalaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM-I).

Al Dr. Roberto Olayo de la UAM-I por sus comentarios e interés en este trabajo de tesis.

Al M. en C. Herón Gutiérrez de UAM-I por su colaboración en las mediciones de análisis mecánico

A mis compañeros del grupo de investigación por su ayuda y valiosos comentarios.

A todos mis compañeros de clase, gracias por su apoyo.

Índice General

Índice de Tablas.....	vi
Índice de Figuras.....	viii
RESUMEN.....	1
Resumen.....	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Introducción	4
II. JUSTIFICACIÓN	9
2.1 Justificación.....	10
III. OBJETIVOS.....	12
3.1 Objetivos	13
3.1.1 Objetivo General	13
3.1.2 Objetivos Particulares	13
IV. HIPÓTESIS	14
4.1 Hipótesis	15
V. ANTECEDENTES	16
5.1 Estado del Conocimiento	17
5.2 Tipos de Biomateriales	18
5.3 Propiedades Específicas de los Biomateriales	20
5.3.1 Propiedades Biológicas de los Biomateriales	20
5.3.2 Propiedades Físico-Químicas de los Materiales.....	21
5.3.3 Propiedades Físicas de los Materiales	23
5.4 Uso Combinado de Células Troncales y Biomateriales.....	25
5.5 Complicación en las Arteria.....	26
5.6 Poliéster Elastómericos de Poli(poliol de sebacato) (PPS)	31
5.6.1 Biocompatibilidad del Poli(glicerol de sebacato) (PGS)	38
5.6.2 Biodegradabilidad del Poli(glicerol de sebacato) (PGS)	38
5.7 Técnicas de Electrohilado	39
5.8 Parámetros de la Técnica de Electrohilado	43
5.9 Andamios para Arterias de PGS-PCL	43
VI. PARTE EXPERIMENTAL.....	46
6.1 Materiales y Sustancias (para síntesis)	47
6.2 Síntesis del prepolímero de poli(glicerol sebacato) (PGS)	48
6.2.1 La prepolimerización.....	48
6.2.2 El entrecruzamiento.....	48
6.3 Aparato de Electrohilado	49
6.4 Obtención de los Andamios de PGS-PCL	52
6.4.1 Preparación de la mezcla de PGS-PCL	52

6.4.2 Electrohilado	53
6.5 Microscopía Óptica	54
6.6 Técnicas para la caracterización de los andamios	55
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
7.1 Análisis Espectroscópico	59
7.2 Resonancia Magnética Nuclear (¹ HNMR).....	64
7.3 Resonancia Magnética Nuclear (¹³ CNMR).....	66
7.4 Estructura de los Polímeros.....	68
7.5 Características Térmicas	72
7.6 Ángulo de Contacto	79
7.7 Propiedades Mecánicas	79
7.8 Morfología de los Andamios	81
7.9 Distribución de pesos moleculares de los prepolímeros PGS.....	93
VIII. DISCUSIÓN GENERAL.....	95
8.1 Discusión General.....	96
IX. CONCLUSIONES	99
9.1 Conclusiones Generales	100
X. RECOMENDACIONES	101
10.1 Recomendaciones	102
XI. REFERENCIAS.....	103
11.1 Referencias	104
XII. ANEXOS.....	112
12.1 Anexo A	113
12.2 Anexo B	116
12.3 Anexo C	121
12.4 Anexo D	123
12.5 Anexo E	128
12.6 Anexo F	129

Índice de Tablas

Tabla 1	Primeras causas de muerte a nivel mundial.....	5
Tabla 2	Características y aplicaciones en los diferentes tipos de materiales utilizados en clínica.....	18
Tabla 3	Algunos tipos comunes de alcoholes del azúcar y sus estructuras.....	34
Tabla 4	Descripción del colector rotatorio.....	52
Tabla 5	Descripción de la transmisión del motor DC.....	52
Tabla 6	Principales enlaces de un espectro FT-IR del prepolímero PGS.....	60
Tabla 7	Principales enlaces en un espectro FT-IR del PCL	61
Tabla 8	Principales enlaces de un espectro de FT-IR del andamio PGS-PCL	63
Tabla 9	Principales enlaces de un espectro FT-IR del prepolímero PGS según datos de Franciliere	64
Tabla 10	Análisis del espectro ^1H NMR para prepolímero PGS	65
Tabla 11	Análisis del espectro ^{13}C NMR para prepolímero PGS	66
Tabla 12	Señales de WAXS más representativas del prepolímero PGS, elastómero PGS, la poli(ϵ -caprolactona) (PCL) y el andamio PGS-PCL	71
Tabla 13	Temperaturas de fusión, cristalización y en algunos casos la temperatura de Transición vítrea	78
Tabla 14	Temperaturas de descomposición de los materiales utilizados	78
Tabla 15	Efecto de la velocidad de flujo en el módulo elástico	81
Tabla 16	Módulo elástico de una arteria aorta nativa	81

Tabla 17 Análisis de SEM, donde se muestran variaciones del módulo elástico con respecto a la rapidez de flujo	92
Tabla 18 Propiedades mecánicas del andamio PGS-PCL.....	93
Tabla 19 Propiedades mecánicas de una arteria aorta nativa	93
Tabla A. Pesos moleculares del prepolímero PGS obtenido a diferentes tiempos de reacción	113
Tabla B. Andamios obtenidos por la técnica de electrohilado a diferentes condiciones..	116
Tabla C-1. Análisis de FT-IR del glicerol	121
Tabla C-2. Análisis de FT-IR del ácido sebácico	121
Tabla D-1. Propiedades físicas de los solventes	123
Tabla D-2. Parámetros generales de la técnica de electrohilado	123

Índice de Figuras

Figura 1.	
Principales causas de muerte en México	7
Figura 2.	
(a) Diagrama de fases de polímeros semicristalinos y amorfos. (b) modelo de lamelas con flecos de un polímero semicristalino, mostrando las regiones cristalinas y amorfas. (c) representación esquemática del detalle de una esferulita	23
Figura 3.	
Aneurisma (a) Se produce por efecto de la presión de la sangre que pasa por una parte de una arteria debilitada empuja la pared de la arteria hacia el exterior, formando lo que podría describirse como una ampolla. (b) Técnica no quirúrgica para tratar a pacientes de alto riesgo con aneurisma aórticos abdominales (cardiólogos del Instituto del Corazón de Texas fueron los primeros en utilizarla)	28
Figura 4.	
Aorta ascendente que presenta una sección anormal (aneurisma).....	29
Figura 5.	
Equilibrio de presiones externas e internas en las arterias.....	30
Figura 6.	
El sistema se integra con el corazón, que se encarga de bombea sangre a dos circuitos: Circuito pulmonar: lleva la sangre a los pulmones y fuera de estos. Circuito sistémico: distribuye la sangre a todos los órganos y tejidos del cuerpo y fuera de ellos	32
Figura 7.	
Estructura molecular del ácido sebácico (ácido decanodioico).....	33
Figura 8.	
Esquema de la de síntesis de poli(poliol de sebacato) (PPS) que muestra la formación de (a) una cadena de polímero PPS y (b) la reticulación entre dos cadenas de polímero PPS.....	35

- Figura 9.
Síntesis del poli(glicerol sebacato), por medio de la policondensación.....37
- Figura 10.
(a y b) son representaciones tridimensionales de andamios en forma de pliegues panal modelado por diseño asistido por computadora. (b) diseño micro fabricado de PPS y fotografiado usando microscopía electrónica de barrido (c), andamio que muestra una muy estrecha similitud con el modelo. Las barras de escala: (a) 1 mm, (b y c) 200 micras.....37
- Figura 11.
Diagrama esquemático del equipo de electrohilado arreglo típico horizontal.....41
- Figura 12.
Líneas de Campo (E) para aguja y colector plano para una distancia de 20 cm entre ellos. (b) Trazo del jet del electrohilado.....42
- Figura 13.
Evaluación de la adhesión celular y su morfología. A) Muestran las diferencias de la adhesión celular en un andamio de PCL y el otro andamio de PGS-PCL; en el segundo andamio (PGS-PCL) hay una mejor proliferación de células. B) Se muestra un análisis cuantitativo de la adhesión celular por medio de un ensayo AB (Azul de Alamar), donde hay una mayor proliferación en los ensayos de TCP (Placas de cultivo celular) y en los andamios de PGS-PCL. C) Las imágenes de escaneo láser confocal de células (verde) sembradas en andamios de PCL y PGS: PCL, después de una semana en el cultivo.....45
- Figura 14.
PGS. En esta imagen se muestra un matraz redondo de tres bocas con un condensador Liebig adaptado y una trampa Dean Stark, con llave, en otra entrada se introduce el gas nitrógeno de alta pureza y, por último, se tiene el agitador mecánico y un termómetro para registrar la temperatura a 120 °C en un intervalo de tiempo de 48 h.....47
- Figura 15.
Se muestran las dos etapas de una reacción de policondensación, donde la etapa (a) es la prepolimerización y la etapa (b) es el entrecruzamiento.....49
- Figura 16.
(a) La caja de electrohilado con inyector, con una aguja de diámetro de 21G, una cama de sílica para mantenerlo a una humedad constante, un hidrómetro. (b)

dispositivo colector que consta de un marco de cobre en un marco de madera, en el centro del marco se ha eliminado una porción de cobre rectangular para poder recolectar las fibras. (c) Colector rotatorio.....	51
Figura 17. El microscopio óptico más simple es la lente convexa doble con un distancia focal corta. (a) El Microscopio Óptico Olympus, fue usado para la observación y medición de las fibras. (b) Se muestra una de los andamios de fibra obtenido	55
Figura 18. Espectro FT-IR del prepolímero PGS, en esta grafica hacemos mención que es una policondensación a partir de los monómeros de glicerol y ácido sebácico	59
Figura 19. Espectro FT-IR de la poli(ε-caprolactona) (PCL), polímero hidrofóbico.....	61
Figura 20. Espectro FT-IR del andamio de PGS-PCL material hidrofílico.....	62
Figura 21. Espectros FTIR (a) muestras del prepolímero a distintos tiempos Franciliere , (b) La reacción del prepolímero en 24 h Wang [9].....	63
Figura 22. Molécula del prepolímero, donde se muestran el número de carbonos correspondiente a cada hidrógeno.....	64
Figura 23. Espectro de ¹ H NMR representativo del prepolímero de poli(glicerol sebacato). Las señales del glicerol están en el intervalo (3.5-5.5) ppm, y las señales del ácido sebácico fueron identificadas en (1.30, 1.62 y 2.35) ppm	65
Figura 24. Molécula del prepolímero, donde se muestra el número de carbonos.....	66
Figura 25. Espectro de ¹³ C NMR representativo del prepolímero poli(glicerol sebacato). Las señales del glicerol se encuentran en un intervalo de (62.393 – 77.545) ppm, el ácido sebácico ocurre en (24.998, 29.139 y 34.272) ppm, y el grupo éster a 174.137 ppm	67

Figura 26.	Difractograma de R-X de la poli(ϵ -caprolactona). El porcentaje de área cristalina es de 31.5 %	68
Figura 27.	Espectro de difracción de R-X del prepolímero PGS (M-13). El porcentaje de área cristalina es de 15.11 %	69
Figura 28	Espectro de difracción de R-X del Elastómero PGS.....	70
Figura 29.	Espectros de difracción R-X de la policaprolactona PCL, prepolímero PGS-PCL, elastómero PGS.....	70
Figura 30.	Termogramas del prepolímero PGS. (a) DSC muestra temperaturas de cristalización y fusión del prepolímero PGS. (b) TGA muestra la temperatura en la que empieza a descomponerse el prepolímero PGS.....	73
Figura 31.	Termogramas de la poli(ϵ -caprolactona) (PCL). (a) DSC muestra temperatura de fusión de poli(ϵ -caprolactona) (PCL). (b) Muestra temperatura de descomposición de la poli(ϵ -caprolactona) (PCL).....	74
Figura 32.	Termograma del elastómero PGS (a) DSC muestra las temperaturas de fusión, de transición vítrea y de cristalización del elastómero. (b) TGA muestra la temperatura de descomposición del elastómero.....	75
Figura 33.	Termogramas del andamio PGS-PCL. (a) DSC muestra temperaturas de fusión y cristalización del andamio PGS-PCL. (b) TGA muestra temperaturas de descomposición del andamio PGS-PCL.....	77
Figura 34.	Gráficas esfuerzo-deformación del andamio PGS-PCL. (a) Con una rapidez de flujo 0.5 mL/h. (b) Con una rapidez de flujo de 2.0 mL/h	80

Figura 35.	Micrografía SEM Muestra prepolímero PGS-PCL, en ampliaciones: X 1,000 y X 5,000, con barras de escala de 10 μm y 1 μm	84
Figura 36.	Reproducción de los andamios obtenidos por Shilpa Sant y colaboradores. El diámetro de fibra es de 2.89 μm para una concentración de 2:1 PGS:PCL.....	85
Figura 37.	Micrografías de andamios de PGS-PCL, en una relación 2:1, obtenidos a una rapidez de 0.5 mL/h. El diámetro promedio de fibra es de 1.6 μm . Tomadas a escala y ampliaciones diferentes. La barra de las micrografías es de 10 μm y 100 μm	86
Figura 38.	Micrografías de andamios de PGS-PCL, obtenidos a una rapidez de 2.0 mL/h. El diámetro de fibra no se reportó en este trabajo. El módulo elástico es de (7.8 ± 0.45) MPa.....	87
Figura 39.	Micrografías de andamios de PGS-PCL obtenidos a una rapidez de 2 mL/h. El diámetro de fibra es: 2.615 μm y el módulo elástico es de 13.046 ± 1.614 MPa. (a) con una escala de 10 μm y una ampliación de X 500, (b) con una escala de 10 μm y una ampliación de X 2500	88
Figura 40.	Andamio tubular de PGS-PCL.....	89
Figura 41.	Micrografías de andamio tubulares donde se muestra un corte transversal a diferentes ampliaciones.....	91
Figura 42.	Misma micrografías de andamios tubulares PGS-PCL, tomada longitudinalmente a diferentes ampliaciones.....	92
Figura A-1.	Se muestra difracción de los Rayos-X de los prepolímeros PGS (M-8, M-9, M-11, M-12 y M-13) presentan picos similares que son ligeramente diferentes a M-11,	

estos picos de rayos-X indican que todos los prepolímeros poseían componentes de cristales similares o estructuras ordenadas a temperatura ambiente [61].....	114
Figura A-2.	
Esquema de la técnica de MALDI-TOF	115
Figura C-1.	
(a) Análisis del espectro FT-IR del ácido sebácico. (b) Análisis del espectro de FT-IR del glicerol	121
Figura C-2.	
Se muestran los espectros de FT-IR del elastómero PGS, la PCL, la mezcla del prepolímero PGS y el prepolímero PGS	122
Figura D-1.	
(a) Imagen mostrando el rompimiento de fibras ocasionadas por una disolución polimérica muy diluida. (b) Fibras que se rompen en gotas, también por el efecto de una disolución muy diluida	125
Figura D-2.	
Se muestra una humedad muy alta posiblemente ocasionada por la saturación de la sílica en usos múltiples. En la micrografía se observa fibras irregulares y pequeños poros en la superficie de las fibras	125
Figura D-3.	
En esta micrografía se nota la formación irregular de las fibras con una cantidad de solvente alta, esto se debe a que la distancia aguja-colector es pequeña, lo cual ocasiona que el solvente no llegue a evaporarse por completo	126
Figura D-4.	
Micrografía tomada del microscopio óptico. En el cual se ven fibras bien definidas al azar	126
Figura D-5.	
Gráficas de Esfuerzo-Deformación del andamio de PGS-PCL con dos diferentes flujos de inyección	127
Figura E-1	
Esquema del colector rotatorio	128

RESUMEN

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte en el continente americano, además de ser una causa común de discapacidad, muerte prematura y altos costos para su prevención y control; ello representa un verdadero reto para la prevención en nuestro país. En México las ECV se encuentran entre las cinco principales causas de muerte. La Organización Mundial de Salud (OMS), en 2010, calculó que 17.3 millones de personas murieron a causa de las ECV, lo que representa un 30 % de todas las muertes registradas en el mundo, y la Dirección General Adjunta de Epidemiología (DGAE) estimó que de 1930 a 2012, las ECV eran la causa más frecuente de mortalidad en México, rebasando a las enfermedades infecciosas y parasitarias. Se reconoció que las ECV avanzan rápidamente tanto en los países desarrollados como en los que se encuentran en vías de desarrollo. En México, este grupo de enfermedades se ha declarado como un problema de salud pública, en otros países esto se ha elevado a una escala epidemiológica. La secretaría de Salud calcula que en el 2030 morirán cerca de 23.6 millones de personas por ECV, sobre todo por cardiopatías y accidentes cerebrovasculares. Se prevé que sigan siendo la principal causa de muerte. La OMS ha reportado en 2012 cifras alarmantes de factores que aumentan el riesgo de presentar enfermedades del corazón; la hipertensión es un trastorno de alto riesgo que causa la muerte por accidentes cerebrovasculares y coronariopatías. Datos de la ONU muestran que uno de cada tres adultos en el mundo tiene presión alta. La hipertensión arterial y el consumo de cigarrillos aumenta el riesgo de padecer un aneurisma.

Los aneurismas se presentan en arterias y venas y se caracterizan por la dilatación de la pared arterial con la posibilidad de una ruptura, lo que es un riesgo importante de muerte del paciente. La patología de las arterias afectan sus propiedades mecánicas, como son la arteriosclerosis, aterosclerosis, aneurisma y enfermedades genéticas como el síndrome de Marfan.

Los aneurismas son una de las patologías con más relevancia mecánica, y su rotura, representa un problema grave de riesgo médico, incluyendo el deterioro de sus propiedades mecánicas. La aorta es la arteria más importante del cuerpo humano. El deterioro de las propiedades mecánicas de la aorta, afecta la función cardíaca y está relacionada con las

ECV. Una solución es la operación para eliminar el aneurisma, pero es de alto riesgo con una probabilidad de 5% de mortalidad. Estadísticamente el riesgo de ruptura excede al de la operación cuando el diámetro de la aorta supera los 5.5 cm. Una solución más adecuada es remplazar la parte dañada de la arteria con un andamio. Un andamio en general tiene que proveer de manera temporal las funciones del tejido mientras se está generando. Los andamios tubulares con células endoteliales constituyen remplazos viables.

En este trabajo se realizó la preparación de microfibras, de dos biopolímeros poli(glicerol sebacato) (PGS) y poli(ϵ -caprolactona) (PCL), de hidrofiliidad diferente. Las fibras se obtuvieron por la técnica de electrohilado, posteriormente se procedió a la caracterización estructural de la mezcla polimérica y el análisis de sus propiedades. Se fabricaron andamios tubulares biodegradables mediante un proceso de electrohilado para su potencial aplicación en la regeneración de arterias en general, a partir de una mezcla antes mencionada.

Se muestra que los andamios de PGS-PCL fabricados por electrohilado forman una malla de microfibras, la cual puede ser controlada mediante los parámetros de este proceso, para producir tubos de diferente calibre así como microfibras de diferente diámetro y tamaño de poro.

Las propiedades mecánicas de los andamios obtenidos superan a las de una aorta de un adulto; esto es positivo, ya que inicialmente se requiere de un módulo elástico mayor para compensar el deterioro del soporte estructural, una vez que ha comenzado su degradación por efecto del crecimiento celular.

I. INTRODUCCIÓN

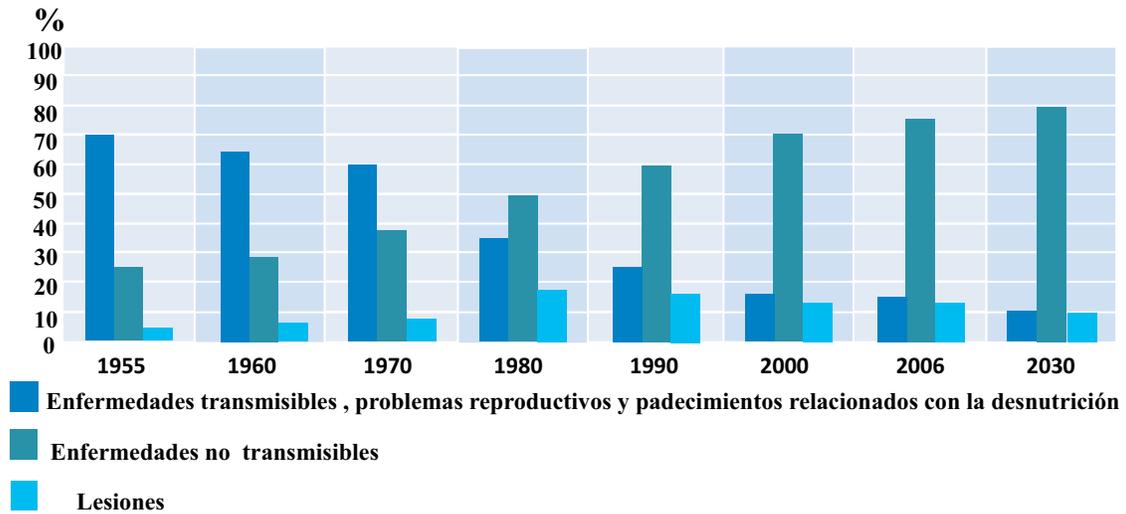
1.1 Introducción

Desde finales del siglo pasado a la fecha, las enfermedades cardiovasculares (ECV) han sido la causa número uno de muerte en el mundo. En particular en México se reconoce que las ECV forman parte de las cinco principales causas de muerte en el país y que este mal es el que ocupa el primer lugar como causa de muerte ver tabla 1. Al mismo tiempo, la Organización Mundial de Salud (OMS) ha reportado en 2012 cifras alarmantes de factores que aumentan el riesgo de presentar enfermedades del corazón, estas como la hipertensión es un trastorno de alto riesgo que causa alrededor del 51% de las muertes por accidentes cerebrovasculares y el 45% a coronariopatías. Datos de la ONU muestran que uno de cada tres adultos en el mundo tiene presión alta [1] un factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares. Estas enfermedades representan la causa más frecuente de mortalidad en el ámbito mundial, rebasando a las ocasionadas por enfermedades infecciosas y parasitarias. Asimismo reconoció que las enfermedades cardiovasculares avanzan rápidamente tanto en los países desarrollados como los que se encuentran en vías de desarrollo. Dicho problema, ha ocasionado que en México, este grupo de enfermedades se haya declarado como un problema de salud pública, y al igual que ocurre en otros países del mundo, este hecho se ha elevado en las últimas décadas a un grado tal que como resultado de esta escalada epidemiológica; las enfermedades del corazón constituyen la primera causa de muerte en el planeta, alcanzando anualmente cerca de 70,000 defunciones. La secretaría de Salud estimó que antes de la llegada del nuevo milenio, cerca de 26,000 muertes ocurrirán por enfermedades cardiovasculares, Figura 1, [2], y pronostica que en 2030, casi 23.6 millones de personas morirán por ECV, principalmente por cardiopatías y accidentes cerebrovasculares [3,4].

Tabla 1. Primeras causas de muerte a nivel mundial [1]

No	Causa
1	Cardiopatía isquémica
2	Afección cerebrovascular
3	Infecciones de las vías respiratorias inferiores
4	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
5	Enfermedades diarreicas

Muertes por distintos tipos de padecimientos, México 1955-2030

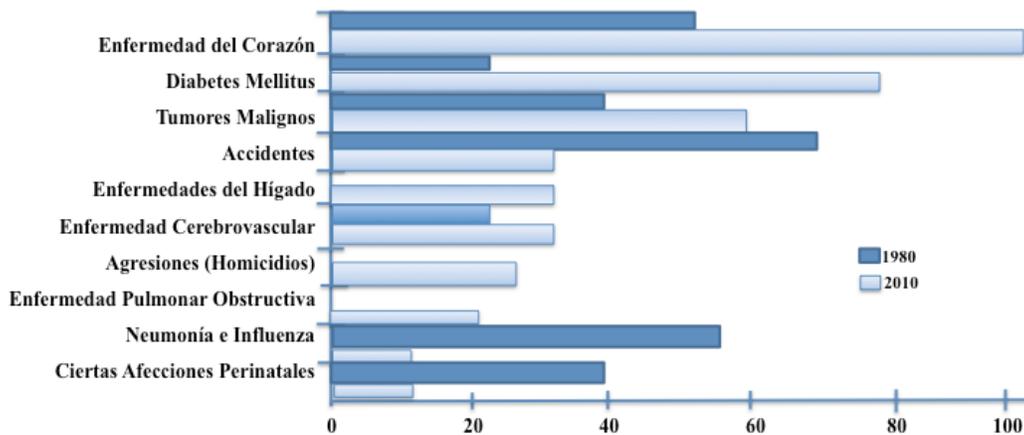


Fuente: DGIS, Secretaría de Salud (datos propios no publicados)

Las muertes por enfermedades no transmisibles y lesiones concentra casi el 85% del total de muertes en el país.

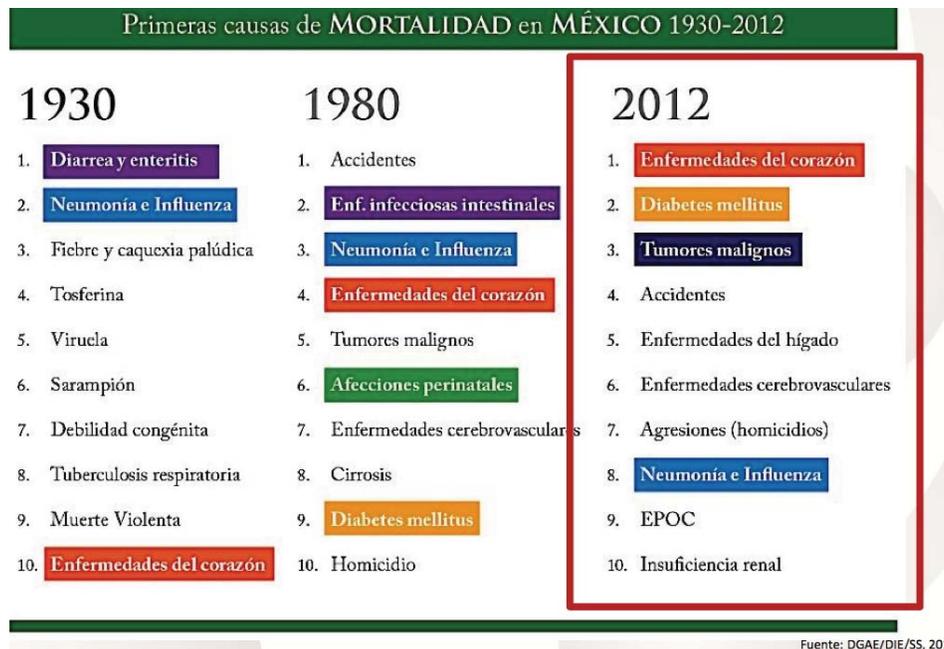
(a)

Principales causas de Mortalidad General 1980-2010



*Tasa por 100 000 habitantes.
FUENTE: - Dirección General de Información en Salud (DGIS). Base de datos defunciones 1979-2010. Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS). Secretaría de Salud.

(b)



(c)

Figura 1, (a) principales causas de muerte en México de 1955-2030 [2], (b) principales causas de mortalidad general 1980-2010 [4] y (c) principales causas de muerte 1930-2012 [3].

Con las consideraciones antes mencionadas, se puede asegurar que los accidentes cerebrovasculares constituyen un problema grave de salud pública en nuestro país, ya que al constituir una de las causas más importantes de mortalidad y morbilidad permanente, esto debería provocar una mayor atención en el diseño de las políticas de los sistemas de salud por parte del estado, que se refleje en un mejor equipamiento, infraestructura, condiciones de las clínicas, mayores recursos económicos y humanos especializados en este tipo de enfermedades dedicados a la recuperación de la salud de los pacientes, y a la investigación para atacar con mayor vigor y eficiencia las diversas posibilidades de saneamiento de las complicaciones ocasionadas por las enfermedades cardiovasculares y la reducción del grado de mortandad de las mismas.

Estos antecedentes motivaron la realización de esta tesis como se explica en la siguiente sección.

En este trabajo, se realizó un estudio sobre la fabricación de andamios tubulares por medio de la técnica de electrohilado (“Electrospinning”), a partir de la mezcla de dos polímeros biocompatibles y biodegradables: poli(glicerol sebacato) (PGS) y poli(ϵ -caprolactona) (PCL) los cuales servirán de estructuras de soporte para su uso posterior en la regeneración, proliferación y conexión, de las células del tejido endotelial para inducir el crecimiento de la matriz extracelular, en arterias.

II. JUSTIFICACIÓN

2.1 Justificación

De acuerdo con las estimaciones de la OMS, ha muerto más gente por enfermedades no transmisibles que las transmisibles. Las estadísticas muestran que las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de mortalidad en el mundo. Los problemas cardíacos suelen ser muy variados y diferentes tanto en sus síntomas como en sus complicaciones, aunque todos tienen un denominador común: la prevención. Este tipo de enfermedades es un problema muy grave para el sector salud, ya que es más caro el tratamiento que la prevención. Las enfermedades coronarias incrementan con el envejecimiento de la población y con el aumento de la obesidad [5]. En la actualidad, la cirugía de “bypass” utilizando vasos autólogos, los aloinjertos y los injertos sintéticos son de uso común como substitutos de las arterias [6]. Sin embargo, estos injertos tienen una aplicación limitada, cuando el diámetro interior de las arterias es menor a 6 mm, debido a la escasa viabilidad, las complicaciones de trombosis, el desajuste en su funcionabilidad, y la hiperplasia como secuela final (aumento en número de células) [7,8]. Una de las opciones para superar este tipo de limitaciones es la aplicación de la Ingeniería de Tejidos (IT) como una alternativa prometedora para el desarrollo de estructuras de soportes celulares o andamios de forma tubular de diámetro adecuado, los cuales resultan ser de construcción robusta y compatible, para evitar el efecto trombo-genético arterial. Además de las investigaciones sobre las propiedades de biocompatibilidad y carácter bioabsorbibles de los materiales empleados para la fabricación de los andamios.

Con los estudios realizados se ha llegado a comprender que las propiedades mecánicas de la arquitectura de los andamios, enfocados a imitar las características de los tejidos naturales, son de vital importancia para las aplicaciones en la restauración de tejidos vasculares. En años recientes, en el campo de la ingeniería de tejidos se han sintetizado y desarrollado una amplia gama de materiales poliméricos con diversas propiedades tanto mecánicas como biológicas que permiten su uso en la fabricación de soportes celulares o andamios, demostrando en algunos casos sus diferentes características que los hacen viables para la regeneración celular. Las características de tipo estructural como diámetros de fibras, mallas, películas, cúmulos, etc. han sido ampliamente estudiados. Y como resultado de dichos estudios, se han encontrado una serie de materiales de tipo polimérico tales como:

poli(ácido láctico) en sus dos formas pseudoquiriales de tipo óptico Levógiro y Dextrógiro (PLLA y PLDA), poli(ϵ -caprolactona) PCL, poli(carbonato uretano) PCU, poli(ácido glicólido) PGA, y otros más como el poli(glicerol sebacato) PGS. Sin embargo, una de las razones por la que se utilizó una mezcla de PGS-PCL en varias proporciones es porque los andamios fabricados con este acoplamiento polimérico inducen el desarrollo de la Matriz Extra Celular, denominada ECM por sus siglas en Inglés.

Otras de las estas razones por las que se usó el sistema PGS-PCL son discutidas a continuación:

- El PGS y el PCL son polímeros biocompatibles y bioabsorbibles, lo cual quiere decir que no provocan rechazo en el organismo vivo, y en cierto tiempo son absorbidos por él y desechados por vía urinaria
- El PGS está hecho a base de glicerol, el cual es un bloque de construcción básica para los lípidos [9], y el ácido sebácico es un ácido dicarboxílico obtenido a partir de la destilación seca del aceite de ricino, el ácido sebácico es un intermedio metabólico en la β -oxidación. Se ha demostrado ser seguro *in vivo*. The Food and Drug Administration ha aprobado el glicerol y polímeros que contengan ácido sebácico para aplicaciones medicas. Además el ácido sebácico tiene la longitud de cadena apropiada [10].
- Los polímeros PGS-PCL inducen la proliferación de células cardiacas.
- Se ha demostrado que la combinación de este par de polímeros PGS-PCL incrementa el crecimiento celular. El PGS proporciona la elasticidad necesaria para soportar la fuerza pulsátil del corazón, mientras que el PCL es utilizado a menudo por su poder de compatibilidad, como aditivo para mejorar las propiedades de otros polímeros.
- A pesar de que el poli(ácido láctico) PLA, es ampliamente usado en la fabricación de andamios, éste se degrada heterogéneamente perdiendo partes importantes de su morfología y disminuyendo en poco tiempo las propiedades del andamio.
- Por el contrario, el PGS se degrada homogéneamente por erosión, por lo que mantiene la geometría de la estructura del andamio, las propiedades mecánicas se van degradando conforme se incrementa la matriz extra celular [11].

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivos

3.1.1 Objetivo General

El objetivo general de este estudio es desarrollar una técnica de fabricación de andamios tubulares para su aplicación en la ingeniería de tejidos, con el fin de lograr la regeneración celular de la arteria, utilizando una mezcla del prepolímero poli(glicerol sebacato) y de poli(ϵ -caprolactona).

3.1.2 Objetivos particulares

- i).**- Optimizar la síntesis del prepolímero de PGS.
- ii).**- Obtener soluciones con mezclas de PGS-PCL en condiciones de viscosidad y retención de carga eléctrica mejores para fabricar andamios por electrohilado.
- iii).**- Fabricar los andamios tubulares de PGS-PCL.
- iv).**- Caracterizar los andamios obtenidos por SEM, WAXS, GPC, NMR, DSC y TGA
- vi).**- Estudiar las propiedades mecánicas de los andamios obtenidos.

IV. HIPÓTESIS

4.1 Hipótesis

La combinación de dos materiales biodegradables, el PGS con características elastoméricas, y la PCL con poder de compatibilidad, para mejorar la fijación y proliferación celular, en donde se produzca la propagación de las células endoteliales provenientes de venas del cordón umbilical humano (HUVECs), lo que permitirá la fabricación de andamos tubulares con propiedades biomecánicas útiles en la regeneración de arteria.

V. ANTECEDENTES

5.1 Estado del Conocimiento

El término biomaterial designa a aquellos materiales utilizados en la fabricación de dispositivos que interactúan con sistemas biológicos y que se aplican en diversas ramas de la medicina. Entre las características de los materiales no puede faltar la de ser biocompatibles, y biodegradables, por lo que resulta imprescindible evaluar estas características en un material ya que al permanecer en contacto con los tejidos vivos, se debe evitar la producción de reacciones no deseadas en la interfaz tejido-material durante el tiempo necesario que debe realizar su función [5,6].

En la actualidad, el uso de biomateriales con fines regenerativos está ampliamente extendido en el campo de la biomedicina. La aplicación de polímeros sintéticos y naturales comienza a ser frecuente para el tratamiento de las heridas, los sistemas de liberación de fármacos, los injertos vasculares o la reconstrucción de tejidos. Del mismo modo, el empleo de biomateriales en el ámbito quirúrgico es múltiple y variado. En los implantes permanentes del sistema esquelético muscular, como las uniones en las extremidades superiores e inferiores así como miembros artificiales permanentes; en el sistema cardiovascular, como las válvulas, el corazón entero, arterias y venas; en el sistema respiratorio para la laringe, tráquea y bronquios, diafragma, pulmones y caja torácica; en el aparato digestivo, esófago, conductos biliares e hígado; en el sistema genitourinario; en sistema nervioso y central, con las lentes y prótesis de córneas, oídos, e incluso para implantes cosméticos maxilofaciales. Actualmente, los trabajos de investigación en este campo pretenden conocer las interacciones específicas entre las propiedades físico-químicas del material, química de la superficie, y su consecuente propiedad hidrofílica o hidrofóbica, las propiedades mecánicas, la absorción de ciertas proteínas y la observación de comportamientos celulares, como: la adhesión, activación, incorporación de factores de crecimiento y liberación de citoquinas. En terapia celular, algunos grupos observan la generación de nuevos vasos sanguíneos en torno a la matriz o en su interior, favoreciendo un ambiente apropiado para el buen desempeño del papel regenerativo [7]. De este modo se plantea la inducción de una pre-vascularización en el lugar del trasplante celular aportando oxígeno y nutrientes a las células implantadas en el huésped. El creciente interés por diseñar nuevos biomateriales compatibles con el sistema nervioso, es un objetivo prioritario

de la ingeniería de tejidos. No obstante, en el diseño y evaluación de nuevos biomateriales destinados a estrategias neuroregenerativas se requiere una especial atención dada la complejidad del sistema nervioso.

