



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

**“CARACTERIZACIÓN DE ÁCIDO POLILÁCTICO (PLA)  
COMO MATERIA PRIMA PARA IMPLANTES”**

**TESIS**

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

**P R E S E N T A:**

**FÍS. JUAN MANUEL PÉREZ OSORIO**

**TUTOR PRINCIPAL**

**DRA. MARÍA CRISTINA PIÑA BARBA**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES**

**MIEMBROS DEL COMITÉ**

**DR. MARCO ANTONIO ÁLVAREZ PÉREZ**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA UNAM**

**DR. JOSÉ OCOTLÁN FLORES FLORES**

**CENTRO DE CIENCIAS APLICADAS Y DESARROLLO TECNOLÓGICO UNAM**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, DICIEMBRE 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dr. Lauro Bucio Galindo

SECRETARIO: Dra. Karla Karina Gómez Lizárraga

1° VOCAL: Dra. María Cristina Piña Barba

2° VOCAL: Dr. Leopoldo Ruiz Huerta

3° VOCAL: Dra. Janeth Serrano Bello

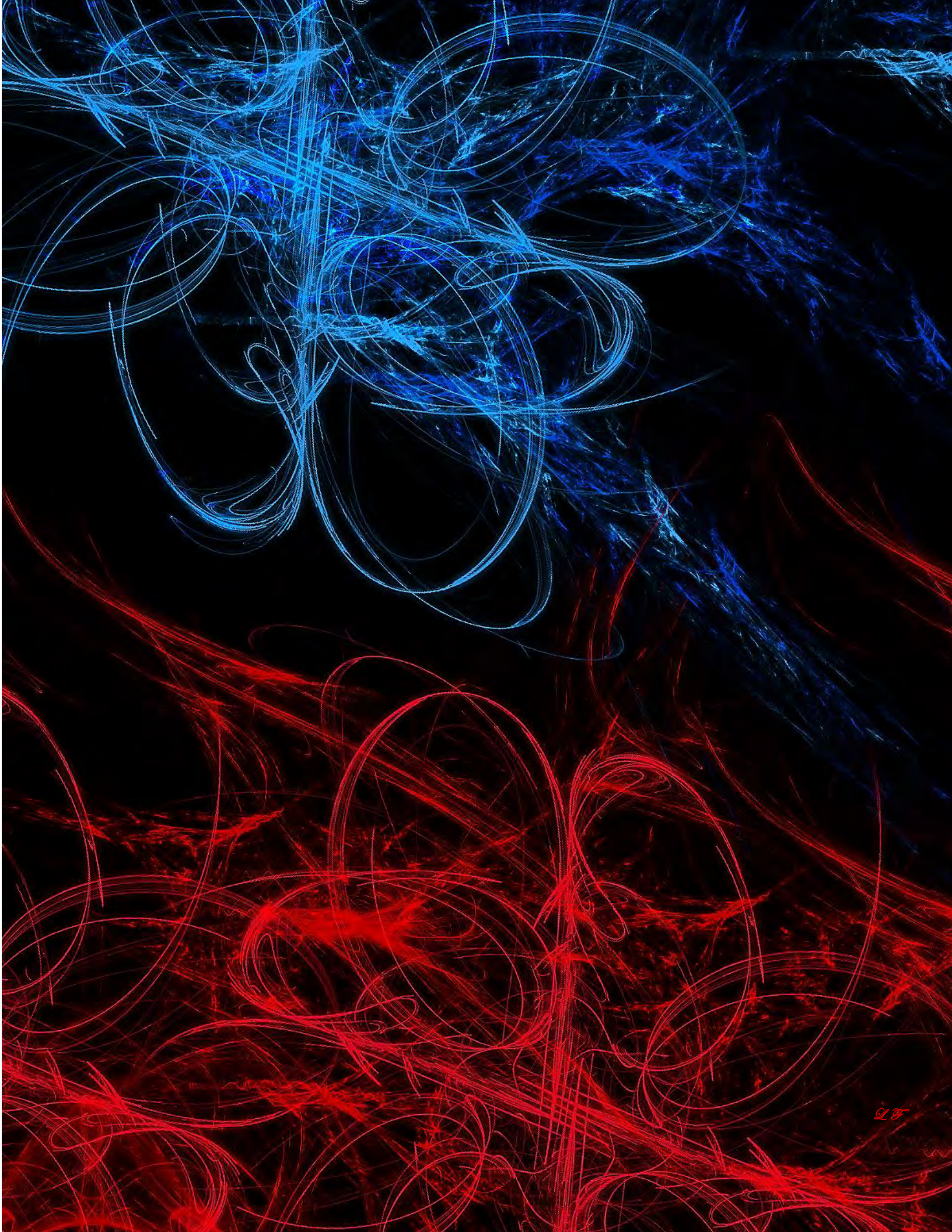
LUGARES DONDE SE REALIZÓ LA TESIS:

LABORATORIO DE BIOMATERIALES LB-102,  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES (IIM),  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO (UNAM).

LABORATORIO DE BIOINGENIERIA DE ÓRGANOS Y TEJIDOS  
POSGRADO DE ODONTOLOGÍA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO (UNAM)

**“CARACTERIZACIÓN DE ÁCIDO  
POLILÁCTICO (PLA) COMO  
MATERIA PRIMA PARA  
IMPLANTES”**









## AGRADECIMIENTOS

### A mi familia:

Suponen los cimientos de mi desarrollo, todos y cada uno de ustedes –mi familia– han destinado tiempo para enseñarme nuevas cosas, para brindarme aportes invaluableles que servirán para toda mi vida.

Agradezco a mi hermana Maribel por su paciencia y enseñanza en los momentos más difíciles.

Agradezco a mis padres María Elena e Isidro por su apoyo incondicional y haberme formado como persona y jamás haberme dejado solo en este camino.

Agradezco a mis abuelos por su guía y ejemplo a seguir, de nunca rendirse a pesar de todo.

Especialmente estuvieron presentes en la evolución y posterior desarrollo como profesionista, les agradezco con creces.

Los amo.



## A mis compañeros y amigos:

Agradezco a mis amigos y compañeros por haber estado en este proceso llamado tesis, de ellos aprendí la paciencia, la tolerancia, la perseverancia, entre otras virtudes.

Agradezco en particular a José Luis por su consejo y guía en el proceso de escritura, a Karla por su buena vibra en el laboratorio, lo que hizo más llevadero el trabajo, a Ale por siempre tener buena actitud y mucha perseverancia, a Tannia por su energía única e inigualable, a David Giraldo por compartir su experiencia, a David Abad por mostrarme que siempre hay algo más allá.

Agradezco a Oscar, el vecino que siempre me apoyo en las locuras que se me ocurrían.

Agradezco a todo el Laboratorio del Dr. Marco por las enseñanzas adquiridas, principalmente en la parte biológica.

Agradezco a Lucí por la paciencia que tuvo a lo largo de las múltiples veces que se descompusieron los equipos.

Agradezco a Gaby por ser una confidente en los momentos que pensé en claudicar y que al final terminaron siendo simples nubarrones pasajeros.

Agradezco a mis compañeros del PCeIM por siempre darme sus opiniones y consejos los que me permitían encontrar nuevas formas de resolver los problemas que fueron surgiendo.



## A los técnicos

Agradezco a los técnicos que ayudaron en el proceso de caracterización desarrollado a lo largo de esta tesis.

Agradezco al **M. en C. Eliezer Hernández Mecinas** del laboratorio de pruebas mecánicas por su ayuda prestada en la caracterización de propiedades mecánicas de los andamios elaborados mediante el uso de la maquina universal para pruebas mecánicas, Instron 1125 con sistema para su manejo por medio de ordenador.

Agradezco a la **Q.F.B. Karla Eriseth Reyes Morales** del laboratorio de análisis térmicos por su ayuda prestada en la caracterización de las propiedades térmicas de la materia prima, así como de los andamios elaborados mediante el uso del analizador termogravimétrico - TGA Q5000 de TA Instruments y el calorímetro diferencial de barrido – DSC Q2000 de TA Instruments.

Agradezco al **Ing. Gerardo Cedillo Valverde** del laboratorio de resonancia magnética nuclear por su ayuda prestada en la caracterización de la estructura de la materia prima mediante el uso del equipo NMR Bruker Avance 400.

Agradezco al **M. en C. Salvador López Morales** del laboratorio de cromatografía por su ayuda prestada en la caracterización de la distribución de pesos moleculares de la materia prima, así como de los andamios ya impresos mediante el uso del equipo Cromatografía por Exclusión de Tamaño de Alta Resolución (HPSEC), marca Waters, modelo ALLIANCE 2695, con detector de índice de refracción, marca Waters, modelo 2414.

Agradezco al **Quím. Miguel Ángel Canseco Martínez** del laboratorio de espectroscopia por su ayuda prestada en la caracterización de las bandas de absorción de la materia prima y la materia procesada mediante el uso de Espectrofotómetro de Infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), Nicolet 510P. Microscopio Nicolet Nic-Plan.

Agradezco a la **M. en C. Adriana Tejeda Cruz** del laboratorio de difracción de rayos X por su ayuda prestada en la caracterización del grado de cristalinidad de la materia prima mediante el uso del Difractómetro de polvos Bruker axs D8 Advance con software Diffrac Plus Release 2000.

Agradezco al **Ing. Carlos Flores Morales** del laboratorio de microscopia por su ayuda en la caracterización de la morfología de las muestras obtenidas mediante el uso del microscopio BENCHTOP SEM JCM 600.

En general realizo un agradecimiento amplio y extenso a todo el personal que colaboro en la realización de esta tesis, ya que gracias a sus consejos y opiniones logre un grato resultado.



## A mi comité tutor.

### **Dra. María Cristina Piña Barba**

Agradezco a mi tutora, la Dra. María Cristina Piña Barba, por su guía a lo largo de todo este proceso, que comenzó dentro de un servicio social, pero que en verdad comenzó como un sueño por tratar de ayudar a las personas, agradezco sus enseñanzas, sus consejos, ya que sin ellos no podría estar donde estoy en este momento.

Agradezco las oportunidades que me ha brindado, así como la confianza que ha depositado en mí, que siempre será correspondida.

Agradezco esas pláticas que siempre me motivaron a seguir adelante en este y otros proyectos que hemos logrado realizar.

Agradezco el apoyo recibido para la compra de equipo y materiales a través del proyecto DGAPA – UNAM: PAPIIT IT 100117. *Le estoy eternamente agradecido.*

### **Dr. Marco Antonio Álvarez Pérez**

Agradezco al Dr. Marco Antonio Álvarez Pérez por la paciencia que tuvo para conmigo en la realización de las pruebas biológicas, lo que me ha enseñado, nunca lo olvidare, en verdad muchas gracias.

Agradezco que me presentara a la Dra. Janeth Serrano Bello y su alumna Lucía Pérez con quien he logrado tener una muy buena mancuerna de trabajo.

Agradezco que me permitiera trabajar en su laboratorio y por los materiales con los que me apoyo, a través del proyecto DGAPA – UNAM: PAPIIT IT 203618.

### **Dr. José Ocotlán Flores Flores**

Agradezco al Dr. José Ocotlán Flores Flores por toda su enseñanza, en particular por mostrarme que en los lugares menos esperados están los mejores datos; que la disciplina nos permite llegar a cualquier meta, que jamás se deja de aprender y nunca debemos dejar de sorprendernos.

## TABLA DE CONTENIDO

Agradecimientos .....	II
A mi familia:.....	II
A mis compañeros y amigos:.....	III
A los técnicos.....	IV
A mi comité tutor.....	V
Tabla de contenido.....	VI
Índice de Figuras.....	VIII
Índice de Gráficas.....	X
Índice de Tablas.....	XI
Abreviaturas y acrónimos.....	XII
Unidades y símbolos.....	XIV
RESUMEN.....	XV
1.- Introducción.....	1
2.- Antecedentes.....	4
2.1 Ácido Poliláctico (PLA), revisión histórica.....	4
2.2 Producción y variedad de Ácido Poliláctico.....	7
2.3 Características del PLA.....	11
2.4 Aplicaciones médicas del PLA.....	18
2.4.1 Requisitos mínimos para dispositivos médicos.....	18
2.4.2 PLA para implantes médicos.....	21
2.5 Aplicaciones preclínicas y clínicas de los dispositivos de PLA.....	23
2.5.1 Fibras.....	23
2.5.2 Mallas.....	26
2.5.3 Dispositivos de fijación ósea.....	28
2.6 Ingeniería tisular y medicina regenerativa.....	34
3. – Objetivos.....	39
3.1 Objetivo General.....	39
3.2 Objetivos particulares.....	39
4. - Metodología.....	41
4.1 Materiales y Equipos.....	42
4.1.1 Reactivos.....	42

4.1.2. Equipos.....	42
4.2 Cromatografía por permeación de gel.....	43
4.3 Difracción de rayos X.....	44
4.4 Análisis térmico.....	44
4.5 Resonancia magnética nuclear.....	44
4.6 Espectroscopia infrarroja.....	45
4.7 Caracterización Biológica de PLA.....	46
4.7.1 Cultivo Celular .....	46
4.7.2 Viabilidad Celular.....	47
4.7.3 Proliferación Celular .....	48
5.- Resultados y discusión.....	50
5.1 Cromatografía por permeación de gel.....	50
5.2 Difracción de Rayos X.....	52
5.3 Análisis térmico.....	56
5.3.1 Análisis termogravimétrico .....	56
5.3.2 Calorimetría diferencia de barrido (DSC) .....	59
5.4 Resonancia magnética nuclear.....	65
5.5 Espectroscopia infrarroja.....	72
5.6 Caracterización Biológica .....	78
5.6.1 Viabilidad Celular.....	78
5.6.2 Proliferación Celular .....	79
6.- Conclusiones.....	82
7.- Referencias .....	85

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Número de trabajos reportados desde el año 2000, hasta la fecha, Se muestran los trabajos que coinciden con la palabra “Polylactic Acid” y los que coinciden con “Polylactic Acid” y “3D Printing” al mismo tiempo.....	5
Fig. 2 Estereoisómeros de láctidos empleados para producción de PLA. Modificada de: “Synthesis and Characterization of Poy (D, L – Lactide) – Poly(Ethylene Glycol) Multiblock Poly(Ether – Ester – Urethane)s, Conference Paper, ResearchGate, Abril 2015”.....	8
Fig. 3 Proceso de producción de PLA. Modificado de: “Compatibilization strategies in poly(lactic acid)-based blends, RSC Adv., 2015, 5, 32546-32565”.....	10
Fig. 4 La homeostasis mecánica es un delicado equilibrio entre el crecimiento, la degradación y la remodelación de los tejidos. Una perturbación del equilibrio dará lugar a una autorregulación (indicado en rojo), en un intento de restablecer el equilibrio. Cabe destacar que es igual de importante tomar en cuenta el proceso de degradación y los metabolitos resultantes de ello. (Modificada de: “Vascular Mechanobiology: Towards Control of In Situ Regeneration”, Cells 2017, 6, 19; doi:10.3390/cells6030019).....	21
Fig. 5 Reconstrucción del tendón infraespinoso (IS) por el PLLA en fieltro (F). SS indica tendón supraespinoso. En el recuadro se muestra una imagen del PLLA implantado teniendo la barra de referencia una longitud de 10 mm. (Modificado de: M., Aoki, S., Miyamoto, K. Okamura, T. Yamashita, Y. Ikada, and S. Matsuda, (2004), “Tensile properties and biological response of poly(L-lactic acid) felt graft: An experimental trial for rotator-cuff reconstruction”. J. Biomed. Mater. Res., 71B: 252-259. doi:10.1002/jbm.b.30084).....	24
Fig. 6 Izq. Diferentes tipos de stent, donde se aprecia las diferentes arquitecturas. Der. Detalle de un stent de PLA empleado en procedimientos cardiacos. (Obtenido de: <a href="http://www.meinherzdeinherz.info/Behandlungen/6PTCA/09_PTCA_Int.html">http://www.meinherzdeinherz.info/Behandlungen/6PTCA/09_PTCA_Int.html</a> , <a href="http://www.medicalexpo.es/prod/elixir-medical/product-83987-531237.html">http://www.medicalexpo.es/prod/elixir-medical/product-83987-531237.html</a> ).....	25
Fig. 7 Diagrama de la reconstrucción mandibular empleando la malla de PLLA y medula ósea (Modificada de “Reconstruction of the mandible with poly [L-lactide] mesh tray/sheet and trasplantation of particulate cancellous bone and marrow” Amagasa, T. et al. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery , Volume 28 , 161).....	27
Fig. 8 Tapón condral de ingeniería tisular compuesto por una malla de PLLA que se encuentra rellena con esponja de colágena con gel que tiene dentro condrocitos cultivados (Basada en : Ochi, Mitsuo & Adachi, Nobuo & Nobuto, Hiroo & Yanada, Shinobu & Ito, Yohei & Agung, Muhammad. (2004). “Articular Cartilage Repair Using Tissue Engineering Technique - Novel Approach with Minimally Invasive Procedure”. Artificial organs. 28. 28-32. 10.1111/j.1525-1594.2004.07317.x.).....	27
Fig. 9 Diferentes dispositivos de PLA empleados en la fijación ósea. Arriba, de izq. A Der., se observan taquetes, arpones y fijadores de sutura. Abajo, de Izq. a Der., se observan placas de fijado, tornillos de interface, así como remaches para reconstrucción craneal.....	29
Fig. 10 Sistema de jaula para columna vertebral. Izq. Sistema completo de sujeción, Der. Se muestra detalle de la jaula y de la región en la cual se coloca el dispositivo. (Modificada de: Van Dijk, M., Tunc, D. C., Smit, T. H., Higham, P., Burger, E. H. and Wuisman, P. I. (2002), “In vitro and in vivo degradation of bioabsorbable PLLA spinal fusion cages”. J. Biomed. Mater. Res., 63: 752-759. doi:10.1002/jbm.10466).....	33



Fig. 11 Figura 2. Diseño del estudio in vivo. El andamio con forma de tornillo fue diseñado y fabricado por el equipo D3DP. Todos los conejos se dividieron al azar en el grupo de PLA (implante de andamio de PLA, n = 12), el grupo de PLA/HA (implante de andamio de PLA/HA, n = 12) y el grupo de MSC (Mesenchymal Stem Cells (Células Madre Mesenquimales) cargadas en el andamio de PLA/HA, n = 12). Se establecieron transecciones agudas completas en el ligamento cruzado anterior de conejos machos adultos de Nueva Zelanda. El tendón extensor digital largo (2 mm de diámetro y 3 cm de longitud) se recolectó como injerto de tendón. El andamio se presionó en el túnel femoral para fijar el injerto del tendón. Los conejos se sacrificaron en las semanas 4, 12 para su posterior análisis.....37

Fig. 12 Materiales empleados para el estudio. Izq. Filamento distribuido por “Impresoras 3D Puebla®”. Der. Proceso de obtención de los andamios para realizar la comparación. (Izq. modificada de: <https://www.impresoras3dpuebla.com/filamento>; Der. de autoría propia).....41

Fig. 13 Mecanismo propuesto en la literatura para el proceso de implantación y su respuesta celular y molecular, mostrando los componentes principales del proceso de señalización iniciado por los fibroblastos. Mecanismo sugerido de cómo los fibroblastos y la sangre adherida a la superficie del material trabajan sinérgicamente la capacidad de remodelación y el potencial angiogénico. La superficie del implante proporciona un sustrato para el coágulo sanguíneo compuesto de fibrina-fibronectina y matriz extracelular (ECM), varias células sanguíneas y un conjunto de factores de crecimiento (VEGF y TGFβ1), citocinas inflamatorias (TNFα e IL1β) y enzimas degradadoras de la matriz (MMP). La secreción de MMP asociada a la sangre acelera la degradación del coágulo sanguíneo, mientras que la secreción del factor de crecimiento VEGF promueve la angiogénesis. (Modificada de: Burkhardt MA, Waser J, Milleret V, et al. Synergistic interactions of blood-borne immune cells, fibroblasts and extracellular matrix drive repair in an in vitro peri-implant wound healing model. *Scientific Reports*. 2016; 6:21071. doi: 10.1038/srep21071.) .....46

Fig. 14 Diferentes vistas de los andamios tipo 3D Honeycomb diseñados empleando el software Slic3r. (De: <http://slic3r.org/blog/new-stable-1.2.9>) .....47

Fig. 15 Proceso de reducción de la sal MTT para formar Formazán. (Modificada de: “Structures of MTT and colored formazan product”. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/figure/mttassays.F1/>).....48

Fig. 16 Estructura cristalina de la α-forma del PLLA propuesta por Sasaki y Asakura, se observan las dimensiones de la celda unitaria para esta forma. (Modificada de: *Macromolecules* 2011, 44, 16, 6441-6452) .....52

Fig. 17 Degradación térmica del PLA por diversas rutas. ....58

Fig. 18 PLLA comercial (L210 deBoehringer, Ingelheim, Alemania) con un peso molecular de 200 kDa, sometidos a los siguientes tres ciclos en un DSC a 10 ° C / min:.....61

Fig. 19 Constitución del PLA, una molécula quiral. El átomo de carbono con un asterisco es un átomo quiral. ....66

Fig. 20 Espectros de NMR para el PLA. Izq. <sup>1</sup>H NMR homonuclear desacoplado para la región del metino (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>). Der. Espectro de NMR del <sup>13</sup>C de la región del metino de PLA sindiotáctico (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>). (De American Chemical Society).....69

Fig. 21 Modos vibracionales presentes en las moléculas. Se incluye la notación para cada tipo de vibración.....73

Fig. 22 Respuesta colorimétrica para diferentes cultivos celulares de fibroblastos gingivales humanos en el PLA después del proceso de manufactura aditiva. Izq. Andamios después de realizada la prueba

de MTT. Der. Pozos empleados para la lectura en placa ELISA; en el recuadro se observa uno de los cristales de formazán. ....	78
Fig. 23 Típicas fases de los cultivos celulares. (Adaptado de: <a href="https://slideplayer.es/slide/1633144/">https://slideplayer.es/slide/1633144/</a> ) .....	80

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1 Sup. Medida del peso molecular promedio viscoso en relación con el tiempo de retención. Se observa un corrimiento a la derecha, indicativo de una baja del peso molecular; así mismo se presenta un ensanchamiento del pico después del proceso de manufactura, lo que se asocia a un aumento en el PDI.....	51
Gráfica 2 Comparación entre las partes cristalinas y amorfas presentes en nuestro polímero antes y después del proceso de manufactura. Se observó un decremento de la cristalinidad del 4.49% posiblemente asociado al proceso de extrusión.....	54
Gráfica 3 Superior. Difractogramas del PLA, antes y después del proceso de manufactura, donde se observa que los picos dominantes son los asociados a la estructura $\alpha$ del PLLA.....	55
Gráfica 4 Resultados del estudio de TGA. Superior. Se observa una pérdida acelerada de masa cerca de los 330°C, temperatura que está fuera de la zona de trabajo, además se observa un corrimiento a la derecha de la tendencia de pérdida de masa, indicativo de un aumento de la energía necesaria para degradar el material. Inferior. Detalle de la zona de trabajo. ....	57
Gráfica 5 Comparativa entre los análisis DSC efectuados al PLA, tanto el que no tiene ninguna modificación realizado por nosotros, como el que fue sometido al proceso de manufactura. Se marcaron las regiones de estudio donde se llevan a cabo procesos importantes para la descripción del polímero. ....	62
Gráfica 6 Estudios de calorimetría diferencial de barrido. En cada recuadro se muestra una región a analizar así como las temperaturas características (en azul se pone el dato representativo), y en cada caso el dato termodinámico obtenido. Se muestra la deconvolución de las señales que forman la respuesta total del DSC.....	63
Gráfica 7 Izq. Desplazamientos químicos obtenidos en nuestro análisis de NMR de $^1\text{H}$ , Der. Espectro de PLA reportado en la literatura. ....	71
Gráfica 8 Espectro de IR del PLA después del proceso de fusión, en él se pueden observar las zonas típicas y asociadas a diferentes secciones de la molécula, así como cambios relativos a la estructura original. ....	75
Gráfica 9 Espectro de IR del PLA antes y después del proceso de manufactura, en él se pueden observar las zonas típicas y asociadas a diferentes secciones de la molécula, así como cambios relativos a la estructura original. ....	76
Gráfica 10 Viabilidad celular en diferentes días de cultivo. Se colocaron las barras de SD.....	78
Gráfica 11 Respuesta biológica de los andamios fabricados por medio de manufactura aditiva, empleando nuestro material de estudio. Se colocaron las barras de SD. ....	80