5.2 Tipos de biomateriales

Existen diversos aspectos de crucial interés en el diseño y propiedades de los biomateriales con fines regenerativos, en la actualidad existe una gran cantidad de biomateriales diferentes que, según su composición, se pueden clasificar en biomateriales metálicos, biomateriales cerámicos o biomateriales polímeros naturales o sintéticos. De acuerdo a su composición, dichos biomateriales se pueden clasificar en forma general como se muestra en la Tabla 2, en la cual se pueden observar algunas ventajas, desventajas y sus correspondientes aplicaciones [75].

Tabla 2. Características y aplicaciones en los diferentes tipos de materiales utilizados en clínica [75].

Material	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
POLÍMEROS	Elásticos, relativamente fáciles de fabricar, baja densidad.	Baja resistencia mecánica degradación con el tiempo.	Suturas, arterias, venas, nariz, dientes
METALES	Resistencia a esfuerzos de alto impacto, alta resistencia al desgarre.	Baja compatibilidad, corrosión en medios fisiológicos, alta densidad, pérdida de propiedades mecánicas con tejidos conectivos suaves.	Fijación ortopédica, tornillos, clavos, placas, barras intermedulares, implantes dentales
CERÁMICAS	Buena compatibilidad, resistencia a la corrosión inerte.	Fractura ante esfuerzos de alto impacto, difícil fabricación, baja resistencia mecánica, no elásticos, alta densidad.	Prótesis de cadera, dientes, dispositivos transcutáneos.
COMPUESTOS	Buena compatibilidad, inertes, resistencia a la corrosión, alta resistencia a los esfuerzos.	Carecen de consistencia en la fabricación del material.	Válvulas cardiacas, marcapasos, uniones óseas.

En medios acuosos, los biomateriales metálicos o aleaciones de Cobalto, Cromo, Titanio, Aluminio, etc., la corrosión es un problema general [75], ya que a la temperatura corporal de 37 °C ésta se incrementa deteriorando la superficie y resistencia de los injertos fabricados con metales. Las investigaciones se han orientado a la búsqueda de nuevas aleaciones para que su superficie tenga las texturas requeridas para una respuesta biológica deseada. Los materiales cerámicos tienen baja reactividad, lo cual inhibe la corrosión y por lo tanto una característica inerte que le da una buena biocompatibilidad. Los materiales cerámicos más estudiados, son los biovidrios y la hidroxiapatita, los cuales se emplean en la reparación de dientes y huesos ya que tienen una eficiente integración al tejido vivo. Algunos estudios se orientan al desarrollo de cementos quirúrgicos adicionados con rellenos cerámicos que les permite una mejora en la fijación y estabilización del implante por mayor tiempo, promoviendo la diferenciación celular e induciendo la formación de depósitos de hidroxiapatita de la fase biológico en la interface de contacto entre cemento y hueso, lográndose el crecimiento de tejido nuevo [12-14].

Existe una gran variedad de biomateriales sintéticos y naturales que forman e integran los llamados polímeros y proteínas, los cuales ha sido usados desde hace varias décadas en la aplicación de injertos y prótesis. Entre los materiales poliméricos se encuentran una gran cantidad de productos tales como los poliésteres, poliamidas, poliacrilatos polivinílicos, poliglicéricos, y otros muchos más, que también ofrecen la posibilidad de ser manipulados de muy distintas maneras formando compuestos, con características físico-químicas bien determinadas. Los polímeros tienen la versatilidad de forma por lo que pueden obtenerse como fibras, tejidos, polvos y películas o bloques [15-18], lo que les permite ser utilizados en la fabricación de dispositivos biomédicos como componentes de un solo tipo de polímeros o en forma de bloque con varios tipos de polímeros, muy utilizados en la fabricación de dispositivos biomédicos. Un importante tipo de polímeros empleados actualmente en la Ingeniería de Tejidos (IT), son los polímeros bioabsorbibles [18-20] los cuales son degradados en el medio biológico siendo sus productos de degradación, no tóxicos y eliminados naturalmente por el organismo. Una característica de importancia vital es que este tipo de materiales pueden ser incluso utilizados como soporte (andamios) de células vivas, en el remplazo de tejidos, ya sean duros o blandos, o como piezas y dispositivos en la fijación de fracturas óseas. Otra utilidad de máximo interés en el empleo

de este tipo de biomateriales son los sistemas de liberación controlada de fármacos. Existen estudios sobre materiales híbridos que han despertado gran interés sobre el diseño de sistemas formados por la combinación de materiales poliméricos sintéticos y naturales [21] los cuales tienen múltiples aplicaciones, entre las que se pueden mencionar la generación de biosensores capaces de reconocer señales químicas [22] o los sistemas de liberación controlada de fármacos. Otro campo de gran interés en la actualidad es el diseño de biomateriales poliméricos con superficies modificadas que contengan moléculas capaces de interactuar de forma específica con el medio biológico [23].

5.3 Propiedades específicas de los biomateriales

La viabilidad de los procesos de implantes e injertos, dependen de una serie de factores tales como las características químicas, físicas y la textura de la superficie del implante, su forma y diseño, así como también de la solubilidad y reactividad de la superficie a implantar, la presencia de bacterias en el medio de implante, el pH, los fluidos intercelulares y los elementos biomecánicos. Es decir, los materiales destinados a la fabricación de implantes deben reunir una serie de propiedades biológicas, físicas, químicas y mecánicas específicas.

5.3.1 Propiedades biológicas de los biomateriales

Cualquier material implantado en el organismo no debe provocar reacciones adversas que impidan obtener el efecto deseado; es decir, el material debe ser biocompatible. Por tanto para evaluar un biomaterial compatible, es necesario tener en cuenta una serie de factores:

- Los componentes deben de ser derivados de fuentes biológicas.
- Las unidades básicas deben ser tratables para modificar el diseño y así lograr necesidades específicas.
- Exhibir un grado controlado de degradación del material.
- No ser citotóxico.
- Poseer propiedades que promuevan las interacciones célula-sustrato.
- Producir la mínima respuesta inmune e inflamatoria.
- Fácil y reproducible la producción, la purificación y el proceso del material.

- Compatible químicamente con soluciones acuosas y condiciones fisiológicas.
- Inducir el crecimiento del tejido.
- Permanecer estable en la zona donde es implantado durante un periodo de tiempo que permita la reparación del tejido. Esto implica una respuesta inflamatoria controlada y degradación relativamente lenta.

5.3.2 Propiedades Físico – Químicas de los Biomateriales

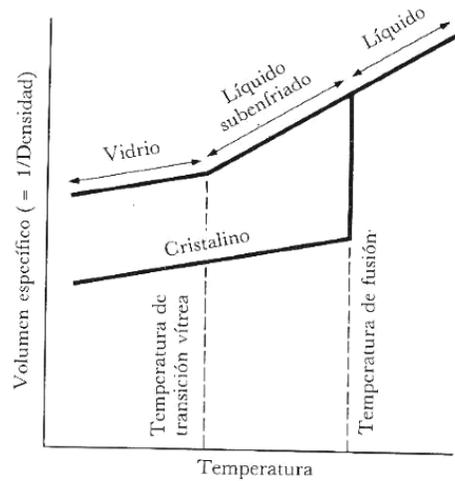
Los materiales pueden presentar diversas alteraciones superficiales como son la corrosión, la solubilidad de algunos componentes o su desintegración en función del tiempo. Es decir, el material debe poseer un cierto grado de degradación para asegurar el mantenimiento de una estructura de soporte necesaria, desde el momento de implante hasta que el nuevo tejido formado sustituya a dicho soporte. En este sentido es bien conocido el aumento en la degradación de un material dependiendo de la porosidad del mismo [24].

Algunas de las propiedades físico - químicas más importantes de los biomateriales son la cristalinidad, la morfología, el comportamiento térmico, el comportamiento mecánico y la resistencia a la degradación química en general. La morfología derivada de la estructura cristalina de un polímero es más compleja que la de los materiales metálicos o cerámicos, ya que estos son muy cristalinos y presentan un gran orden de largo alcance debido a su bajo peso molecular, en tanto que los polímeros implican, el ordenamiento de las macromoléculas y, por tanto, la complejidad es mayor. La cristalinidad polimérica puede considerarse como el comportamiento de cadenas moleculares para producir una disposición atómica ordenada. En los polímeros semicristalinos cuando se enfrían desde su estado líquido, se produce un repentino descenso de su volumen específico, como se indica en la figura 2a. Esta disminución se origina en un mayor empaquetamiento de las cadenas poliméricas, que se ordenan bajo la acción de fuerzas secundarias. A medida que el enfriamiento continúa también se reduce la movilidad de las cadenas que no integran los cristales, es decir, se manifiesta la transición vítrea en la región amorfa. El cambio de pendiente en la curva de volumen específico debido a esta transición será apreciable si la fracción amorfa de la muestra es significativa.

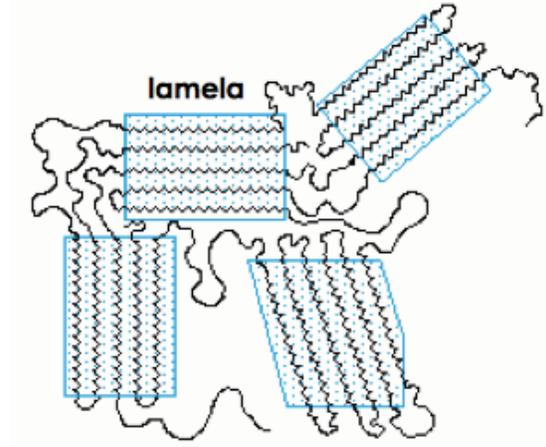
La morfología de las cadenas de un polímero semicristalino puede esquematizarse como se ilustra en la figura 2b. Algunos segmentos de cadena plegadas sobre si mismas o de

cadenas que se aproximan lo suficiente como para dar lugar a la acción de fuerzas de Van der Waals forman pequeñas regiones ordenadas. Si se observa más de cerca estas regiones (con microscopía electrónica de transmisión) veremos que la longitud de los pliegues es de aproximadamente de 10 nm. Cada una de las capas sencillas en que se organiza la estructura de las cadenas plegadas se denomina laminilla o lamela. Cuando se solidifica el material, las lamelas suelen crecer alrededor de un núcleo tomando una forma esferoidal denominado esferulítica. La esferulita consiste en un agregado de lamelas, dispuestas en forma radial como se muestra en la figura 2c. Se destaca que las lamelas están separadas por material amorfo. Los segmentos de las moléculas que actúan como lazos conectores entre lamelas adyacentes no son cristalizables y constituyen la región amorfa. A medida que termina la cristalización de la estructura esferulita, los extremos de las esferulitas adyacentes impactan unos sobre otros, aplanando sus bordes y distorsionando su configuración esférica, fenómeno conocido como teselación. En el caso del comportamiento térmico hay que distinguir dos temperaturas, la de fusión T_m , y la de transición vítrea T_g que es la temperatura o pequeño intervalo de temperaturas por debajo del cual un polímero se encuentra en un estado vítreo y encima de él, este presenta un comportamiento viscoelástico. Esta temperatura es de extrema importancia para el procesador, ya que permite determinar la factibilidad de emplear un polímero para ciertas aplicaciones. Por ejemplo, si tenemos un polímero con una T_g de 100 °C y otro con una T_g de -20 °C, el primero será un material rígido a temperatura ambiente, mientras que el segundo será flexible [26].

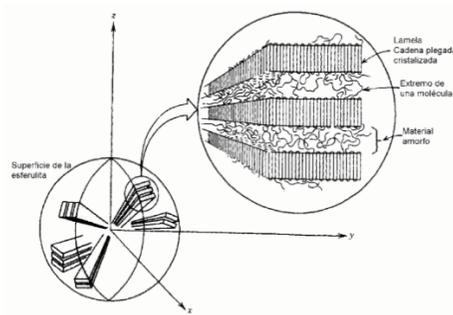
La temperatura de transición vítrea T_g no es lo mismo que el fundido. El fundido es una transición que se manifiesta en la parte cristalina de los polímeros, ocurre cuando las cadenas poliméricas abandonan sus estructuras cristalinas y se transforman en un líquido desordenado. La transición vítrea es una transición que se mantienen en la parte amorfa de los polímeros, es decir, polímeros cuyas cadenas no están dispuestos según un ordenamiento cristalino, si o que están esparcidas en cualquier ordenamiento aun en estado sólido.



(a)



(b)



(c)

Figura 2 (a) Diagrama de fases de polímeros semicristalinos y amorfos. (b) modelo de lamelas con flecos de un polímero semicristalino, mostrando las regiones cristalinas y amorfas. (c) representación esquemática del detalle de una esferulita [27].

5.3.3 Propiedades Físicas de los Biomateriales

Los materiales seleccionados como implantes deben poseer características mecánicas y morfológicas adecuadas como estabilidad dimensional, elasticidad y resistencia mecánica, porosidad, interconectividad y tamaño de poros, superficie específica, permeabilidad y rugosidad. Las características de la superficie del implante: rugosidad, porosidad, potencial eléctrico, y comportamiento hidrofóbico o hidrofílico, son factores decisivos que afectan su

biocompatibilidad y determinarán la interacción del implante con las células adyacentes y su capacidad de colonizar su superficie.

La rigidez de un implante indica la mayor o menor deformación que experimenta ante la aplicación de cargas y se determina mediante el módulo de elasticidad. En un estudio *in vitro* [28] en el cual se cultivaron células de origen neuronal sobre biomateriales de distinta rigidez se demostró que existía una predisposición por parte de las neuronas para crecer sobre sustratos flexibles, mientras que los astrocitos (células de procesamiento) se extendían y se adherían mejor a sustratos más rígidos. La rigidez mecánica puede afectar a procesos de locomoción celular, morfología, adhesión celular e incluso a la expresión de ciertas proteínas del citoesqueleto (entramado tridimensional de proteínas que provee soporte interno en las células). La tensión que la célula es capaz de establecer depende de las propiedades inherentes de la matriz extracelular (cavidades o espacios entre las capas celulares o entre los grupos de células); una matriz relativamente rígida soportará una fuerza celular mayor que otra más blanda, favoreciendo que la célula se extienda sobre su periferia. No todos los tipos celulares parecen ser sensibles a la rigidez del sustrato, y no todos los tipos celulares mecano-sensitivos responden de forma similar a los cambios en la rigidez del sustrato. Muchas células estudiadas se extienden, se adhieren y sobreviven mejor en matrices rígidas, mientras en otros casos lo hacen sobre matrices blandas (Módulo < 50 Pa).

Otras propiedades estructurales a considerar en el diseño de biomateriales son la porosidad, la interconectividad y el tamaño de poros, así como la anisotropía, la permeabilidad y la superficie específica. Estas características influyen tanto sobre las propiedades mecánicas del andamiaje como en su funcionalidad biológica. Una elevada porosidad y una gran superficie específica son indispensables para la uniformidad del crecimiento celular y para conseguir una adherencia adecuada de los tejidos en crecimiento. Una alta porosidad facilita el arreglo de muchas células, así como la presencia de poros interconectados facilita la distribución uniforme de las células y la difusión de oxígeno y nutrientes [29]. Sin embargo, una matriz con porosidad elevada también posee una resistencia mecánica muy baja, por lo que es necesario encontrar un equilibrio entre difusión en el interior de la matriz y las propiedades mecánicas de la misma. Por otro lado, una de las características que determina la biocompatibilidad de un sustrato es su grado de hidrofobicidad o

hidrofilicidad que se determina por medidas de su ángulo de contacto. El ángulo de contacto a menudo se toma como parámetro indicativo de la humectabilidad de la superficie de un material y correlaciona los fenómenos de interacción que ocurren con el medio biológico. Diversos estudios sobre la proliferación celular en biomateriales poliméricos tales como ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA) y ácido poli(láctico-glicólico) (PLGA) demostraron que se produce una mayor adhesión celular cuando el grado de hidrofilicidad es moderado o ligeramente hidrofóbica [29,31].

Por otro lado, el acabado final y la textura de una superficie también influyen para definir la capacidad de desgaste, resistencia a la fatiga y aspecto externo de un material, por lo que la rugosidad es un factor importante a tener en cuenta en la adhesión, proliferación y diferenciación celular [32,33]. Para evaluar las diferencias de rugosidad se emplean, técnicas como la microscopía electrónica de barrido y la microscopía óptica.

5.4 Uso combinado de Células Troncales y Biomateriales

Recientemente se han realizado numerosos estudios enfocados al uso combinado de células sobre biomateriales con fines regenerativos. Las células troncales o células madre son aquellas células dotadas simultáneamente de la capacidad de auto-renovación (producir nuevas células troncales) y de originar líneas celulares diferentes, es decir, tener la capacidad potencial de dar lugar a unos 220 tipos celulares diferentes, los cuales constituyen la totalidad del cuerpo humano. No obstante que el tema es aún objeto de estudio y discusión, las características que debe cumplir una célula troncal para ser utilizada en terapias celulares son:

- Ser pluripotente, es decir, generar cualquier tipo de célula que constituya parte del organismo adulto.
- Tener capacidad de proliferar, es decir, de autorrenovarse de forma indefinida.
- Poseer un fenotipo estable, bien caracterizado desde el punto de vista molecular.
- Carecer de potencial tumorigénico.
- Ser susceptible de manipulación genética, para permitir modificaciones genómicas precisas, incluyendo la introducción de genes terapéuticos. Las células troncales de

embrión se diferencian para dar una gran variedad de tipos celulares (células endoteliales, cardiomiocitos, neuronas y células gliales, células musculares...) [34-36].

5.5.- Complicaciones en las Arterias

La pared de los vasos sanguíneos está formada por una capa de células epiteliales, el endotelio y cantidades variables de colágeno, elastina y fibras musculares lisas. La capacidad de deformación y recuperación de un vaso es un factor importante en la hemodinámica.

A través de la pared vascular se mide una diferencia de presión entre el interior y el exterior, denominada presión transmural. La presión intravascular se debe a la contracción cardíaca, así como la distensión elástica de la pared. La presión exterior es la presión hidrostática de los líquidos intersticiales y presenta un valor próximo a cero. Si la presión exterior es superior a la interior, el caso se colapsará y si la presión interior aumenta (hipertensión arterial) y su radio aumenta de tamaño, es probable que se de la ruptura del aneurisma.

La presión transmural (según la ley de Laplace para cilindros huecos de extremos abiertos) dependerá del radio del cilindro “r” ; de espesor de la pared “e”; y de la tensión parietal T o fuerza por unidad de longitud.

$$P_t = P_i - P_0 = (T * e) / r \quad (1)$$

Esta tensión parietal puede despejarse de la ecuación anterior,

$$T = (P_i - P_0) r / e \quad (2)$$

Siendo $P_i - P_0$, la presión transmural (P_t), o diferencia de presión entre el interior del vaso y el exterior; r el radio de la arteria y e, el espesor de la pared vascular. La tensión parietal se mide en N/m^2 . Así a igual presión, la tensión parietal será tanto mayor cuanto mayor sea el radio y cuanto más delgada sea la pared.

El crecimiento del aneurisma es una manifestación de la ley de Laplace, astrónomo matemático francés quien afirma que la tensión miocárdica es directamente proporcional a la presión dentro de la cavidad ventricular multiplicada por el radio del ventrículo y es inversamente proporcional al espesor de la pared, esto quiere decir que al aumentar P debe también aumentar T, lo que lleva a la dilatación de la pared de la arteria y al incremento de

su radio. Pero, como quiera que el volumen de la pared de la arteria aorta se pueda considerar constante, el aumento del radio de la arteria aorta debe ir acompañado de adelgazamiento de su pared. A raíz de ello, al aumentar P también debe de aumentar la relación r/e , circunstancia que implica el crecimiento todavía mayor de T , y así sucesivamente. De este modo, cualquier aumento de la presión arterial, al parecer, debería provocar el crecimiento en avalancha de r y la disminución de e que conduciría a la ruptura del aneurisma.

Los aneurismas se forman en arterias de cualquier tamaño. Se produce un aneurisma cuando la presión sanguínea induce que la pared de la aorta debilitada se deforme hacia afuera, formando lo que podría describirse como una ampolla (Figura 3). No todos los aneurismas son peligrosos. Pero si la dilatación de la aorta es grande se podría romper, provocando una hemorragia de consecuencias graves o fatales. Así, un aneurisma en el cerebro provoca un daño cerebral y frecuentemente la muerte. La disección aórtica se produce cuando las capas de la pared de la aorta se separan o desgarran, permitiendo que se infiltre la sangre, ésta ya no puede circular libremente entre las capas, lo cual las separa aún más existiendo la posibilidad que la pared aórtica pueda romperse [8].

Los aneurismas pueden desarrollarse y crecer antes de causar síntomas. Con frecuencia, si se detectan y se tratan oportunamente los médicos pueden controlar los aneurismas. Los dos tratamientos principales son la terapia con medicamentos y la cirugía. En cirugía hay dos alternativas: el implante de una prótesis mecánica acompañada de medicamentos de por vida (anticoagulantes) o bien el implante de un conducto artificial de Dacron (poliéster) que tiene en su interior una prótesis mecánica; esta segunda alternativa depende mucho de la valoración del médico.

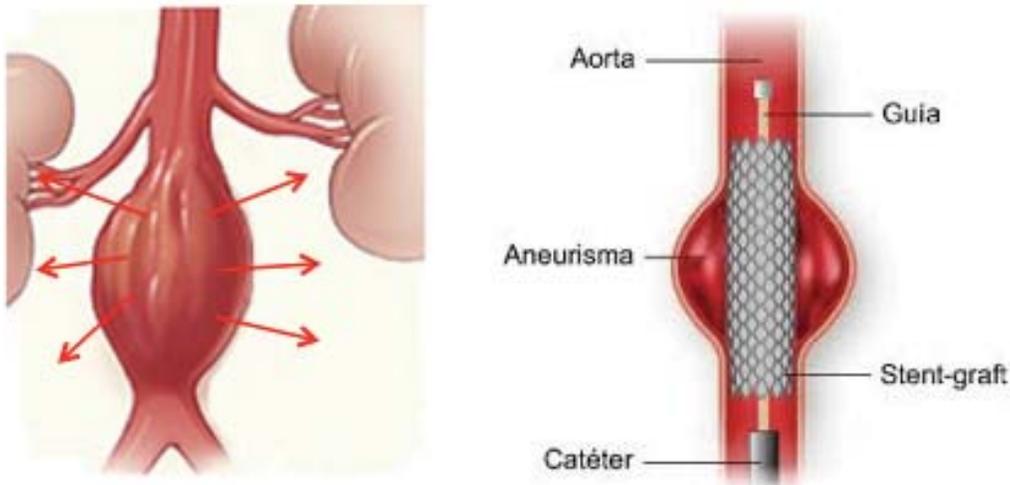


Figura 3. Aneurisma (a) Se produce por efecto de la presión de la sangre que pasa por una parte de una arteria debilitada empuja la pared de la arteria hacia afuera, formando lo que podría describirse como una ampolla. (b) Técnica no quirúrgica para tratar a pacientes de alto riesgo con aneurisma aórticos abdominales (cardiólogos del Instituto del Corazón de Texas fueron los primeros en utilizarla) [37].

Sin embargo, estos injertos tienen una aplicación limitada cuando el diámetro interior de las arterias es menor a 6 mm debido a la escasa viabilidad y a las complicaciones de trombo-genéticas que genera el injerto. Otros problemas son, la hiperplasia o falla en la unión del injerto (anastomosis íntima), formación colateral de aneurismas, infección y progresión de la enfermedad arteriosclerótica. Otro procedimiento es el de utilizar un catéter para introducir un dispositivo “sent-graft” (injerto endovascular con stent). El stent-graft se coloca dentro de la arteria en el lugar del aneurisma, el dispositivo actúa como una barrera entre la sangre y la pared arterial dañada. La sangre fluye a través del stent-graft, reduciendo la presión sobre la pared de la arteria debilitada. Esta reducción de la presión puede evitar que el aneurisma crezca o se rompa (Figura 3b). Este procedimiento presenta varias ventajas, como que no se anestesia al paciente por completo y la estancia en el hospital es de un solo día, la recuperación es rápida y no deja cicatrices. La desventaja es que todavía no se sabe si con el tiempo se lograra eliminar el riesgo de ruptura de un aneurisma a largo plazo. Por lo tanto, deben implementarse nuevos criterios de diseño de implantes, entre los que se deben considerar su biocompatibilidad, en particular no ser trombo-genético, no inducir una respuesta inmunitaria, ser resistente a infecciones, capaz

de inducir una respuesta apropiada en el organismo, ser mecánicamente compatible (flexible y resistente a la torsión), de fabricación accesible en varios diámetros y longitudes y de fácil manejo.

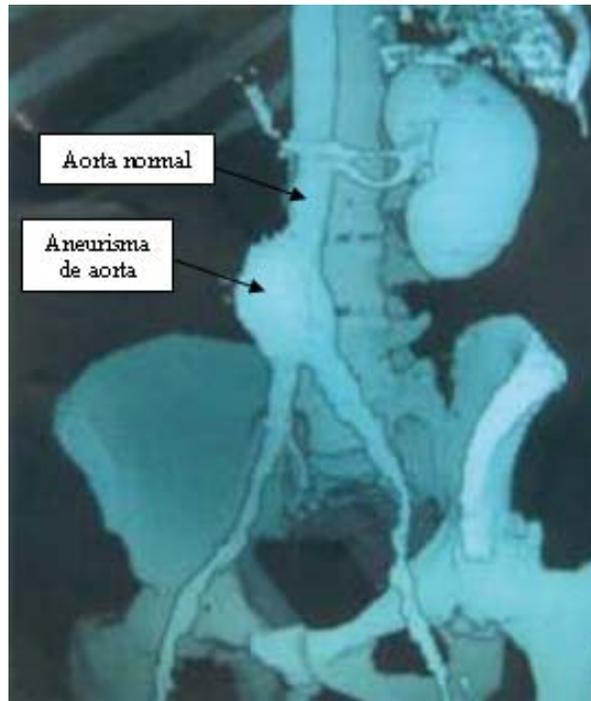


Figura 4. Aorta ascendente que presenta una sección anormal (aneurisma) [38].

Para resolver este problema se han desarrollado varios estudios previos de estructuras cilíndricas de pequeño diámetro arterial con una estructura de tres capas laminares, con excelentes propiedades mecánicas y con valores de presión a la rotura comparables a las arterias nativas [12,13]. También, se han obtenido estructuras con alta resistencia a la tensión y adecuada presión de ruptura mediante el aumento de la producción de colágeno, a partir de un material rígido o células en andamios laminares, encontrándose que estas estructuras tienen la desventaja de una baja producción de elastina y un bajo rendimiento operacional, el cual resulta un problema importante que origina el fracaso del injerto después de la implantación.

Las arterias requieren un diseño adecuado para soportar altos caudales, presiones y variaciones pulsátiles. Los vasos sanguíneos, se pueden considerar como tubos con propiedades visco-elásticas, donde sus dimensiones, en particular su diámetro, se

mantienen en equilibrio elástico (esfuerzo y deformación) con la presión exterior (“transmural pressure”) Figura 5. Estos tubos experimentan dos esfuerzos hemodinámicos primarios: el esfuerzo radial resultante de la tensión sobre la pared debido a la presión sanguínea y el esfuerzo de tensión resultante del flujo de sangre a lo largo de la pared del vaso. En un entorno de bajo flujo, como en los vasos sanguíneos de diámetro pequeño, es esencial que los esfuerzos sobre el injerto vascular coincidan con los de la arteria nativa para lograr la funcionalidad adecuada. El injerto debe soportar los procesos de desarrollo del tejido en estudio así como las interacciones con las células a una escala molecular [39]

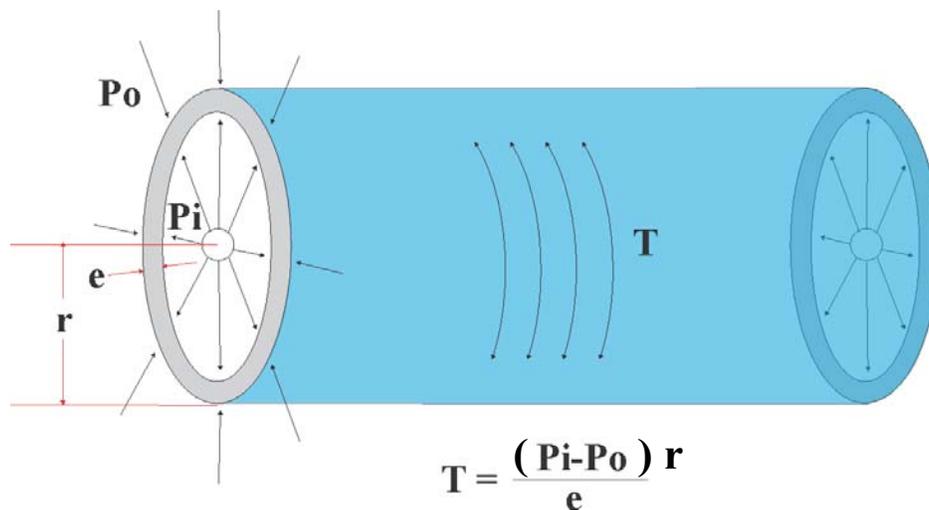


Figura 5. Equilibrio de presiones externas e internas en las arterias.

Los polímeros naturales y sintéticos juegan un papel muy importante en medicina regenerativa [40]. Entre los naturales se encuentran las proteínas y los polisacáridos y en los sintéticos se encuentran los poliésteres, poliuretanos y polianhidros, los cuales se han investigado extensivamente. En comparación con los polímeros naturales, los polímeros sintéticos tienen un intervalo más amplio de las propiedades fisicoquímicas, estricta consistencia entre lotes y mínimo riesgo de transmisión de enfermedades, también pueden ser utilizados para satisfacer las necesidades de las aplicaciones de ingeniería de tejidos y como principios biomiméticos pueden aplicarse a los materiales poliméricos a fin de mejorar la respuesta biológica para diferentes tipos de andamios [41]. La mayoría de los polímeros sintéticos son biológicamente inertes y no pueden inducir interacciones específicas tejido-material, lo cual limita sus aplicaciones. Hoy en día, se hacen esfuerzos

importante para mejorar la interface entre el tejido vivo y los biomateriales sintéticos, y cada vez es más evidente que las propiedades de la arquitectura y mecánica de los andamios son de vital importancia, en el proceso de imitar las características de los tejidos naturales.

5.6 Poliéster Elastómero de Poli(Poliol de Sebacato) (PPS)

El aparato circulatorio está formado por el corazón, los vasos arteriales y venosos y los capilares sanguíneos con un doble circuito cerrado en donde ocurre la circulación mayor y menor de sangre. La circulación menor parte del ventrículo derecho del corazón y va a los pulmones, transportando sangre venosa a través de las arterias pulmonares. En correspondencia con los capilares pulmonares, la sangre cede una parte de su anhídrido carbónico (CO_2), se carga de oxígeno y vuelve a la aurícula izquierda a través de las dos venas pulmonares. La circulación es mayor por del ventrículo izquierdo a la gran arteria aorta, que envía sangre a irrigar la cabeza y las extremidades superiores; luego nutre al hígado, por medio de la arteria hepática; el intestino, con la arteria mesentérica y los riñones con las arterias renales. Al final la aorta se divide en las arterias ilíacas, que irrigan las extremidades inferiores.

La sangre venosa vuelve al corazón a través de la vena cava inferior, que recoge directamente la sangre procedente de las venas renales y hepáticas e indirectamente la sangre intestinal, que pasa primero a través del circuito que la porta y luego a través del hígado. La sangre venosa de las regiones cefálicas, a través de la vena cava superior, vuelve a la aurícula derecha del corazón y seguidamente al ventrículo derecho, para pasar por último a la pequeña circulación y continuar el ciclo ver figura 6.

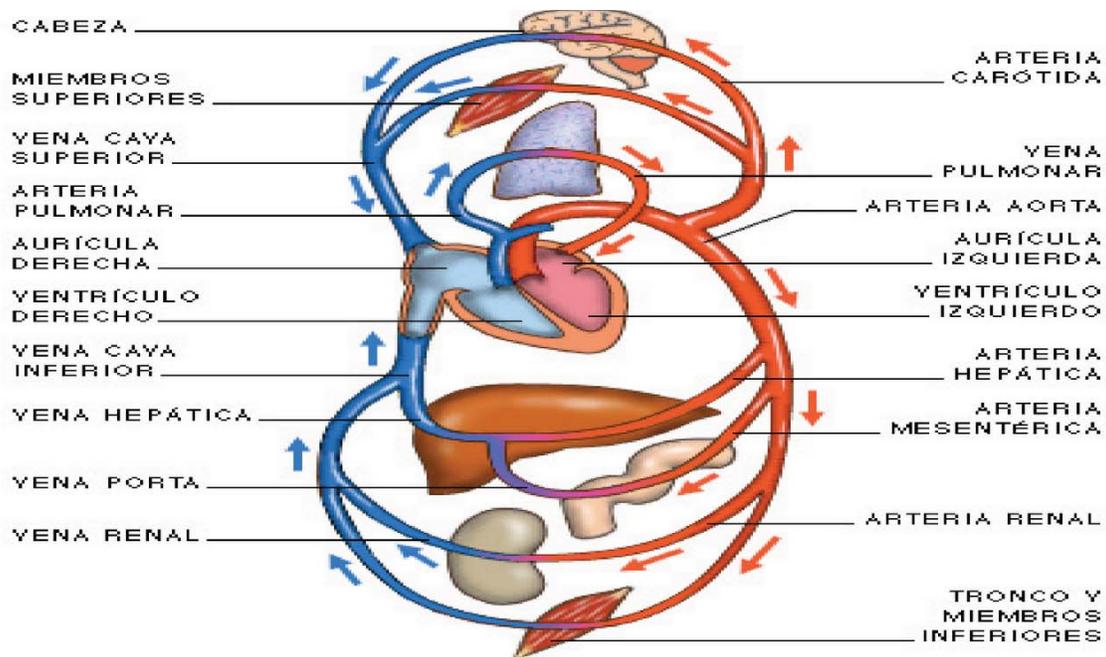


Figura 6. El sistema se integra con el corazón, que se encarga de bombear sangre a dos circuitos: Circuito pulmonar: lleva la sangre a los pulmones y fuera de estos. Circuito sistémico: distribuye la sangre a todos los órganos y tejidos del cuerpo y fuera de ellos[42].

Ante el creciente interés para analizar y diseñar nuevos biomateriales destinados a la reconstrucción de tejido a partir de andamios que soportan la matriz extra celular, se escogieron poliésteres biodegradables que han sido ampliamente utilizados en la ingeniería biomédica.

Se denomina poli(poliol sebacato) (PPS) a una familia de elastómeros de poliéster reticulado, recientemente desarrollado para aplicaciones médicas por el grupo de Langer del MIT [Y. Wang, C. Bettinger, E. Weinberg.] [9]. Estos polímeros son biocompatibles y económicos y tienen una amplia aplicación en ingeniería de tejidos tales como nervios y tejido vascular. Un polioliol es un alcohol derivado del azúcar que contiene múltiples grupos hidroxilos, por ejemplo, el glicerol, manitol, sorbitol y el xilitol (tabla 3). El polioliol y el ácido sebácico son monómeros endógenos encontrados en el metabolismo humano. Estos monómeros han sido estudiados recientemente por Bettinger. Los PPS se sintetizan a partir de un polioliol (alcohol que contiene múltiples grupos hidroxilo) y ácido sebácico, que es un ácido dicarboxílico con la estructura $(\text{HCOO})(\text{CH}_2)_8(\text{COOH})$ (Figura. 7).

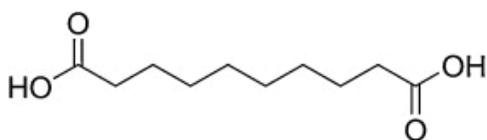
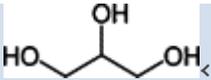
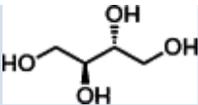
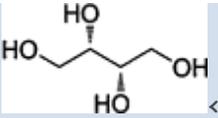
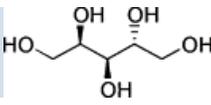
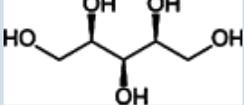
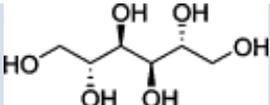
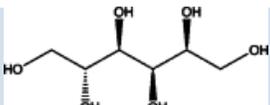


Figura 7. Estructura molecular del ácido sebácico (ácido decanodioico)

Una subclase de polioles está representada por los alcoholes derivados del azúcar, que se utilizan comúnmente en la industria alimentaria. Por lo general, la síntesis de PPS implica una policondensación (esterificación) entre ácidos carboxílicos y grupos alcohol Figura 7. En la Tabla 3 se representan los tipos más comunes de esta subclase de polioles: el glicerol, maltitol, sorbitol, y xilitol. Los grupos OH⁻ primarios en los dos extremos de monómeros de polirol reaccionan primero con los grupos de ácido carboxílico, formando cadenas de polímero en la primera etapa de polimerización Figura 8a. En etapas posteriores se produce una deficiencia de grupos de alcohol primario en el sistema de reacción de modo que los grupos OH⁻ secundarios (hacia el centro de los monómeros de polirol), reaccionan con los grupos COOH para formar enlaces éster y eventualmente enlaces cruzados entre las cadenas de polímero Figura 8b.

Tabla 3. Algunos tipos comunes de alcoholes del azúcar y sus estructuras [43].

Alcohol de azúcar	Estructura molecular	PPS polímero
Glicol (2-carbonos)		PES
Glicerol (3-carbonos)		PGS
Eritritol (4-carbonos)		PErS
Treitol (4-carbonos)		PThS
Arabitol (5-carbonos)		PArS
Xilitol (5-carbonos)		PXS
Manitol (6-carbonos)		PMS
Sorbitol (6-carbonos)		PSS

Síntesis de poli(poliol sebacato)

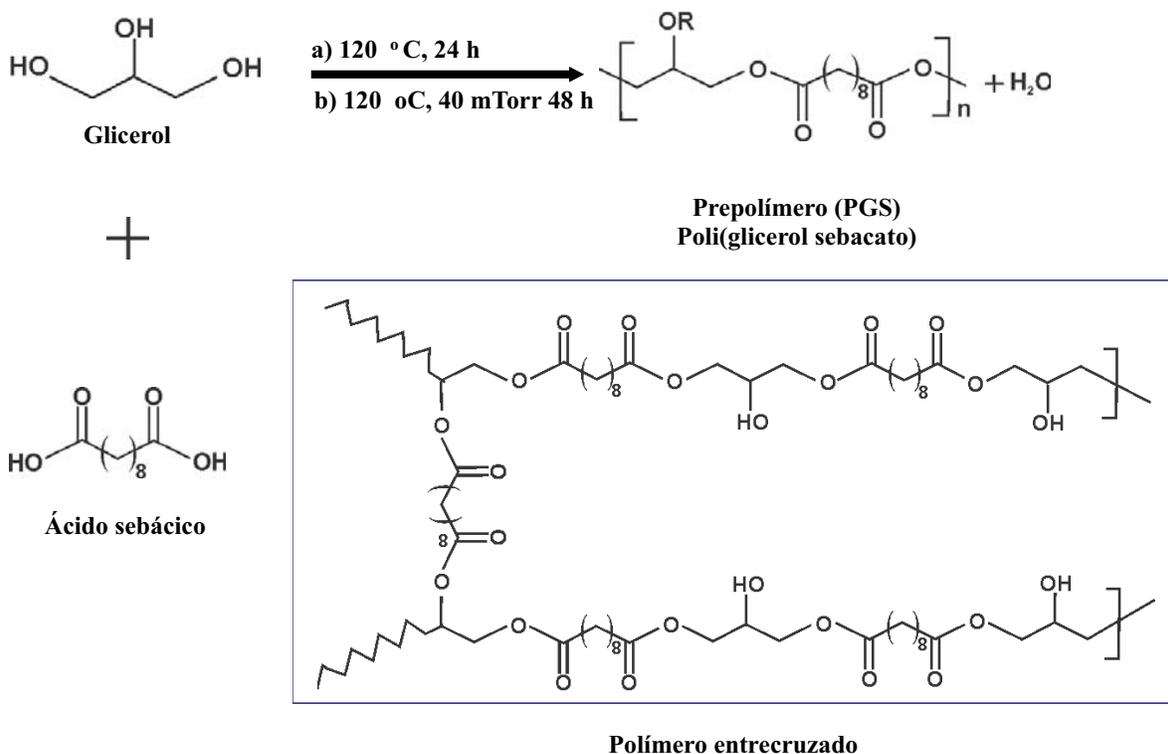
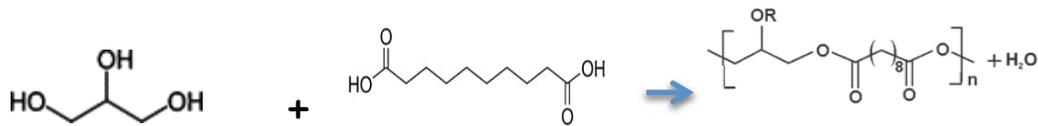


Figura 8. Esquema de la de síntesis de poli(sebacato de polioli) (PPS) que muestra la formación de (a) una cadena de polímero PPS y (b) la reticulación entre dos cadenas de polímero PPS [43].

La síntesis de PPS se lleva a cabo típicamente en dos etapas: inicialmente realiza prepolimerización antes de la polimerización y a continuación, la gelificación y reticulación adicional. El prepolímero se forma por calentamiento de una mezcla de polioli y ácido sebácico bajo flujo constante de gas inerte (N₂) a través de la cámara de reacción para evitar la oxidación de los reactivos, realizado esto a presión atmosférica para minimizar la evaporación por arrastre del agua de los monómeros de polioli volátiles y su azeótropo. Las condiciones de prepolimerización varían de 110 °C a 150 °C durante (1-72) h, dependiendo del monómero de polioli. La combinación de la temperatura y el tiempo de pre-

polimerización es tal que la reacción de esterificación es preferentemente entre los grupos hidroxilo primarios y los ácidos carboxílicos, formando de esta manera las cadenas de polímero como se muestra en la Figura. 8a, con algunos pocos grupos OH⁻ secundarios que forman los sitios de ramificación. El prepolímero no reticulado puede fluir libremente a aproximadamente 50 °C y disolverse en solventes, tales como metanol, acetona y tetrahidrofurano (THF). La prepolimerización es seguida por un entrecruzamiento químico (curado adicional) durante varios días a la misma temperatura que el primer paso, pero bajo vacío. Durante este segundo paso, los grupos de alcohol secundarios, ahora reaccionan con los ácidos carboxílicos, resultando en la reticulación entre cadenas de polímero (Figura. 8b). Al igual que otros polímeros reticulados químicamente, el PPS reticulado no es soluble ni se funde con temperatura (no procesable), sin embargo, el denominado prepolímero de PPS se encuentra polimerizado pero no reticulado, se puede procesar para formar productos terminados en varias formas por fusión alrededor de 50 ° C o disueltos en líquidos orgánicos, tales como 1,3-dioxolano, THF, N, N-dimetilformamida, isopropanol o etanol antes de su gelificación.

Entre todos los PPS, el poli(glicerol sebacato) (PGS) es el más estudiado, y el primero en ser explorado como un biomaterial por el grupo de Langer en 2002, y posteriormente desarrollado por un número de grupos de investigación en todo el mundo. Hasta el momento, PGS se ha sintetizado en láminas con una microestructura impresa (por litografía), formado andamios porosos en tres dimensiones (3D) mediante una técnica de lavado de sales y el hilado en fibras.



1,2,3-propanotriol (glicerol) + ácido decanodioico (ácido sebácico) \rightarrow poli(glicerol sebacato) + agua

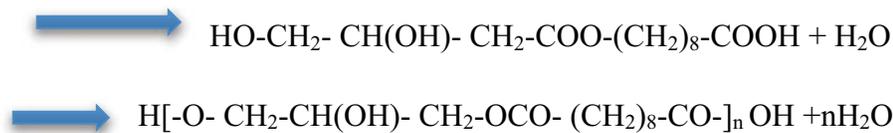


Figura 9. Síntesis del poli(glicerol sebacato), por medio de la policondensación.

En la Figura 9 se ilustra la reacción entre el ácido sebácico y un poliol como el HO-CH₂-[CH(OH)]_n-CH₂-OH, [43]. Más recientemente, Freed y Engelmarmy elaboraron un elastómero PGS con pliegues, con una microestructura de panal utilizando la técnica microablation láser excimer (Figura 10). Este nuevo proceso permite fabricar un material poroso, elastomérico andamio 3D, que coincide mecánicamente con la rigidez del tejido del corazón.

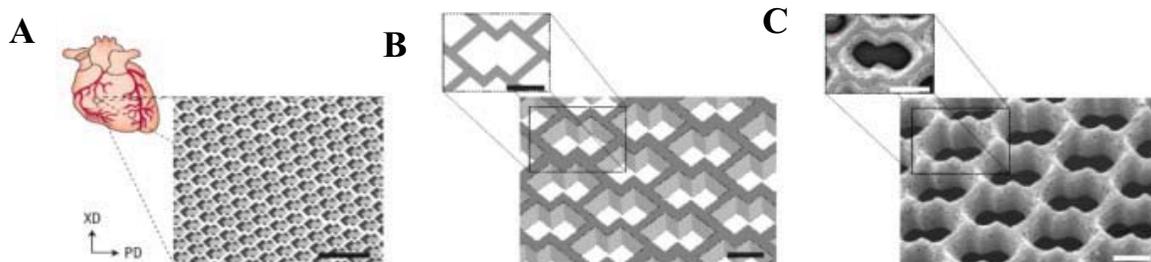


Figura 10. (a y b) son representaciones tridimensionales de andamios en forma de acordeón panal modelado por diseño asistido por computadora. (b) diseño microfabricado de PPS y fotografiado usando microscopía electrónica de barrido (c), andamio que muestra una muy estrecha similitud con el modelo. Las barras de escala: (a) 1 mm, (b y c) 200 micras [43].

El grado de entrecruzamiento químico se controla por la cantidad en exceso del ácido en el reactor. El ácido sebácico es un intermedio metabólico natural, se ha utilizado en ingeniería

biomédica para producir materiales biocompatibles seguros [9,41]. El glicerol es un bloque de construcción básico para los lípidos y ha sido aprobado por la oficina de Administración de Drogas y Alimentos de E.U. (FDA por sus siglas en inglés). El ácido sebácico tiene una longitud de cadena apropiada (8 metilenos), los ácidos dicarboxílicos de cadena corta como el ácido adípico (de 6 metilenos) son más ácidos y más propensos para formar estructuras cíclicas durante las reacciones de polimerización, mientras que los ácidos dicarboxílicos de cadena larga (más de 10 metilenos) son más hidrófobos y no se mezclan bien con el glicerol. El glicerol y el ácido sebácico son monómeros de bajo costo lo que implica una ventaja para aplicaciones a gran escala.

5.6.1 Biocompatibilidad del PGS

El Poli (glicerol sebacato) (PGS) es un elastómero biodegradable que ha generado un gran interés como material para andamios celulares debido a sus buenas propiedades elastoméricas. Sin embargo el uso de PGS en la ingeniería de tejido está limitado por las dificultades para producir micro y nano fibras debido a las altas temperaturas y vacío requerido para su reticulación (curado) y por dificultad de procesar el polímero entrecruzado. Se ha reportado que el PGS que tiene una buena biocompatibilidad *in vivo*, los estudios en animales muestran que el PGS tiene una respuesta inflamatoria similar a la del poli (lactida-co-glicólido) (PLGA) pero con menor formación de la capsula fibrosa y la ausencia crónica de inflamación [9,45,]. Las células de fibroblastos NIH 3T3 fueron viables en el polímero entrecruzado de PGS mostrando una tasa de crecimiento mayor que en el control de poli (lactida-co-glicólico) (PGLA) . Otra serie de estudios mostró que el PGS poco reticulado a partir de muestras equimolares de monómeros es tóxico en ratones, al parecer el grado de citotoxicidad se asocia con la densidad de reticulación [43]. Es posible que una red altamente reticulada se degrade poco, a través de la hidrólisis de los enlaces éster y por lo tanto la concentración de los productos de degradación potencialmente tóxicos en el medio ambiente es suficientemente baja para causar la muerte celular.

5.6.2 Biodegradabilidad del PGS

La degradación de PGS ha sido demostrada *in vivo* e *in vitro* [36,38], siendo mucho más rápida *in vivo*. La cinética de degradación *in vivo* indica que la acción enzimática acuosa

puede catalizar la descomposición de los enlaces éster en PGS y por lo tanto facilitar el debilitamiento hidrolítico de este material. Esto ha sido apoyado por estudios del comportamiento de degradación in vitro de PGS. [47,48].

El PGS tiene ventajas sobre otros elastómeros en términos de degradación ya que el mecanismo de degradación es por medio de erosión de la superficie, lo que significa que la rapidez de degradación es predecible [11]. Tanto la masa como la resistencia mecánica disminuyen casi linealmente al tiempo que el polímero PGS se degrada. Durante la degradación in vivo se mantiene su forma original, con un hinchamiento relativamente bajo por el efecto del agua. El contenido de agua de los implantes se eleva y alcanza un 15% en tan solo 35 días, tiempo en que el polímero se ha degradado un 70% en peso. Esta forma de degradación es buena para muchas aplicaciones médicas como la liberación de fármacos e ingeniería de tejidos blandos. Sin embargo una tasa rápida de degradación de los materiales tiende a causar citotoxicidad ya sea debido a que no han reaccionado todos los grupos del ácido carboxílico en exceso o bien se genera una cantidad excesiva de ácido carboxílico producido por la hidrólisis acuosa de los grupos éster de PGS, lo cual disminuye el pH de la matriz extracelular por abajo de los valores fisiológicamente permitidos. Otro inconveniente de la tasa de degradación rápida del PGS limita su aplicación como un material de soporte en los tejidos de ingeniería que implican un tiempo de curación de varios meses o años. Con la mezcla del pre-polímero PGS con la poli(ϵ -caprolactona) (PCL) las propiedades mejoran bastante e incluso se comparan las propiedades mecánicas de la mezcla con las de películas de PGS. Por lo tanto se considera que los soportes celulares o andamios, fabricados con base en el pre-polímero del PGS deben tener propiedades fisicoquímicas, biológicas y mecánicas, que garanticen su viabilidad en los procesos de implantes e injertos.

5.7 Técnicas de Electrohilado

El electrohilado utiliza fuerzas electrostática para producir fibras de diámetro nanométrico y micrométrico a partir de una disolución polimérica, por tanto dichas fibras tienen diámetros mucho más delgados y una mayor área superficial que las fibras obtenidas por método de hilatura convencionales. Ejemplos de métodos convencionales de hilado son:

hilado húmedo, seco fundido y en gel. El hilado húmedo es el método más antiguo donde el polímero disuelto se sumerge en un baño químico donde la fibra se precipita, se solidifica y finalmente emerge a la superficie. El método seco consiste en diluir el polímero para después evaporar el disolvente haciendo pasar por una corriente de aire o gas. Para polímeros que pueden ser mezclados se emplea el método de fundición donde las fibras se solidifican al dejar de enfriar la mezcla polimérica después de haber pasado por un extrusor. En el método de gel se forman fibras resistentes donde el polímero se disuelve parcialmente formando un gel. Las cadenas poliméricas permanecen unidas y se orientan paralelamente a la dirección de la fibra. Las fibras son secadas y enfriadas en un baño líquido.

Para producir fibras por electrohilado se requiere aplicar un voltaje de corriente directa en un intervalo de (5 a 35) kV. Otras técnicas como los precipitadores electrostáticos y dispersores de pesticida trabajan bajo el mismo principio de electrohilado, basado principalmente en que las fuerzas eléctricas repulsivas mutuas superan las fuerzas más débiles de tensión superficial en el líquido polimérico cargado. Actualmente existen dos arreglos estándar para electrohilado, el vertical y el horizontal, en este caso se trabaja con el arreglo horizontal que se muestra en la Figura 11. Con la expansión de esta tecnología, diversos grupos de investigación han desarrollado sistemas más sofisticados capaces de fabricar nano y microfibras con estructuras más complejas.

El electrohilado se lleva a cabo a temperatura ambiente y presión atmosférica. Básicamente, un sistema de electrohilado consta de tres componentes principales: una fuente de alto voltaje, un dispositivo tubular delgado o tubo capilar (la aguja de una jeringa) y un colector conectado a tierra, usualmente una placa metálica, o tambor rotante, donde se depositan las fibras nano o micrométricas formando un tejido o matriz porosa con textura color y densidad características.

En la Figura 11 muestra un esquema típico de un equipo de electrohilado. De lado izquierdo suele disponerse una jeringa de inyecciones totalmente inerte a la disoluciones, ésta es previamente preparada. Una bomba de infusión o perfusión unida al embolo de la jeringa genera una presión y un flujo constante que, a través del tubo, se transmite la disolución del polímero en la aguja. Por efecto de la polarización y la carga originadas por el campo eléctrico, la disolución es atraída en forma de chorro hacia la superficie

conductora, dispuesta a cierta distancia conectada a tierra. Durante el recorrido aguja-colector, el solvente se evapora gradualmente y el producto obtenido se deposita en forma de nano o microfibras no tejidas distribuidas al azar.

El flujo electro-hidrodinámico del jet, las cargas son inducidas en el fluido a través de la distancia de separación de los electrodos (punta de la aguja y colector metálico), rompiéndose la tensión superficial a través del campo eléctrico y descomponiéndose en una fuerza tangencial τ_t y una fuerza normal τ_n , formando el denominado cono de Taylor (Figura 12 b)

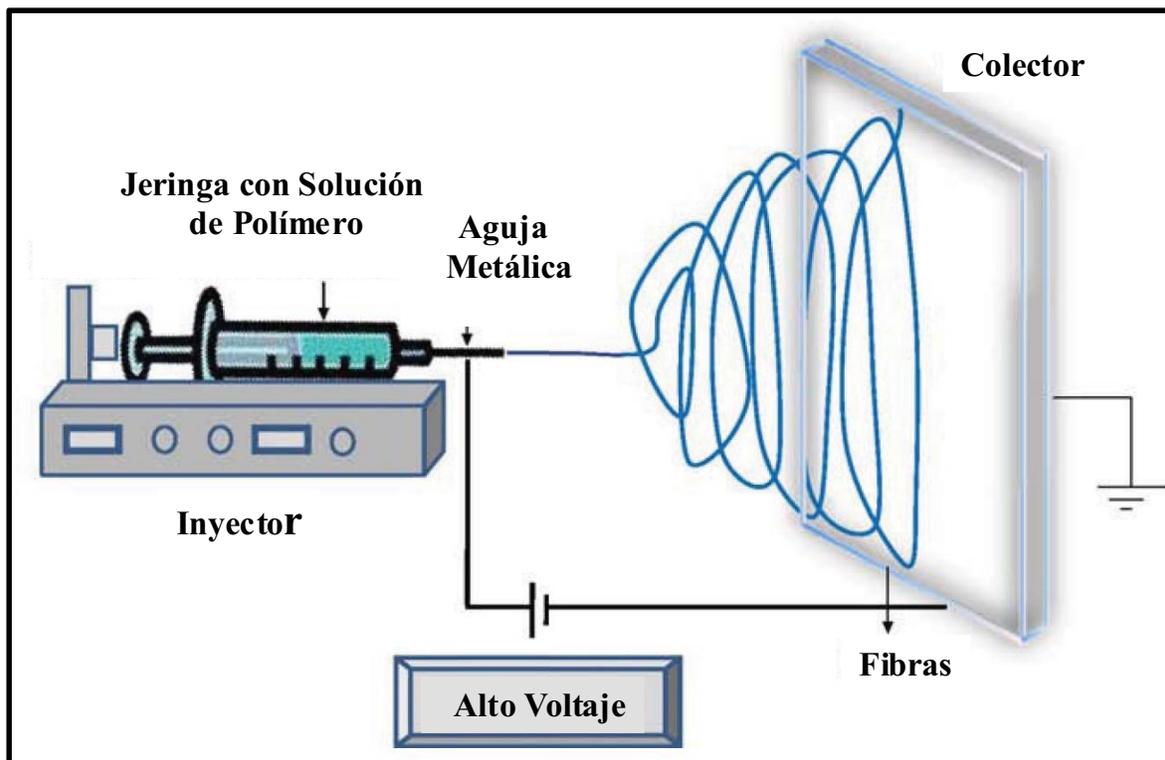


Figura 11. Diagrama del equipo de electrohilado arreglo típico horizontal

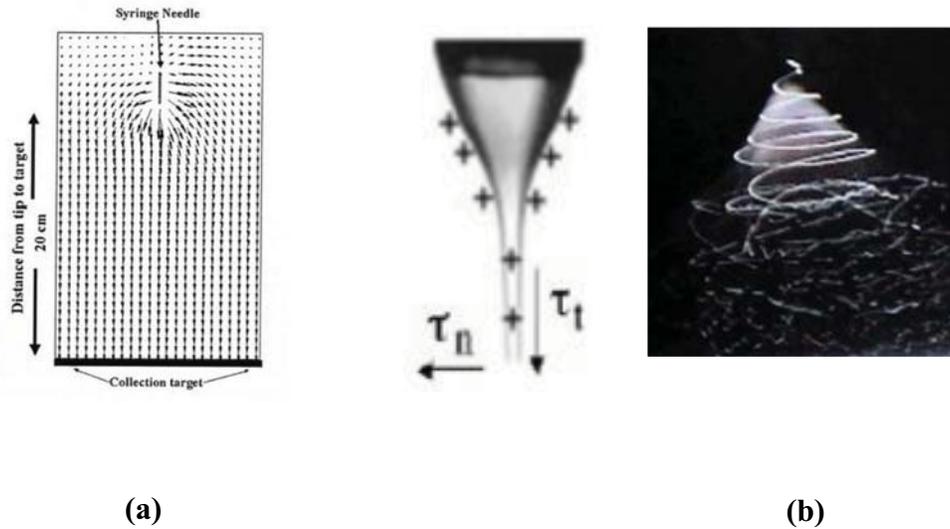


Figura 12. (a) Líneas de Campo Eléctrico (E) para aguja y colector plano con una distancia de 20 cm entre ellos. (b) Trazo del jet del electrohilado

La gotita líquida se mantiene sujeta al extremo de la aguja por su tensión superficial hasta que la repulsión mutua entre las cargas del mismo signo, que se originan en la punta de la gota, es suficientemente elevada para contrarrestar la fuerza de la contracción anteriormente indicada. La superficie de la gota sufre progresivamente el efecto de esta fuerza resultante y empieza a alargarse y a formar un cono inverso, llamado Cono de Taylor. El proceso de elongación llega a un límite en el que la concentración de la carga eléctrica sobrepasa en gran medida a la tensión superficial y da lugar, en la punta del cono, a un haz que recorre diferentes trayectorias inestables, observándose un alargamiento, una reducción del diámetro y una evaporación del disolvente, originándose así una fibra sólida.

A medida que el jet adquiere una aceleración significativa, su diámetro disminuye en magnitud. Finalmente, el jet solidifica convirtiéndose en una fibra de medidas micro y nanométricas. En la operación se mantiene una corriente continua con alto voltaje con una intensidad muy reducida, del orden de microamperios [68,71 y 76].

Este método no siempre es posible obtener resultados positivos ya que en ocasiones, según la naturaleza del disolvente empleado para la realización del polímero, la concentración de éste o las variables de equipo de electrohilado, podemos observar que el polímero no se transforma en nano o microfibras, simplemente se queda como polímero (en forma de gotas) o fibras mezcladas con gotas.

5.8 Parámetros de la Técnica de Electrohilado.

El proceso de electrohilado depende únicamente de una serie de parámetros, que pueden ser clasificados de una manera general en: propiedades de la disolución, variables de equipo y parámetros ambientales.

Las propiedades de la disolución: tipo de polímero empleado, el peso molecular, estructura del polímero, concentración, viscosidad, conductividad y densidad de carga en la superficie y la tensión superficial y la constante dieléctrica del solvente. Las variables del equipo: la rapidez de flujo, potencial eléctrico, distancia entre la punta del capilar y el colector, geometría y tipo de colector. Parámetros ambientales: humedad y temperatura de la disolución. Cada uno de estos parámetros afectan significativamente la morfología de las fibras obtenidas por la técnica de electrohilado, y mediante una manipulación apropiada de estos parámetros es posible formar micro y nanofibras de una determinada morfología y diámetros.

En el anexo D, la tabla D-2 se muestra de forma esquemática la influencia de algunos de estos parámetros en las características de las fibras preparadas. Hay que tener en cuenta, que siempre es necesario la realización de múltiples ensayos experimentales que conduzcan a encontrar las condiciones idóneas para el experimento.

5.9 Andamios para Arteria de PGS-PCL

Dos estudios han reportado la fabricación de fibras de PGS por electrohilado núcleo-coraza (core-shell) y fotoentrecruzado (“Photocrosslinking”). En un estudio, Yi y colaboradores (Yi y Lavan 2008) [49] obtienen fibras PGS por centrifugado eléctrico en core-shell de mezclas “PGS/Poli-L-Lactida” (PLLA) seguido de curado térmico del núcleo de PGS y disolución de la coraza de PLLA. En otro enfoque, Ifkovitz y colaboradores (Ifkovits et al. 2008) [50], mezclaron PGS acrilatado con óxido de polietileno de alto peso molecular seguido por foto-entrecruzado para obtener fibras estables de PGS. Recientemente, este grupo también mezcló gelatina con PGS foto-entrecruzado para generar andamios fibrosos con propiedades mecánicas y de degradación sintonizables. (Ifkovits et al., 2009) [51].

Otros estudios sobre andamios muy delgados de hasta 150 micras hechos de elastómero PGS, han sido implantados *in vivo*, luego fueron degradados en 2 semanas mientras que andamios más gruesos de 300 micras del mismo material fueron degradados lentamente durante un período de 4 semanas. Shilpa Sant y colaboradores, 2011 [33], mezclaron PGS con PCL, observando que la adición de PCL aumentó la viscosidad de la mezcla de polímero en una proporción idónea para el electrohilado del prepolímero PGS. Además, estos investigadores obtuvieron andamios estables, sin la necesidad de curado térmico o foto-entrecruzado posterior. También evaluaron las propiedades mecánicas y biológicas, de los andamios de PGS-PCL, encontrando que dichos andamios mostraban propiedades mecánicas similares a las de la válvula aórtica humana. Estos autores demostraron que la adición de PGS mejoraba la adhesión, la difusión y la proliferación de células endoteliales de la vena del cordón umbilical humano (HUVECs) en comparación con los andamios de sólo PCL. Es decir, en general se puede considerar que en su investigación demostraron que la combinación de PGS y PCL puede complementar entre ellos sus propiedades individuales como procesabilidad, propiedades mecánicas y de comportamiento biológico para mejorar el rendimiento de andamio para aplicaciones de ingeniería de tejidos. Los andamios fibrosos de PGS-PCL fabricados por Shilpa Sant y colaboradores producidos por electrohilado convencional a voltajes de 12.5, 15.0, 17.5 y 20.0 kV, entre aguja y colector, en distancia de 18 cm y a un flujo de 2 mL/h, en un colector de vidrio enredado con alambre de cobre. Usaron diferentes concentraciones de PGS-PCL con relaciones en peso (5:1, 3:1, 2:1 y 0:1, respectivamente) en una mezcla de cloroformo anhidro y etanol 9:1. Para reducir la toxicidad del cloroformo en el cultivo celular, los andamios se centrifugaron durante 30 min para cada condición y se secaron durante la noche en un desecador para eliminar cualquier resto de disolvente antes de su uso posterior. Aun más, para garantizar la siembra de células en los andamios, estos fueron esterilizados por inmersión en etanol al 70% durante al menos 12 horas antes de la siembra de las células y después los lavaron con solución salina bufereada con fosfato de Dulbecco (DPBS). En la Figura 13 (C), se muestran las imágenes de microscopia confocal con escaneo por láser tomadas una semana después de la siembra. En la imagen se puede observar en el andamio de PGS-PCL resultan una superficie apropiada para la guía de fijación celular [35].

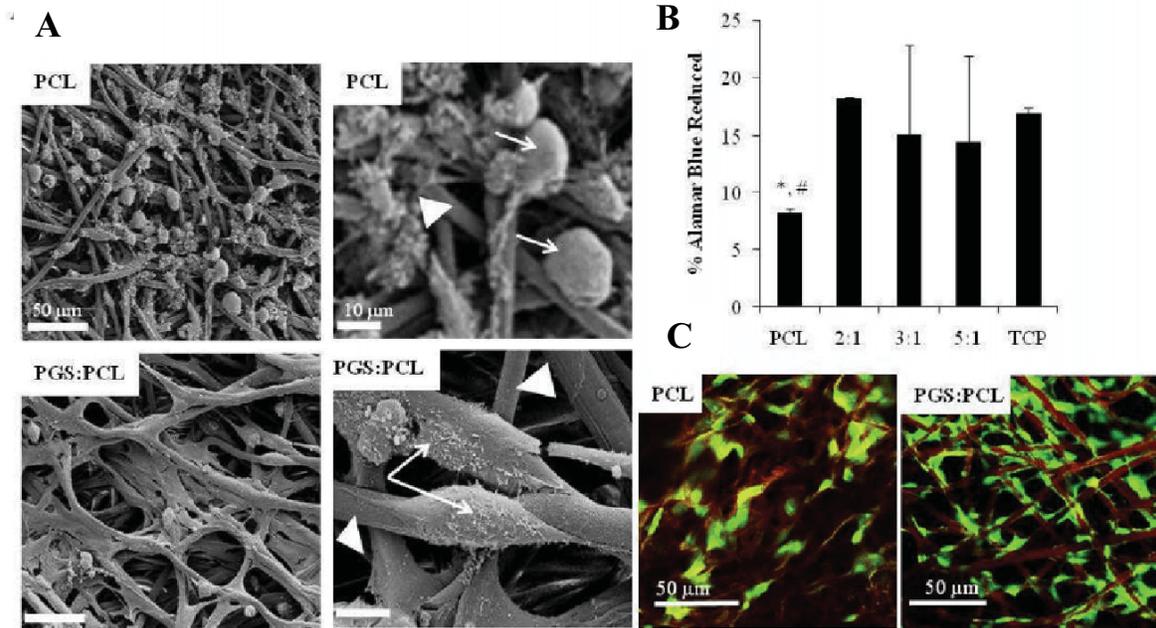


Figura 13. Evaluación de la adhesión celular y su morfología. A) Muestran las diferencias de la adhesión celular en un andamio de PCL y el otro andamio de PGS-PCL, donde en el segundo andamio (PGS-PCL) hay una mejor proliferación de células. B) Se muestra un análisis cuantitativo de la adhesión celular por medio de un ensayo AB (Azul de Alamar), donde hay una mayor proliferación en los ensayos de TCP (Placas de cultivo celular) y en los andamios de PGS-PCL. C) Las imágenes de escaneo láser confocal de células (verde) sembradas en andamios de PCL y PGS: PCL, después de 1 semana en el cultivo [35].

VI. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Materiales y sustancias (para síntesis)

Las materias primas requeridas para la polimerización, fueron obtenidas de Sigma Aldrich México; 1,2,3-propanotriol (glicerol) y el ácido decanodioico (ácido sebácico), grado reactivo, se usan sin posterior purificación. Para los análisis se usan reactivos grado analítico. Así mismo, fue necesario un sistema de polimerización de diseño especial, que permitiera, por un lado, la instalación de un flujo constante de Nitrógeno seco (Infra de alta pureza), y por otro una agitación vigorosa, ya que el sistema en polimerización adquiere una cierta viscosidad que se va incrementando en función del aumento del peso molecular, a un cuando solo se llega a la síntesis del prepolímero. Se requirió de una plancha de calentamiento, un baño de aceite mineral y un sistema de enfriamiento. En la Figura 14, se muestra una fotografía del sistema empleado para lograr la síntesis del prepolímero PGS. En esta imagen se muestra un matraz redondo de tres bocas con un condensador Liebig adaptado y una trampa Dean Stark con llave, en otra entrada tenemos el gas de nitrógeno de alta pureza y por último tenemos el agitador mecánico y un termómetro para registrar la temperatura.



Figura 14. PGS. En esta imagen se muestra un matraz redondo de tres bocas con un condensador Liebig adaptado y una trampa Dean Stark con llave, en otra entrada tenemos el gas de nitrógeno de alta pureza y por último tenemos el agitador mecánico y un termómetro para registrar la temperatura a 120 °C en un intervalo de tiempo de 48 h.

6.2 Síntesis del prepolímero de poli(glicerol sebacato) (PGS)

La síntesis de PGS se llevó a cabo por el procedimiento descrito por Wang [9]. La síntesis de la policondensación involucra dos pasos debidamente controlados la prepolimerización y el entrecruzamiento químico, que a continuación se explican

6.2.1 Prepolimerización.

Para la policondensación del pre-polímero se prepara una mezcla de monómeros (glicerol y ácido sebácico) en una relación 0.1 molar para ambos. Lo que equivale a utilizar 92.02 g/mol o bien 9.209 g de glicerol y para el caso del ácido sebácico equivale a utilizar 202.25 g/mol o bien 20.225 g. Se mezclan los monómeros y se reduce la presión de 760 torr a 0.18 torr por 5 h para de desgasificar. La pre-polimerización se lleva a cabo en atmosfera inerte de nitrógeno y calentando a 120 °C durante 24 h ver Figura 15.

6.2.2 Entrecruzamiento.

El entrecruzamiento químico se lleva a cabo eliminando el flujo de nitrógeno, y manteniendo la presión a 40 mtorr y la temperatura a 120 °C por 48 h.

El material obtenido, se usará sin posterior purificación, Figura 15 b. Se realizaron 13 síntesis del prepolímero PGS, una de la cual llevó hasta el entrecruzamiento. Para fines prácticos en el Anexo A, se enlistan los diferentes pesos moleculares obtenidos con una nomenclatura M-x, donde M corresponde al prepolímero y la “x” corresponde al número de la reacción obtenida.