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Acontecimientos relevantes relacionados con la producción de PLA suscitados en las últimas décadas.....	6
Tabla 2 Propiedades físicas de diferentes tipos de PLA y algunos biopolímeros. (Van de Velde et al, 2002).....	12
Tabla 3 Efectos de la estereoquímica y cristalinidad en las propiedades mecánicas del PLA. (Garlotta, 2002; Hartmann et al, 1998; Perego et al, 1996).....	15
Tabla 4 Características generales de un PLA comercial amorfo, empleado en el proceso de inyección en molde (contenido de relación L:D de 96:4 producido por NatureWorks Co.) (Jamshidian, et al., 2010).....	16
Tabla 5 Requerimientos de los biomateriales (Ikada, et al, 2000).....	19
Tabla 6 Aplicaciones médicas de polímeros bioabsorbibles.....	20
Tabla 7 Dispositivos de PLA disponibles en el mercado mundial. (Middleton, et al., 2000; Pietrzak, 2000; Barber, 1998). ....	28
Tabla 8 Andamios basados en PLA y obtenidos por técnica de manufactura aditiva. ....	36
Tabla 9 Pesos moleculares del PLA, directo del distribuidor y después del proceso de manufactura. ....	50
Tabla 10 Temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) y cambio de calor específico en $T_g$ ( $\Delta C_p$ ), temperatura de fusión ( $T_m$ ) y su entalpía asociada ( $\Delta H_m$ ), y temperatura de cristalización ( $T_c$ ) y entalpía del proceso ( $\Delta H_c$ ) para diferentes pesos moleculares de muestras de PLLA durante un ciclo de Calentamiento – Enfriamiento – Calentamiento en una prueba DSC (Auras et al. 2010). ....	60
Tabla 11 Resumen de los datos obtenidos por los estudios de DSC. ....	64
Tabla 12 Desplazamientos químicos de las tétradas en el PLA (Ovitt et al. 2002; Chisholm et al. 1999) ....	69
Tabla 13 Relación entre los protones (en rojo) que generan las señales en el estudio de NMR y su desplazamiento químico.....	70
Tabla 14 Datos encontrados mediante el estudio $^1H$ NMR (400 MHz, $CDCl_3$ ).....	71
Tabla 15 Espectroscopia infrarroja del PLA. Se presentan datos tanto para el polímero amorfo como para el semicristalino. Obtenida de: (Auras et al. 2004; Kister et al. 1995, 1998; Gonçalves et al. 2010; Garlotta 2001). ....	74
Tabla 16 Comparativa entre los picos de emisión antes y después del proceso térmico. En rojo se marcan las diferencias porcentuales negativas, mientras que en verde se localizan los incrementos en las zonas de emisión. ....	77

## ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

- ACS:** Sociedad química americana (American Chemical Society)
- ASTM:** Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (American Society for Testing and Materials)
- AHA:** Alfhidroxiácidos (Alpha Hydroxy Acid)
- ATCC:** Colección americana de tipos de cultivo (American Type Culture Collection)
- $\alpha$ MEM:** Medio Esencial Mínimo Eagle - Alfa (Minimum Essential Medium Eagle – Alpha)
- bFGF:** Factor de Crecimiento de Fibroblastos básico (basic Fibroblast Growth Factors)
- $CDCl_3$ :** Cloroformo deuterado (Deuterated chloroform)
- CP/MAS:** Polarización cruzada/ Ángulo mágico de giro (Cross-Polarization/Magic Angle Spinning)
- DMSO:** Dimetilsulfóxido (DiMethyl SulfOxide)
- SD:** Desviación Estándar (Standard Deviation)
- DSC:** Calorimetría diferencial de barrido (Differential Scanning Calorimetry)
- DMEM:** Medio de cultivo Eagle modificado de Dulbecco (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)
- $\Delta H_c$ :** Entalpia de cristalización (Enthalpy of Crystallization)
- $\Delta H_m$ :** Entalpia de fusión (Enthalpy of Melting)
- E:** Módulo de Young (Young's modulus)
- ECM:** Matriz extracelular (ExtraCellular Matrix)
- EDTA:** Ácido e expandido (expanded PolyTetraFluoroEthylene)
- EtOH:** Etanol (Ethanol)
- $\epsilon$  – CL:** Épsilon caprolactona ( $\epsilon$  – CaproLactone)
- FDA:** Administración de Medicamentos y Alimentos (Food and Drug Administration)
- FDM:** Modelado por Deposición Fundida (Fused Deposition Modeling)
- FTIR-ATR:** Infrarrojo por transformada de Fourier acoplada con reflectancia total atenuada (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy with Attenuated Total Reflectance)
- FWHM:** Ancho a la Altura Media del Pico Máximo (Full Width at Half Maximum)
- GBR:** Regeneración ósea guiada (Guided Bone Regeneration),
- GPC:** Cromatografía por permeación de gel (Gel Permeation Chromatography)
- HGF:** Fibroblastos gingivales humanos (Human Gingival Fibroblasts)
- HPLC:** Cromatografía líquida de alta eficacia (High Performance Liquid Chromatography)

**H<sub>2</sub>O<sub>dis</sub>**: Agua desionizada (Deionized water)

**H<sub>2</sub>O<sub>bis</sub>**: Agua bidestilada (Double-distilled water)

**IL1 $\beta$** : Interleucina 1 beta (InterLeukin 1 Beta)

**MMP**: Metaloproteinasas de matriz (Matrix MetalloProteinases)

**MTT**: Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)

**NMR**: Resonancia magnética nuclear (Nuclear Magnetic Resonance)

**LCA**: Ligamento Cruzado Anterior (Anterior Cruciate Ligament)

**PBS**: Buffer fosfato salino (Phosphate-Buffered Saline)

**PCL**: Policaprolactona (PolyCaproLactone)

**PCMB**: Hueso esponjoso particulado y médula ósea (Particulate Cancellous Bone and Marrow)

**PDI, Đ**: Índice de polidispersión (PolyDispersity Index)

**PDLA**: Ácido poli-D-Láctico (Poly-D-Lactide)

**PDS, PDO**: Polidioxanona (PolyDiOxanone)

**PEO, POE**: Óxido de polietileno, polioxietileno (PolyEthylene Oxide, PolyOxyEthylene)

**PFA**: Paraformaldehído (ParaFormAldehyde)

**PGA**: Ácido poliglicólico (PolyGlycolic Acid)

**PLLA**: Ácido poli-L-Láctico (Poly-L-Lactide)

**PLLA-SR**: Ácido poli-L-Láctico reforzado (Poly-L-Lactide self-reinforced)

**PLA**: Ácido poliláctico o poliácido láctico (PolyLactic Acid)

**PM**: Proceso de manufactura (Manufacturing Process)

**PTFE**: politetrafluoroetileno (PolyTetraFluoroEthylene)

**ROP**: Polimerización por apertura de anillo (Ring-Opening Polymerization)

**SEM**: Microscopía electrónica de barrido (Scanning Electron Microscope)

**$\sigma$** : esfuerzo a la fluencia (Offset Yield Point)

**TGA**: Análisis Termogravimétrico (Thermal Gravimetric Analysis)

**TGF $\beta$ 1**: Factor de crecimiento transformante beta 1 (Transforming Growth Factor Beta 1)

**THF**: Tetrahidrofurano (TetraHydroFuran)

**Tc**: Temperatura de cristalización (Crystallization Temperature)

**Tg**: Temperatura de transición vítrea (Glass transition Temperature)

**Tm**: Temperatura de fusión (Melting Temperature)

**TNF $\alpha$** : Factor de necrosis tumoral alfa 1 (Tumor Necrosis Factor alpha 1)

**VEGF**: Factor de crecimiento endotelial vascular (Vascular Endothelial Growth Factor)

**XRD**: Difracción de rayos X (X-Ray Diffraction)

## UNIDADES Y SÍMBOLOS

**%:** porcentaje

**°C:** grado Celsius

**cm:** centímetro

**cm<sup>-1</sup>:** centímetro recíproco

**Da:** Dalton

**g:** gramo

**g/cm<sup>3</sup>:** gramo por centímetro cúbico

**GPa:** Giga Pascales – 1 x 10<sup>9</sup> Pascales

**J:** Joule

**kDa:** kilo Dalton

**kg:** kilogramo

**kV:** kilovoltio

**kNm/g:** kilo Newton metro por gramo

**M:** molar

**m:** metro

**m<sup>2</sup>:** metro cuadrado

**mg:** miligramo

**µg:** microgramo

**mm:** milímetro

**MPa:** Mega Pascales – 1 x 10<sup>6</sup> Pascales

**µm:** micrómetro

**Nm/g:** Newton metro por gramo

**Pa:** pascal

**s:** segundo

**U:** unidad

**U.I.:** Unidad Internacional

**u.a.:** unidades arbitrarias

**W:** Watt

**Xc:** Porcentaje de cristalinidad o fracción cristalina

## RESUMEN

El ácido poliláctico es un poliéster alifático de creciente empleo en el área de diseño de dispositivos médicos, en particular en el área de implantología, debido a que pertenece a la familia de los poli alfa-hidroxiácidos, de los cuales, varios se emplean dentro del área biomédica, lo que lo vuelve un material de interés.

Otra característica de este material, es su facilidad de adquisición en forma de filamentos, lo que lo ha vuelto muy empleado en los procesos de manufactura aditiva, en particular sistemas como el proyecto RepRap, lo que lleva a la necesidad de evaluar este material para ser empleado más extensamente dentro de este campo.

En el capítulo 1 se presenta la introducción a los dispositivos médicos obtenidos mediante manufactura aditiva, así como la importancia de conocer las limitaciones y requerimientos generales para estos, usando como guía lo estipulado por la FDA, haciendo énfasis en los que tienen como materia prima de elaboración los polímeros, lo que nos lleva a la necesidad de entender al PLA como un material alternativo para la fabricación de implantes usando dicha tecnología.

En el capítulo 2 se hace una revisión de los antecedentes con lo cual se logra una visión general acerca del ácido poliláctico, desde su importancia histórica como un biopolímero, pasando por los métodos de producción, variedades y características, concluyendo con una revisión de las aplicaciones médicas en la fabricación de dispositivos comerciales y el desarrollo de nuevas alternativas en este mismo campo.

En el capítulo 3 se explican los objetivos tanto generales como los particulares para desarrollar esta tesis, lo que mostró una guía para el desarrollo de una metodología de trabajo.

Dentro del capítulo 4 se describe la metodología que se empleó para el desarrollo de este trabajo, donde destacaron los análisis comparativos entre las propiedades del material antes y después del proceso de manufactura; y con ello establecer si existen cambios que modifiquen el material y con ello evite su uso para la creación de implantes.

En el capítulo 5 se muestran los resultados que se obtuvieron empleando la metodología discutida dentro del capítulo anterior, así mismo se contrastan los resultados con lo presente en la literatura.

Para el capítulo 6 se presenta la conclusión después de haberse presentado los resultados y su discusión llegando a la conclusión de que es necesario un mayor estudio de las propiedades meso y macroscópicas del constructo obtenido mediante manufactura aditiva, debido a que las propiedades contrastadas a nivel microscópico no presentan una diferencia significativa, lo que nos muestra que el material no sufre cambios significativos antes y después del proceso de manufactura.

El capítulo 7 nos muestra las referencias empleadas para la escritura de este trabajo presentadas en orden alfabético.





# CAPÍTULO 1

# INTRODUCCIÓN



## 1.- INTRODUCCIÓN.

Actualmente una de las tecnologías que se encuentran en desarrollo la manufactura aditiva, debido a su adaptabilidad a diferentes áreas, así como su rápida implementación en diferentes procesos, en particular en el área médica, ya sea con la impresión de modelos quirúrgicos preoperatorios, la impresión de guías de corte para realizar procedimientos en el quirófano de manera más eficiente, entre muchos otros más.

Al igual que los dispositivos fabricados mediante otros procesos, los elaborados con tecnología de impresión 3D están sujetos a requisitos reglamentarios. Los dispositivos médicos se clasifican en Clase I, II y III. El control regulatorio aumenta de Clase I a Clase III.

En 2016, la FDA emitió una guía preliminar sobre las “Consideraciones técnicas para dispositivos fabricados por manufactura aditiva<sup>1</sup>” para asesorar a los fabricantes que producen dispositivos mediante técnicas de impresión 3D. Este borrador de guía fue publicado para obtener comentarios del público y no es definitivo ni está vigente en este momento.