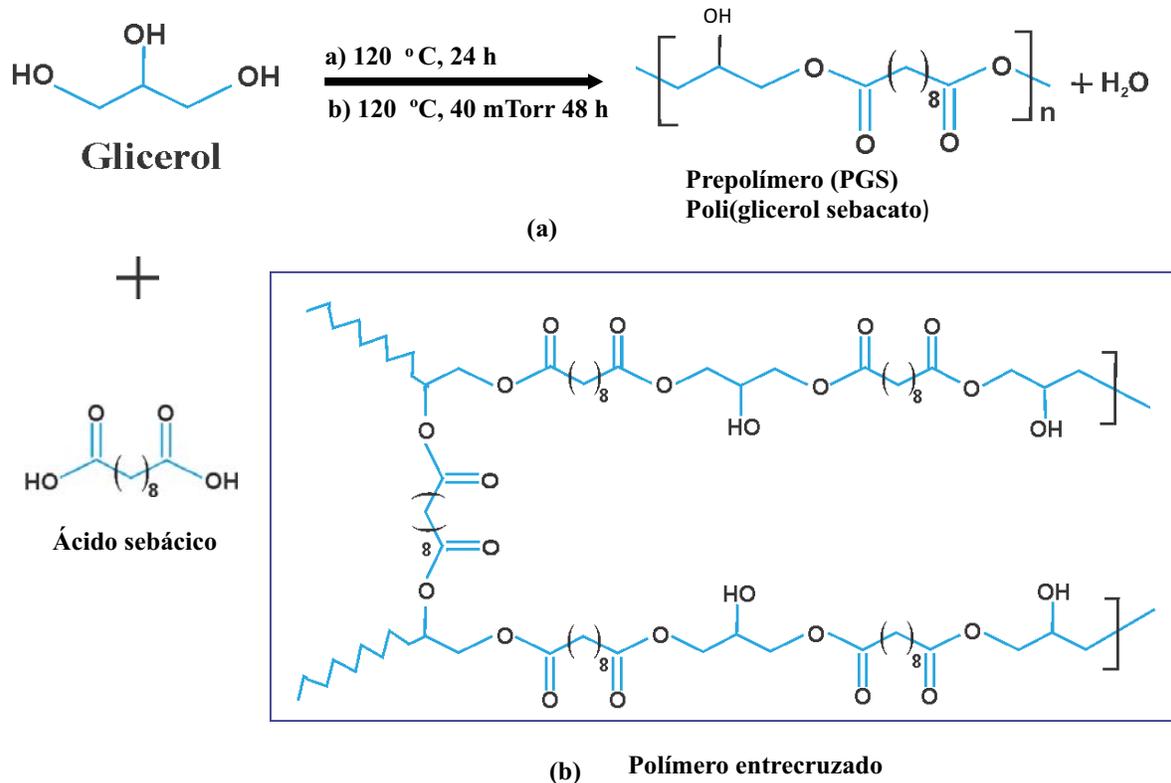
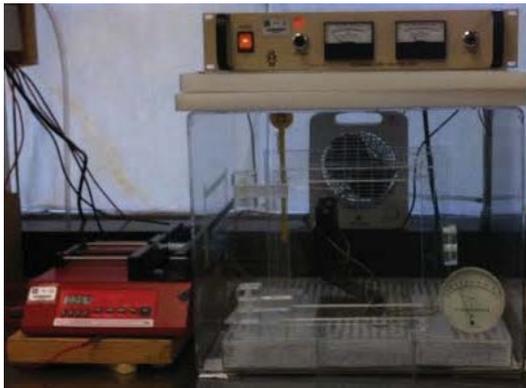


Figura 15. Reacción de policondensación de glicerol y ácido sebácico para sintetizar el PGS, donde la etapa (a) es la prepolimerización y la etapa (b) es el entrecruzamiento.

6.3 Aparato de Electrohilado

La caja de electrohilado fue diseñada y construida por el equipo de investigación en el IIM [66,67], con un colector de diseño especial hecho en cobre, para coleccionar fibras para andamios en forma de membrana, y un colector rotatorio para andamios cilíndricos con un diámetro pequeño de 6 mm. El diámetro se puede variar simplemente cambiando el diámetro del colector. En la Figura 16, se muestran fotografías de la caja de electrohilado, dos colectores, uno plano y el otro rotatorio. El diseño del colector plano, es básicamente un marco de madera delgada de 25 cm. de ancho, dentro de este marco se colocó una lámina de cobre delgada con un espesor de 0.5 mm. dicha lámina esta conectada a tierra (negativo) y es de 20 cm. de largo por 15 cm de ancho, se instaló sobre otra madera de ¼ de pulgada de “Treeplay” para darle soporte y evitar que se doblara. En la parte central de la lámina de cobre se recortó una pequeña ventana de 5 cm. por 10 cm. dejando esta área

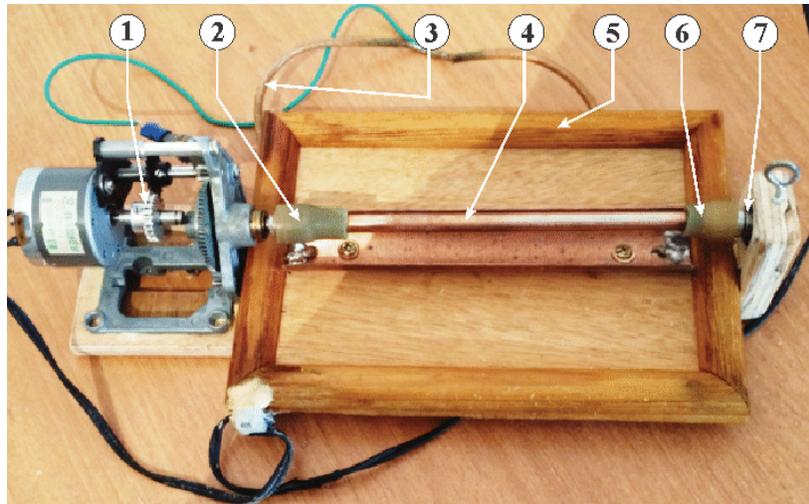
vacía para que en sus bordes se depositara las microfibras y poder por la parte de atrás recolectarlas con un papel filtro para no perturbar su morfología ver Figura 16 b. El diseño del colector rotatorio consiste también de un marco de madera al cual se le instalo en uno de sus lados, un pequeño motor eléctrico (DC) con corriente máxima de 1.5 Ampere con Voltaje variable de (0.0 a 12) Volts. La velocidad del motor se redujo con un juego de dos engranes en una relación de 1:10, para reducir la velocidad del motor e incrementar la potencia e el Torque. La velocidad del motor se puede variar, con el voltaje de alimentación de una fuente DC. Las velocidades del eje de engrane de potencia, se acoplo a una pequeña manguera de latex con el fin de amortiguar las vibraciones y la alineación con la barra colectora, la cual fue hecha de una pequeña barra de madera pulida con un diámetro de 6mm. Para forzar la atracción eléctrica de las microfibras, se puso una lamina conectada a tierra (negativo) de cobre separada 5 cm de la de la ventana colectora ver Figura 16 c. En el anexo E se presenta un plano con las medidas principales del colector Rotatorio.



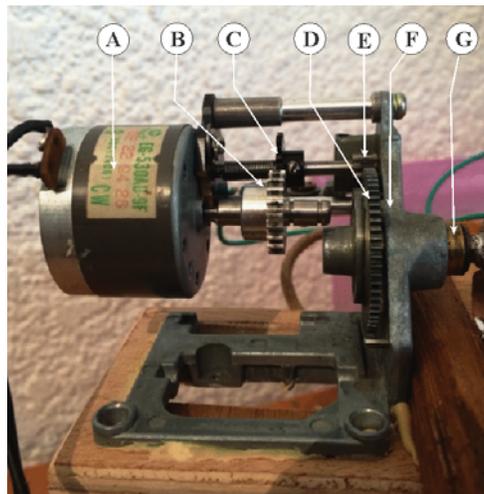
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 16. (a) La caja de electrohilado con inyector, una aguja de diámetro de 21G, cama de sílica para mantenerla a una humedad constante, y un higrómetro. (b) Dispositivo colector que consta de un marco de cobre en un marco de madera, en el centro del marco se ha eliminado una porción de cobre rectangular para poder recolectar las fibras. (c) Colector rotatorio. (d) Detalle de la transmisión

En las tablas 4 y 5 se presentan a detalle la descripción del colector rotatorio y de la transmisión

Tabla 4. Descripción del colector rotatorio

No. Parte	Descripción	Material de Maquinado
1	Motor DC	Comercial
2	Cople Flexible de Látex	Comercial
3	Cables de Cobre para Conexión a Tierra	Comercial
4	Eje de la Barra del Colector	Cobre o Madera
5	Marco de Madera	Madera de Cedro
6	Cople Flexible de Látex	Comercial
7	Balero de ¾" ajustado en Madera	Comercial

Tabla 5. Descripción de la transmisión del motor DC

No. Parte	Descripción	Material de Maquinado
A	Motor DC	Comercial
B	Engrane de Transmisión	Acero Inoxidable
C	Engrane de Reducción de Velocidad	Acero Inoxidable
D	Engrane de Transmisión del Eje	Acero Inoxidable
E	Engrane de Potencia	Acero Inoxidable
F	Soporte de Motor y Engranes	Hierro Colado
G	Eje de la Barra del Colector	Cobre o Madera

6.4 Obtención de los andamios de PGS-PCL

6.4.1 Preparación de las mezclas PGS-PCL

Para producir los andamios por electrohilado, se prepararon mezclas de PGS y PCL con una proporciones en peso 2:1, disueltos en una mezcla de disolventes: Diclorometano (DCM), Tetrahidrofurano (THF) y Dimetilformamida (DMF) en una relación en volumen de 7:2:1.

De la mezcla anterior se preparará una disolución a una concentración de 33% w/v del (PGS-PCL)/disolvente.

6.4.2 Electrohilado

El equipo de electrohilado está compuesto por cinco elementos; el primero es la bomba de desplazamiento (inyector) que se encarga de mover el pistón que actúa sobre el émbolo de la jeringa. Este instrumento es el que permite dosificar la disolución polimérica hasta la aguja mediante un flujo constante, éste inyector empuja el émbolo según se haya programado en la máquina. La función de la jeringa es almacenar la disolución y debe de ser inerte a ésta, y no causar alteraciones que cambien su naturaleza. La aguja debe de ser de acero inoxidable con diámetro adecuado en este caso fue de 21G (0.8 mm), y no debe de tener punta. Al igual que la superficie colectora esta conectada a uno de los electrodos de la fuente de alimentación. Del extremo de la aguja sale la disolución polimérica en forma de fibra hilada y lo hace en forma de cono de Taylor. Este chorro sigue la misma trayectoria que las líneas del campo eléctrico, elongándose de acuerdo a las fuerzas externas e internas y experimentando la inestabilidad en algunas ocasiones [68 y 71]. El disolvente se evapora y las fibras son depositadas al azar en colector. En la superficie del colector se acumulan las fibras obtenidas, que esta conectada a uno de los electrodos de la fuente de alimentación. La caja tiene la función de aislar el montaje durante el uso de la máquina de electrohilado y así evitar el contacto directo con la persona que la manipule. Esta caja es indispensable ya que durante su funcionamiento se aplican un voltaje muy elevado. Y por último tenemos la fuente de energía que se encarga de generar una diferencia de potencial entre la aguja y la superficie colectora para crear un campo eléctrico que dará lugar a la formación de fibras (ver Figura 16 a).

También hay otros elementos necesarios para llevar a cabo el electrohilado, como el higrómetro (instrumento para medir la humedad del aire), el termómetro, y la cama de sílica para mantener seco el ambiente dentro de la caja.

Los guantes se usan para la manipulación de disolventes y soluciones poliméricas. Además su uso es obligatorio en todo laboratorio.

El microscopio óptico se usa para ver las fibras obtenidas mediante el electrohilado, ya que no es posible verlas a simple vista para evaluar su regularidad, su forma y medir su diámetro a simple vista. En consecuencia es necesario el de disponer de un microscopio

óptico en el laboratorio con el cual se pueda hacer una primera evaluación de las fibras obtenidas. Para hacer el primer análisis de fibras obtenidas es necesario contar con portaobjetos y cubreobjetos. El cubreobjetos sirve para recoger una pequeña muestra de fibra colocada sobre el y evaluar el resultado en un microscopio óptico . Esto es muy útil para optimizar la muestra antes de dejarlo en continuo funcionamiento.

Las condiciones ideales para obtener los andamios de PGS-PCL por medio de la técnica de electrohilado son: Diferencia de potencial para generar un campo eléctrico de 17.5 kV, la distancia entre el inyector y colector es de 20 cm, la humedad relativa es menor a 40 % . De los 41 andamios elaborados se eligieron los que tenían el prepolímero con el peso molecular mas alto, con una relación 2:1 PGS-PCL, y utilizando los solventes DCM, THF, y DMF. Ver tabla D-1 del anexo D.

6.5 Microscopía Óptica

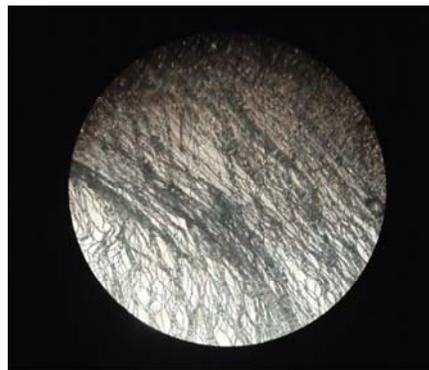
Un microscopio óptico se sirve de la luz visible para crear una imagen aumentada del objeto. El microscopio más simple es el de la lente convexa doble con una distancia focal corta. Estas lentes pueden aumentar un objeto hasta 15 veces. Por lo general se utilizan microscopios compuestos, que disponen de varias lentes para poder alcanzar mayores aumentos, llegando excepcionalmente a magnificaciones de x2000. En nuestro caso, trabajaremos a una baja magnificación con objetivos de 40 aumentos.

Las observaciones morfológicas se realizaron con un microscopio óptico marca Olympus , modelo Bit 2. Con lentes cuyo aumento es 40X

El microscopio óptico es muy útil para establecer las mejores condiciones para conseguir micro/nanofibras. Para ello las muestras se recogen sobre un cubreobjetos, que puede analizarse fácilmente mediante microscopía óptica. Sin embargo, el microscopio óptico es poco útil para realizar mediciones precisas del diámetro de fibras, puesto que su forma cilíndrica produce dispersión en el borde de la fibra dando lugar a sombras alrededor de la imagen que dificulta la medición exacta del diámetro de las fibras.



(a)



(b)

Figura 17. El microscopio óptico más simple es la lente convexa doble con un distancia focal corta. Estas lentes pueden aumentar un objeto hasta 15 veces. Por lo general se utilizan microscopios compuestos, que disponen de varias lentes con las que se consiguen aumentos mayores. Algunos microscopios ópticos pueden aumentar un objeto por arriba de 2000 veces, pero el que se utilizó fue con una lente de aumento de 40 veces el tamaño real. (a) Microscopio Óptico Olympus, Modelo Bit 2. fue usado para la observación y medición de las fibras. (b) Se muestra una microfotografía de los andamios de fibra obtenidos.

6.6 Técnicas para la Caracterización de los Andamios

FT-IR

Para el análisis espectroscópico del PGS y del PCL, se utilizó un espectrofotómetro con transformada de Fourier, FTIR, (Nicolet 6700 FT-IR, con un láser clase 1 Thermo Scientific) y un accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR, modelo **Smart Orbit**).

^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

Los espectros de ^{13}C y ^1H NMR (Resonancia Magnética Nuclear) del prepolímero fue medida en un equipo Bruker Avance 400. Con una sonda BBI con un diámetro de 5 mm con una concentración de 15 mg/mL. Se utilizó cloroformo d_6 como disolvente y una referencia de Tetrametilsilano (TMS)

Análisis Por Rayos X

Los análisis de rayos-X, fueron hechos con un equipo (WAXS SIEMENS D-500). Los materiales analizados fueron el prepolímero PGS, el elastómero de PGS, el PCL, así como los andamios terminados. Las condiciones en las que se llevaron a cabo las mediciones fueron: temperatura a 25 °C con una longitud de onda de $\lambda_{Cu} = 1.5406 \text{ \AA}$

DSC, TGA

Las propiedades térmicas del prepolímero PGS, PCL y el andamio PGS-PCL se determinaron por Calorimetría Diferencial de Barrido, DSC, (TA Instruments DSC Q 2000 V24.10 Build 122) las muestras se pesaron en recipientes de aluminio estándar sellados con tapas, tenían un peso de 10 mg, se calentó a una rapidez de 10 °C/min de -70 °C a 150 °C y luego se enfrió desde 150 °C a -70 °C usando una atmósfera inerte de nitrógeno, en un segundo y tercer ciclo (calentamiento y enfriamiento) se midieron T_m , T_c y T_g . También se midió la pérdida de peso por Análisis Termogravimétrico (TA Instruments TGA Q 5000 V3.15 Build 263). TGA

Ángulo de Contacto

Los ángulos se midieron en un equipo, Ramé-Hart modelo 100-70-00, al cual se le adaptó una cámara de filmación que permitió obtener imágenes desde las cuales se midió el ángulo de contacto. Dichas mediciones se realizaron a 25 °C en condiciones de presión de vapor en equilibrio, utilizando como líquido de prueba agua de ionizada.

Pruebas mecánicas

Se usó un equipo Ultim Universal de pruebas Exel, con un sistema de Certificado de Calibración FUTEK Advanced Sensor Technology. Inc. de tracción uniaxial MTS mini bionix 858. Equipada con celdas de carga para tensión/compresión, modelo LCM300 con capacidad para 100 lb, la tasa de alargamiento se mantuvo en 0.16 mm/s (9.6 mm/min).

Microscopia Electrónica de Barrido SEM

Las imágenes fueron tomadas en un Microscopio Electrónico de Barrido de emisión de campo térmico alta resolución Jeol JSM-7600F field Emission Scanning Electron Microscope. Se electrohilaron diferentes mezclas de PGS y PCL a diferentes concentraciones de solvente. Los disolventes usados fueron: diclorometano (DCM), tetrahidrofurano (THF) y dimetilformamida (DMF). Para dichos análisis se obtuvieron 40 andamios y 2 en forma de tubos de 6 mm de diámetro exterior.

Cromatografía de Permeación en Gel.

El peso molecular de las distintas muestras, se obtuvieron por medio de dos métodos distintos, GPC y la técnica de MALDI-TOF. Espectrómetro de Masas MALDI-TOF, marca Bruker modelo Microflex con laser de Nitrógeno operado a una longitud de onda de 337 nm; polaridad positiva con un voltaje de aceleración 20 kV; modo de operación Reflector. Para el GPC se utilizó un equipo Waters 2695 ALLIANCE Modulo de Separación, cuenta con un detector de índice de refracción integrado modelo Waters 2414, desgasificador en línea, horno para columnas y un banco de dos columnas Waters HPLC: Styragel HR4E con intervalo Mw de 50 a 1×10^5 y Styragel HR5E con Mw de 2×10^3 a 4×10^6 . Se usó tetrahidrofurano (THF) como eluyente a una rapidez de flujo de 1.0 mL/min y una temperatura de 35 °C. Se realizó una curva de calibración de 18 estándares de poliestireno, con intervalo de Masa Molecular Pico promedio (Mp) de 3.7×10^2 a 4.3×10^6 .

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Análisis espectroscópico.

En el análisis de infrarrojo de las muestras sintetizadas tenemos al glicerol y al ácido sebácico, donde el glicerol tiene la señal en la banda del grupo -OH en 3442 cm^{-1} y el ácido sebácico tiene una señal en la banda del grupo -C=O en 1760 cm^{-1} , el análisis de estos dos monómeros se puede ver en el anexo C. Al reaccionar estos dos monómeros por medio de la policondensación obtenemos un prepolímero de PGS (poliéster) que tiene un pico característico en 1733 cm^{-1} como se observa en la Figura 18.

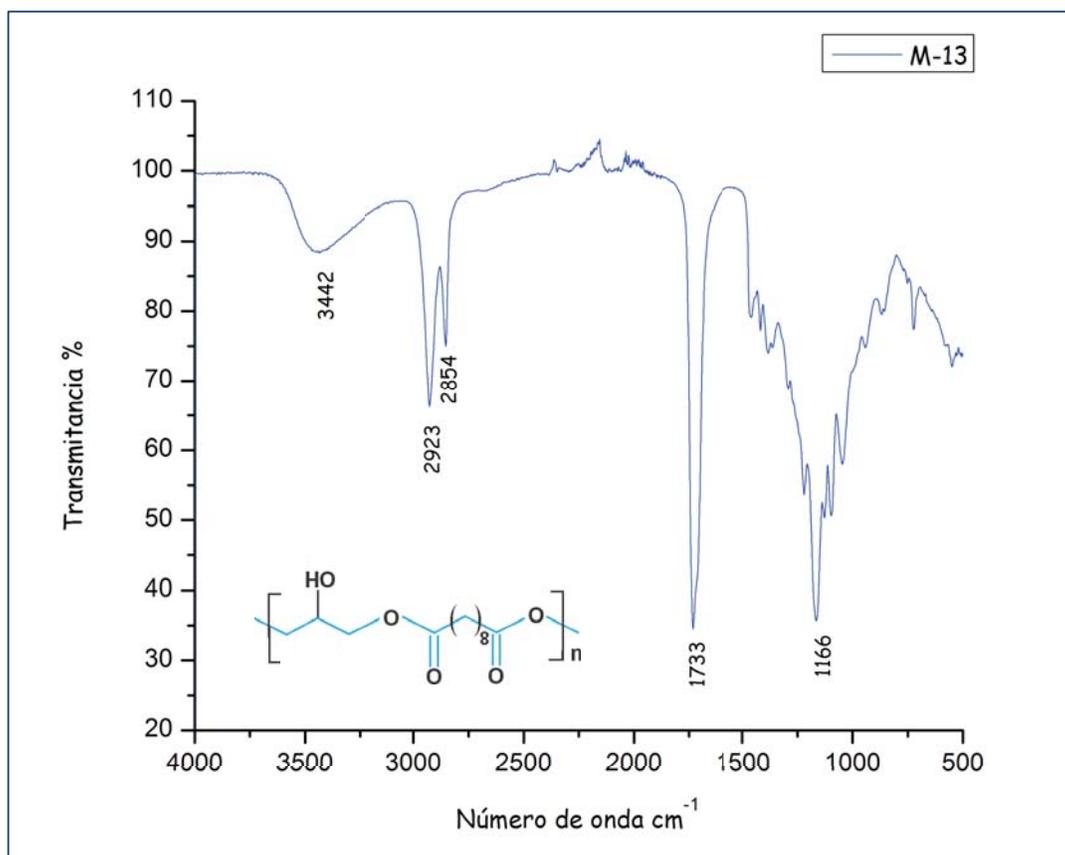


Figura 18. Espectro FT-IR del prepolímero PGS, en esta gráfica hacemos mención que es una policondensación a partir de los monómeros de glicerol y ácido sebácico

este prepolímero de PGS (M-13), también tiene una señal en 3442 cm^{-1} que es la banda de los grupos -OH , aquí podemos observar que no todos los grupos -OH del glicerol reaccionaron y que todavía existen grupos hidroxilo en el prepolímero, que pertenecen a -CH-OH , lo que indica que el grado de ramificación es baja. Esto lo podemos corroborar disolviendo una pequeña muestra en un disolvente orgánico.

Tabla 6. Principales enlaces de un espectro FT-IR del prepolímero PGS (M-13)

Banda [cm⁻¹]	Enlace correspondiente	Grupo funcional
3442	Estiramiento tensión	-OH
2923	Estiramiento asimétrico	-CH ₂ -
2854	Estiramiento simétrico	-CH ₂ -
1733	Estiramiento en tensión del grupo carbonilo	C=O
1166	Bandas de estiramiento	C-O

Las bandas a 2923 cm⁻¹ y 2854 cm⁻¹ corresponden a los grupos alcanos (-CH₂) y las bandas a 1733 cm⁻¹ y 1166 cm⁻¹ se le atribuye a la formación de grupos carbonilos y ésteres (C=O y C-O respectivamente) ver tabla 6, estas bandas coinciden con las reportadas por Wang [9] y Franciliere [54], ver la Figura 21 y la tabla 9.

En el caso del espectro de FT-IR de la PCL se puede ver en la Figura 19, aquí se observa una banda en 1720 cm⁻¹ (banda de tensión del enlace carbonilo, C=O) presentes en la unión típica del material, así mismo se pueden observar dos picos a 2942 cm⁻¹ y 2865 cm⁻¹ relacionados con la vibración de tensión de enlaces -CH₂. Vale la pena mencionar que la estructura de la PCL carece de enlaces -OH. La absorción del hidrógeno de (O-H) aparece en el rango de 3450 cm⁻¹ - 3200 cm⁻¹ como una banda ancha e intensa. El análisis de este espectro se muestra en la tabla 7

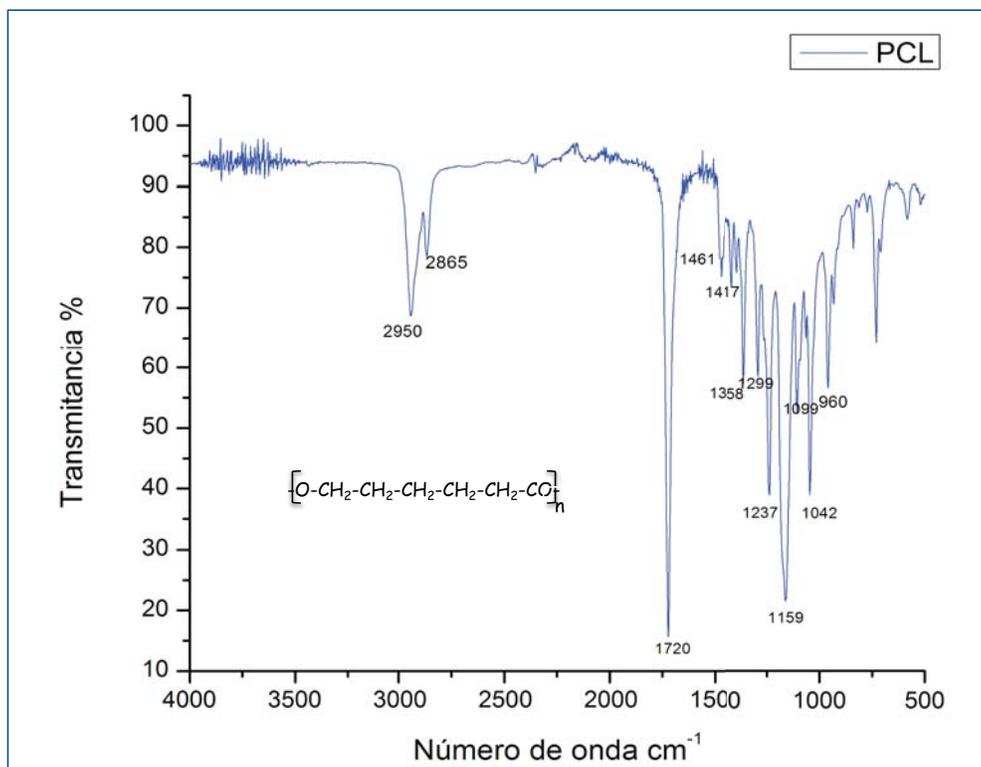


Figura 19. Espectro FT-IR de la poli(ε-caprolactona) (PCL), polímero hidrofóbico

Tabla 7. Principales enlaces en un espectro FT-IR de la PCL

Banda [cm ⁻¹]	Enlace correspondiente	Grupo funcional
2950	Estiramiento asimétrico	-CH ₂ -
2865	Estiramiento simétrico	-CH ₂ -
1720	Estiramiento en tensión carbonilo	-C=O
1237	Estiramiento asimétrico	COC
1159	Estiramiento simétrico	COC

En la tabla 6 y 7 se presentan esquemáticamente las señales características atribuidas al PGS y a la PCL respectivamente, lo cual permitirá visualizar mejor las señales características.

Teniendo en cuenta las señales correspondientes de cada polímero, se realizó el espectro de FT-IR para la mezcla PGS-PCL. Ésta mezcla muestra las señales correspondientes del PGS y de la PCL, siendo en algunos casos evidente la superposición de las señales por encontrarse muy cercanas unas de otras. En la figura 20 se muestra el espectro de FT-IR de la mezcla de PGS-PCL.

Las señales en las mezclas aparecen a longitud de onda similar a la de los polímeros por separado, por lo cual no se pueden señalar corrimientos de señales características como evidencia de algún tipo de interacción química entre las estructuras poliméricas involucradas. Estos resultados pueden corroborarse más adelante por DSC, ya que confirman la no existencia de interacción entre fases.

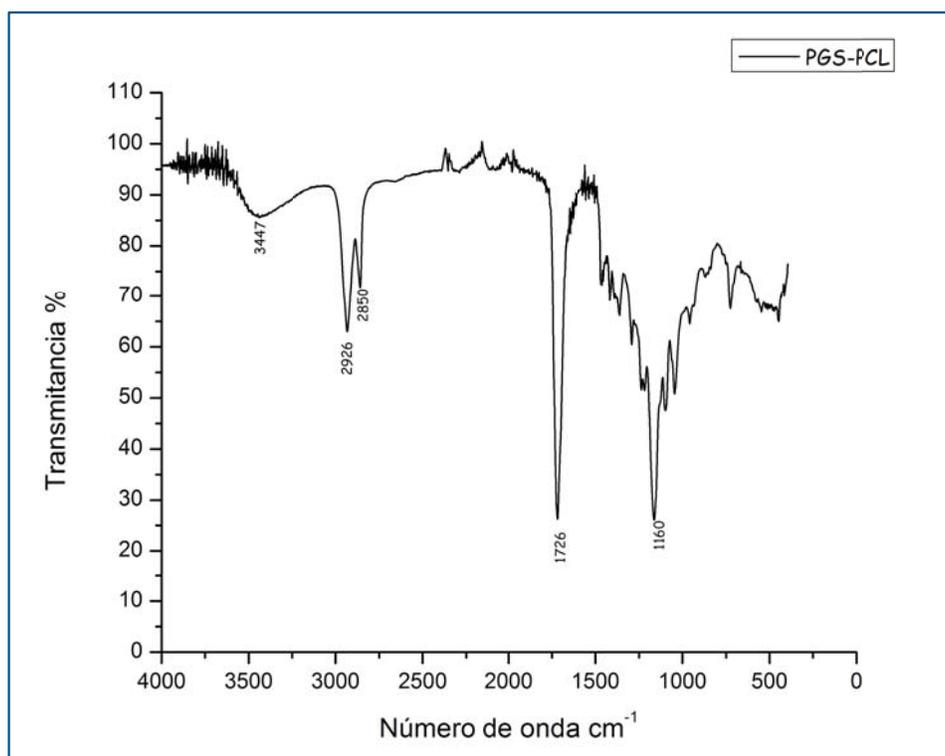


Figura 20. Espectro FT-IR del andamio de PGS-PCL material hidrofílico.

Al estudiar los espectros de FT-IR de la mezcla PGS-PCL, analizando cada espectro en forma individual y estudiando las relaciones entre picos de señales características a las

longitud de onda donde estos aparecen, se encontró que la mezcla de PGS-PCL no presenta desplazamientos en la longitud de onda con respecto a los polímeros por separado. Los espectros son similares y por lo tanto no hay evidencia que indique algún tipo de interacción química entre los componentes. El estudio de espectros FT-IR permitió verificar la inmiscibilidad y falta de interacción entre los componentes de la mezcla de PGS-PCL en el rango de composición estudiado. En la tabla 8 se presenta esquemáticamente las señales características atribuidas a la mezcla PGS-PCL lo cual permitirá visualizar mejor las señales características.

Tabla 8. Principales enlaces de un espectro FT-IR del andamio PGS-PCL

Banda [cm^{-1}]	Enlace correspondiente	Grupo funcional
3447	Hidroxilo estiramiento tensión	-OH
2926	Estiramiento asimétrico.	$-\text{CH}_2-$
2850	Estiramiento simétrico	CH_2-
1726	Grupo carbonilo	$\text{C}=\text{O}$
1242	Estiramiento asimétrica	$\text{C}-\text{O}-\text{C}$
1160	Estiramiento simétrico	$\text{C}-\text{O}$

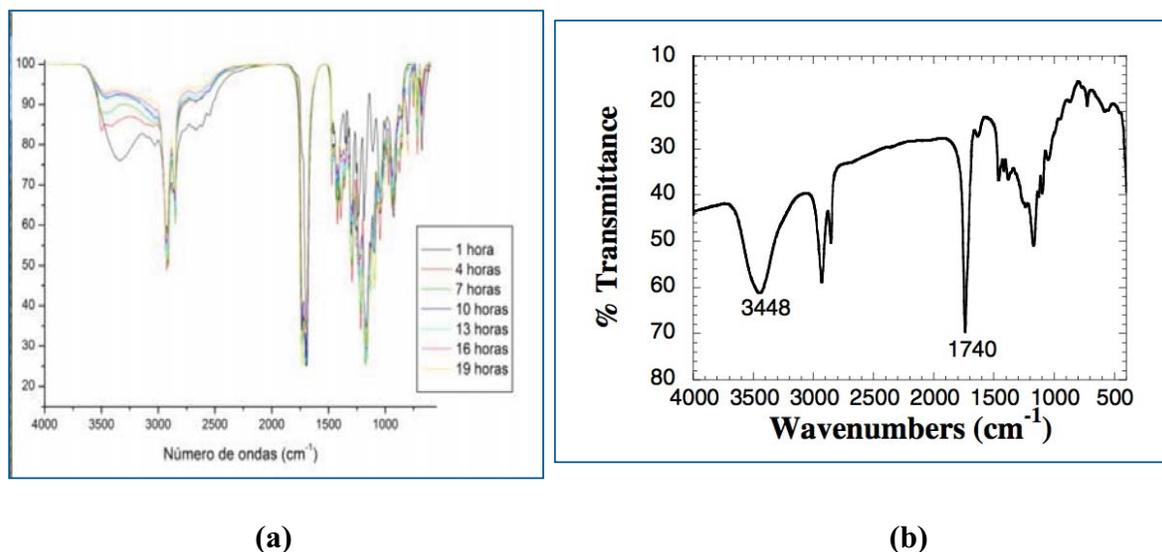


Figura 21. Espectros FTIR (a) muestras del prepolímero a distintos tiempos Franciliere [54], (b) La reacción del prepolímero en 24 h Wang [9]

Tabla 9. Principales enlaces de un espectro FT-IR del prepolímero PGS según datos de Franciliere [54]

Bandas [cm ⁻¹]	Enlace correspondiente	Grupo funcional
3480	Estiramiento tensión	-OH
2924	Estiramiento asimétrico	-CH ₂ -
2853	Estiramiento simétrico	-CH ₂ -
1732	Ácido carboxílico	C=O
1164	Bandas de estiramiento	C-O

7.2 Resonancia Magnética Nuclear (¹HNMR).

Los átomos de hidrógeno del prepolímero PGS se clasifican de la siguiente manera [55,56]:

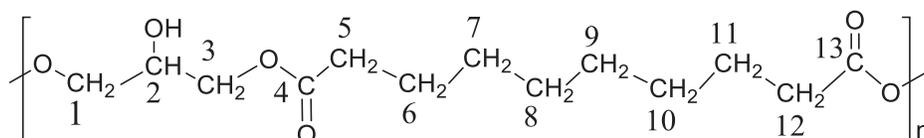


Figura 22. Molécula del prepolímero PGS, donde se muestran el número de carbono correspondiente a cada hidrógeno.