La FDA está evaluando actualmente nuevos dispositivos médicos impresos en 3D para determinar la seguridad y la eficacia. El borrador proporciona a los fabricantes recomendaciones para el diseño, la fabricación y las consideraciones de prueba al desarrollar dispositivos obtenidos mediante el proceso de manufactura aditiva.

Este borrador de orientación se organiza en dos áreas temáticas:

- **Consideraciones de diseño y fabricación:** Esta sección de la guía proporciona consideraciones técnicas que deben abordarse como parte del cumplimiento de los requisitos del Sistema de calidad para un dispositivo, según lo determinado por su clasificación reglamentaria o regulación a la que está sujeto. Si bien esta guía preliminar incluye consideraciones de fabricación, NO pretende abordar todas las consideraciones o requisitos reglamentarios para establecer un sistema de calidad para la fabricación de un dispositivo.

---

<sup>1</sup> Disponible en :

<https://www.fda.gov/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/3DPrintingofMedicalDevices/ucm500548.htm>.

- **Consideraciones sobre pruebas de dispositivos:** esta sección de la guía describe el tipo de información que se debe proporcionar en las solicitudes de notificación previa a la comercialización, aplicaciones de aprobación previa a la comercialización, aplicaciones de exención de dispositivos humanitarios, solicitudes nuevas y de dispositivos de investigación.

Dado que el proceso de manufactura aditiva crea el material final o altera el material de inicio durante el proceso, se deben identificar los materiales involucrados en la fabricación del dispositivo, esta información debe incluir la fuente y la pureza de cada material utilizado. Los certificados de análisis y las hojas de datos de seguridad de materiales pueden facilitar la revisión de cada material.

Dada la naturaleza iterativa de la manufactura aditiva, el material de partida se puede exponer a procesos parciales de fusión y solidificación varias veces, lo que puede resultar en una química de materiales inesperada o no deseada para algunos sistemas de polímeros. Por lo tanto, si la biocompatibilidad no se evalúa o si las pruebas de biocompatibilidad identifican una preocupación, puede ser necesaria información química adicional. Por ejemplo, puede ser necesaria una descripción de todos los cambios químicos en el material que se esperan durante la fabricación del dispositivo. Además, en base a esta descripción y al tipo de material/máquina utilizado, también puede ser necesario proporcionar información adicional. Información o pruebas de polímeros para garantizar que no haya entidades químicas formadas involuntariamente que puedan representar un riesgo para la salud del paciente.

Uno de los objetivos que se han planteado en los últimos años es el desarrollo de implantes mediante esta tecnología, y en particular se desea emplear polímeros ya bien conocidos, como es el ácido poliláctico (PLA) lo que conlleva una necesidad, que es, el conocimiento sobre el material, las posibles modificaciones que puedan ocurrir debido al proceso y su impacto dentro de las propiedades necesarias para un implante.

Es por esta razón y porque aún no se tiene un consenso al respecto de las propiedades a evaluar, que surge este trabajo, como una propuesta de proceso para comparar las propiedades del PLA antes y después del proceso de manufactura aditiva.



# CAPÍTULO 2

## ANTECEDENTES

## 2.- ANTECEDENTES

### 2.1 Ácido Poliláctico (PLA), revisión histórica.

El poli (ácido láctico) (PLA) no se puede considerar como un polímero nuevo. Ya en 1845, el PLA fue sintetizado por Théophile-Jules Pelouze por la condensación de ácido láctico (Benninga, 1990). En 1932, Wallace Hume Carothers et al. desarrollaron un método para polimerizar lactida<sup>II</sup> para producir PLA, que luego fue patentado por DuPont en 1954 (Carothers et al., 1932). Aunque el PLA existió durante varias décadas, su uso se limitó a aplicaciones biomédicas (por ejemplo, suturas biocompatibles, implantes, dispositivos de liberación controlada biológicamente activos) debido a su alto costo. El bajo peso molecular del PLA obtenido también dificultó su empleo en diferentes áreas. El avance se produjo a principios de la década de 1990, cuando Cargill Inc. tuvo éxito en la polimerización de PLA de alto peso molecular utilizando una reacción de apertura del anillo láctido que fue comercialmente viable (Gruber et al.; 1994, 2001). En 1997, se formó Cargill Dow LLC, una empresa conjunta entre Cargill Inc. y The Dow Chemical Company, para comenzar la producción significativa comercialmente de resinas de PLA bajo el nombre comercial NatureWorks™. Este es un hito importante en la historia de PLA porque significa el comienzo de un uso a gran escala de este polímero con base biológica, transformando el PLA de un material especializado a un termoplástico de productos básicos.

La mayor disponibilidad de PLA estimuló un aumento en las actividades de investigación y desarrollo. Una revisión de la literatura referente a este tópico reveló que el número de artículos publicados relacionados con el PLA aumentó en las últimas décadas (Ver Fig. 1 y Tabla 1), lo que también se puede atribuir, en parte, al creciente movimiento "verde" que está estimulando el uso de polímeros que se pueden obtener de materias primas biológicas, y a su vez se observa un incremento del número de artículos que relacionan al PLA con la frase "3D printing", lo que nos muestra un auge entre los materiales y tecnologías, lo que nos plantea la necesidad de un crecimiento en paralelo de ambos campos. Hasta la fecha, los principales proveedores de resinas PLA han sido Cargill (en los Estados Unidos conocido como Ingeo™), Mitsui Chemicals, Inc. (en Japón, conocido como LACEA™), Purac (Países Bajos) y Teijin Limited (en Japón, conocido como Biofront™).

---

<sup>II</sup> Una lactida es el diéster cíclico del ácido láctico ( $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$ ), que corresponde con la fórmula de este ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ ). Por la polimerización aniónica se da un ataque nucleofílico de un iniciador con carga negativa sobre el carbonilo, que da como resultado un poliéster lineal (polilactida o poliácido láctico).

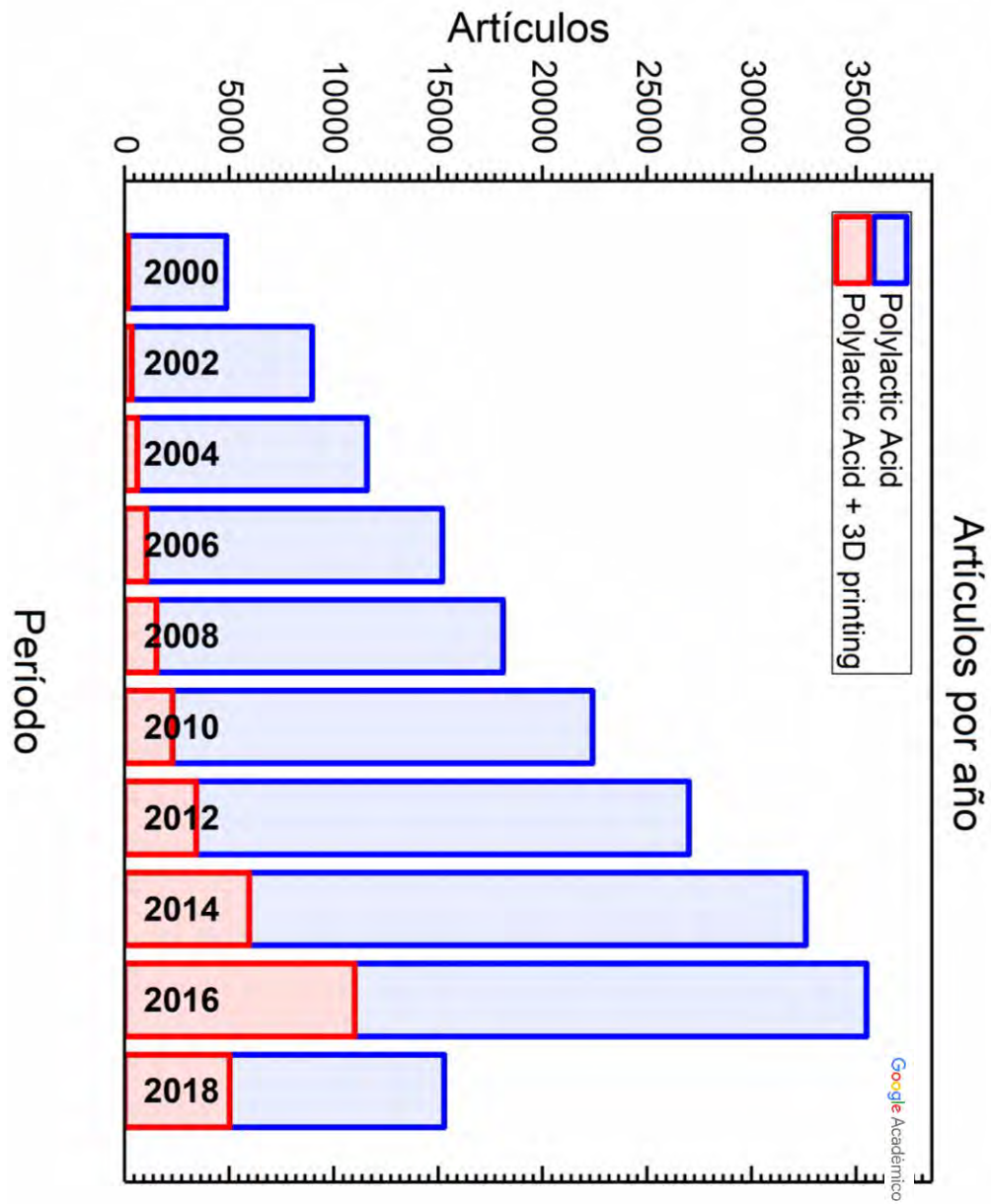


Fig. 1 Número de trabajos reportados desde el año 2000, hasta la fecha<sup>III</sup>, Se muestran los trabajos que coinciden con la palabra “Polylactic Acid” y los que coinciden con “Polylactic Acid” y “3D Printing” al mismo tiempo.

<sup>III</sup> Obtenido empleando el buscador Google Scholar, dentro del software Google Chrome, versión 68.0.3440.106, el día 15 de Septiembre de 2018.



Tabla 1 Acontecimientos relevantes relacionados con la producción de PLA suscitados en las últimas décadas.

Año	Evento
2010	Jung et al. Emplearon <i>Escherichia coli</i> recombinante para producir PLA (Jung et al. 2010).
2009	PURAC <sup>®</sup> , Sulzer <sup>®</sup> y Synbra <sup>®</sup> anunciaron la producción de PLA a partir de lactida sólida para genera productos en forma de espuma.
	Galactic <sup>®</sup> y Total Petrochemicals <sup>®</sup> de Bélgica crearon una empresa conjunta, Futerro <sup>®</sup> , para comenzar la producción de PLA.
	Cargill Inc. <sup>®</sup> adquirió la plena propiedad de NatureWorks <sup>®</sup> de Teijin Limited <sup>®</sup> .
2008	Uhde Inventa-Fischer <sup>®</sup> y Pyramide Bioplastics <sup>®</sup> anuncian la producción a gran escala de PLA en Guben, Alemania.
	PURAC <sup>®</sup> comenzó a comercializar monómeros láctidos sólidos bajo el nombre comercial de PURALACT <sup>™</sup> .
2007	Teijin <sup>®</sup> lanzó PLA estéreoComplejo resistente al calor bajo el nombre de Biofront <sup>®</sup> .
	NatureWorks LLC <sup>®</sup> y Teijin Limited <sup>®</sup> formaron una empresa conjunta 50 - 50 para comercializar resinas termoplásticas de base biológica con el nombre Ingeo <sup>™</sup> .
2005	Cargill Inc. <sup>®</sup> adquirió la participación de The Dow Chemical Company <sup>®</sup> en la empresa conjunta 50 - 50 de Cargill Dow LLC <sup>®</sup> .
2003	Toyota <sup>®</sup> produjo y desarrolló PLA para aplicaciones automotrices.
1997	Formación de Cargill Dow LLC <sup>®</sup> , una empresa conjunta 50 - 50 de Cargill Inc. <sup>®</sup> y The Dow Chemical Company <sup>®</sup> , para comercializar PLA bajo el nombre comercial NatureWorks <sup>™</sup>
	Fiberweb <sup>®</sup> (ahora BBA <sup>®</sup> , Francia) introdujo telas PLA fundidas e hiladas bajo el nombre comercial de Deposa <sup>™</sup> .
1996	Mitsui Chemicals, Inc. <sup>®</sup> comercializa PLA producido por ruta de policondensación.
1994	Kanebo <sup>Ltd.</sup> Introdujo Lactron <sup>®</sup> , un tejido de PLLA que poseía como característica el poderse elaborar con un monofilamento o multifilamentos.



## 2.2 Producción y variedad de Ácido Poliláctico

Los polímeros naturales, los biopolímeros y los polímeros sintéticos basados en recursos renovables son la base del desarrollo del siglo XXI en los plásticos sostenibles y eficientes, desde el punto de vista ecológico (Narayan et al, 2004). Estos materiales biológicos reemplazarán gradualmente a la familia actual de polímeros basados en el petróleo, a medida que se vuelvan competitivos en cuanto a costos y rendimiento.

El ácido poliláctico (PLA) es el favorito en el mercado emergente de bioplásticos con la mejor disponibilidad y la estructura de costos más atractiva.

La producción del poliéster alifático<sup>IV</sup> a partir del ácido láctico, un aditivo alimentario producido a granel y al ácido de origen natural, es relativamente sencillo.

El PLA es un material termoplástico<sup>V</sup> con rigidez y claridad similar al poliestireno (PS) o al politereftalato de etileno (PET). Los usos finales del PLA se encuentran en envases rígidos, envases flexibles de película, vasos para bebidas frías, cubiertos, prendas de vestir y fibra cortada, botellas, productos moldeados por inyección, recubrimiento por extrusión, etc. (Garlotta et al, 2001). El PLA es biodegradable, reabsorbible y biodegradable en condiciones de compostaje industrial (Narayan et al, 2004; Gupta et al, 2007; Hartmann et al, 1998).

El PLA puede producirse mediante polimerización por condensación directamente a partir de su ácido láctico básico, que se obtiene mediante la fermentación de azúcares procedentes de fuentes de carbohidratos como el maíz, la caña de azúcar o la tapioca. La mayoría de las rutas empleadas comercialmente, sin embargo, utilizan la conversión más eficiente de láctido, el dímero cíclico de ácido láctico, a PLA mediante polimerización por apertura de anillo (ROP) favorecida empleando un catalizador basado en Sn (II) en lugar de policondensación (Garlotta et al, 2001; Witzke et al, 1997). Ambos conceptos de polimerización se basan en ácido láctico de grado polimérico altamente concentrado de excelente calidad para la producción de

---

<sup>IV</sup> Los ácidos carboxílicos reaccionan con aminas y alcoholes para formar ésteres. Cuando reacciona un ácido que contiene más de un grupo – COOH con una amina que tiene más de un grupo – NH<sub>2</sub> o con un alcohol que presenta más de un – OH los productos resultantes son poliamidas y poliésteres, y se dirá que son alifáticos siempre que su arquitectura sea de cadena abierta y los cíclicos que se les asemejen (Thornton R., Química Orgánica, 1990).

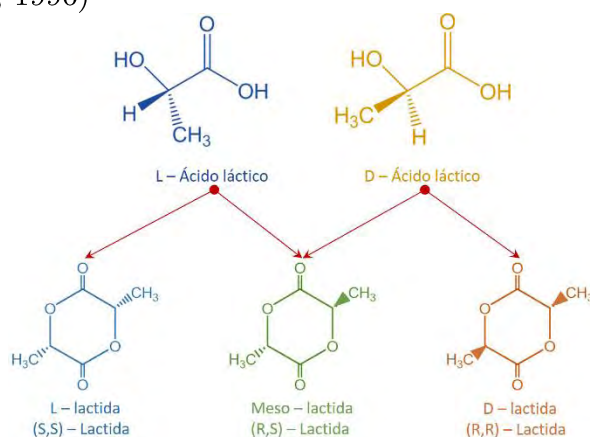
<sup>V</sup> Un termoplástico es un material que a temperaturas relativamente altas, se vuelve deformable o flexible, se derrite cuando se calienta y se endurece en un estado de transición vítrea cuando se enfría lo suficiente. La mayor parte de los termoplásticos son polímeros de alto peso molecular, los cuales poseen cadenas asociadas por medio de fuerzas de Van der Waals débiles (polietileno); fuertes interacciones dipolo-dipolo y enlace de hidrógeno, o incluso anillos aromáticos apilados (poliestireno). Los polímeros termoplásticos difieren de los polímeros termoestables o termofijos en que después de calentarse y moldearse pueden recalentarse y formar otros objetos

polímeros de alto peso molecular con alto rendimiento (Hartmann, et al, 1998; Henton, et al, 2005).

La purificación del ácido láctico producido por la fermentación bacteriana industrial es, por lo tanto, de importancia decisiva porque el ácido láctico crudo contiene muchas impurezas como ácidos, alcoholes, ésteres, metales y trazas de azúcares y nutrientes.

El monómero láctido para la síntesis del PLA se obtiene de la despolimerización catalítica de cadenas de PLA cortas a presión reducida. Este pre polímero se produce por deshidratación y policondensación de ácido láctico al vacío a alta temperatura. Después de la purificación, lactida se usa para la producción de copolímeros de PLA y láctidos por ROP, que se realiza a granel a temperaturas superiores al punto de fusión de las láctidas y a temperaturas inferiores que causan la degradación del PLA formado (Hartmann et al, 1998).

El procesamiento, la cristalización y el comportamiento de la degradación del PLA dependen de la estructura y composición de las cadenas del polímero, en particular la relación de isómeros “L” y “D” (Ver Fig. 2) del ácido láctico (Garlotta et al, 2001; Hartmann et al, 1998; Witzke et al, 1997; Grijpma et al, 1994). Esta estructura estereoquímica del PLA puede modificarse mediante la copolimerización de mezclas de L – láctido y meso -, D - o *rac* - láctido dando como resultado polímeros amorfos o semicristalinos de alto peso molecular con un punto de fusión en el intervalo de 130 a 185°C (Witzke et al, 1997; Henton et al, 2005; Grijpma et al, 1994; Kolstad et al, 1996; Sinclair et al, 1996)



**Fig. 2 Estereoisómeros<sup>VI</sup> de láctidos empleados para producción de PLA. Modificada de: “Synthesis and Characterization of Poy (D, L – Lactide) – Poly(Ethylene Glycol) Multiblock Poly(Ether – Ester – Urethane)s, Conference Paper, ResearchGate, Abril 2015”.**

<sup>VI</sup> Un estereoisómero es un isómero que tiene la misma fórmula molecular, también la misma secuencia de átomos enlazados, con los mismos enlaces entre sus átomos, pero difieren en la orientación tridimensional de sus átomos en el espacio.



El PLLA isotáctico, que comprende únicamente unidades de L – lactida, es un material semicristalino con el punto de fusión más alto, mientras que los copolímeros de PLA con mayor contenido de isómero D exhiben puntos de fusión más bajos y un comportamiento más lento en el proceso de cristalización, hasta que finalmente se vuelven amorfos en contenidos de D superiores al 12 – 15% (Kolstad, 1996).

Durante décadas, ROP ha sido la ruta preferida para sintetizar PLA para aplicaciones biomédicas con volúmenes de producción pequeños.

El PLLA y copolímeros con rac – láctido, glicolato y  $\epsilon$  – caprolactona para aplicaciones biomédicas reabsorbibles han sido producidos, por ejemplo, por PURAC, anteriormente conocido como CCA, desde la década de 1970 (Nieuwenhuis, 1992). Desde la década de 1990, el concepto ROP también se utiliza para la producción de grandes volúmenes de PLA para otras aplicaciones.

La producción a gran escala de: PLA, copolímeros de L – y meso – lactida, se inició en 2002 por una empresa conjunta de Cargill y Dow bajo el nombre de NatureWorks LLC. Desde el 1 de julio de 2009, NatureWorks LLC es nuevamente propiedad de Cargill y tiene una capacidad de producción de 140,000 toneladas por año, para su planta de Ingeo en Blair, Nebraska (disponible en <http://www.natureworkslc.com>).

El precio atractivo y la disponibilidad comercial de ácido láctico fueron razones importantes por las que el PLA se convirtió en el primer poliéster de base biológica producido en serie. El factor crítico de éxito ante los demás químicos y plásticos verdes basados en materiales renovables, es la sustentabilidad económica.

Por lo tanto, la base del costo competitivo del PLA, es un proceso industrial de producción basada en la fermentación de ácido láctico con un uso eficaz de carbohidratos, seguido de una excelente tecnología de purificación con una generación mínima de subproductos (Ver Fig. 3).

Un impulso importante para el mercado de bioplásticos en expansión, fue la comercialización de monómeros de lactida para PLA por PURAC en 2008. Las láctidas sólidas D – y L – ahora están disponibles en grandes cantidades y se pueden polimerizar en una amplia gama de polilactidas hechas a medida mediante procesos continuos de polimerización en estado fundido, como la tecnología basada en reactores de mezcla estática que fue desarrollada conjuntamente por Sulzer y PURAC.

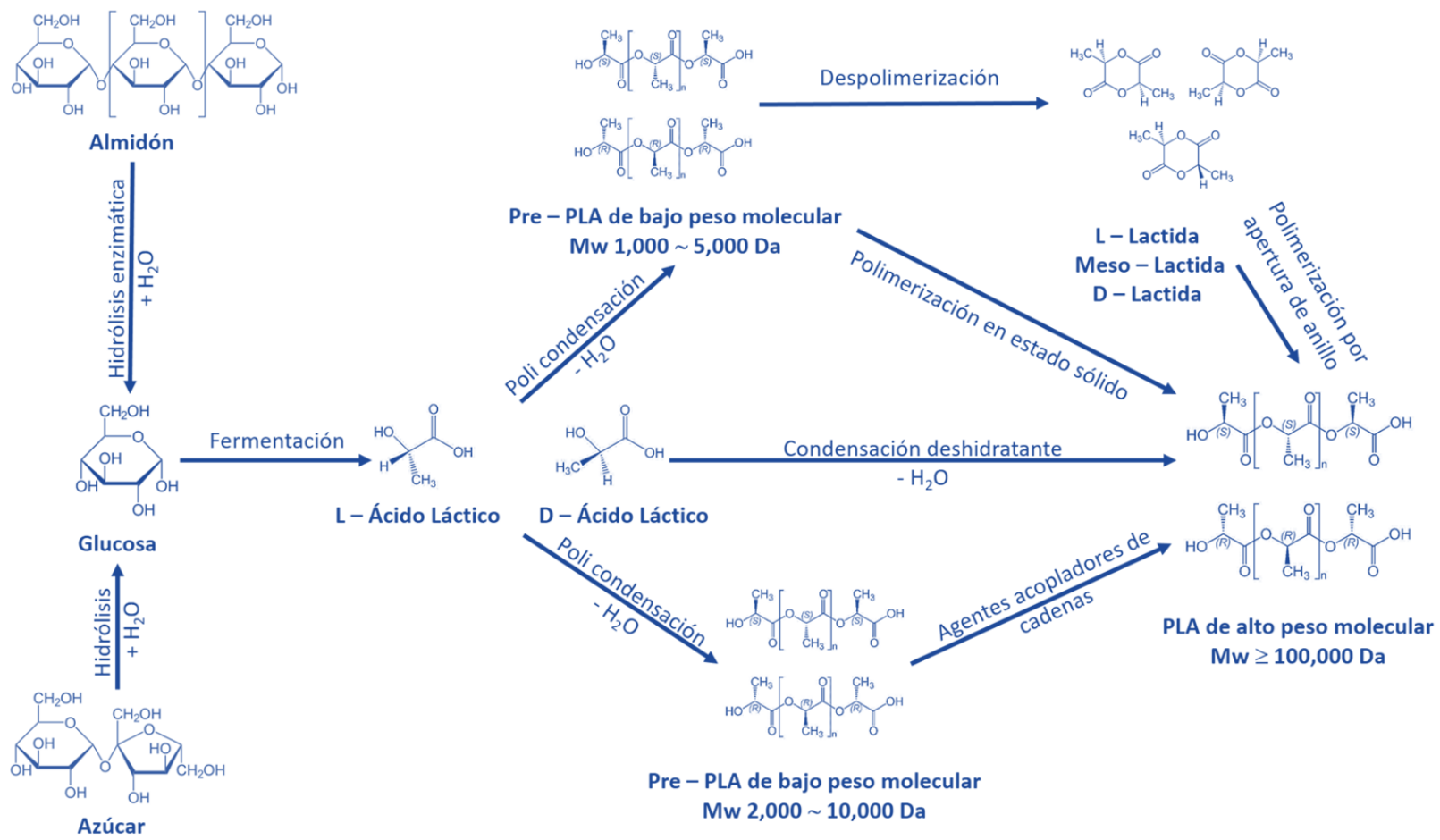


Fig. 3 Proceso de producción de PLA. Modificado de: "Compatibilization strategies in poly(lactic acid)-based blends, RSC Adv., 2015, 5, 32546-32565".