La calibración se basa en la señal del disolvente protonado residual (CHCl₃) a 7.271 ppm. Los desplazamientos relacionados con el ácido sebácico fueron relacionados con las señales (1.30, 1.62 y 2.35) ppm. El ancho del pico 3.581 ppm indica la presencia del grupo hidroxil (-OH). Las intensidades de la señal del glicerol fueron relacionadas en el intervalo (3.5-5.5) ppm. Ver figura 23

Tabla 10. Análisis del espectro ^1H NMR para el prepolímero PGS

Grupo	Posición	Intervalo (ppm)
CH_2	1 y 3	5.094 - 5.263
CH	2	4.113 - 4.285
CH_2	5 y 12	2.369 - 2.298
CH_2	6 y 11	1.608
OH	-	3.581
CH_2	7,8,9 y 10	1.306

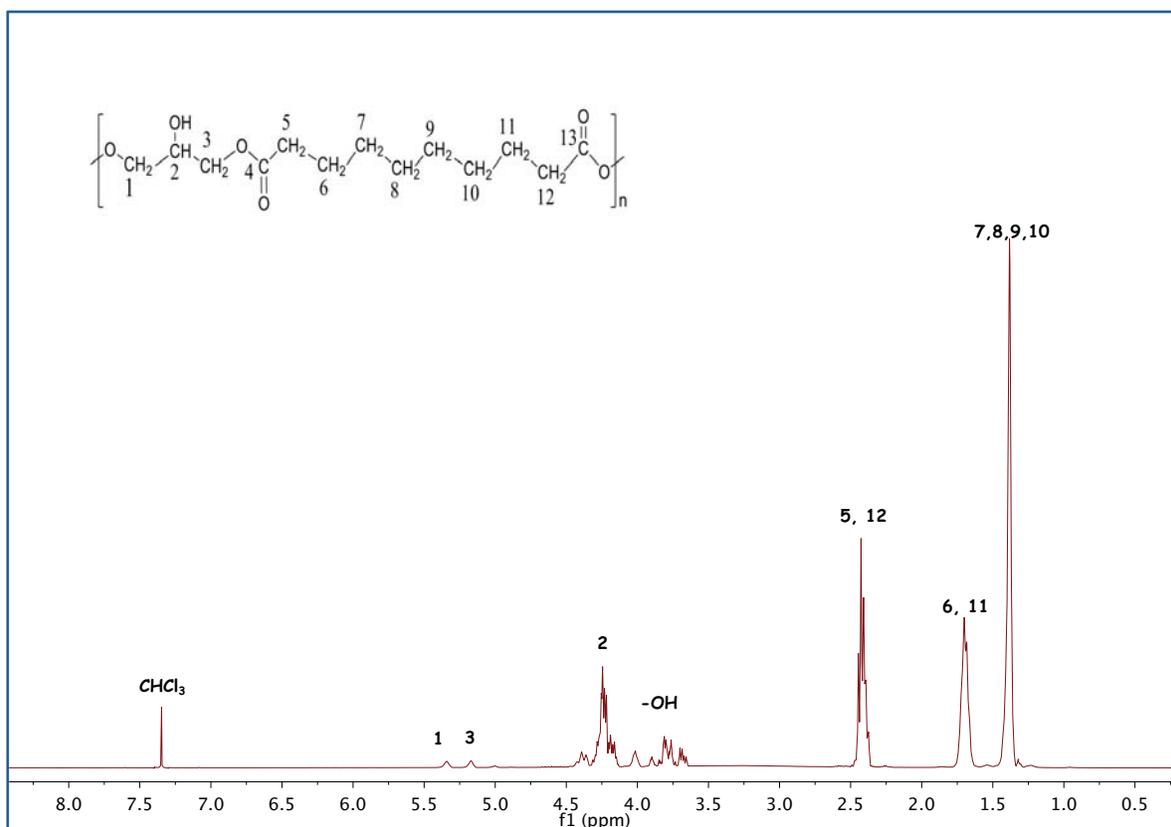


Figura 23. Espectro representativo de $^1\text{HNMR}$ del prepolímero de poli(glicerol sebacato). Las intensidades de la señal del glicerol esta en el intervalo 3.5-5.5 ppm, y las señales del ácido sebácico fueron identificadas en 1.30, 1.62 y 2.35 ppm.

7.3 Resonancia Magnética Nuclear ^{13}C RMN

Se confirmó la estructura del prepolímero PGS con el espectro de ^{13}C RMN, donde los picos de éste se clasifican de la siguiente manera. Las señales marcadas como 24.998 ppm y 34.272 ppm corresponden al ácido sebácico. Las señales en los desplazamientos químicos en 62.393 ppm y 77.545 ppm fueron atribuidas a los carbonos del glicerol. La señal en la posición de 174.137 ppm corresponde al carbón del grupo éster [57]. Ver tabla 9 y figura 25

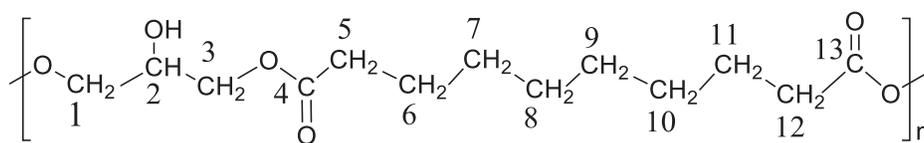


Figura 24. Molécula del prepolímero, donde se muestran el número de carbono

Tabla 11. Análisis del espectro ^{13}C NMR para el prepolímero PGS

Grupo	Posición	Intervalo (ppm)
-C-	5,6,7,8,9,10,11 y 12	34.272-24.998
-C-	1,2 y 3	62.393-77.545
-COO	4 y 13	174.137

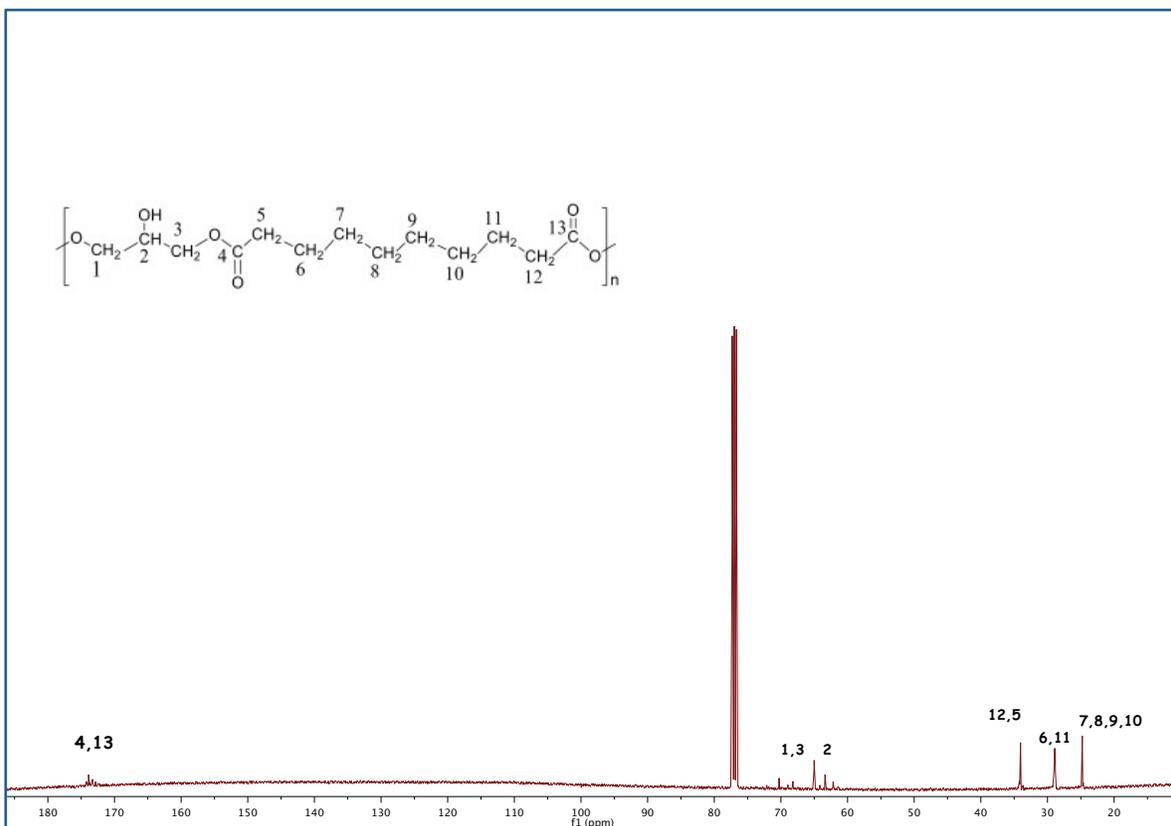


Figura 25. Espectro de ^{13}C NMR es representativo del prepolímero poli(glicerol sebacato). Las intensidades de la señal del glicerol se encuentran en un intervalo de 62.393 – 77.545 ppm, el ácido sebácico ocurre en 24.998, 29.139 y 34.272 ppm, y el grupo éster a 174.137 ppm.

Los grupos funcionales del prepolímero PGS, fueron corroborados por FT-IR. El enlace carboxílico de la cadena principal $\text{C}=\text{O}$ tienen una señal en la banda 1733 cm^{-1} , en el espectro ^{13}C NMR tiene una señal en 174.37 ppm. El glicerol tiene una señal en 3442 cm^{-1} y una señal en el espectro de ^1H NMR de 3.581 ppm.

7.4 Estructura de los polímeros

Los análisis de rayos-X mostraron que la poli(ϵ -caprolactona) es un material semicristalino [58] y en el difractograma de rayos X de la Figura 26, se distinguen los picos característicos de la poli(ϵ -caprolactona) a ángulos 2θ de 21.277, 23.695 y 29.716, aquí es claro el material debe exhibir un cierto grado de ordenamiento que debe repercutir en una morfología cristalina, con un porcentaje de cristalinidad de 31.5 %.

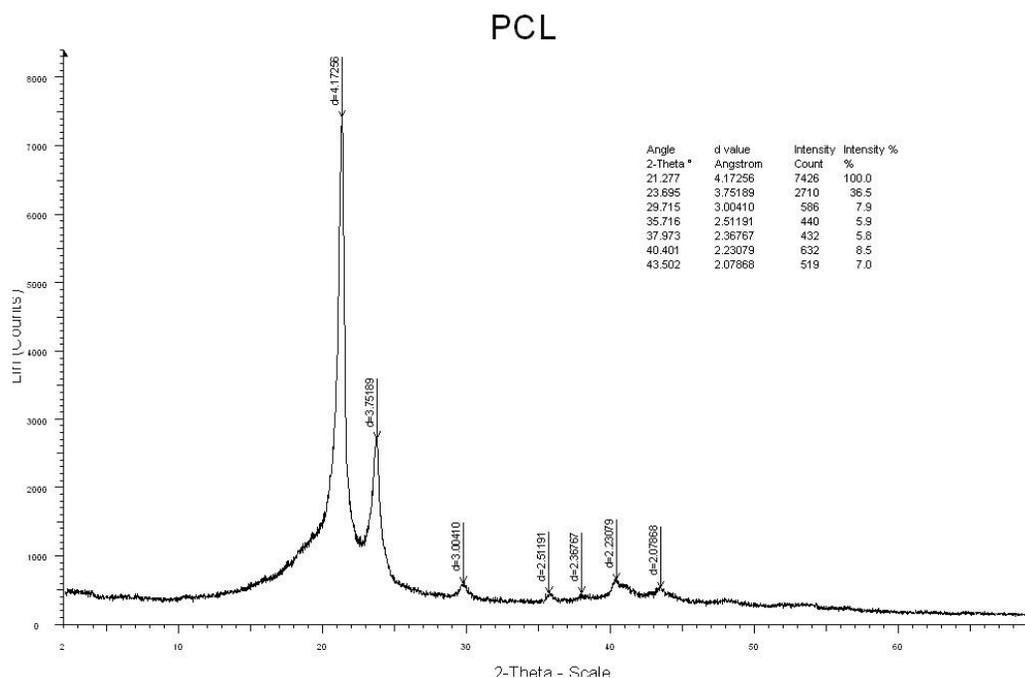


Figura 26. Difractograma de R-X de la PCL. Picos representativos ubicados en ángulo 2θ . El porcentaje de área cristalina es de 31.5 %

En cuanto al prepolímero PGS de la Figura 27 indica la presencia de unos planos de difractan en las posiciones correspondientes a 19.3° y 22.5° ángulos 2θ , siendo más intensa la señal del primer pico. Debido al difractograma se puede pensar que el prepolímero PGS tiene un cierto grado de ordenamiento que sugiere la presencia de una estructura semicristalina, con un área de cristalinidad de 15.1%

M13

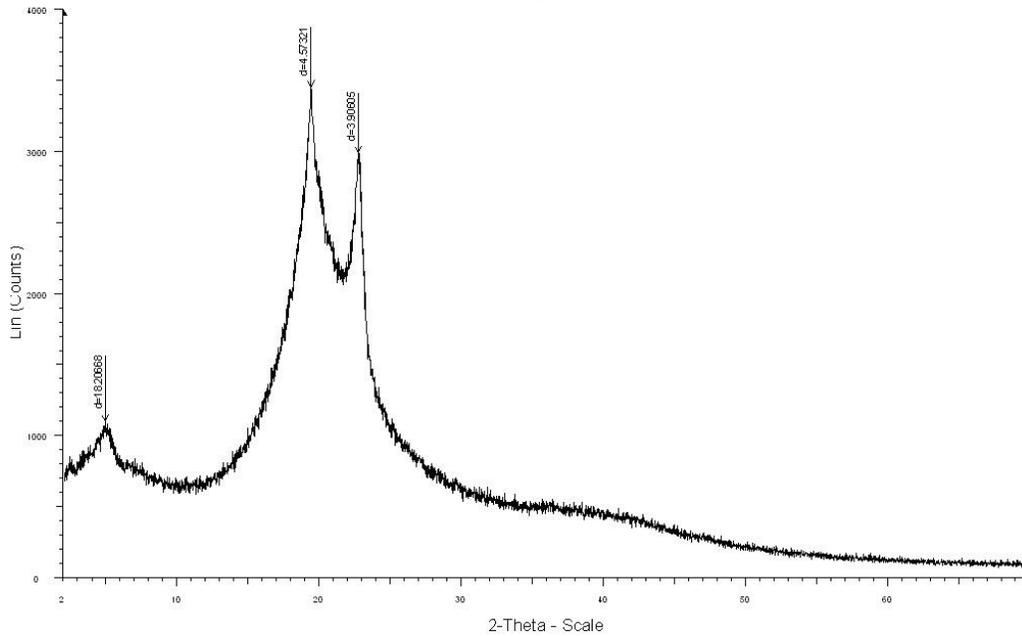


Figura 27. Espectro de difracción de R-X del prepolímero PGS (M-13). Picos representativos ubicados en ángulo 2θ . El porcentaje de área cristalina es de 15.11 %

El elastómero de PGS no presenta difracción cristalina en este ángulo, tiene un patrón similar reportado en otros trabajos [59,60] (ver Figura 28). En este sentido, hay que resaltar, que como se discutirá más adelante, el termograma por Calorimetría Diferencial de Barrido del elastómero PGS indicó que el material presenta una señal endotérmica asociada a una transición de primer orden (proceso de fusión), lo cual respalda la idea de una morfología semicristalina en el material; esto puede deberse a que el porcentaje del área de cristalización del elastómero es de 9.3%. Se considera amorfo cuando tiene un grado de cristalinidad menor a 10 %. El PGS entrecruzado tiene una estructura amorfa a temperatura ambiente.

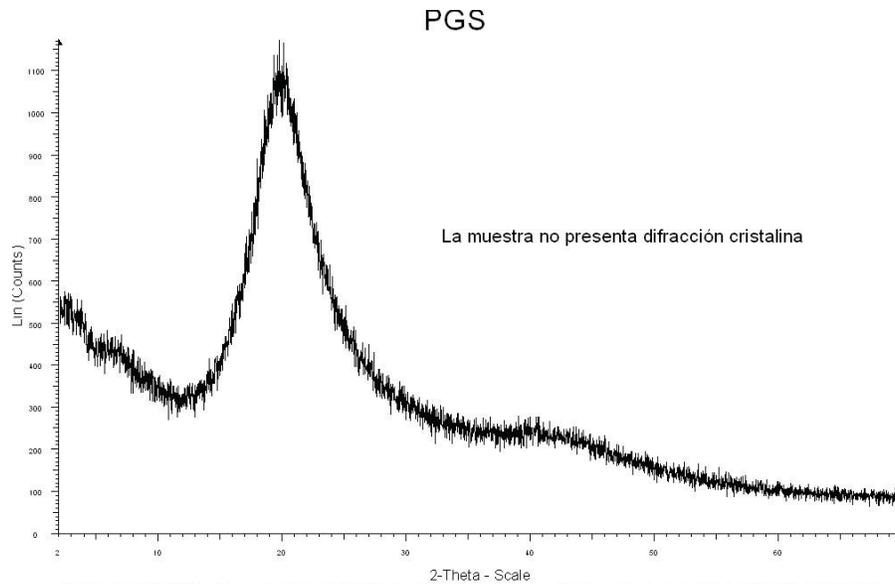


Figura 28. Espectro de difracción de R-X del Elastómero PGS, no presenta difracción cristalina

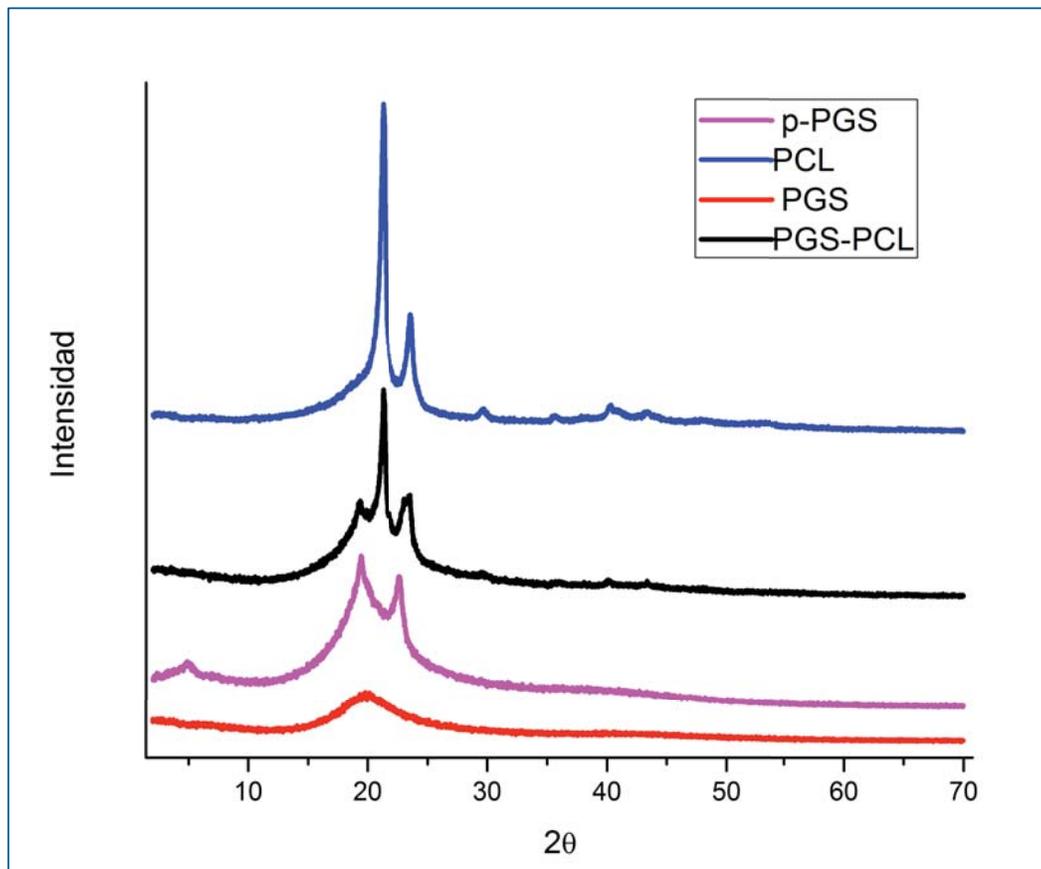


Figura 29. Espectros de difracción R-X de la policaprolactona PCL, pre polímero PGS, andamio de PGS-PCL, elastómero PGS.

En la Figura 29 se muestra un difractograma donde se muestran el prepolímero PGS, la PCL, la mezcla de PGS-PCL y el elastómero PGS, se encontró que los picos correspondientes a la mezcla polimérica se mantienen y únicamente se pueden detectar ligeros corrimientos, tal como se puede observar en los difractogramas presentados en esta figura, estos ligeros corrimientos se deben a una distorsión de la red cristalina (pequeñas diferencias entre los planos cristalinos), pero la estructura de la red se sigue manteniendo. De igual manera para una mejor visualización de los desplazamientos de los picos, en la Tabla 12 se resumen los ángulos 2θ asociados a dichas señales.

Tabla 12. Las señales de WAXS más representativas del prepolímero (PGS) , elastómero PGS, la poli(ϵ -caprolactona) (PCL) y el andamio PGS-PCL.

Muestra	Ángulo** (2θ)	Distancia** ($^{\circ}\text{A}$)	% Intensidad
Prepolímero PGS (M-13)	5.1	18.2066	31.9
	19.2	4.5732	100
	23.1	3.9060	79.1
Elastómero PGS*			
PCL	21.27	4.1725	100
	23.69	3.7518	36.5
	29.71	3.0041	7.9
	35.97	2.5119	5.9
	37.97	2.3676	5.8
	40.40	2.2307	8.5
	43.50	20.078	7.0
Andamios de PGS-PCL	19.29	4.5965	47.4
	21.28	4.1707	100
	21.85	4.0649	41.0
	23.23	3.8257	48.5
	23.58	3.7687	49.6
	29.69	3.0071	14.2
	36.013	2.4918	9.5
	48.28	2.2372	10.0
	43.46	2.0805	10.0

* La muestra no presenta difracción cristalina a este ángulo

** Los datos coinciden con la literatura [47,48]

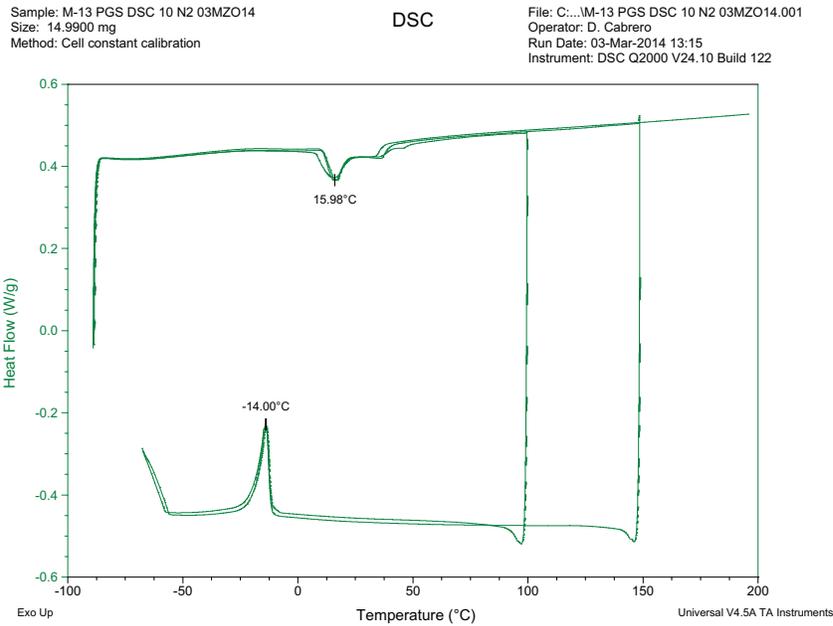
7.5 Características térmicas

El proceso de cristalización y fusión de los componentes puros y de la mezcla PGS-PCL, fueron estudiados por medio de la técnica de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) y su proceso de descomposición por medio de la técnica Termogravimétrico (TGA).

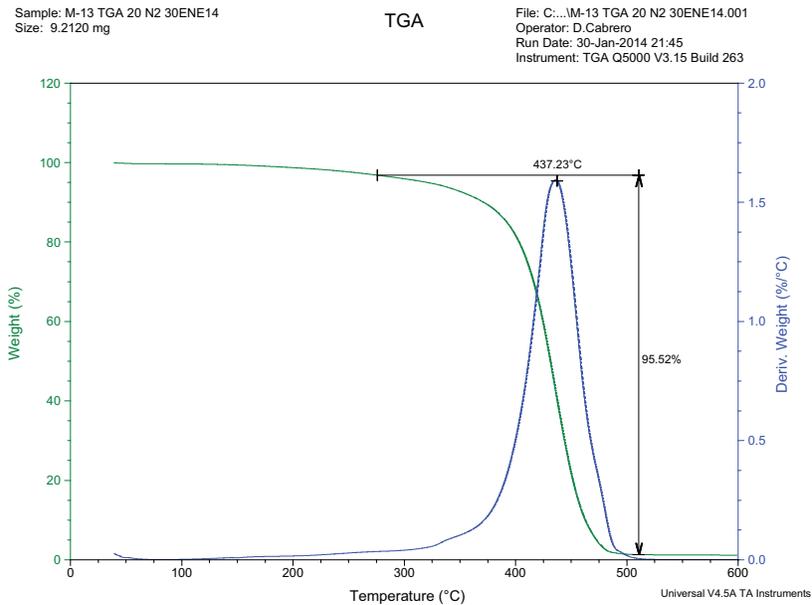
En la figura 30, 31, 32 y 33 se muestran los termogramas DSC y TGA del prepolímero PGS, de la PCL, del elastómero PGS y del andamio PGS-PCL respectivamente. En la Tabla 13 se muestran resultados obtenidos por DSC del prepolímero PGS, de la PCL y del andamio PGS-PCL respectivamente, y se corroboran con los reportados por otros autores. En la Tabla 14 se muestra el análisis del termograma de TGA de los materiales ya mencionados.

El prepolímero PGS (ver Figura 30) es parcialmente cristalino y por lo tanto sus propiedades dependen de la temperatura de transición vítrea (T_g) de la fase amorfa y la temperatura de fusión de la parte cristalina (T_m). En el análisis por DSC se observó una temperatura de cristalización (T_c), $T_c = -14.0\text{ }^\circ\text{C}$ y dos temperaturas de fusión $T_{m1} = 15.98\text{ }^\circ\text{C}$ y $T_{m2} = 37\text{ }^\circ\text{C}$ y la temperatura de transición vítrea (T_g) no se observó por encima de $-80\text{ }^\circ\text{C}$, que era el límite de detección inferior del instrumento usado en el estudio. El análisis por TGA indica que es un material estable ya que su temperatura de descomposición $T_d = 300\text{ }^\circ\text{C}$, con una tasa de rapidez de descomposición de $437\text{ }^\circ\text{C}$.

Como resultado de las mediciones de esta figura el prepolímero es semicristalino a temperatura ambiente y amorfo a $37\text{ }^\circ\text{C}$



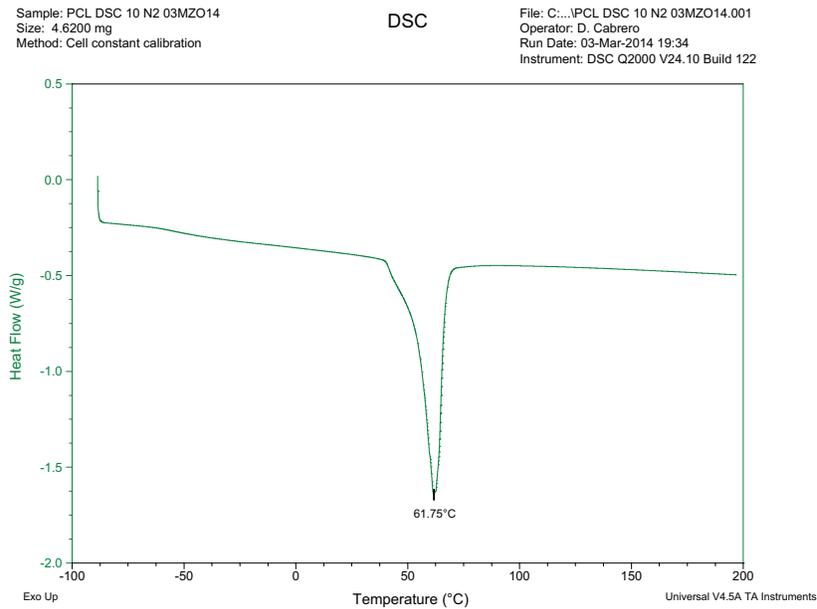
(a)



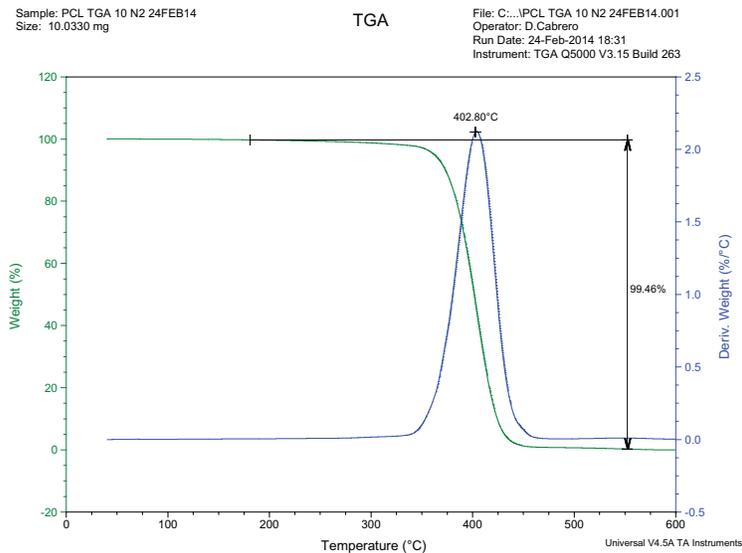
(b)

Figura 30. Termogramas del prepolímero PGS. En (a) se muestra el DSC, las temperaturas de cristalización ($T_c = -14\text{ °C}$) y fusión ($T_m = 15.98\text{ °C}$) del prepolímero PGS. En (b) se observa el TGA, temperatura a la cual empieza a descomponerse el prepolímero PGS ($T_d = 300\text{ °C}$).

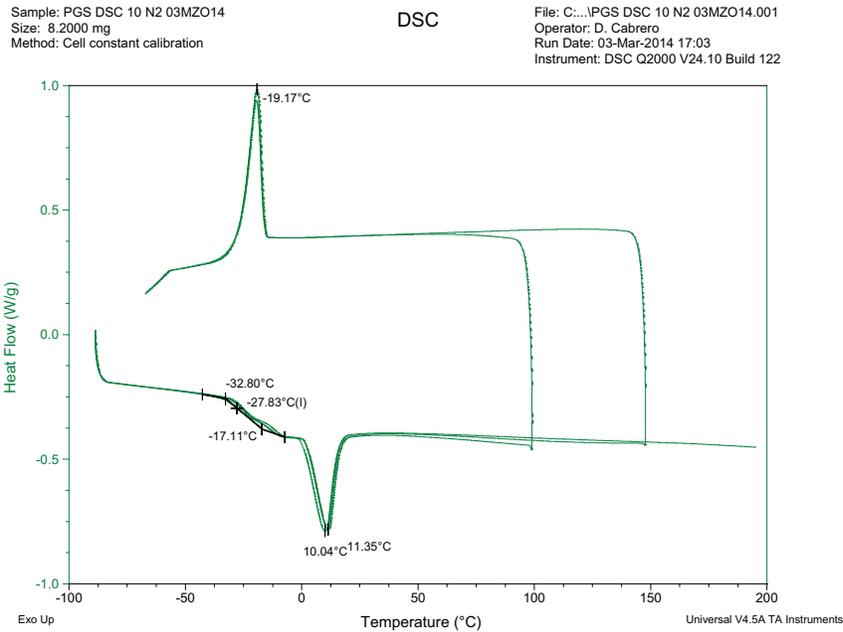
La PCL tiene una temperatura de fusión de $T_m = 61.75\text{ }^\circ\text{C}$, una temperatura de transición vítrea de $T_g = -60\text{ }^\circ\text{C}$ y su temperatura de descomposición $T_d = 350\text{ }^\circ\text{C}$ con una velocidad de descomposición de $402.80\text{ }^\circ\text{C}$.



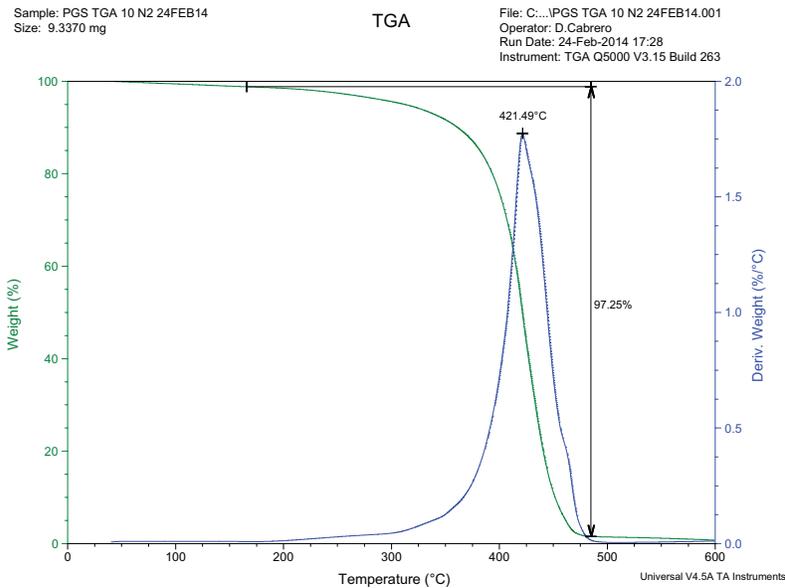
(a)



(b) Figura 31. Termogramas de la PCL. En (a) se el muestra DSC, la temperatura de fusión de la PCL ($T_m = 61.75$). En (b) se muestra temperatura de descomposición de la PCL ($T_d = 350\text{ }^\circ\text{C}$).



(a)



(b)

Figura 32. Termograma del elastómero PGS. En (a) se muestra el DSC, las temperaturas de fusión ($T_m = 10.7\text{ }^\circ\text{C}$), Transición vítrea ($T_g = 27.83\text{ }^\circ\text{C}$) y de cristalización ($T_c = 19.17\text{ }^\circ\text{C}$) del elastómero. En (b) se observa el TGA, temperatura a la cual empieza a descomponerse el elastómero ($T_d = 210\text{ }^\circ\text{C}$)

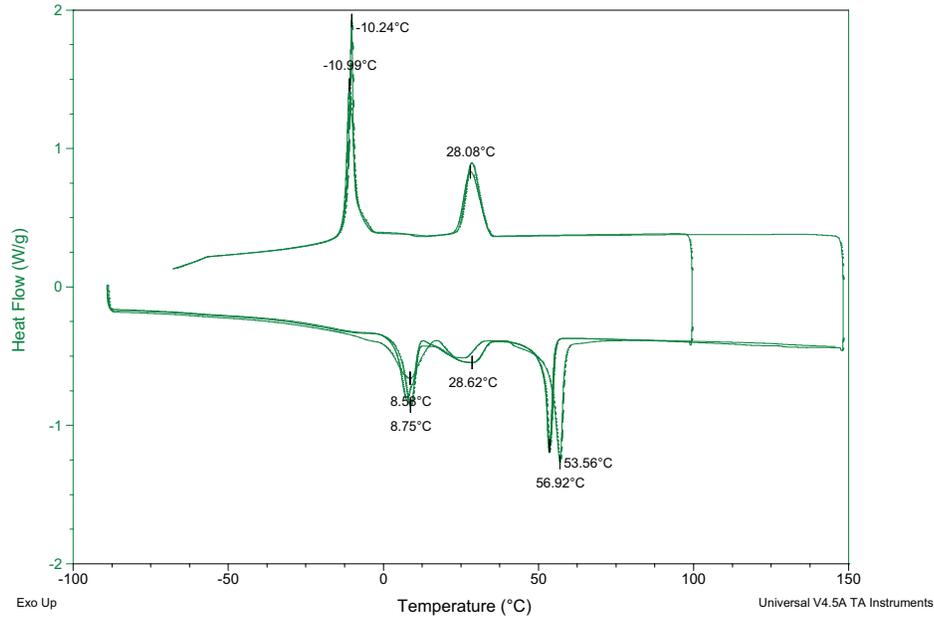
El elastómero PGS es un material amorfo a temperatura ambiente, a demás cerca de 37 °C lo hace un elastómero casi completamente amorfo, presenta una $T_m = 10.7$ °C y una $T_c = -19.17$ °C y una $T_g = -27.83$ °C [55,59], éste empieza a descomponerse a una temperatura de 210 °C, con una rapidez de descomposición de 421.49 °C, es totalmente estable.