El PLA ofrece un potencial de mercado sin precedentes para los productores de ácido láctico en todo el mundo, pero no todos los actores pueden tener éxito, porque la producción de PLA plantea una gran demanda de calidad y precio del ácido láctico.

### 2.3 Características del PLA.

El ácido poliláctico posee diferentes características que son importantes conocer, desde el punto de vista de los materiales (biomateriales), es por ello que esta sección se centrara en ofrecer una visión general sobre las cualidades más importantes de este termoplástico.

Las propiedades físicas son importantes; uno debe conocer los requisitos de dimensiones, tamaño y peso para una pieza o producto deseado. Por ejemplo, si lo usa un cirujano, debe ser lo suficientemente liviano como para manejarlo con precisión, ya que la implementación del material también se vuelve mucho más fácil y menos peligrosa cuando se emplea (Handbook de aplicaciones médicas de polímeros en medicina y dispositivos médicos, 2014). La densidad también puede ser un parámetro de diseño muy importante ya que los valores elevados de densidad implican altos costos de transporte (por ejemplo, las piezas ligeras de automóviles reducen el consumo de energía). La densidad se usa a menudo para el cálculo de “propiedades específicas”, es decir, dividir las propiedades mecánicas por la densidad apropiada. Estas propiedades específicas, consecuentemente, dan una mejor idea de la fuerza intrínseca del constructo que uno desea elaborar (Van de Velde et al, 2002). La densidad del PLA en comparación con una serie de biopolímeros se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2 Propiedades físicas de diferentes tipos de PLA y algunos biopolímeros. (Van de Velde et al, 2002)

Propiedad		Tipo de biopolímero				
Unidad <sup>VII</sup>		PLA	PLLA	PDLLA	PGA	PCL
$\rho$	g/cm <sup>3</sup>	1.21 – 1.25	1.24 – 1.30	1.25 – 1.27	1.50 – 1.71	1.11 – 1.146
$\sigma$	MPa	21 – 60	15.5 – 150	27.6 – 50	60 – 99.7	20.7 – 42
$E$	GPa	0.35 – 3.5	2.7 – 4.14	1 – 3.45	6.0 – 7.0	0.21 – 0.44
$\epsilon$	%	2.5 – 6	3.0 – 10.0	2.0 – 10.0	1.5 – 2.0	300 – 1000
$\sigma^*$	Nm/g	16.8 – 48.0	40.0 – 66.8	22.1 – 39.4	40.0 – 45.1	18.6 – 36.7
$E^*$	kNm/g	0.28 – 2.80	2.23 – 3.85	0.80 – 2.36	5.00 – 4.51	0.19 – 0.38
$Tg$	°C	45 – 60	55 – 65	50 – 60	35 – 45	(-60) – (-65)
$Tm$	°C	150 – 162	170 – 200	am <sup>VIII</sup>	220 – 233	58 – 65

Los polímeros pueden ser semicristalinos o amorfos. Los polímeros semicristalinos tienen unidades repetitivas regulares que permiten que las cadenas se doblen en regiones densas llamadas cristalitas. Estos actúan como enlaces cruzados que le dan al polímero mayores resistencias a la tracción y mayor módulo (rigidez) en comparación con un análogo amorfo. Ningún polímero puede organizarse completamente en un material totalmente cristalino, por lo que todavía hay áreas amorfas en los polímeros semicristalinos (Middleton et al, 2000).

Las temperaturas características de un polímero se pueden determinar de varias maneras, pero la técnica de DSC es la más citada dentro de la literatura. La flexibilidad de los polímeros amorfos se reduce drásticamente cuando se enfrían por debajo de una temperatura de transición característica llamada Tg. A temperaturas inferiores a Tg, no hay movimiento segmentario y cualquier cambio dimensional en el polímero es el resultado de distorsiones temporales de los enlaces de valencia primaria. Los plásticos amorfos, como todos los PLA que contienen D – y L –, funcionan mejor por debajo de Tg, pero los elastómeros deben usarse por encima del punto de fragilidad (Seymour et al, 2000).

La Tg puede ser muy importante cuando se estudian las propiedades mecánicas (Tabla 2). Estas propiedades siempre se obtienen en condiciones estándar (por ejemplo temperatura ambiente), pero se debe saber que pueden disminuir a

<sup>VII</sup>  $\rho$  – Densidad del polímero,  $\sigma$  – Resistencia a la tracción,  $E$  – Modulo de Young,  $\epsilon$  – Deformación máxima antes de la ruptura,  $\sigma^*$  – Resistencia específica,  $E^*$  – Modulo de Young específico,

$Tg$  – Temperatura de transición vítrea,  $Tm$  – Temperatura de fusión.

<sup>VIII</sup> am – Amorfo, or lo tanto no tiene punto de fusión.

temperaturas más altas y que la Tg puede ser un límite por encima del cual las propiedades mecánicas pueden degradarse drásticamente (Van de Velde et al, 2002). Por otro lado, la Tm es un parámetro más importante. Por encima, se produce una movilidad completa de la cadena polimérica y las propiedades mecánicas prácticamente se reducen a cero. Junto con los puntos de fusión, uno también debe mirar las temperaturas del proceso. Estos son, por definición, significativamente más altos que los puntos de fusión porque a estas temperaturas más altas la viscosidad se reduce drásticamente para mejorar la procesabilidad. Estas temperaturas para el PLA oscilan entre 190 y 250 ° C (Guía de Cargill Dow LLC)

En estado sólido, el PLA puede ser amorfo o semicristalino, dependiendo de la estereoquímica y los procesos térmicos a los que se haya expuesto. Para los PLA amorfos, la Tg determina la temperatura máxima de uso para la mayoría de las aplicaciones comerciales. Para los PLA semicristalinos, tanto la Tg (~ 58 ° C) como la Tm (de entre 130 – 230 °C, dependiendo de la estructura) son importantes para determinar las temperaturas de uso en diversas aplicaciones. Ambas transiciones, Tg y Tm, se ven fuertemente afectadas por la quiralidad, los procesos térmicos previos y el peso molecular Mw. Por encima de Tg, la transición amorfa del PLA va de vítrea a gomosa y se comportará como un fluido viscoso al calentarla más. Debajo de Tg, el PLA se comporta como un vidrio con la capacidad de fluencia hasta que se enfría a su temperatura de transición  $\beta^{\text{IX}}$  de aproximadamente -45 ° C. Por debajo de esta temperatura, el PLA se comportará como un polímero frágil (Henton et al, 2005).

Los polímeros preparados a partir de láctido meso – o rac –, son en general amorfos, pero al aplicar un catalizador estereoselectivo, se han obtenido polímeros que tienen tacticidad suficientemente alta para que ocurra la cristalización [10].

La entalpía de fusión estimada para un PLA enantiopuro de 100% de cristalinidad ( $\Delta H_m$ ) (Fischer et al. 1973), fueron 93 J/g, es el valor más mencionado en la literatura, aunque también se han reportado valores más altos de hasta 14 t J/g

---

<sup>IX</sup> “La movilidad de un polímero amorfo por debajo de la Tg no es absolutamente cero, ya que hay una muy pequeña cantidad de movimiento que lleva a las cadenas del polímero a colapsar en este exceso de volumen libre. Como resultado, las cadenas de un polímero amorfo están constantemente en proceso de juntarse cada vez más. Cuando lo hacen, las atracciones intermoleculares entre las cadenas se vuelven más fuertes, dando como resultado la reducida libertad de movimiento. A nivel macro esto produce un material que se torna con el tiempo más resistente y más rígido, mientras pierde también ductilidad.

Este comportamiento se produce a una velocidad que depende de la temperatura. Si la temperatura disminuye a un punto por debajo de lo que se conoce como la temperatura de transición  $\beta$  del material, el envejecimiento físico cesará completamente. Sin embargo, en la mayoría de polímeros amorfos la temperatura de transición  $\beta$  es sub ambiente.” (De <https://www.pt-mexico.com/columnas/polmeros-el-misterio-del-envejecimiento-fsico---parte-1>)

(Loomis et al, 1990). El valor de  $T_m$  y el grado de cristalinidad dependen de la masa molecular, los procesos térmicos y la pureza del polímero, por otro lado la cinética de cristalización, y el comportamiento de fusión de los PLA's de diferente pureza quiral se han documentado en varios estudios (Huang et al, 1998; Zell et al, 1998; Barantian et al, 2001). Se ha observado que se requiere una pureza quiral de entre 72 – 75%, que corresponde a aproximadamente 30 unidades de láctido isotáctico, para que tenga lugar la cristalización (Huang et al, 1998).

Sin embargo se ha reportado que se ha podido cristalizar un PLA de pureza tan baja como del 43% (Sarasua et al, 1998) cuando se polimeriza utilizando Salen-Al-OCH<sub>3</sub> (un complejo resultante al reaccionar una base de Schiff<sup>x</sup> en AlEt<sub>2</sub>Cl) como iniciador, lo que se explica por la preferencia de la formación de largas secuencias isotácticas. Los oligómeros enantioméricos de menos unidades de láctido solo mostraron una  $T_g$  dependiente de la masa molecular. Mediante la utilización de catalizadores estereoselectivos en la polimerización, se han preparado polímeros semicristalinos tanto a partir de láctidos meso – y rac – (Ovitt et al, 1999,2000; Radano et al, 2000). Después del recocido, se obtuvo un valor para  $T_m$  de 152 ° C para el meso – PLA. Se informó que el rac – PLA preparado usando un catalizador racémico de alcóxido de aluminio tenía una  $T_m$  de 191 ° C con un  $\Delta H_m$  de 42 J/g (Radano et al, 2000). Se creía que el alto  $T_m$  era el resultado de la co-cristalización de PLA L – y D – enantioméricamente puros que condujo a una formación de un estéreoComplejo<sup>xI</sup>. Los estéreoComplejos de PLA fueron reportados por primera vez por Ikada et al. en 1987, cuando descubrieron que la  $T_m$  de PLLA mezclado y PDLA es aproximadamente 50°C más alta que para los polímeros enantioméricos puros. Desde entonces, los estéreoComplejos se han investigado más a fondo tanto para oligómeros de PLA como para polímeros de alta masa molar (Tsuji et al, 1999; Ymane et al, 2003; Furuhashi et al, 2006). La Tabla 3 enumera los efectos de la estereoquímica y la cristalinidad sobre las propiedades mecánicas del PLLA amorfo, PLLA extruido y PDLA amorfo, (Hartmann et al, 1998; Garlota, 2002).

---

<sup>x</sup> Una base de Schiff' (o azometino), nombrado así en honor a Hugo Schiff, es un grupo funcional que contiene un enlace doble carbono-nitrógeno, con el átomo de nitrógeno conectado a un grupo arilo o alquilo, pero sin hidrógeno. Las bases de Schiff tienen la fórmula general R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>C=N-R<sub>3</sub>, donde R<sub>3</sub> es un grupo arilo o alquilo que hace que la base de Schiff sea una imina estable. (IUPAC, Compendium of Chemical Terminology, 2<sup>da</sup> ed. El "Gold Book" ,1997).

<sup>xI</sup> Los enantiómeros pueden producir estéreoComplejos de PLA con una composición química idéntica pero con estructuras estéricas diferentes. Desde su preparación en 1987, el estéreoComplejo entre PLLA y PDLA se ha estudiado intensamente utilizando diferentes preparaciones, estructuras y propiedades funcionales, y se han informado características mejoradas especialmente para la administración de fármacos. (Quynh et al, 2008)

Tabla 3 Efectos de la estereoquímica y cristalinidad en las propiedades mecánicas del PLA. (Garlotta, 2002; Hartmann et al, 1998; Perego et al, 1996).