En los termogramas de enfriamiento y calentamiento del andamio de PGS-PCL de la Figura 33 muestra claramente la presencia de dos endotermas de fusión indicando la presencia tanto del prepolímero PGS como la PCL, de los cuales corresponde a la de menor temperatura al PGS y la de mayor temperatura a la PCL. Tal evidencia revela que no se produce ninguna variación química importante por efecto del mezclado de estos dos polímeros, es decir, que la posición de los picos de fusión permanece inalterable, sus temperaturas de fusión se sitúan separadamente y ubicadas a temperaturas similares a la de los correspondientes polímeros. El hecho de que la fusión de los materiales permanezca invariable (existencia de dos endotermas separadas en la mezcla); indica la completa inmiscibilidad de dos fases cristalinas. En la región amorfa imparte elasticidad y la parte cristalina proporciona resistencia y rigidez.

Sample: PGS-PCL M-13 DSC 10 N2 03MZO14
Size: 6.2200 mg
Method: Cell constant calibration

DSC

File: C:\...PGS-PCL M-13 DSC 10 N2 03MZO14.001
Operator: D. Cabrero
Run Date: 03-Mar-2014 20:25
Instrument: DSC Q2000 V24.10 Build 122

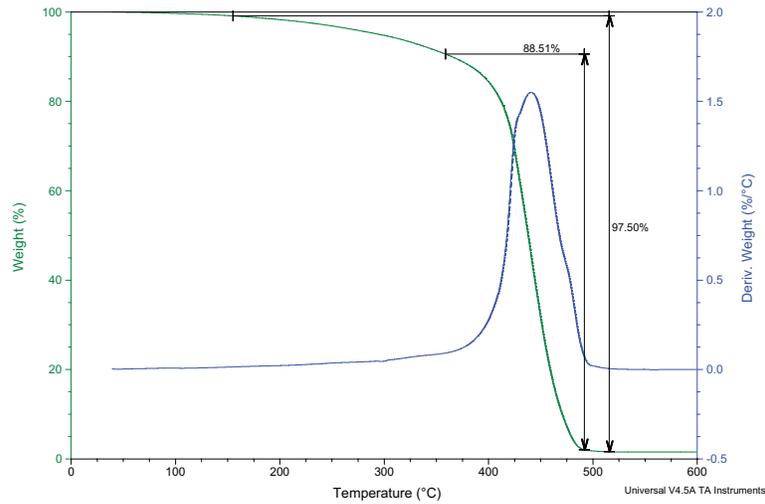


(a)

Sample: PGS-PCL TGA 20 N2 30ENE14
Size: 18.1390 mg

TGA

File: C:\...Análisis Térmico\PGS-PCL TGA
Operator: D. Cabrero
Run Date: 30-Jan-2014 22:20
Instrument: TGA Q5000 V3.15 Build 263



(b)

Figura 33. Termogramas del andamio PGS-PCL. En (a) se muestra el DSC, temperaturas de fusión ($T_m = 8.75\text{ °C}$ y 56.92 °C) y cristalización ($T_c = 10.99\text{ °C}$ y 28.08 °C) del andamio PGS-PCL. En (b) se muestra TGA temperatura de descomposición del andamio PGS-PCL

En los termogramas podemos observar las temperaturas de cristalización y fusión muestran una similitud con las reportadas (ver Tabla 13) , El análisis de TGA muestra una estabilidad térmica en las muestras analizadas (ver Tabla 14).

Tabla 13 Muestra los resultados de las temperaturas de fusión, cristalización y en algunos casos la temperatura de transición vítrea que se obtuvieron en este trabajo y los de otros autores.

Material	Tm °C	Tc °C	Tg °C	Referencia
Pre-polímero	15.99	-14.0	-	En este trabajo
Pre-polímero	6	-14.3	-26.50	[61]
Pre-polímero	9.6	-18.8	-23.1	[59]
Pre-polímero	10.2	-18.3	-	[64]
PGS	10.7	-19.17	-27.83	En este trabajo
PGS	9.6	-18.8	-23.1	[59]
PGS	5	-14.0	-22.5	[55]
Pre-polímero	15.0	-10.15	-	[65]
PGS				
PCL	57.8-60	25.29	-60	[65]
PCL	61.75	-	-55.22	En este trabajo
Mezcla Polimérica				
PGS	8.5	-10.24		En este trabajo
PCL	56.92	28.04		
PGS	12.2	-11.4		[65]
PCL	55.8	29.51		

Tabla 14. Temperatura de descomposición del prepolímero PGS, de la PCL y el andamio PGS-PCL

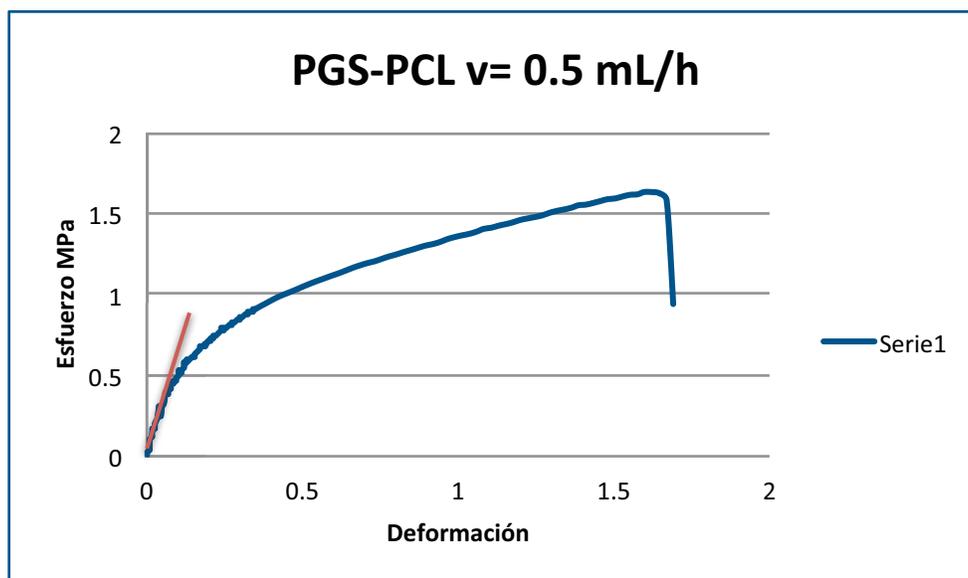
Material	Temperatura al cual empieza a descomponerse °C	Temperatura de máxima rapidez de pérdida de masa °C	% de pérdida de masa
prepolímero PGS	300	437.23	95.52
PCL	350	402.80	99.46
PGS	210	421.49	97.25
PGS-PCL	400	437.50	97.50

7.6 Ángulo de Contacto.

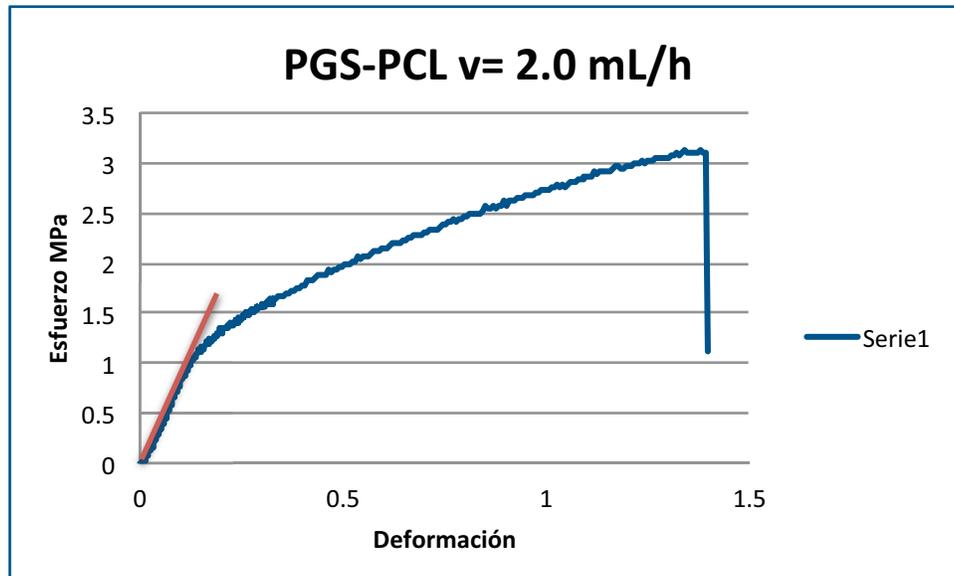
La humectabilidad y la hidrofiliidad son parámetros útiles para calificar a los biomateriales. Se midió el ángulo de contacto en avance (Θ_A) al colocar un volumen de agua desionizada de 8 μL sobre los andamios de PGS-PCL la gota fue inestable ya que al contacto con el andamio este se humedeció rápidamente en tan solo pocos segundos ($\Theta = 0$). Esto demuestra que la adición del prepolímero PGS mejora la hidrofiliidad de los andamios de PGS-PCL de manera significativa. No hay resultados de Θ_A ya que una gota penetra inmediatamente en el andamio, ya que es extremadamente hidrofílica. Por otro lado el ángulo de contacto de la PCL es de $120 \pm 4^\circ$, lo que muestra su naturaleza hidrofóbica.

7.7 Propiedades Mecánicas

Para calcular los módulos de elasticidad se midieron las pendientes de la parte elástica (parte lineal), las gráficas de esfuerzo – deformación se obtuvieron por medio de un paquete graficador; ORIGIN8.5 y un programa ad-hoc [52]. El resultado del módulo elástico es muy similar en todos los casos y es igual a (7.6125 ± 0.3121) MPa y (13.046 ± 1.614) MPa respectivamente.



(a)



(b)

Figura 34. Gráficas esfuerzo-deformación. Del andamio PGS-PCL. (a) Con una rapidez de inyección de 0.5 mL/h. (b) Con una velocidad de inyección de 2.0 mL/h

Los Módulos Elásticos (E) se presentan en la tabla 15. Estos módulos fueron comparados con el módulo elástico de una Arteria aorta Tabla 16 [62]. Los andamios de PGS-PCL mostraron propiedades mecánicas similares a la de la válvula aórtica humana. Según A. Tobaruela y colaboradores [63], la resistencia a la ruptura de la pared arterial esta en función de la edad, tanto para la dirección radial como longitudinal de aorta ascendente de donantes sanos y pacientes con el síndrome de Marfan. El síndrome de Marfan es una enfermedad hereditaria del tejido conjuntivo que afecta al sistema cardiovascular. En la aorta, el síndrome de Marfan hace que la pared de la misma se debilite y se dilate, provocando con el paso del tiempo un aneurisma y si no se interviene convenientemente lleva a su ruptura. Los valores obtenidos del módulo elástico en este trabajo son superiores a los que muestra una aorta ascendente para una población diversa, lo que se puede apreciar es que la resistencia a la ruptura va disminuyendo conforme aumenta la edad de los pacientes.

Tabla 15. Efecto de la velocidad de flujo en el módulo eástico. Las condiciones de electrohilado fueron las mismas para todas las muestras, V=17.5 KV, d= 20 cm, T= 30 °C con una humedad relativa menor a 40 %

Muestra	Modulo Elástico (MPa)	Error Estándar	Flujo de inyección mL/h
PGS-PCL	7.6125	0.3121	0.5
PGS-PCL	13.046	1.614	2.0

Tabla 16. Módulo elástico de una aorta nativa [62]

Aorta	Modulo Elástico (MPa)
Radial	1.82 ± 0.18
Longitudinal	1.38 ± 0.10

7.8 Morfología de los andamios

Para caracterizar la morfología de las fibras obtenidas por medio de la técnica de electrohilado, se utilizó el microscopio de barrido (SEM). Para medir el diámetro de fibra de los andamios se utilizó el software ImageJ, (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>). Los resultados se muestran en la Tabla 15.

Existen diversos parámetros que están íntimamente relacionaos con las propiedades y características de las fibras obtenidas por medio de electrohilado por lo que su control durante la ejecución del proceso es indispensable, en la Tabla D-2 del anexo D, se resume la influencia de los parámetros en las características de las fibras obtenidas.

La concentración es uno los parámetros determinantes del tamaño y las morfología de las fibras. Tanto la tensión superficial como la viscosidad dependen de la concentración de la mezcla polimérica en la solución, dicha viscosidad está relacionada con el grado de enredamiento (enmarañamiento) de las cadenas poliméricas, si las cadenas son menos enredadas, la solución tendrá una viscosidad baja y viceversa. El diámetro de fibra tiende a aumentar con la viscosidad [71,72 y 73]. Si la disolución esta muy diluida las fibras de la mezcla polimérica se rompen en gotas antes de llegar al colector debido al efecto de tensión

superficial, de igual forma si la solución esta muy concentrada las fibras no se podrán formar debido a la alta viscosidad, lo que dificulta el paso de la disolución a través del capilar.

Los parámetros del proceso que afecta la morfología de las fibras obtenidos por la técnica de electrohilado, son: voltaje, rapidez de inyección, distancia entre la punta de la aguja, tipo de colector y parámetros ambientales.

Los parámetros ambientales incluyen la humedad y la temperatura. En este trabajo se encontró que al aumentar la temperatura se producían fibras de menor diámetro. Se ha encontrado que la reducción de diámetro se atribuye a la disminución de la viscosidad de las soluciones poliméricas a altas temperaturas ya que existe una relación inversa entre viscosidad y temperatura [26,71].

En el proceso de electrohilado se ha observado que al aumentar la humedad ambiental se presentan fibras irregulares y la aparición de pequeños poros en las superficie de las fibras, ver figura D-2 del anexo D. También se pudo observar que en ambientes con poca humedad el disolvente se evapora más rápidamente. A veces la velocidad de evaporación era tan rápida que en la punta de la aguja se crea una deficiencia en el proceso de electrohilado al taparse la aguja después de pocos minutos de haber empezado el proceso.

Los tipos de colectores que se utilizaron en este trabajo fueron de varios tipos como el de aluminio, placa de cobre, vidrio e incluso se utilizó la placa de vidrio en vuelta en alambre de cobre, pero los resultados no eran favorables ya que el tipo de fibras que se obtenían eran aplanadas y no se veían fibras definidas. Se desarrolló dos tipos de colectores. El primero es un marco plano formado por una lámina de cobre con un corte rectangular en su centro, esta lámina está soportada a su vez por un marco de madera para poder colocarlo dentro de la caja de electrohilado. El segundo es un colector rotatorio se utilizó para hacer los andamios en 3D. Este consta de un tubo de cobre que gira por la acción de un pequeño motor DC el cual tiene adaptado un reductor de velocidad para hacer rotar el tubo a una velocidad de tres vueltas por segundo.

La distancia de la aguja al colector también es importante ya que influye en la morfología de las fibras en el proceso de electrohilado. Una distancia apropiada para dar tiempo suficiente para eliminar todo el solvente antes de llegar al colector fue de 20 cm. De otra forma a distancias muy pequeñas o muy largas se obtenían grumos y hasta incluso gotas de disolvente que no se alcanzaban a evaporar ver figura D-3 del anexo D.

La rapidez de inyección de la mezcla polimérica es un proceso demasiado importante como se demostrara más adelante, a una rapidez de inyección baja se vio que favorecía a la evaporación del disolvente y el diámetro de la fibra también disminuyó. También se observó que al aumentar la velocidad de flujo aumento el diámetro de fibra y alcanzó a evaporarse perfectamente bien el disolvente, esto no sucedería si la rapidez de inyección hubiese sido muy alta, ya que el disolvente no alcanza a disolverse y se hubiesen obtenido grumos.

El voltaje aplicado fue de 17.5 kV, este voltaje fue el suficiente para poder romper la tensión superficial y causar un mayor alargamiento de las fibras sin la formación de grumos o aglomerados. La influencia en el voltaje depende además de las propiedades viscoelásticas de la mezcla polimérica, por eso es importante analizar la mezcla polimérica con la mezcla de disolventes.

Las fibras electrohiladas obtenidas partieron de una disolución cuya concentración fue de 33% w/v con una relación 2:1 en peso de la mezcla polimérica PGS-PCL, a una distancia inyector-colector de 20 cm. Con una diferencia de potencial de 17.5 kV. Estas condiciones experimentales del proceso de electrohilado se mantuvieron constantes durante todos los experimentos, excepto la rapidez de inyección, la cual se varió de 0.5 mL/h a 2.0 mL/h.

Se observó que el grado de alineación de las fibras, la morfología y el diámetro se veía afectado por la rapidez de inyección de la solución polimérica, también era afectado por la cantidad de PGS administrado en la mezcla polimérica, ya que influye en la viscosidad. Este parámetro es muy importante para poder electrohilar, ya que la viscosidad de la solución es determinante en el diámetro de la fibra y la morfología durante el proceso de electrohilado a mayor viscosidad de la solución se obtenían fibras más uniformes, también se pudo observar la formación de grumos cuando tenía una mayor cantidad de PGS ya que

la viscosidad disminuía. También se observó que a concentraciones bajas se obtenían un conjunto de grumos y al ir aumentando el valor de la concentración, la forma de estos grumos cambia de esférico a alargado hasta llegar a formarse una fibra completamente uniforme con diámetros cada vez mayores. Una forma para evitar la formación de perlas fue adicionar dimetilformamida (DMF) al disolvente diclorometano (DCM), con lo que se redujo la tensión superficial y se minimizó la formación de perlas en las fibras.

En la figura 35 se muestra un andamio de la mezcla polimérica PGS-PCL en una relación 2:1 PGS-PCL con una rapidez de inyección de 0.5 mL/h, el que resultó muy parecido al reportado por Shilpa Sant y colaboradores [35].

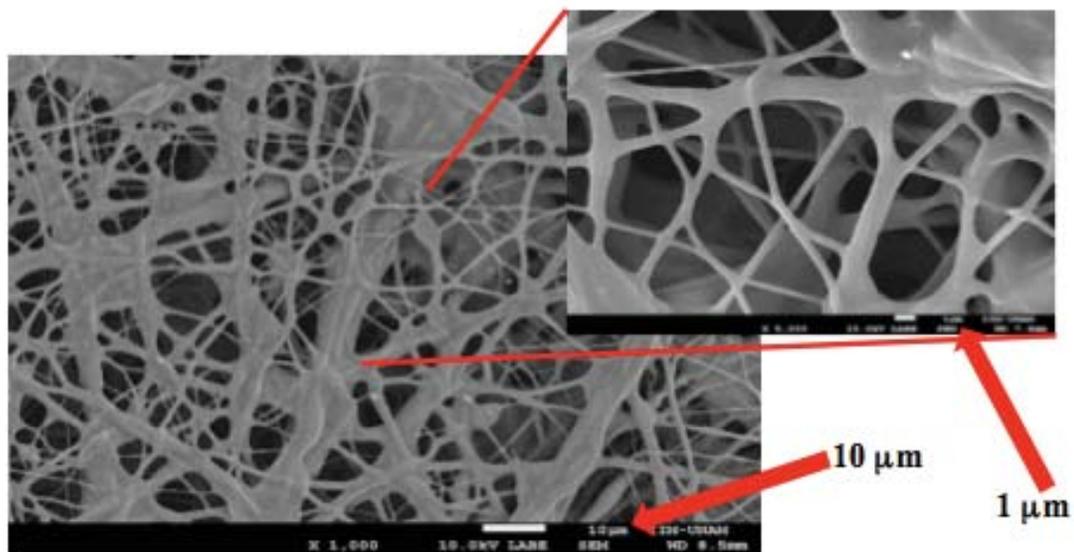


Figura 35, Micrografía SEM Muestra prepolímero PGS-PCL, en ampliificaciones: X 1,000 y X 5,000, con barras de escala de 10 µm y 1 µm.

En la figura 35 se muestra un andamio poroso con fibras unidas (como si estuvieran soldadas), lo que le da estabilidad al andamio.

En la Figura 36, se muestran las mallas de los andamios de fibras de PGS-PCL obtenidos por Shilpa Sant y colaboradores [35], quienes argumentan que la proporción 2:1 de prepolímero PGS y poli(ϵ -caprolactona) (PCL), fue la que les resultó más viable para un

cultivo *in-vitro* de células de cordón Umbilical de Tejido Endotelial de Venas, por sus siglas en inglés: (HUVEC). Se hace notar que, el andamio obtenido por Shilpa Sant resulta muy similar en morfología al obtenido en este trabajo Figura 35. Los andamios tienen una porosidad aproximada del 80%, con diámetros de fibras diferentes, en este trabajo se obtuvieron fibras con un diámetro de 1.6 μm , el reportado en la literatura [35] fue de 2.89 μm en una relación 2:1 PGS-PCL. También cabe mencionar que la concentración de la mezcla polimérica afecta la formación de aglomeraciones

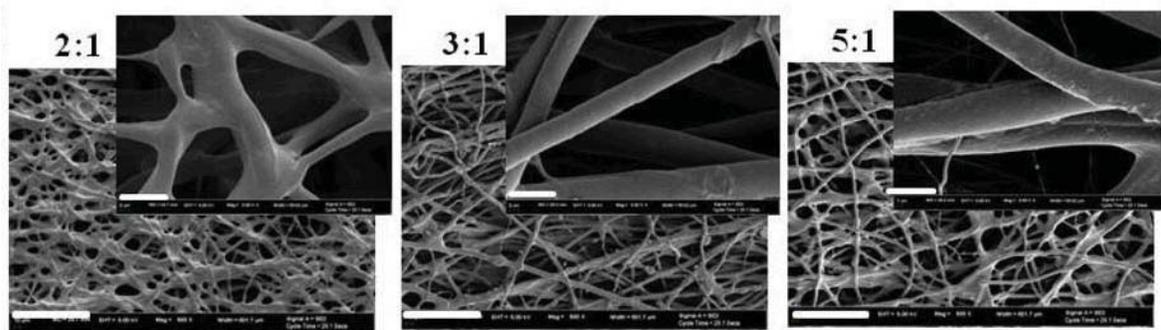
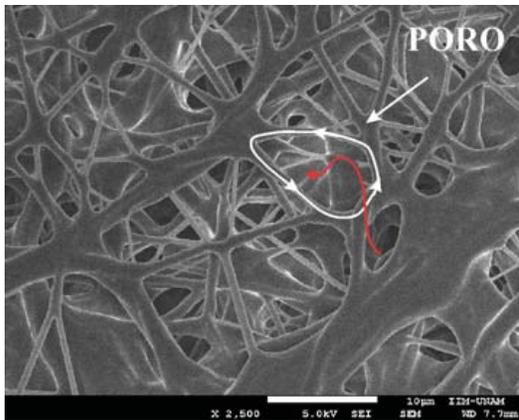
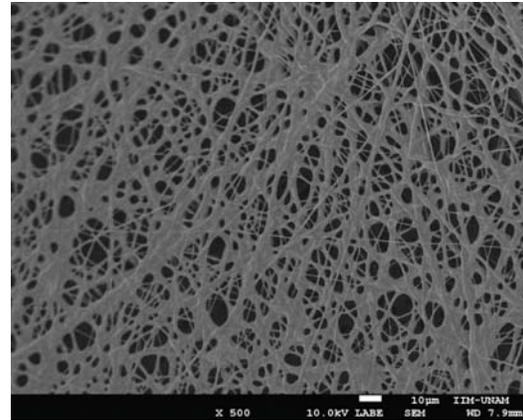


Figura 36. Reproducción de los andamios obtenidos por Shilpa Sant y colaboradores [35]. El diámetro de fibra es de 2.89 μm para una concentración de 2:1 PGS:PCL

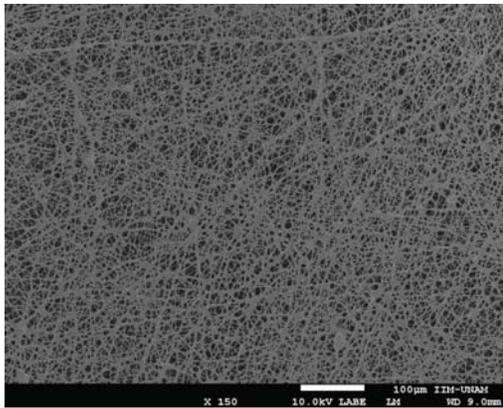
En la Figura 37 se muestran varias micrografías (SEM) obtenidas por electrohilado, las imágenes corresponden a microfibras unidas (soldadas), que forman un mallado poroso, al que se le denomina andamio. Este andamio PGS-PCL se obtuvo con una relación de 2:1 y con una rapidez de flujo de 0.5 mL/h. la primera micrografía (a) muestra el andamio a una amplificación de X 2500 y (b) con una amplificación de X 500. La barra de la micrografía es de 10 μm



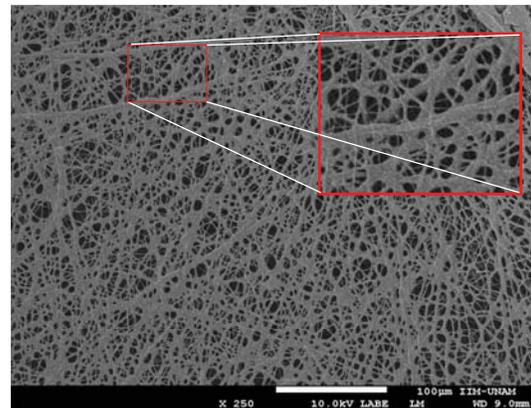
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 37. Micrografías de andamios de PGS-PCL, en una relación 2:1, obtenidos a una velocidad de 0.5ml/h. El diámetro promedio de fibra es de 1.6 μm . Tomadas a escala y ampliaciones diferentes. La barra de las micrografías es de 10 μm y 100 μm .

En las micrografías (c) y (d), la ampliación es de X 150 y X 250 respectivamente. El diámetro promedio de las microfibras es de 1.6 μm . Tomadas a la misma escala con ampliaciones diferentes. La barra de éstas micrografías es de 100 μm . Las micrografías muestran una formación continua de fibras y sin la formación de grumos, con una porosidad de 80%.

En la figura 38 se muestran andamios PGS-PCL de Shilpa Sant [65], obtenidos con una rapidez de inyección que corresponde al andamio PGS-PCL obtenido con una rapidez de inyección de 2.0 mL/h, los cuales resultan con una morfología del mallado muy semejante,

a los obtenidos en este trabajo y que se muestran en la Figura 39. Sin embargo la diferencia entre los andamios de Shilpa Sant y los que se fabricaron en este trabajo, consiste en un módulo elástico mayor lo cual nos permitirá sintonizar las propiedades mecánicas de la arteria aorta. Los resultados del análisis de los módulos elásticos están reportados en la Tabla 15.

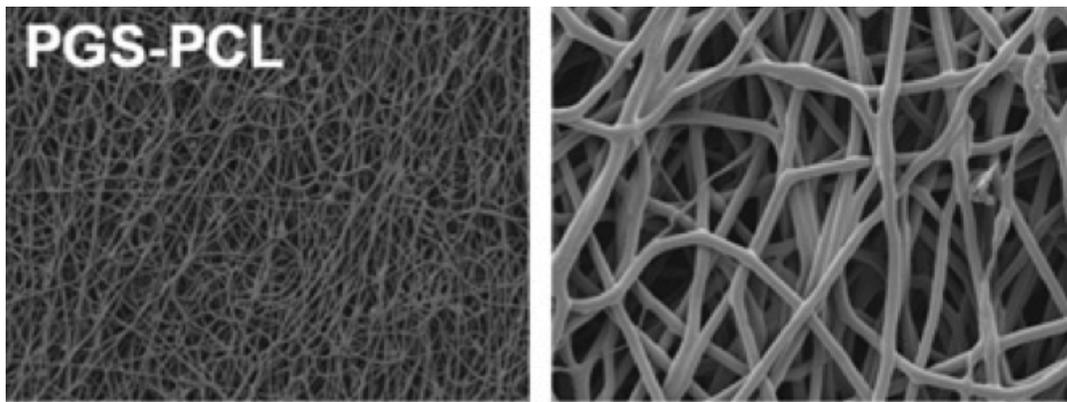
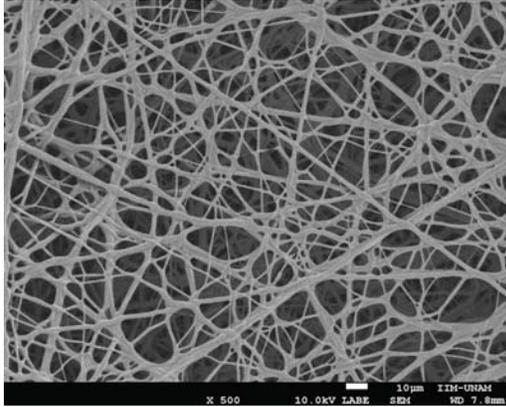
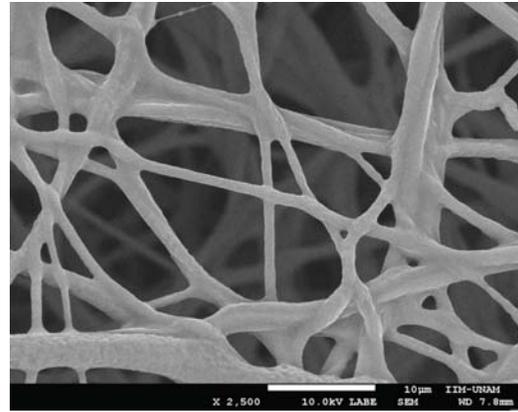


Figura 38. Micrografías de andamios de PGS-PCL obtenidos por Shilpa Sant et al a una rapidez de 2.0 mL/h. El diámetro de fibra no se reportó en este trabajo. El módulo elástico es de (7.8 ± 0.45) MPa. [65]

Se debe observar que en la micrografías de la figura 39, tiene un mallado con porosidad mayor, que los mostrados en la Figura 37. Esto principalmente se debe a que la rapidez de inyección fue mayor (2.0 mL/h) a la que se empleó en la obtención de los andamios de la Figura 37. Además también se puede observar que los andamios de la Figura 39, tienen en promedio una porosidad y un diámetro mayor, lo que era de esperarse ya que esto es un resultado comprobado del proceso de electrohilado.



(a)



(b)

Figura 39. Micrografías de andamios de PGS-PCL obtenidos a una rapidez de 2 mL/h. El diámetro de fibra es: $2.615 \mu\text{m}$ y el módulo elástico es de $(13.046 \pm 1.614) \text{MPa}$. (a) con una escala de $10 \mu\text{m}$ y una ampliación de X 500, (b) con una escala de $10 \mu\text{m}$ y una ampliación de X 2500

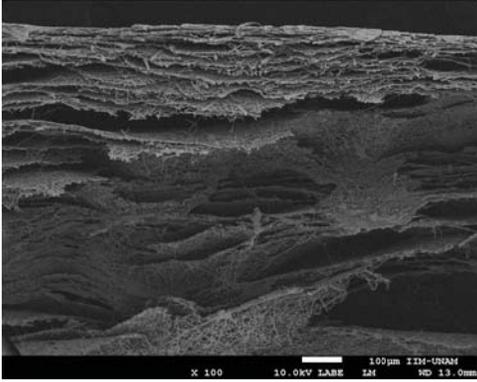
La figura 40 se muestra una fotografía que corresponde a un andamio tubular de PGS:PCL (2:1), obtenido por electrohilado con un colector rotatorio descrito en la sección 6.3. Este colector se construyó para satisfacer los requerimientos en la fabricación de andamios tubulares con diámetros variables (5.0 a 20.0) mm. En el anexo E, se presenta el diseño y los planos de la construcción de este dispositivo.



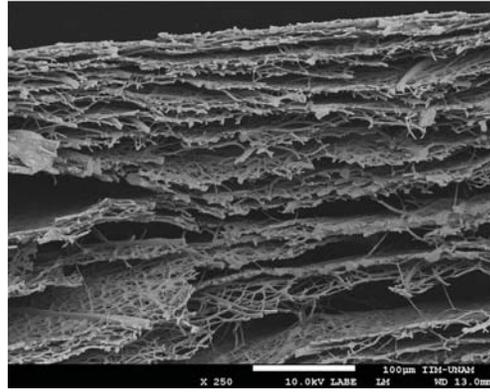
Figura 40. Andamio tubular de PGS-PCL

En la Figura 41 muestran un corte de vista frontal del andamio tubular a diferentes ampliaciones. La rapidez de inyección fue de 0.5 mL/h y con las mismas condiciones de electrohilado ya mencionadas con anterioridad.

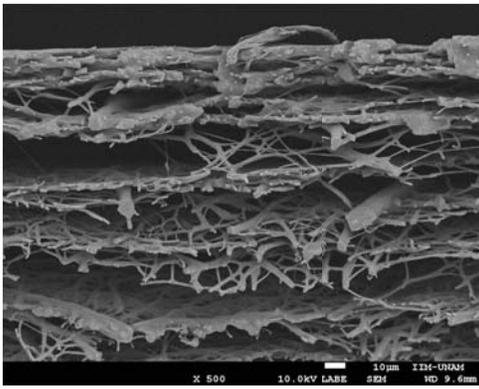
En estas micrografías podemos observar que hay una separación entre las capas del andamio. También se puede observar la porosidad (80 % esta porosidad fue calculada por el programa ImageJ (softtonic.com/mac), lo que según los estudios de cultivo *in vitro* debe facilitar un crecimiento celular homogéneo, una mejor difusión de nutrientes y un buen acoplamiento de las células con la estructura del andamio [65]. Se ha demostrado que al aumentar la porosidad y la talla de los poros, aumenta el crecimiento de los tejidos vascularizados [68].



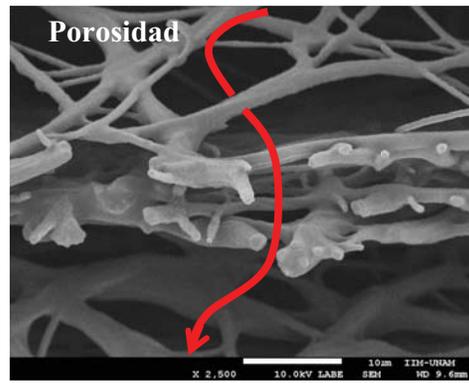
(a)



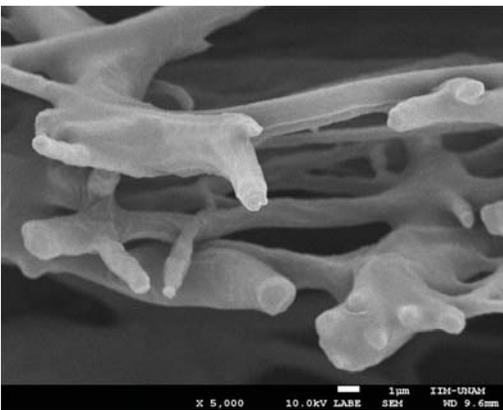
(b)



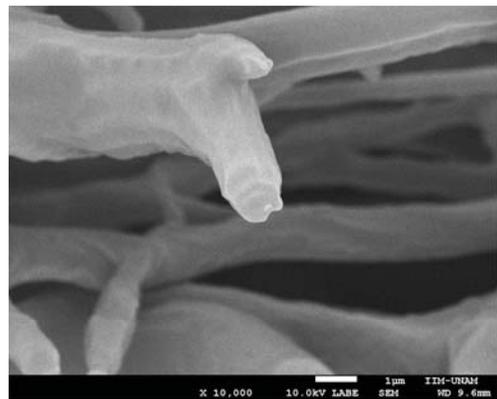
(c)



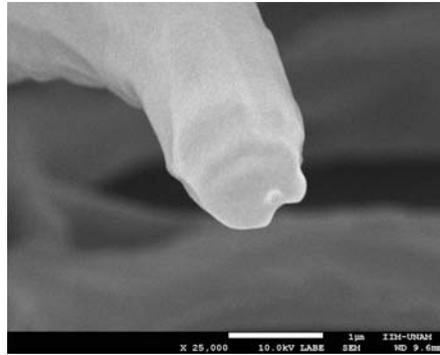
(d)



(e)



(f)

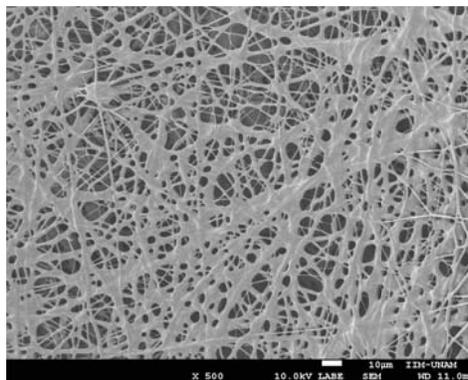


(g)

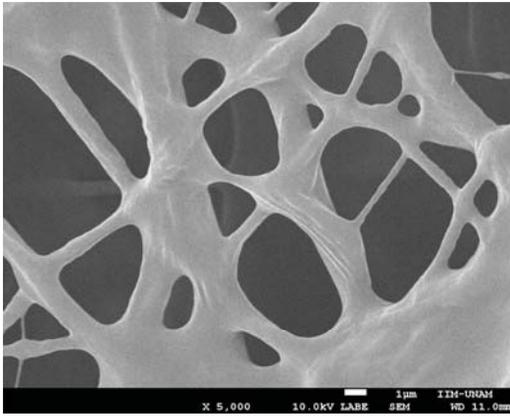
Figura 41. Micrografías de andamio tubulares donde se muestra un corte de vista frontal a diferentes ampliaciones.