Propiedad		Extruido	Amorfo	
		PLLA	PLLA	PDLLA
Resistencia a la tensión	MPa	59	66	44
Elongación a la ruptura	%	7	4	5.4
Módulo de Young	MPa	3750	4150	3900
Límite elástico	MPa	70	70	53
Resistencia a la flexión	MPa	106	119	88
Ensayo de Izod sin muesca	J/m	195	350	150
Ensayo de Izod con muesca	J/m	26	66	18
Dureza Rockwell		88	88	76
Temperatura de deflexión	°C	55	61	50
Temperatura de Vicat <sup>XII</sup>	°C	59	165	52

Perego et al. en 1996 estudiaron los efectos del peso molecular (Mw) y la cristalinidad sobre las propiedades mecánicas del PLA al polimerizar L- lactida pura y D-, L- lactida para crear polímeros amorfos o semicristalinos. Encontraron que la Tg no se vio muy afectada por la composición estereoquímica o el rango de pesos moleculares probados y que el PLA con un Mw de 22,000 Da tiene una Tg de 55° C, que es solo 4 o 5 °C más baja que la predicha para PLA de Mw infinito (Garlotta, 2002; Perego et al, 1996). Otras propiedades físicas pueden ser importantes, incluida la transparencia u opacidad, el color (algunos elementos pueden usar color para ayudar en la identificación), la estética, la absorción de agua, la lubricidad y la resistencia al desgaste. La mayoría de estas propiedades están orientadas a aplicaciones específicas y los datos eran demasiado fragmentarios para incluirse en las tablas y gráficos, sin embargo en la Tabla 4 se muestran las características de un PLA comercial muy empleado.

<sup>XII</sup>La temperatura de reblandecimiento Vicat o la dureza Vicat esta determinada como el punto de reblandecimiento para materiales que no tienen un punto de fusión definido, como los plásticos. Se toma como la temperatura a la que se penetra el espécimen hasta una profundidad de 1 mm mediante una aguja de punta plana con una sección circular o cuadrada de 1 mm<sup>2</sup>. Para la prueba Vicat A, se utiliza una carga de 10 N. Para la prueba Vicat B, la carga es de 50 N.

Las normas para determinar el punto de reblandecimiento de Vicat son la ASTM D 1525 e ISO 306, que son en gran medida equivalentes. (Raymond Benedict, (2002), Introducción a la Química de Los Polímeros, Ed. Reverté, Segunda Ed, Barcelona)



Tabla 4 Características generales de un PLA comercial amorfo, empleado en el proceso de inyección en molde (contenido de relación L:D de 96:4 producido por NatureWorks Co.) (Jamshidian, et al., 2010)

Característica	Unidad	Medida	Referencia
<b>Física</b>			
Mw	g/mol	66,000	Garlotta, 2002
Gravedad específica	-	1.27	
Densidad en estado sólido	g/cm <sup>3</sup>	1.252	
Densidad del material fundido	g/cm <sup>3</sup>	1.073	
Tg	°C	55	Mehta, et al., 2005
Tm	°C	165	
Calor específico (Cp)	J/kg °C		
190 °C		2,060	
100 °C		1,955	
55 °C		1,590	
Conductividad térmica	W/m °C		NatureWorks Co.
190 °C		0.195	
109 °C		0.197	
48 °C		0.111	
<b>Ópticas</b>			
Transmisión de luz en UV			Auras et al., 2010
190 a 200 nm		<5%	
225 a 250 nm		85%	
> 300 nm		95%	
Transmisión de luz visible		95%	
Color			
L*		90.64 ± 0.21	
a*		-0.99 ± 0.01	
b*		-0.50 ± 0.04	
<b>Mecánicas</b>			
Esfuerzo a la tensión	MPa	59	NatureWorks Co.
Deformación a la fractura	%	7	
Módulo elástico	MPa	3,500	
Módulo de corte	MPa	1,287	
Coefficiente de Poisson	-	0.36	
Límite elástico	MPa	70	
Límite a la flexión	MPa	106	



Ensayo de Izod sin muesca	J/m	195	
Ensayo de Izod con muesca	J/m	26	
Dureza Rockwell	HR	88	
Temperatura de deflexión	°C	55	
Temperatura de Vicat	°C	79	
Tensión de rotura	MPa	73	
Porcentaje de elongación	%	11.3	
Módulo de Young	MPa	1,280	
<b>Reológicas (Modelo de viscosidad Cross-WLF<sup>XIII</sup>)</b>			
<b>n</b>		0.25	NatureWorks Co.
<b>τ</b>	Pa	1.00861 x10 <sup>5</sup>	
<b>D<sub>1</sub></b>	Pa-s	3.31719 x10 <sup>9</sup>	
<b>D<sub>2</sub></b>	K	373	
<b>D<sub>3</sub></b>	K/Pa	0	
<b>A<sub>1</sub></b>		20.2	
<b>A<sub>2</sub></b>	K	51.6	

<sup>XIII</sup> El modelo de viscosidad Cross-WLF describe la temperatura, la velocidad de corte y la dependencia de la presión de la viscosidad.

El modelo de viscosidad viene dado por la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{\eta_0}{1 + \left(\frac{\eta_0 \gamma}{\tau}\right)^{1-n}}$$

Y a su vez

$$\eta_0 = D_1 \exp\left[-\frac{A_1(T - T^*)}{A_2 + (T - T^*)}\right]$$

Siendo  $\eta$ = viscosidad de fusión,  $\eta_0$ = es la viscosidad de corte cero o el “límite newtoniano” de la viscosidad,  $\gamma$ = la tasa de corte,  $\tau$ = es el nivel crítico de tensión en la transición al adelgazamiento por cizallamiento,  $n$ = es el índice de ley de potencia en el régimen de alta tasa de corte,  $T$ = es la temperatura,  $T^*$ = es la temperatura de transición vítrea. (Obtenido de: Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society Vol. 19, No. 4 pp. 623-632, 2018)

## 2.4 Aplicaciones médicas del PLA.

Existen dos tipos principales de biomateriales, los biodegradables y los no biodegradables. Los biomateriales biodegradables se han estudiado ampliamente para aplicaciones médicas en las últimas cinco décadas. Sus ventajas sobre los biomateriales no degradables incluyen eliminar la necesidad de retirarlos y proporcionar biocompatibilidad a largo plazo.

Los polímeros sintéticos biodegradables, más comunes en aplicaciones médicas son los poli ( $\alpha$ -hidroxiácidos)<sup>XIV</sup> que incluyen: ácido poliglicólico (PGA), ácido poliláctico (PLA) y polidioxanona (PDS). Entre estos polímeros, el PLA ha demostrado ser el más prometedor debido a sus propiedades mecánicas relativamente fuertes. El PLA se ha usado con éxito para muchos implantes médicos y está aprobado por agencias reguladoras en muchos países, bajos ciertos estándares.

La historia del PLA en medicina se remonta a 1966 cuando Kulkarni et al. informó la aplicación médica de ácido poli-L-Láctico (PLLA). Descubrieron que la degradación del polvo de PLLA implantado en cobayas y ratas tenía una respuesta tisular no tóxica. Esto fue seguido por Cutright y Hunsuck que informaron la aplicación de PLA como suturas y en la fijación ortopédica en 1971. Desde entonces, se ha llevado a cabo una gran cantidad de investigaciones. Sin embargo, debido a la lenta tasa de degradación del PLA, sus aplicaciones médicas se han limitado principalmente a la fijación ósea. Se han sintetizado copolímeros con PGA o PCL con el objetivo de aumentar la velocidad de degradación al reducir su cristalinidad.

### 2.4.1 Requisitos mínimos para dispositivos médicos

Los materiales destinados al uso dentro del cuerpo deben ser aprobados por las agencias reguladoras. Los requisitos mínimos de los biomateriales para aplicaciones médicas incluyen no toxicidad, efectividad y esterilizabilidad (Tabla 5). Aunque muchos materiales aceptados actualmente como biomateriales cumplen con estos requisitos, la mayoría de ellos carecen de biocompatibilidad a largo plazo.

---

<sup>XIV</sup> Los  $\alpha$ -hidroxiácidos, o alfa-hidroxiácidos (AHA), son una clase de compuestos químicos que consisten en un ácido carboxílico sustituido con un grupo hidroxilo en el carbono adyacente. Pueden ser naturales o sintéticos. Los AHA son bien conocidos por su uso en la industria de los cosméticos. A menudo se encuentran en productos que ayudan a reducir las arrugas y suavizan las líneas definidas y mejoran la apariencia general de la piel (Kempers, et al, 1998; Miltenberger, 2000).

Tabla 5 Requerimientos de los biomateriales (Ikada, et al, 2000)

Requerimiento	Detalle
No tóxico	No debe ser : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pirogénico</li> <li>• Hemolítico</li> <li>• Mutagénico</li> <li>• Alergénico</li> <li>• Oncogénico</li> </ul> Ni debe causar afectación alguna, ya sea a nivel celular, tisular o sistémico.
Efectivo	Debe poseer: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Funcionalidad</li> <li>• Rendimiento</li> <li>• Durabilidad</li> </ul> y todo aquello que permita cumplir lo mejor posible su función.
Esterilizable	Se debe garantizar su esterilidad, por lo que se sugiere alguno de los siguientes métodos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Autoclave</li> <li>• Calentamiento en seco</li> <li>• Gas de óxido de etileno</li> <li>• Irradiación</li> </ul>
Biocompatible	La biocompatibilidad debe ser: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Interfacial</li> <li>• Mecánica</li> <li>• Biológica</li> </ul>

La biocompatibilidad es la capacidad de un biomaterial para desempeñarse con las respuestas deseadas en una aplicación de destino. En otras palabras, no se puede definir solo en términos de las propiedades del material, sino que es una combinación de las propiedades del material y la función para la cual está destinado. Una variedad de materiales han sido probados como dispositivos médicos, que incluyen polímeros, metales, cerámicas y sus compuestos. Estos dispositivos médicos se pueden dividir en dos grupos: biodegradables y no biodegradables.

Actualmente, los materiales no degradables presentan una significativa reacción a cuerpo extraño cuando se implanta en el cuerpo (Anderson, et al., 2008). Es natural que las defensas corporales provoquen un rechazo inmune o encapsulación de implantes permanentes. La encapsulación fibrosa posiblemente conduce a infecciones

bacterianas y, eventualmente, puede resultar en la falla del implante. Por lo tanto, los polímeros biodegradables han atraído mucha atención ya que estos materiales no requieren biocompatibilidad a largo plazo.

Las aplicaciones de polímeros biodegradables en medicina se discuten un poco en la Tabla 6. Estos materiales permanecen temporalmente en el cuerpo y desaparecen con la biodegradación. Por lo tanto, no es necesario que una operación secundaria los elimine después de reparar el sitio defectuoso.

**Tabla 6 Aplicaciones médicas de polímeros bioabsorbibles**

Propósito	Función	Ejemplos
Asistencia operativa	Unión, cierre, separación.	Anastomosis vascular e intestinal, fijación ósea, cobertura de la herida, hemostasia, embolización vascular
Curación de daños	Andamio	Curación de heridas, crecimiento de tejidos, reconstrucción de órganos.
Liberación de fármacos	Vector de transporte	Liberación sostenida de fármacos como antitumorales, anti trombóticos, antibióticos, factores de crecimiento para promover la curación, o la angiogénesis, entre otros.

A pesar de estas ventajas, los polímeros biodegradables no tienen un uso clínico extenso en la práctica médica actual, principalmente debido a dos razones principales. Primero, la razón más importante es que la tasa de degradación debe coincidir con la tasa de regeneración del tejido. Si la degradación del material es más rápida que la regeneración del tejido, los defectos se repetirán. Por otro lado, si la degradación es demasiado lenta, el material que queda puede interferir con la fisiología del tejido. El ajuste de la tasa de degradación a la cicatrización del tejido circundante es uno de los principales desafíos en el diseño de implantes biodegradables. Esto se complica aún más por el hecho de que la velocidad del proceso de curación depende del paciente y de las condiciones de daño tisular (Ver Fig.4).

La segunda razón es que estos materiales liberan sustancias degradadas que pueden causar efectos tóxicos en el cuerpo. La toxicidad causada por los biomateriales se debe principalmente a los compuestos de bajo peso molecular que se filtran de los biomateriales al cuerpo del paciente, que incluyen monómeros no polimerizados, aditivos y fragmentos de iniciadores de polimerización y catalizadores (Ikada, et al., 2000). Actualmente, estos compuestos están controlados bajo límites de regulación. Para los materiales biodegradables, las sustancias degradadas se liberan

constantemente en el cuerpo. La seguridad de sus metabolitos posteriores debe ser considerada cuidadosamente (Ver Fig. 4).