En la Figura 41, las micrografías (a) y (b) muestran una escala de 100 μm y una ampliación de X 500 y X 250 respectivamente. Las micrografías (c) y (d) muestran una escala de 10 μm y una ampliación de X 500 y X 2500 respectivamente. Las micrografías de (e) y (f) con escala de 1 μm , con una ampliación de X 5000 y X 10000 respectivamente y (g) con una escala de 1 μm y una ampliación de X 25000.

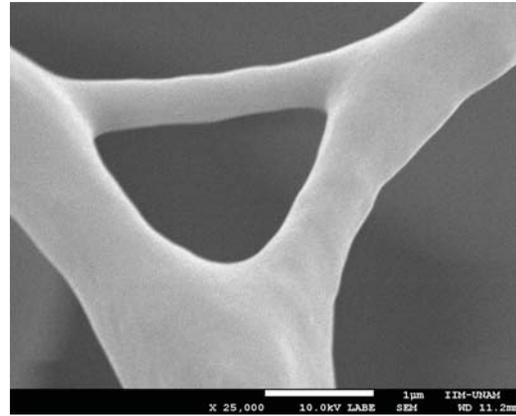
En la Figura 42 (a) muestra una toma longitudinal de la misma muestra del andamio tubular con escala de 10 μm y una ampliación de X 500. En (b) y (c) Micrografías con una escala de 1 μm y una ampliación de X 5000 y X 25000 respectivamente.



(a)



(b)



(c)

Figura 42. Misma micrografías de andamios tubulares PGS-PCL, tomada longitudinalmente a diferentes ampliaciones.

En la tabla 17 se muestra los análisis hechos por microscopía electrónica de barrido (SEM), se observa como varia el diámetro de la fibra de los andamios de PGS-PCL variando la rapidez de inyección. En la tabla 18 podemos observar las propiedades mecánicas del andamio PGS-PCL y en la tabla 19 podemos observar las propiedades mecánicas de una aorta nativa en dirección axial y longitudinal.

Tabla 17. Análisis de SEM, donde se muestran las variaciones de los diámetros de fibra y el módulo elástico con respecto a la velocidad de inyección. Todas las mezclas poliméricas tienen un relación 2:1 PGS:PCL con una concentración del 33% w/v

Andamio	Diámetro de fibra μm	Rapidez de inyección mL/h	Módulo Elástico MPa	Referencia
PGS-PCL	2.89	2.0	8.0	[35]
PGS-PCL	1.6	0.5	7.612	En este trabajo
PGS:PCL	-	2.0	7.8	[65]
PGS-PCL	2.615	2.0	13.046	En este trabajo

Tabla 18. Análisis Mecánico. Se muestran las propiedades mecánicas de los andamios como la ultima tensión antes de la ruptura y la deformación máxima del andamio antes de romperse.

Andamio	Modulo Elástico	Última tensión de carga MPa	Deformación en la carga máxima mm/mm	Referencia
PGS-PCL	7.612	1.66	1.327	En este trabajo
PGS-PCL	13.046	2.78	1.21	En este trabajo
PGS-PCL	8.0	1.7	-	Shilpa Sant 2012
PGS-PCL	7.8	3.5	-	Shilpa Sant 2013

Tabla 19. Propiedades mecánicas de una aorta nativa [69]

	16-30 años	16-30 años	31-45 años	31-45 años	46-60 años	46-60 años
	I	II	I	II	I	II
Tensión a la rotura (MPa)	2.3	1.25	1.30	1.1	1.1	0.85
Deformación (mm/mm)	1.25	1.1	1.18	1.0	0.90	0.80

I.- Radial

II.- Longitudinal

7.9 Distribución de pesos moleculares de los prepolímeros.

Debido a que el aparato de Cromatografía de Permeación en Gel (GPC), estaba descompuesto en el momento de que la síntesis del prepolímero PGS se terminó y se requería la determinación del peso molecular del prepolímero PGS, se usó una técnica auxiliar llamada técnica de MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight), la cual es efectiva para este fin. Dicha técnica sirvió para corroborar los pesos moleculares del prepolímero PGS, después de que el cromatógrafo GPC fue reparado. En el anexo A se muestran estos resultados en la Tabla A-1 para dicha comparación y un esquema descriptivo del instrumento usado en la técnica de MALDI-TOF.

Se puede observar en la tabla que la medición de pesos moleculares por la técnica de MALDI-TOF, se obtuvieron los pesos moleculares designados como M-9d = 2035.048 Da y M-10 = 2110.028 Da. Con la técnica de GPC se determinaron los pesos moleculares para estas mismas muestras, M-9d y M-10 con pesos moleculares de 2817 Da y 2710 Da respectivamente. Se debe anotar que para realizar las pruebas mecánicas se requiere obtener el peso molecular en peso M_w , estos pesos se obtuvieron por GPC, la técnica MALDI-TOF. reporta el peso molecular promedio, sin embargo estos pesos moleculares promedio nos sirven para corroborar el orden de magnitud de los pesos moleculares obtenidos por GPC.

Para la realización de de este trabajo se utilizó la síntesis M-13 con un peso promedio en peso $M_w = 13.687$ kDa. Este peso fue el adecuado para la técnica de electrohilado, con características de elastómero para la fabricación de andamios.

VIII. DISCUSIÓN GENERAL

8.1 Discusión General

El peso molecular del PGS es fundamental para muchas propiedades físicas como la tensión superficial, resistencia mecánica, rigidez, dureza y viscosidad entre otras. De acuerdo al proceso y resultados de síntesis se logró obtener un prepolímero de PGS soluble partir de la reacción de policondensación del glicerol y el ácido sebácico. El análisis de infrarrojo mostro la formación de grupos poliéster con bandas características a 1729 cm^{-1} y 1163 cm^{-1} , que corresponden a los grupos carbonilo y éster respectivamente. Su peso molecular en peso, fue de 13687 Da y una PDI de 3.55. Este estudio se complementó con un análisis de NMR, que comprueba que el prepolímero si se obtuvo ya que en el ^1H NMR, los desplazamientos de los metilenos relacionados con el ácido sebácico se encuentran en las bandas 1.30, 1.62 y 2.35 ppm mientras que en las bandas 4.05 y 4.35, 5.05 y 5.30 están relacionadas con el glicerol. Al entrecruzar el poli(glicerol sebacato) (PGS) se obtiene un elastómero el cual es biodegradable. Debido a que esta entrecruzado químicamente no se disuelve y no se puede electrohilar para obtener micro fibras. Por ello se decidió trabajar con el prepolímero ya que es soluble en disolventes polares como THF, DMF y DCM. Con el propósito de facilitar el electrohilado y mejorar sus propiedades mecánicas se mezcló con la poli(ϵ -caprolactona) (PCL), lo que aumentó la viscosidad de la mezcla y se logro obtener micro fibras continuas y definidas. Una ventaja de esta mezcla es que no requiere de un tratamiento térmico (curado) para que las fibras sean estables dimensionalmente. La mezcla de PGS con PCL a una concentración del 33% w/v y una relación en peso 2:1 PGS-PCL, fue la más adecuada para electrohilar y obtener fibras y andamios con las características esperadas. También es importante mencionar que a pesos moleculares del prepolímero de PGS más bajos no se logró electrohilar la mezcla. A pesos moleculares altos se corre el riesgo de que éste empiece a entrecruzarse y sea difícil disolver la mezcla. En el anexo A, tabla A se muestran los pesos moleculares del prepolímero obtenidos a diferentes tiempos. También cuando se analizaron las estructuras del prepolímero PGS y del andamio de PGS-PCL se encontró que ambos son semicristalinos a temperatura ambiente. Esto es importante ya que la degradación se inicia en la fase amorfa y la parte cristalina controla la velocidad de degradación.

Cuando se analizó las curvas de análisis termogravimétrico y su correspondiente derivada para la mezcla polimérica de PGS-PCL, se observó una disminución inicial de masa a una temperatura cercana a 175 °C, debido a la pérdida de agua asociada que quedó del proceso de la reacción de policondensación del PGS. No obstante es importante resaltar que la salida del agua no implica la degradación del andamio por lo que estrictamente no se podría considerar como una reducción de la estabilidad térmica del andamio a la temperatura de uno (≈ 37 °C). A una temperatura aproximadamente a 400 °C el material empieza a descomponerse, esto se puede observar en la tabla 12 y figura 34, donde se ve la representación de la pérdida de masa y su derivada con respecto a la temperatura. También se observó por DSC que las temperaturas de fusión y cristalización del prepolímero PGS muestra dos endotermas de fusión, ver figura 31 (a), en dicha figura la primera banda es más aguda e intensa que la segunda banda la cual es ancha, estas señales representan la temperatura de fusión $T_m = 15.98$ °C, se considera este valor en la posición de la banda más pronunciada (aguda). En la figura 31(a) la temperatura de cristalización es de $T_c = -14$ °C, el cual resulta similar al reportado en la literatura [61,64 y 65]. Por otro lado el análisis del andamio de PGS-PCL obtenido por la técnica de electrohilado mostrado en la figura 34 (a), muestra 3 endotermas de fusión, dos de las cuales, corresponden al PGS en la temperatura $T_{m1} = 8.5$ °C, la cual también es indicada por la posición de la banda más pronunciada, la segunda banda (amplia y pequeña) está en $T_{m2} = 28.62$ °C, el tercer pico corresponde al endoterma para el PCL localizado en la temperatura $T_m = 56.92$ °C. En la mezcla de PGS y PCL los valores de las temperaturas de fusión resultaron más bajos que las temperaturas de fusión de correspondientes a los polímeros puros, lo cual sugiere que disminuyó la cristalinidad global por el efecto del proceso de electrohilado, y/o la presencia de otro polímero, según se argumenta en el trabajo de se refiere en el trabajo de José H. Y colaboradores [65,74].

Las pruebas del ángulo de contacto mostraron que el andamio PGS-PCL es totalmente hidrofílico, ya que al depositar una gota de agua en la superficie esta se expandía espontáneamente sobre la superficie y se humedecía completamente el andamio en pocos segundos. Este resultado muestra que al mezclar el PGS con el PCL se mejora la hidrofiliidad del andamio de manera significativa. La presencia de grupos polares como carboxilos y alcoholes en la superficie de la mezcla polimérica de PGS-PCL, aumenta las

fuerzas de atracción con las moléculas de agua. Lo anterior se comprobó por espectroscopía FTIR (figura 20), en donde se observa una banda de OH a 3440 cm^{-1} . La hidrofiliidad es muy importante para lograr la adhesión, proliferación y crecimiento celular, esta hidrofiliidad la proporciona el PGS. También se obtuvieron módulos elásticos mayores a los reportados por Shilpa Sant (7.5 a 8.0) MPa. En este trabajo se obtuvieron módulos elásticos que variaron entre (7.6125 ± 0.3121) y (13.046 ± 1.614) MPa dependiendo la rapidez de inyección de la solución polimérica durante el electrohilado. El módulo elástico de la aorta nativa está alrededor de 1.84 MPa, es decir es mucho menor que el que se obtuvo en este trabajo. Esto es alentador ya que al someter los andamios de PGS-PCL al crecimiento celular estos se van degradando por erosión [11] y las propiedades mecánicas van disminuyendo [65] conforme se va formando la matriz extra celular.

IX. CONCLUSIONES

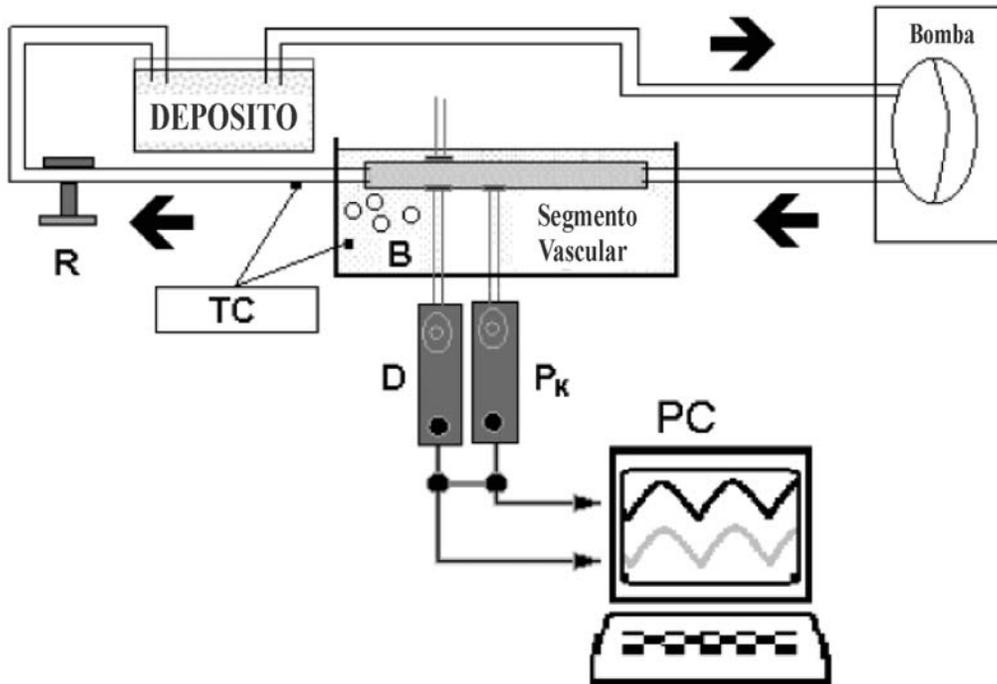
9.1 Conclusiones

- Se logro obtener un polímero soluble de PGS cuyo peso molecular promedio M_w , fue de 13687 Da.
- Se obtuvieron mezclas poliméricas homogéneas utilizando solventes polares y volátiles con viscosidades apropiadas para su posterior electrohilado
- Se desarrolló una técnica de electrohilado para la fabricación de andamios tubulares PGS-PCL, con el propósito de aplicarlas a la regeneración de arterias
- Se lograron fabricar andamios tubulares de PGS-PCL de 6 mm de diámetro interior.
- Se diseño un colector para obtener andamios tubulares constituidos por fibras uniformes constituidos de PGS-PCL, cuyo diámetro promedio fue de $2.7 \mu\text{m}$ promedio. La porosidad de los andamios fue de 95%, lo cual garantiza la difusión de nutrientes y el desecho de metabolitos durante el crecimiento y proliferación celular.
- Los resultados obtenidos muestran que las fibras PGS-PCL están constituida por micro fases puesto que observan dos temperaturas de fusión correspondientes a cada uno de los componentes
- Tanto el PGS, PCL como la mezcla PGS-PCL son térmicamente estables hasta los $175 \text{ }^\circ\text{C}$
- Los andamios PGS-PCL son completamente hidrofílicos de acuerdo a los resultados de los análisis de ángulo de contacto, característica que es indispensable para el crecimiento y proliferación de células endoteliales para la regeneración de arterias.
- Los andamios PGS-PCL tienen características elastoméricas adecuadas para la fabricación de arterias
- Los andamios obtenidos tienen propiedades físico químicas y similares a las reportadas por otros autores.

X. RECOMENDACIONES

10.1 Recomendaciones

Se recomienda hacer una revisión bibliográfica extensa, de Bioreactores para tener acceso a suficientes datos de estudios *in-vitro* de células endoteliales en andamios tubulares, para comprobar su biocompatibilidad y evaluar las propiedades mecánicas tanto longitudinales como axiales, incluyendo las presiones internas de los andamios tubulares con tejido endotelial ya regenerado. Se propone además realizar estudios sobre el diseño de biorreactores con la incorporación aditivos proteicos y mecánicos para estimular el crecimiento celular. En la siguiente figura, se presenta la propuesta de diseño y construcción de un Biorreactor que puede contener en su diseño las características mencionadas anteriormente.



Biorreactor propuesto

XI. REFERENCIAS

11.1 Referencias

1. Vega L. Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares secretaria de salud. 2011
2. Programa Nacional de Salud 2007-2012. Por un México Sano primera edición 2007 Secretaría de Salud Lieja 7, col. Juarez, 06696 México D.F.
3. Dr. Revuelta Herrera Arturo, M.en C. Saledo Ubilla Mauricio, Dr. Murguia Pedro. Sistema de información para la vigilancia epidemiológica para los factores de riesgo en enfermedades no transmisibles (*SVEECNT*).
4. Dirección de Salud Pública, Subdirección de prevención y control de enfermedades. Departamento de Control de Enfermedades no Transmisibles. Programa de Atención a la Salud del Adulto y Adulto Mayor.
5. Atzei A, Calcagni M, Breda B, Fasolo G, Pajardi G, Cugola L. Clinical evaluation of a hyaluronan-based gel following microsurgical reconstruction of peripheral nerves of the hand. *Microsurgery* 2007; 27:2-7.
6. Yeo A, Rai B, Sju E, Cheong JJ, Teoh SH. The degradation profile of novel, bioresorbable PCL-TCP scaffolds: An in vitro and in vivo study. *J Biomed Mater Res A* 2008; 84:208-18.
7. McCloskey KE, Gilroy ME, Nerem RM. Use of embryonic stem cell-derived endothelial cells as a cell source to generate vessel structures in vitro. *Tissue Eng* 2005; 11:497-505.
8. Bogdánov K. El Fisico Visita al Biólogo Ed. Mir Moscú. www.librosmaravillosos.com
9. Wang YD, Ameer GA, Sheppard BJ, et al. A tough biodegradable elastomer. *Nat Biotechnol.* 2002; 20(6):602–606.
10. Grego, AV, Mingrone, G. Dicarboxylic acids, an alternate fuel substrate in parenteral nutrition: an update. *Clin. Nutr.* **14**, 143–148 (1995).

11. Wang Yadong, Kim Yu Mi, Langer Robert. In vivo degradation characteristics of poly(glycerol sebacate) 2002, *Technical Note Received* July 31, 2002; revised 16 August 2002; accepted 16 August 2002.
12. Laczka-Osyczka A, Laczka M, Kasugai S, Ohya K. Behavior of bone marrow cells cultured on three different coatings of gel-derived bioactive glass-ceramics at early stages of cell differentiation. *J Biomed Mater Res* 1998; 42:433-42.
13. Rumpel E, Wolf E, Kauschke E, Bienengraber V, Bayerlein T, Gedrange T, et al. The biodegradation of hydroxyapatite bone graft substitutes in vivo. *Folia Morphol* 2006; 65:43-8.
14. Vallet-Regi M. Revisiting ceramics for medical applications. *Dalton Trans* 2006; 44:5211-20.
15. Day RM, Boccaccini AR, Shurey S, Roether JA, Forbes A, Hench LL, et al. Assessment of polyglycolic acid mesh and bioactive glass for soft-tissue engineering scaffolds. *Biomaterials* 2004; 25:5857-66.
16. Sanders JE, Lamont SE, Karchin A, Golledge SL, Ratner BD. Fibro-porous meshes made from polyurethane microfibers: effects of surface charge on tissue response. *Biomaterials* 2005; 26:813-8.
17. Yuan Y, Zhang P, Yang Y, Wang X, Gu X. The interaction of Schwann cells with chitosan membranes and fibers in vitro. *Biomaterials* 2004; 25:4273-8.
18. Burks CA, Bundy K, Fotuhi P, Alt E. Characterization of 75:25 poly(l-lactide-co-epsilon-caprolactone) thin films for the endoluminal delivery of adipose-derived stem cells to abdominal aortic aneurysms. *Tissue Eng* 2006; 12:2591-600.
19. Cai DZ, Zeng C, Quan DP, Bu LS, Wang K, Lu HD, et al. Biodegradable chitosan scaffolds containing microspheres as carriers for controlled transforming growth factor-beta1 delivery for cartilage tissue engineering. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120:293.

20. X Li, KL Liu, J Li, EP Tan, LM Chan, CT Lim, et al. Synthesis, characterization, and morphology studies of biodegradable amphiphilic poly [(R) -3-hydroxybutyrate]-alt-poly(ethylene-glycol) multiblock copolymers. *Biomacromolecules* 2006; 7:3112-9.
21. Raghunath J, Rollo J, Sales KM, Butler PE, Seifalian AM. Biomaterials and scaffold design: key to tissue-engineering cartilage. *Biotechnol Appl Biochem* 2007; 46:73-84.
22. Wang HS, Li TH, Jia WL, Xu HY. Highly selective and sensitive determination of dopamine using a Nafion/carbon nanotubes coated poly(3-methylthiophene) modified electrode. *Biosens Bioelectron* 2006; 22:664-9.
23. Silva GA, Coutinho OP, Ducheyne P, Shapiro IM, Reis RL. Starch-based microparticles as vehicles for the delivery of active platelet-derived growth factor. *Tissue Eng* 2007; 13:1259-68.
24. PC Georges, WJ Miller, Meaney DF, Sawyer ES, Janmey PA. Matrices with compliance comparable to that of brain tissue select neuronal over glial growth in mixed cortical cultures. *Biophys J* 2006; 90:3012-8.
26. Rudin Alfre. The Elements of Polymer Science and Engineering. Academic Press, 1999. *An Imprint of Elsevier* Capitulo 3 y 11
27. www6.uniovi.es/ust/.../Anexo1.Tema.Cristalinidad.Polimeros.pdf
28. PC Georges, PA Janmey. Cell type-specific response to growth on soft materials. *J Appl Physiol* 2005; 98:1547-53.
29. Gong S, Wang H, Sun Q, Xue ST, Wang JY. Mechanical properties and in vitro biocompatibility of porous zein scaffolds. *Biomaterials* 2006; 27:3793-9.
30. Nisbet DR, Pattanawong S, Nunan J, Shen W, Horne MK, Finkelstein DI, et al. The effect of surface hydrophilicity on the behavior of embryonic cortical neurons. *J Colloid Interface Sci* 2006; 299:647-55.

31. Soria JM, Martínez Ramos C, Bahamonde O, García Cruz DM, Salmerón Sánchez M, Barcia JA, et al. Influence of the substrate's hydrophilicity on the in vitro Schwann cells viability. *J Biomed Mater Res A* 2007; 83:463-70.
32. Wan Y, Wang Y, Liu Z, Qu X, Han B, Bei J, et al. Adhesion and proliferation of OCT-1 osteoblast-like cells on microand nano-scale topography structured poly(L-lactide). *Biomaterials* 2005; 26:4453-9.
33. Ifkovits JL, Devlin JJ, Eng G, et al. Biodegradable Fibrous Scaffolds with Tunable Properties Formed from Photo-Cross-Linkable Poly(glycerol sebacate). *ACS Appl Mater Interfaces*. 2009; 1(9): 1878–1886.
34. Ifkovits J L, Padera RF, Burdick JA. Biodegradable and radically polymerized elastomers with enhanced processing capabilities. *Biomed Mater*. 2008; 3(3):1–8.
35. Shilpa Sant, Chang Mo Hwang¹, Sang-Hoon Lee, and Ali Khademhosseini. Hybrid PGS-PCL Microfibrous Scaffolds with Improved Mechanical and Biological Properties. *J Tissue Eng Regen Med*. 2011 April; 283-291.
36. López Moratalla N, González de la Tajada I. Human pluripotent stems cells. *Rev. Med Univ Navarra* 2003; 47:34-42
37. www.texasheart.org
38. Blog.idcsalud.es
39. S Place Elsie, H George Julian, K William Charlote, and M Molly. Stevens. Synthetic polymer scaffolds for tissue engineering. *Critical Review* 16 February 2009.DOI: 10.1039/b811392k
40. Lis Nain CT, Laurencin. *Prog. Polym. Sci.* 2007, 32, 762.

41. Rajana Rai, Marwa Tallawi, Nicoletta Barbani, Caterina Frats, Denise Madeddu, Stefano Cavalli. Biometric poly(glycerol sebacate) (PGS). Membranes for cardiac path application. *Material Science and Engineering, Material Science and Engineering R* 59 (2008) 1-37.
42. Dra. Sanchez Andrade Alejandra. Sistema Circulatorio.
43. Yuan Li, George A. Thomas and Qi-Zhi Chen. Biodegradable soft elastomers: synthesis/properties of materials and fabrication of scaffolds. *RSC Advances* 1 June 2012
44. D. G. Barrett, M. N. Yousaf, *Molecules* 2009, 14, 4022.
45. Motlagh Delara, Yang Jian, Lui Karen Y, Webb R, Ameer Guillermo A. Hemocompatibility evaluation of poly(glycerol-sebacate) in vitro for vascular tissue engineering. *Biomateriales* 27 (2006) 4315-4324)
47. Pomerantseva I, Krebs N, Hart A, Neville CM, Huang AY and Sundback CA, *J. Biomed Mater Res, Part A*, 2009, 91A, 1038–1047.
48. Liang SL, Yang Y, Fang Y, Cook WD, Thouas GA and Chen QZ, *Biomaterials*, 2011, 32, 8486–8496
49. Yi F, Lavan DA. Poly(glycerol sebacate) nanofiber scaffolds by core/shell electrospinning. *Micromole Biosci.* 2008; 8(9): 803–806.
50. Ifkovits JL, Devlin JJ, Eng G, et al. Biodegradable Fibrous Scaffolds with Tunable Properties Formed from Photo-Cross-Linkable Poly(glycerol sebacate). *ACS Appl. Mater Interfaces.* 2009; 1(9): 1878–1886.
51. Ifkovits J L, Padera RF, Burdick JA. Biodegradable and radically polymerized elastomers with enhanced processing capabilities. *Biomed Mater.* 2008; 3(3):1–8.
52. Diseño: UAM-I responsable M. en C. Eron Gutiérrez García.

53. Xu C, Yang F, Wang S, Ramakrishna S. In vitro study of human vascular endothelial cell function on materials with various surface roughness. *J Biomed Mater Res A* 2004; 71:154-61.
54. Franciele Kruczkiewicz (IC); Mariana Bertoncini (PG); Sérgio Henrique Pezzin (PQ). Acompanhamento da síntese do Poli(glycerol-sebacato) por Espectroscopia FT-Raman e FT-IR. *Joinville – SC. XIX Encontro de Química da Região Sul*. 2012
55. Quanyong Liu, Ming Tian, Tao Ding, Rui Shi, Yuxing Feng, Liqun Zhang, Dafu Chen, Wei Tian, Preparation and Characterization of a Thermoplastic Poly(Glycerol Sebacate) Elastomer By Two-Step Method. *Applied Polymer Science*, Vol. 103 Issue 3, 2008
56. Bruggeman Joo st P, de Bruin Berend-Jan, Bettinger Chistopher J, Langer Robert. Biodegradable poly(polyol sebacate) polymers. *Biomaterials* 29(2008) 4726-4735.
57. Zhengwei You, Haiping Cao, Jin Gao, Paul H. Shin, Billy W. Day, Yadong Wang. Afunctionable polyester with free hydroxyl groups and tunable physiochemical and biological properties. *Biomaterials* 31 (2010) 3129-3138
58. AT Lotenzo, Arnal ML, Sánchez JJ, Muller AJ. Características Transitorias del proceso de auto nucleación de polímeros semicristalinos. *Revista Iberoamericana de polímeros volumen 9 (3) 2008*.
59. Shuling Liang, Wayne D Cook and Qizhic. Physical Characterization of poly(glycerol sebacate)/ Bioglass composite. *Research Article*. 2011 DOI 10.10027pi.3165
60. Qi-Zhichen, Alexander Bismarc, Ulrich Hansen Sarah Junaid, Michael Q. Tran, Sian E Harding, Nadire N. Ali, Aldo R Boicassini. Characterization of a soft elastomer poly(glycerol sebacate) designed to match the mechanical properties of myocardial tissue. *Biomaterials* volume 29, Issue 1, January 2008, pages 47-57.
61. Quanyong Liu, Ming Tian, Rui Shi, Liqun Zhang, Datu Chen, Wei Tian. Structure and properties of thermoplastic poly (glycerol sebacate) Elastomer Originating from prepolymers with Different Molecular Weights. *Inter Science* DOI: 10.1002/app.25606

62. Srinivasa R. Vallabhaneni, MD, FRCS, Geoffrey L. Gilling-Smith, MS, FRCS, Thien V. How, PhD; Stuart D. Carter, PhD; John A. Brennan, MD, FRCS; and Peter L. Harris, MD, FRCS. Heterogeneity of tensile Strength and Matrix Metalloproteinase Activity in the Wall of Abdominal Aortic Aneurysms. *J. Endovasc Ther* 2004;11:494-502
63. A Tobaruela, FJ Rojo, GU Guinea, A Forteza. Propiedades Mecánicas y resistencia de Aorta Ascendente Patológicas. *Anales de la Mécanica de la fractura* 28, vol. 1 (2011)
64. Cai W, Liu L. Shape-Memory Effect of poly(glyceril-sebacate) elastomer *Mater Lett* 2008; 62(14); 2171-3
65. Shilpa Sant, Dharini Iyer, Akhilesh K. Gaharwar, Alpesh Patel, Alikhademhuseini. Effect of biodegradation and de novo matrix synthesis on the mechanical properties of valvular interstitial cell-seeded poly (glycerol sebacate)- polycaprolactone scaffold. *Acta Biomaterialia*. 9 (2013) 5963-5973
66. Vera-Graziano R, Maciel-Cerda A, Moreno-Rondón EV, Ospina A, Gomez-Pachón EY, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* Vol. 1373, 2012, imrc 11.1376-s11-09
67. Gómez-Pachón EY, Sánchez-Arévalo FM, Sabina F, Maciel-Cerda A, Montiel Campos R, Batina N, Morales-Reyes I, Vera-Graziano R, *Journal of Materials Science* (2013) 48:8308–8319.
68. Duque Sánchez Lina Marcela, Rodriguez Leonardo, Lopez Marcos. Electrospinning: La era de las Nanofibras. *Revista Iberoamericana de polímeros*. Volume 14(1), Enero de 2013.
69. S Place Elsie, H George Julian, K Williams Charlotte, and M. Stevens Molly. Synthetic polymer scaffolds for tissue engineering. *Chemical Society Reviews*. 2009. DOI: 10.1039/b811392k
70. L.Yiqun, J.M. Atienza, F.J. Rojo, C. García, E. Claes, C. García-Montero, R.L. Burgos, G.V. Guinea. Evolución con la Edad de la Resistencia de la Aorta Torácica descendente Humana. *Anales de Mecánica de la Fractura* 26, Vol. 1 (2009).

71. Seeram Ramakrishna, Kazutoshi Fujihara, Wee-Eong Teo, Teik-Cheng Lim & Zuwei Ma. *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*. National University of Singapore. *World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.* 2005
72. H. Fong, I. Chun, D.H. Reneker. Beaded Nanofibers formed during electrospinning. *Polymer* 40(1999) 4585-4592.
73. Yong Liu, Ji Huan he, Jian-Yong Yu and Hong Mei Zeng. *Polym Int* 57: 632-636 (2008).
74. José H. Mina, Alex Valadez-González, Pedro Herrera Franco, Fabio Zuluaga, Silvio Delvasto. Preparación y Caracterización Físico-Química y Mecánica de Mezclas Ternarias de Polilactida (PLLA), Policaprolctona (PCL) y Almidón Termoplástico (TPS). *Rev.latinAm. Metal. Mat.* 2013; 33(1): 82-91

XII. ANEXOS

12.1 Anexos A.

En la Tabla A, Muestra los distintos pesos moleculares obtenidos en pruebas de prepolimerización que se hicieron antes de obtener un prepolímero con peso molecular adecuado para la técnica de electrohilado, con las características de elastómero para la fabricación de los andamios.

Tabla A. Pesos moleculares de diferentes pre-polímeros

Muestra	Tiempo (h)	Mn	Mw	PDI	Maldi-Tof
M-3	24	2595	4278	1.65	
M-4	24	1989	2929	1.47	
M-5	26	1821	6071	3.33	
M-6	26	1621	4993	3.07	
M-7	34	2069	13133	6.34	
M-8	36	2668	25325	9.49	
M-9a	24	541	1683	3.11	
M-9b	26	671	1954	2.9	
M-9c	38	961	3624	3.77	
M-9d	48	1087	5629	5.17	2035
M-10	25	976	4569	4.68	2110
M-11	48	2886	19125	6.62	
M-12	50	2450	9516	3.86	
M-13	60	3856	13687	3.55	

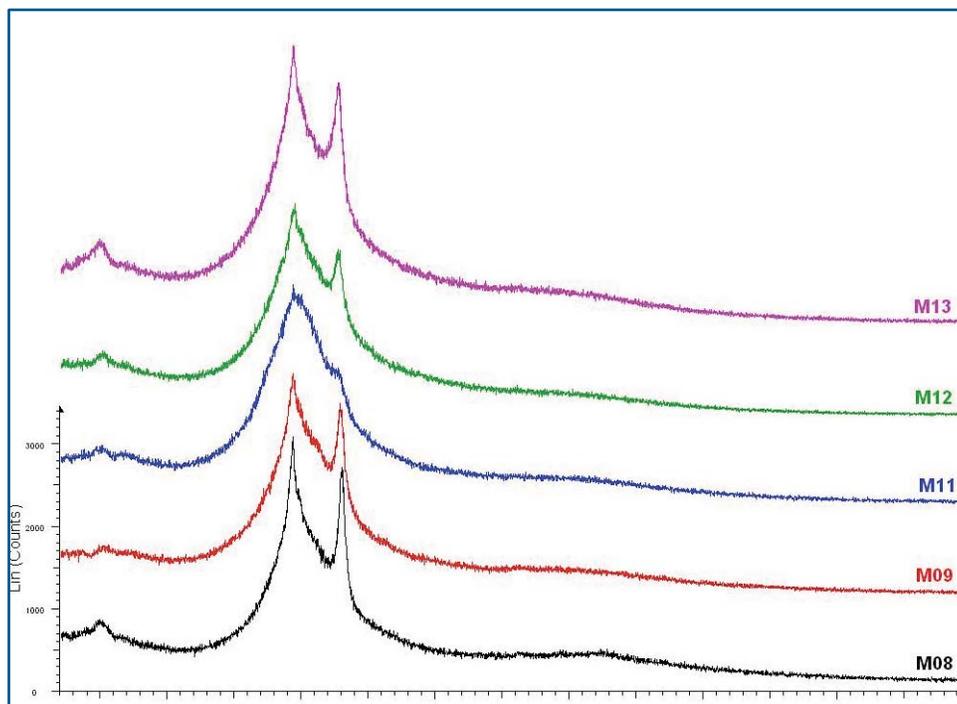


Figura A-1. Se muestra la difracción de los Rayos-X de los pre-polímeros M-8, M-9, M-12 y M-13 presentan picos similares que son ligeramente diferentes a M-11, estos picos de Rayos-X indican que todos los pre-polímeros poseían componentes de cristales similares o estructuras ordenadas a temperatura ambiente [61]

La Figura A-1 muestra las difracciones de rayos-x de las muestras de los prepolímeros PGS; todos muestran picos similares excepto M-11. Éstos picos de difracción de rayos-x indican que todas los prepolímeros de PGS son semicristalinos o que tienen estructuras ordenadas a temperatura ambiente. En el análisis de DSC vemos que este prepolímero es casi amorfo a temperaturas de 37 °C y esto es completamente satisfactorio para el campo de la biomedicina.

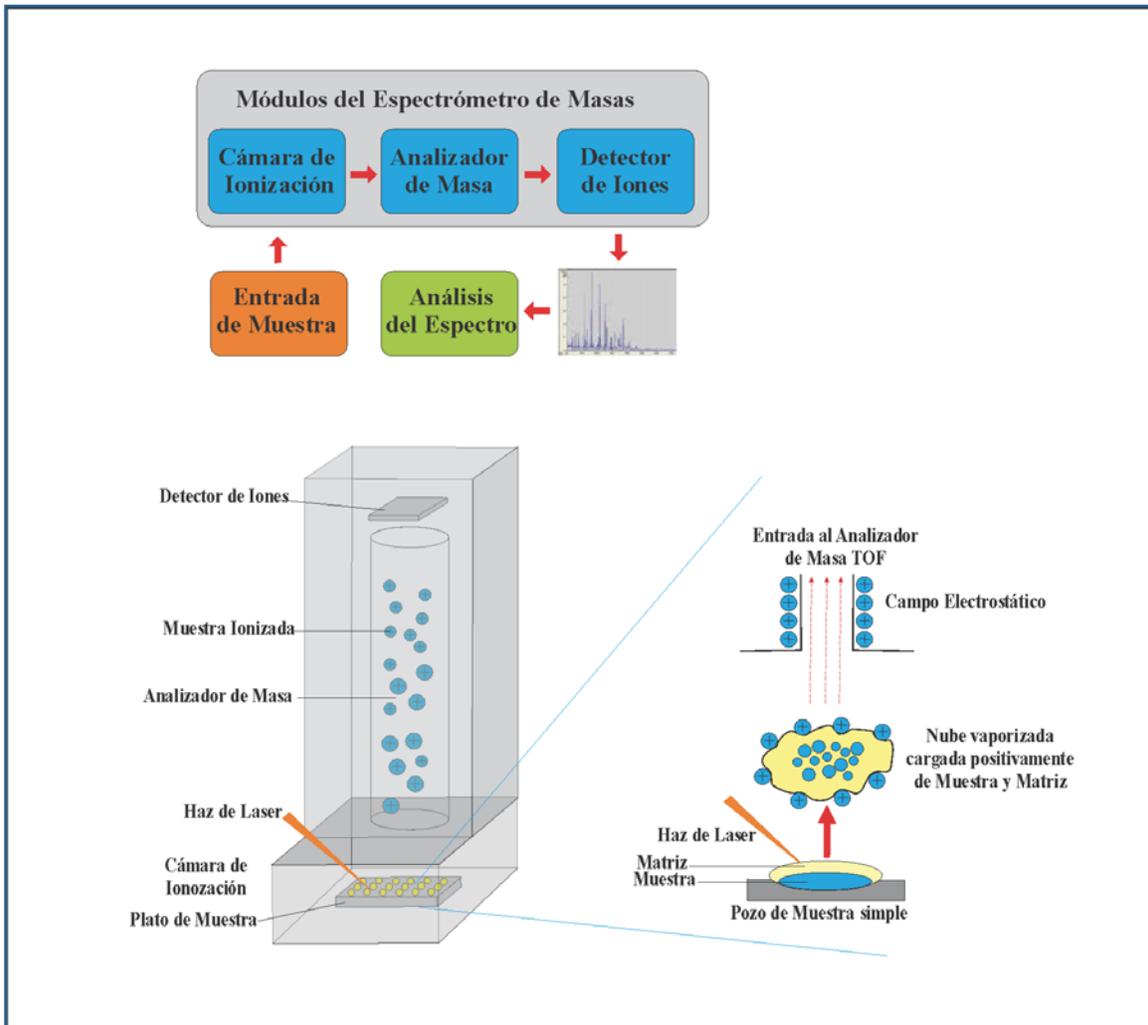


Figura A-2. Esquema de la técnica de MALDI-TOF. Se pone la muestra con algún solvente en este caso líquido para amalgamar la muestra y facilitar su vaporización por medio de un haz de rayos laser, está vaporización cargada positivamente conteniendo parte de la matriz, las partículas cargadas son aceleradas posterior mente hacia un analizador de masa, las cargas ionizadas final mente llegan a un analizador iónico el cual las colecta en función de la masa y tiempo de vuelo.

12.2 Anexo B.

Tabla B. Se muestran los 41 andamios por la técnica de electrohilado a diferentes condiciones

No.	Mezcla polimérica	Solvente	Resultado
1	PGS:PCL 2:1	Cloroformo: Etanol 9:1	Las fibras fueron recolectadas en una placa de cobre y se veían muy parecidas a la literatura con una $d=18\text{cm}$. $V=17\text{ kV}$, $v=0.5\text{ml/h}$ y una humedad de 32%
2	PGS:PCL 2:1	Cloroformo: Etanol 9:1	Las fibras fueron recolectadas en una placa de cobre, cambiando la distancia, $d=30\text{cm}$. esto mejoro la morfología de la fibra humedad de 32%
3	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol 9:1	Las mezclas presentan grumos, da la impresión de que el PCL no se disolvió bien, mismas condiciones que en 1
4	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol 9:1	Las mezclas presentan grumos, da la impresión de que el PCL no se disolvió bien, mismas condiciones que en 2
5	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol: THF 8:1:1	Las mezclas presentan grumos, da la impresión de que el PCL no se disolvió bien, mismas condiciones que en 2 (UAM)
6	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol: THF	Mismas condiciones que en 5, pero se

			6:1:3	calentó un poco la mezcla, esta hizo una burbuja que se derramo un poco ya no tuve control de la cantidad que se derramo, se siguen viendo grumos.
7	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol: THF	6:1:3	Mismas condiciones que en 6 pero sin calentar, se estuvo agitando la mezcla por mas tiempo, las fibras se ven horribles con muchos grumos.
8	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol: THF	6:1:3	Mismas condiciones que en 7 pero se aumento la temperatura a 30 °, esto mejoro la imagen ya no se veían con tantos grumos, la húmeda había aumentado 39%.
9	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol: THF	6:1:3	Mismas condiciones que en 8. Se disminuyó la concentración y las fibras parecían que estaban mojadas
10	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol: THF	6:1:3	Mismas condiciones que 9. Se fue aumentando la concentración, se siguen viendo un poco húmeda
11	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol: THF	6:1:3	Mismas condiciones que 10. Se fue aumentando la concentración
12	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol :THF	6:1:3	Mismas condiciones que 11. Se fue aumentando la concentración

13	PGS:PCL 2:1	DCM: Etanol: THF 6:1:3	Mismas condiciones que 12. Se fue aumentando la concentración, hasta llegar a una concentración de 33% en peso, la fibra se ve mejor
14	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Mejoro bastante la solución, lastima que la humedad aumento a 39%
15	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	La humedad fue de 30% las fibras que mejor se veían eran las que se atrapaban en el aire
16	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Se cambio el tipo de colector a un marco de cobre con un hueco en el centro.
17	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Se cambiaron las condiciones y se mantuvieron así ya que mejoro bastante la morfología de la fibra, v=0.5ml/h, V=17.5kV, d=20cm, T=30°C con una humedad relativa menor al 40%
18	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Mismas condiciones
19	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Mismas condiciones
20	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Mismas condiciones
21	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Mismas condiciones
22	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Mismas condiciones, pero cambiando el colector utilizando

			un tubo de madera con un diámetro de 5mm el movimiento del tubo fue manual
23	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Se construyó un colector pero ahora con un motor integrado, este se trono
24	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Se diseño otro motor pero con engranes para poder variar la velocidad ya que a mayor velocidad se producía un campo magnético y las fibras tardaban mucho en colocarse el tubo de madera
25	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Se utilizo una velocidad de rotación de 3 vueltas por segundo, las fibras se veían muy bien
26	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Mismas condiciones que en el número 25. Se utilizó un tubo de cobre de 6mm.
27	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Mismas condiciones. Se utilizó un tubo de una pulgada de diámetro
28	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	Se cambio de nuevo el colector por el plano ya que cambiamos una variable que fue la velocidad a 2ml/h
29	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF 7:2:1	El hidrómetro no servía y no se sabía que humedad había y las fibras no se veían bien.
30	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Se hizo de nuevo el hilado pero el clima

		7:2:1	no ayudaba
31	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Se cambiaban las condiciones pero seguía sin mejorar
		7:2:1	
32	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Se compro un hidrómetro y silica para mantener las condiciones ideales para mi hilado
		7:2:1	
33	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	T=31°C, v=2.0ml/h, V=17.5kV, d=23cm
		7:2:1	
34	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Mismas condiciones que en 33
		7:2:1	
35	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Mismas condiciones que en 34
		7:2:1	
36	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Mismas condiciones que en 35
		7:2:1	
37	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Mismas condiciones que en 36
		7:2:1	
38	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Mismas condiciones que en 37
		7:2:1	
39	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Mismas condiciones que en 38
		7:2:1	
40	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Mismas condiciones que en 39
		7:2:1	
41	PGS:PCL 2:1	DCM:THF:DMF	Mismas condiciones que en 40
		7:2:1	

Los andamios se utilizaron para hacer las caracterizaciones necesarias como DSC, TGA, GPC, SEM, R-X, FTIR y Analisis mecánico.

12.3 Anexo C

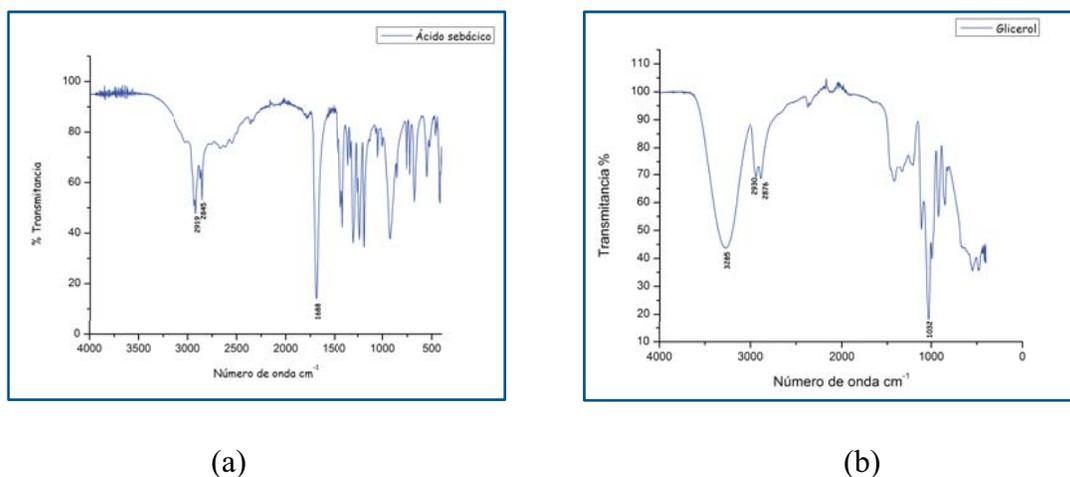


Figura C-1. (a) Análisis del espectro FTIR del ácido sebácico , (b) Análisis del espectro FTIR del glicerol

En la figura C-1 podemos observar los espectros de FTIR del ácido sebácico, y glicerol, se observa que el ácido sebácico carece de grupos $-\text{OH}$ y en el glicerol carece de grupos carbonilos.

Tabla C-1. Principales enlaces de un espectro FT-IR de Glicerol

Banda [cm^{-1}]	Enlace correspondiente	Grupo Funcional
3442	Estiramiento de H	$-\text{OH}$
2926	Estiramiento asimétrico	$-\text{CH}_2-$
2850	Estiramiento simétrico	$-\text{CH}_2-$
1500-1250	Bandas de estiramiento	$\text{C}-\text{O}$
1250-1000	Bandas de estiramiento	$\text{C}-\text{OH}$

Tabla C-2. Principales enlaces de un espectro FT-IR del Ácido sebácico

Banda [cm^{-1}]	Enlace correspondiente	Grupo funcional
2886-2946	Aumenta interferencia con la absorción de $-\text{CH}$	$-\text{CH}_2-$
1760	Grupo éster	$\text{C}=\text{O}$
1240	Estiramiento	$\text{C}-\text{O}$
1415	Estiramiento	$\text{C}-\text{OH}$

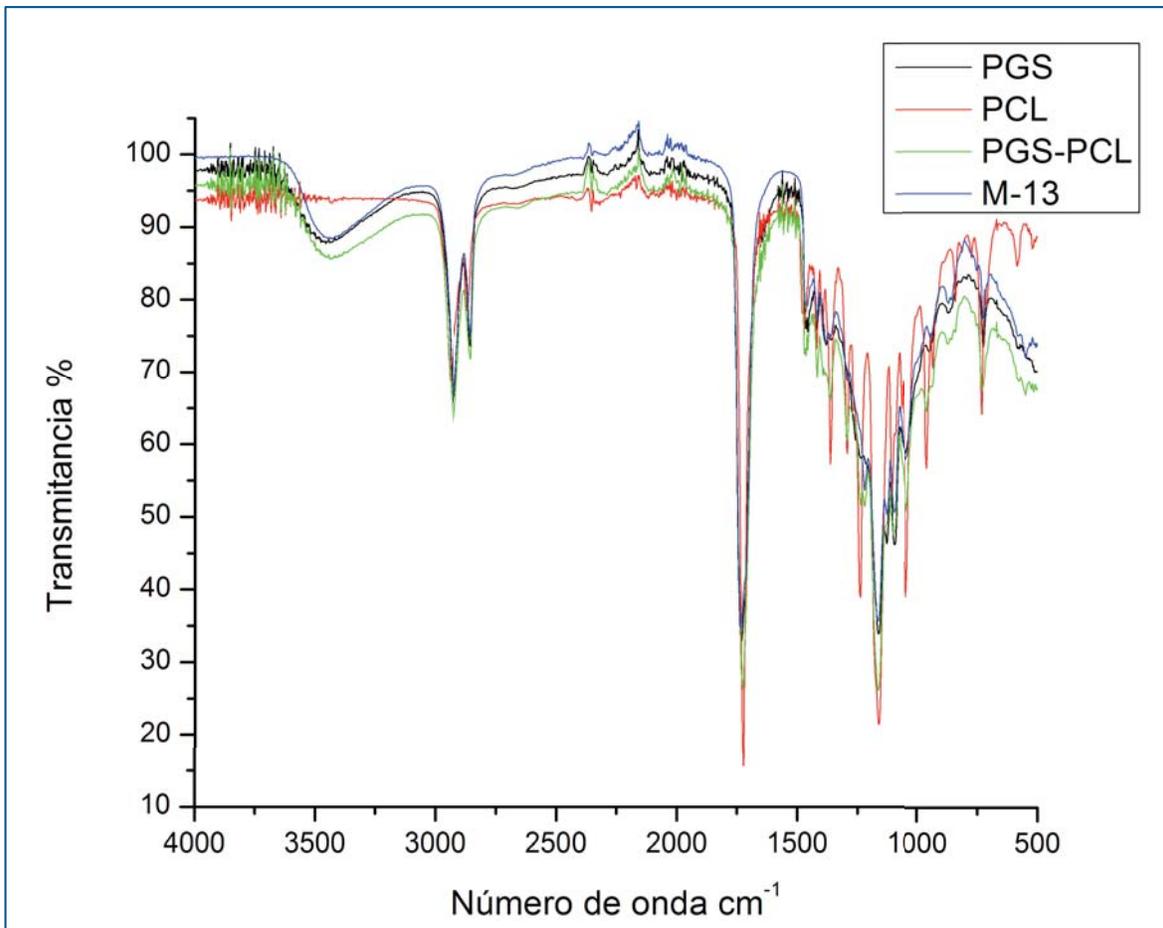


Figura C-2. En este análisis de FTIR se muestran los espectros del elastómero PGS, la poli(ϵ -caprolactona), la mezcla del pre polímero PGS-PCL y el prepolímero PGS (M-13).

12.4 Anexo D

Tabla D-1. Propiedades físicas de los solventes.

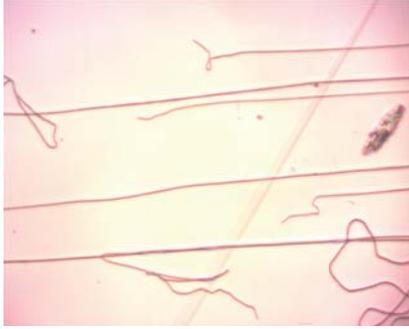
Solvente	Viscosidad Cp 20°C	Tensión superficial dinas/cm 20°C	Tebullición 760 mmHg	P. vapor mmHg a 20°C	Cte. Dieléctrica	MAC* en ppm
Diclorometano (DCM)	0.40	29.5	40.7	349	9.14	500
Cloroformo (CHCL ₃)	0.51	28.2	60.3	159.6	4.9	50
Etanol (Et-OH)	1.08	22.9	78	40	27.5	1000
Tetrahidrofurano (THF)	0.51	28.2	66	76	7.58	200
Dimetilformamida (DMF)	0.8	37.9	153	3.7	36.7	20

* Concentración máxima permitida.

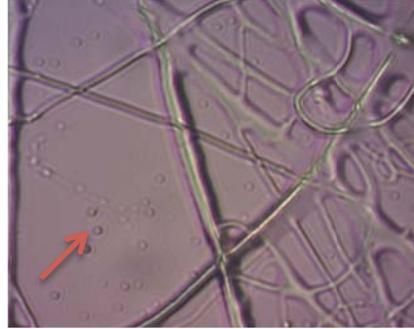
Tabla D-2. Efectos sobre la morfología de las fibras causados por distintos parámetros de electrohilado.

Parámetro	Efectos sobre la morfología de las fibras
Concentración / Viscosidad	Estos parámetros son directamente proporcionales. Existe un mínimo de concentración para cada disolución. Apartir de este valor se obtendrán fibras sin aglomerados y a medida que se aumenta la concentración de las fibras, aumentarán de diámetro. De la misma forma existirá un máximo de concentración. Con bajas viscosidades se obtienen fibras discontinuas y con altas viscosidades se dificulta la movilidad de la disolución en el equipo. Por lo tanto se requiere una viscosidad óptimas para cada proceso de electrohilado.
Tensión Superficial	Generalmente, al disminuir esta propiedad se reduce la presencia de agregados. Si es elevada crea inestabilidad en la generación del haz y se producen gotas.
Conductividad/Densidad de carga en la superficie	Un aumento de la conductividad ayuda a obtener fibras uniformes y sin defectos. En general, altas conductividades implican diámetro de

	<p>fibras pequeños.</p> <p>Peso Molecular El incremento del peso molecular disminuye el número de gotas y aglomeraciones. Se suelen electrohilar polímeros de alto peso molecular por esta razón.</p> <p>Constante dieléctrica La experiencia dice que si la constante dieléctrica del disolvente es alta, mejores resultados se obtienen con la técnica de electrohilado</p> <p>Voltaje Alta: Fibras gruesas, distorsión del jet, aparición de beads. Baja: Poco impulso para llegada de la solución al colector.</p> <p>Flujo de Salida Si las velocidades de flujo son pequeñas, las fibras son de diámetro pequeño. Si el flujo es elevado, entonces no da tiempo de que se evapore el disolvente. Aquí se opero con una rapidez de (0.5 y 2.0) mL/h</p> <p>Potencial eléctrico A medida que el campo eléctrico es más intenso se obtienen generalmente fibras de menor tamaño. Se requiere de una diferencia de potencial entre (0 a \pm 50) kV para electrohilar.</p> <p>Distancia aguja colector Altas: Las fibras pueden romperse debido a su propio peso. Mayor estiramiento de la solución, obtención de fibras delgadas. A distancias muy largas o muy cortas hay aparición de defectos como aglomeraciones y gotas.</p> <p>Tipo de Colector Si es móvil, el resultado de las fibras dependerá también de la velocidad de giro de éste.</p> <p>Humedad Relativa El aumento de la temperatura causa una disminución en la viscosidad de la disolución, resultando fibras de diámetro más pequeños. Alta: Aparición de poros en las nanofibras.</p>
--	---



(a)



(b)

Figura D-1. (a) Imagen mostrando el rompimiento de fibras ocasionado por una disolución polimérica muy diluida. (b). Fibras que se rompen en gotas, también por el efecto de una disolución muy diluida.

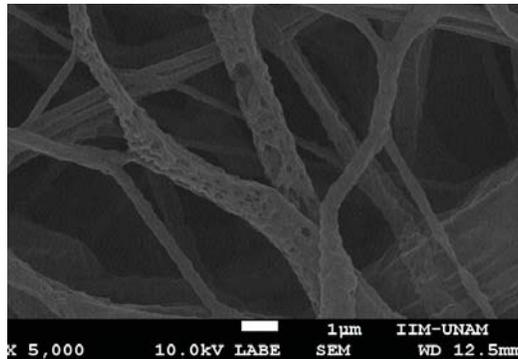


Figura D-2. Se muestra una humedad muy alta probablemente ocasionado por la saturación de la silica gel en usos múltiples. En la micrografía se observa fibras irregulares y pequeños poros en la superficie de las fibras.

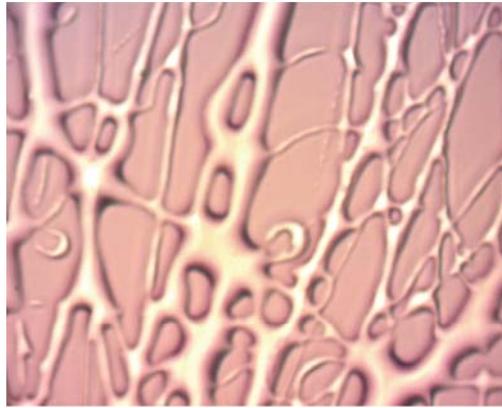


Figura D-3. En esta micrografía se nota la formación irregular de zonas de la fibra con alta cantidad de solvente, esto se debe a una distancia de la aguja al colector pequeña lo cual ocasiona que las fibras no evaporen todo el solvente durante el recorrido aguja-colector

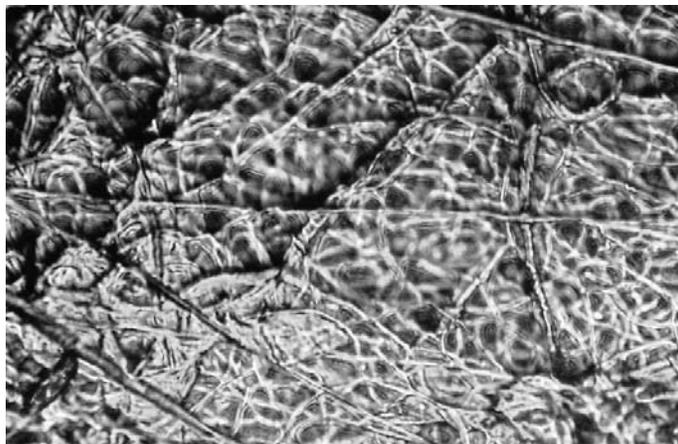


Figura D-4. Micrografía tomada del microscopio óptico, se ven fibras bien definidas al azar.

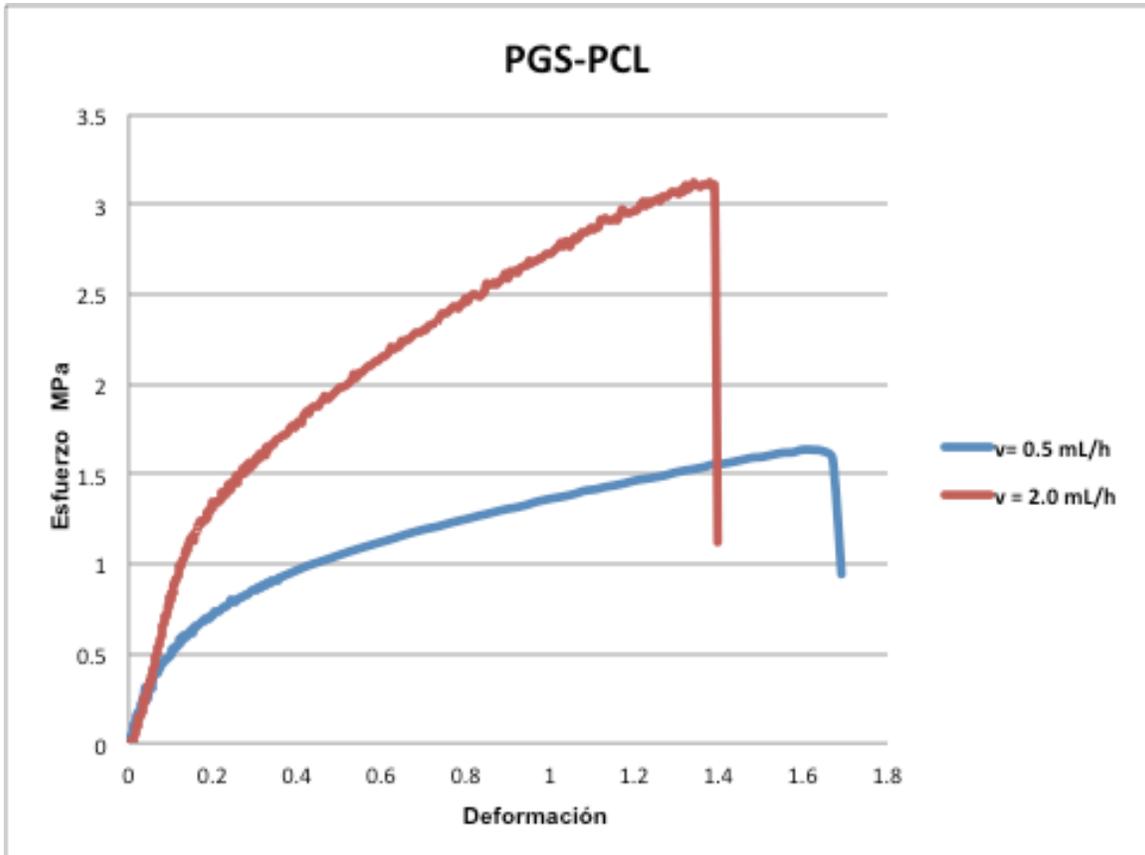


Figura D-5. Gráfica de esfuerzo-deformación del andamio PGS-PCL con dos velocidades distintas de inyección

12.5 Anexo E

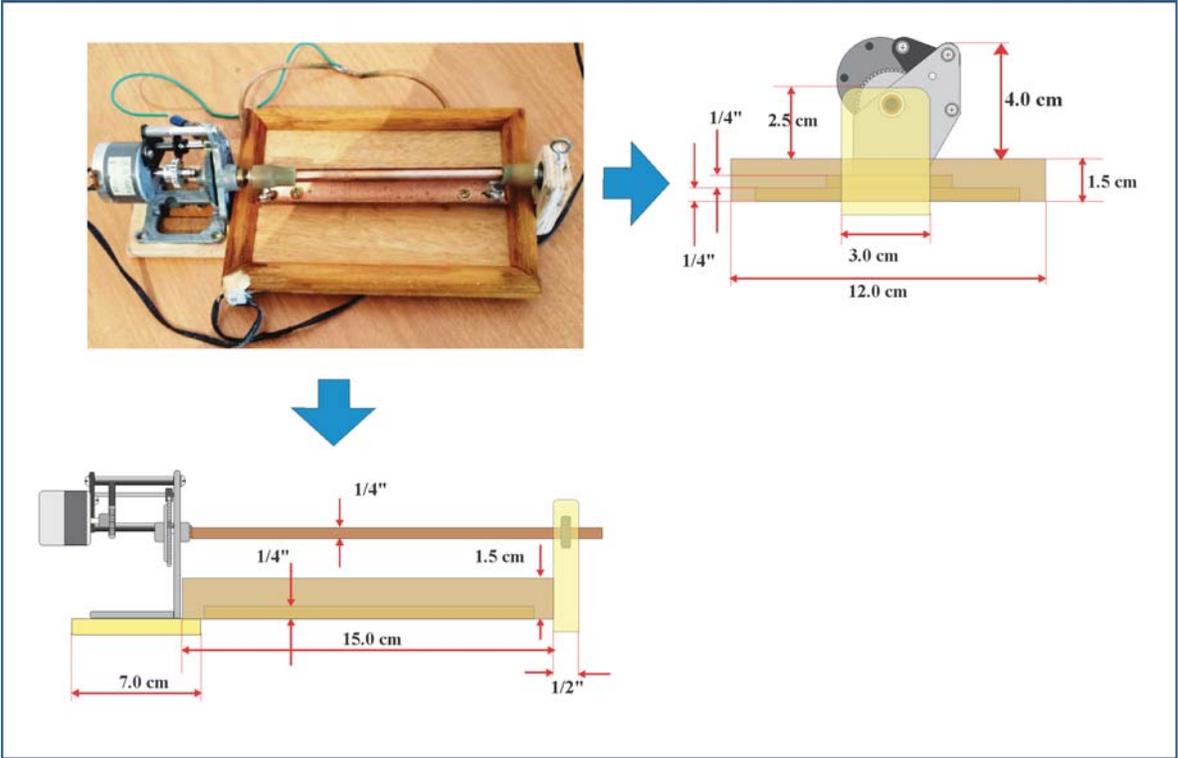


Figura E-1. Esquema del colector rotatorio

12.6 Anexo F

Característica de cada uno de los solventes utilizados.

1.- Migración - evaporación – disolución de los hidrocarburos halógenos

a.- Migración:

Los hidrocarburos halógenos son solventes muy móviles. Penetran fácilmente en los cuerpos porosos pero salen de ellos con la misma facilidad.

b.- Volatilidad :

Retención. Exceptuando el clorobenceno, la fase 1 es inferior a 15 minutos para todos los solventes aplicados en el cuadro. La fase 2 es igualmente corta. Entre los solventes clorados estudiados, es el clorobenceno el que permanece más tiempo en una pintura: un día.

c.- Disolución:

Los enlaces C-Cl son susceptibles de ionizarse en $C^{\delta+} Cl^{\delta-}$ por la electronegatividad del cloro. En ciertas moléculas muy simétricas, estos dipolos se anulan (tetracloruro, trans-dicloroetano). Los halogenuros no simétricos pueden, igualmente, funcionar como dadores de electrones. Los halogenuros saturados son poco ionizantes, no disociantes (el diclorometano y el 1,2- diclorometano lo son más que los otros), apolares por las simetrías y poco polares para los otros; poco polarizables. Algunos pueden formar débiles enlaces de hidrógeno. Pueden ser receptores de H^+ . El tetracloruro y el 1,2-dicloroetano son no coordinadores.

Los halogenuros aromáticos son muy polarizales.

d.- Toxicidad.-

Estos solventes son peligrosos para el hígado, los riñones y el sistema nervioso central. Por su poder desengrasante, se debe evitar el contacto directo con la piel.

2.- Migración - evaporación – disolución de los alcoholes.

a.- Migración.-

Los alcoholes alifáticos presentan tensiones superficiales comparables, pero una viscosidad creciente en relación al largo de la cadena carbonada. Su poder de penetración disminuye

por lo tanto, con el aumento del peso molecular. La diacetona alcohol puede ser considerada como muy penetrante.

b.- Volatilidad - retención

El general, la fase 1 es muy rápida (entre 30 minutos y 4 horas), salvo en el caso de la diacetona alcohol y el ciclohexanol. La retención durante la fase 2 es menor en el etanol, seguida en orden, por el propanol, butanol, metanol e isopropanol. Las cantidades retenidas son inferiores al 3%. La duración de la evaporación es de algunos días, salvo para la diacetona alcohol, la cual según nuestras mediciones, permanece por más de 20 días.

Los alcoholes presentan fuertes interacciones intermoleculares que se traducen en elevados valores de calor latente de vaporización y bajas presiones de vapor saturantes. De pesos moleculares comparables, son por lo tanto mucho menos volátiles que los hidrocarburos alifáticos correspondientes e incluso que los derivados halogenados. El metanol, en particular, presenta un muy alto valor de calor latente de vaporización. Su retención es elevada.

c.- Disolución:

El grupo hidroxilo O-H se caracteriza sobre todo por su capacidad de formar enlaces de hidrogeno. Los alcoholes pueden funcionar a la vez como dadores de protones, pero también como receptores, gracias a los dos pares de electrones libres del oxígeno. (electrones n): C-O-H De hecho, son ionizantes, coordinantes y próticos. Son igualmente disociantes tomando en cuenta su constante dieléctrica elevada. El metanol presenta el valor más elevado. Son poco polarizables por su índice de refracción, salvo evidentemente en el caso del alcohol bencílico en que la proximidad del ciclo juega su papel.

d.- Toxicidad:

Si bien los alcoholes son en conjunto poco peligrosos, se debe recordar que el metanol puede provocar, sobre todo por ingestión, alteraciones digestivas, metabólicas, neurofísicas y oculares. El ciclohexanol tiene una acción narcótica. Afecta el hígado, los riñones y el sistema vascular. El alcohol isoamílico tiene vapores tóxicos cuya inhalación prolongada conduce al coma.

3.- Migración - evaporación – disolución de los Éteres – Óxidos

a.- Migración:

A pesar de su débil viscosidad, los éteres alifáticos son poco penetrantes, ya que su evaporación es muy rápida. Por el contrario, el tetrahydrofurano, un éter cíclico, puede ser considerado como muy penetrantes.

b.- Evaporación:

La fase 1 predomina en los éteres dietílicos y di-isopropílicos. Éste último es el que tiene una evaporación más rápida (alrededor de diez minutos). El tetrahydrofurano es retenido por alrededor de 14 días. Los éteres alifáticos de bajo peso molecular son mucho más volátiles que los alcoholes correspondientes, ya que los OH responsables de las fuertes interacciones por los puentes de hidrógeno ya no están presentes.

c.- Disolución:

Los éteres contienen oxígenos portadores de electrones n no enlazantes C - O - C. Pueden por lo tanto funcionar como dadores de electrones. Por esto es que son ionizantes, coordinantes y aceptan protones. Son poco disociadores por su débil constante dieléctrica (contrariamente a los alcoholes correspondientes) y también menos polares que los alcoholes. El momento dipolar varía con el ángulo C - O - C y también por causa del efecto de los dipolos inducidos en los CH₃ que se opone al dipolo COC.

El carácter dador de electrones varía según la disponibilidad del par de electrones llevados por el oxígeno. Estudios de espectrometría infrarroja han mostrado que los éteres de fenoles son menos básicos que los éteres alifáticos, y que los éteres cíclicos (tetrahydrofurano) son más básicos que los éteres “abiertos”. En los éteres acíclicos, el rango de basicidad decreciente, generalmente encontrado es Me₂O > Et₂O > Pr₂O.

3.- Toxicidad:

El éter etílico es conocido por sus propiedades anestésicas. Los éteres en general, ejercen una acción irritante en las vías respiratorias, los ojos, la piel y las mucosas. El dioxano y el tetrahydrofurano pueden también atacar el hígado y los riñones.

4.- Migración - evaporación – disolución de las amidas carboxílicas

a.- Migración:

Entre todos los solventes utilizados en conservación las amidas se clasifican entre los más penetrantes.

b.- Evaporación:

Las amidas primarias N-monosustituidas, siendo fuertemente autosociadas son poco volátiles (cf. Interacciones específicas o disolución). La formamida no presenta prácticamente fase 1. Su evaporación es muy lenta desde el inicio y su retención muy elevada. Éste solvente es por lo tanto muy peligroso y es recomendable evitarlo sobre capas pictóricas. La dimetilformamida es igualmente poco volátil pero su retención disminuye notablemente después de algunas horas.

c.- Disolución:

Las amidas presentan constantes dieléctricas muy elevadas: Son por lo tanto muy disociantes. Sus momentos dipolares las cataloga también entre los compuestos muy polares y son por lo tanto polarizables.