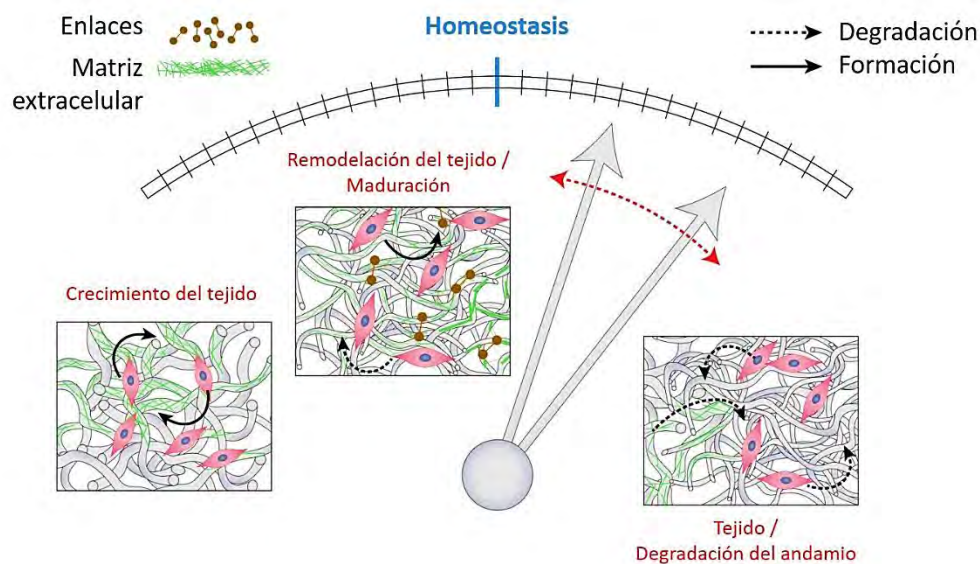


Fig. 4 La homeostasis mecánica es un delicado equilibrio entre el crecimiento, la degradación y la remodelación de los tejidos. Una perturbación del equilibrio dará lugar a una autorregulación (indicado en rojo), en un intento de restablecer el equilibrio. Cabe destacar que es igual de importante tomar en cuenta el proceso de degradación y los metabolitos resultantes de ello. (Modificada de: “Vascular Mechanobiology: Towards Control of In Situ Regeneration”, Cells 2017, 6, 19; doi:10.3390/cells6030019)

Para los polímeros hidrolizables, se debe tener mucho cuidado durante la fabricación y el almacenamiento para evitar su degradación debido a la exposición al agua. La esterilización de estos materiales es otra preocupación. Por ejemplo, los poli alfa-hidroxiácidos son sensibles a la radiación. Por lo tanto, la elección de la esterilización es principalmente gas de óxido de etileno, que requiere una extensa degasificación para eliminar cualquier rastro residual de gas.

#### 2.4.2 PLA para implantes médicos

Dado que los pesos moleculares de PLA sintetizados mediante la policondensación de ácidos lácticos son generalmente bajos para aplicaciones médicas (< 20,000 Da), la polimerización de las láctidas con apertura de anillo se utiliza a menudo para obtener PLA de alto peso molecular, a menos que la aplicación requiera una degradación rápida.

El PLLA es un material semicristalino y su degradación lleva más de 2 años, mientras que el PDLA es amorfo y se degrada en 16 meses (Middleton et al., 2000).

La tenacidad de la PLLA se puede mejorar aún más mediante un proceso de estirado para aplicaciones como la fijación ósea que requiere fuerza y elasticidad que sean similares a los tejidos óseos nativos.

El diseño de PLLA con un peso molecular superior a 70,000 Da aumenta su orientación y cristalinidad (Ueda, et al., 2003). El refuerzo automático es otro método utilizado para fortalecer el PLA para aplicaciones de fijación ósea. En esta técnica, las fibras poliméricas con módulo alto se unen entre sí con una matriz del mismo polímero sin ningún promotor de adhesión.

La degradación de PLA por escisión hidrolítica de enlaces éster produce ácidos lácticos. El ácido láctico es un producto natural asociado con la construcción muscular en animales y humanos, que puede descomponerse por las vías metabólicas normales del cuerpo. En el cuerpo, el ácido láctico se convierte en ácido pirúvico y entra en el ciclo del ácido tricarboxílico<sup>xv</sup> para producir dióxido de carbono y agua. Al usar PLA marcado con carbono, no se encontró una cantidad significativa de acumulación de productos de degradación en ningún órgano; solo se encontró muy poco en las heces u orina, lo que indica que los productos se liberaron a través de la respiración (Kulkarni, et al., 1966). Dado que el L – ácido láctico (LLA) es el estereoisómero natural del L – ácido láctico, el PLLA se usa más comúnmente para aplicaciones médicas que el PDLA, que produce D – ácido láctico (DLA).

El PLA y otros poli alfa-hidroxiácidos, así como sus copolímeros, han sido aprobados por la Administración de Drogas y Alimentos de EE. UU. (FDA) y por otras agencias reguladoras en muchos países para su implantación en el cuerpo humano. Varios productos están ahora disponibles comercialmente y se han utilizado con éxito en el campo médico. Sin embargo, a pesar de estos éxitos, quedan por superar algunas desventajas del PLA, que incluyen productos de degradación y su naturaleza hidrófoba.

Como se mencionó anteriormente, el cuerpo puede descomponer el producto de la degradación, el ácido láctico. Sin embargo, este es un ácido relativamente fuerte y su acumulación en el sitio del implante, debido a la liberación de golpe, por la degradación masiva de PLA, dará como resultado un descenso del pH local y puede desencadenar una respuesta de inflamación (Yaszemski, et al., 1996). En algunos casos se ha observado una inflamación que dura más de 1 año (Yoshino, et al., 1998).

---

<sup>xv</sup> El ciclo de Krebs (ciclo del ácido cítrico o ciclo de los ácidos tricarboxílicos) es una ruta metabólica, es decir, una sucesión de reacciones químicas, que forma parte de la respiración celular en todas las células aeróbicas, donde es liberada energía almacenada a través de la oxidación del acetil-CoA derivado de carbohidratos, lípidos y proteínas en dióxido de carbono y energía química en forma de ATP. En la célula procarionta, el ciclo de Krebs se realiza en el citoplasma. (J.M. Lowenstein (1969). “Methods in Enzymology”, Volume 13: Citric Acid Cycle. Boston: Academic Press.)



Otro estudio reveló que las partículas menores de 2 mm liberadas por la degradación han causado una reacción de cuerpo extraño que produce efectos perjudiciales en el tejido óseo (Suganuma, et al., 1993). Algunas investigaciones se han dirigido a intentar neutralizar los productos de degradación ácida agregando agentes como los carbonatos de calcio y/o fosfatos de calcio a los implantes de PLLA (Schiller et al, 2004; Croll, et al, 2004).

Otros compuestos presentes en el polímero son cantidades traza de iniciadores, co iniciadores y catalizadores. Los iniciadores más efectivos y comúnmente utilizados para la polimerización de apertura de anillo de lactida se basan en estaño, e incluyen 2-etilhexanoato de estaño (II). Debido a su baja toxicidad, el 2-etilhexanoato de estaño (II) ha sido aprobado por la FDA.

La concentración residual de 2-etilhexanoato de estaño (II) en el polímero se controla estrictamente para un nivel seguro y se supervisa constantemente. Además, se han realizado muchos estudios sobre el desarrollo de una nueva gama de iniciadores y catalizadores basados en metales que son más biocompatibles, incluidos el magnesio y el calcio.

Otra preocupación es la naturaleza hidrofóbica del PLA y otros poli alfa-hidroxiácidos, que dan como resultado una baja afinidad por las células y proteínas que suprimen la formación de tejido (Croll, et al., 2004). El uso de PLA para andamios ha sido limitado debido a esta razón, así como a la lenta degradación del polímero.

## 2.5 Aplicaciones preclínicas y clínicas de los dispositivos de PLA

En esta sección se mencionan las diferentes aplicaciones del PLA en dispositivos médicos, empleando la clasificación basada en su presentación.

### 2.5.1 Fibras

La aplicación más antigua y más grande de los polímeros biodegradables en medicina es en la fabricación de suturas. El polímero sintético utilizado para este propósito es principalmente PGA o su copolímero con LLA (90:10), que se lanzaron en 1970 y 1974, respectivamente (Gilding, et al., 1981; Kopecek, et al., 1983). Las suturas de PDS también se desarrollaron en 1981. Debido a que las fibras de PLLA se degradan muy lentamente, no son adecuadas para suturas. Sin embargo, en aplicaciones que requieren una larga retención de la resistencia, las fibras de PLLA son el material preferido. Estos incluyen la reconstrucción de ligamentos y tendones, y stents para cirugía vascular y urológica.

Las fibras de PLLA se usaron clínicamente para aumentar los ligamentos rotos de la rodilla a principios de 1990 (Laitinen, et al, 1992; Träger, et al, 1995; Durselen, et

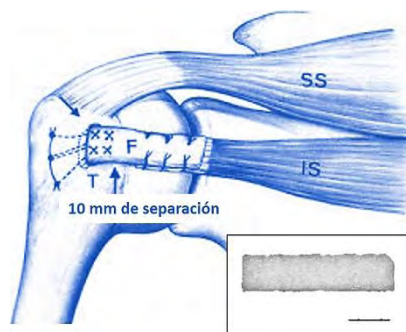
al., 2001). El ligamento cruzado anterior (LCA) conecta los huesos de la articulación de la rodilla y es el ligamento comúnmente más lesionado durante las actividades deportivas o traumas. Dado que una LCA completamente desgarrado no se puede reparar por sí solo, es necesario realizar una cirugía reconstructiva con autoinjertos, como tendones patelares (parte del tendón en la parte delantera de la rodilla) o tendones de los isquiotibiales. Sin embargo, si no hay suficiente material disponible, se utilizan biomateriales poliméricos como el polietileno y el polipropileno.

Las fibras de PLLA se han utilizado para esta aplicación y mostraron una mejora similar en la reconstrucción del tendón en comparación con el polipropileno en un modelo animal (Kobayashi, et al., 1995).

Aoki (Aoki et al., 2004) utilizaron un PLLA en forma de tejido como fieltro para la cirugía de manguito rotatorio como un injerto de tendón artificial bioabsorbible para el tratamiento de rotura irreparable del manguito de los rotadores, como se muestra en la Fig 5.

El fieltro se obtuvo enredando fibras de 20  $\mu\text{m}$  de diámetro, que se produjeron por hilado por fusión de PLLA, con un peso molecular de  $\sim 215,000$  Da. Los defectos creados en los tendones del infraespinoso (IS) de los perros beagle se reconstruyeron con el PLLA obtenido. Después de 16 semanas postoperatorias, se observó un aumento de tres veces en la fuerza del fieltro debido a la infiltración de tejidos fibrosos mediante exámenes histológicos. Aunque la velocidad de degradación del PLLA hilado fue baja, la recuperación de la tracción del injerto de fieltro fue excelente.

Por lo tanto, se concluyó que el PLLA podría ser un material útil para la reconstrucción del manguito rotador.



**Fig. 5** Reconstrucción del tendón infraespinoso (IS) por el PLLA en fieltro (F). SS indica tendón supraespinoso. En el recuadro se muestra una imagen del PLLA implantado teniendo la barra de referencia una longitud de 10 mm. (Modificado de: M., Aoki, S., Miyamoto, K. Okamura, T. Yamashita, Y. Ikada, and S. Matsuda, (2004), “Tensile properties and biological response of poly(L-lactic acid) felt graft: An experimental trial for rotator-cuff reconstruction”. *J. Biomed. Mater. Res.*, 71B: 252-259. doi:10.1002/jbm.b.30084)

Las fibras PLLA también se utilizan en forma de stents biodegradables en cirugía cardiovascular y urológica. Algunos diseños de stents se muestran en la Fig. 6.

Tradicionalmente, los stents metálicos se han utilizado para tratar arterias estrechadas o debilitadas en el cuerpo. Sin embargo, si las endoprótesis vasculares están cubiertas por tejido epitelial, no se eliminan fácilmente mediante un procedimiento broncoscopio convencional y se requiere una intervención quirúrgica (Saito, et al., 2002). Esto puede ser un problema cuando el paciente, que está creciendo, requiere un intercambio con una endoprótesis más grande. Actualmente, los stents biodegradables se han probado en numerosos estudios clínicos. El polímero degradable elegido depende del tiempo requerido para la función del stent.

Por ejemplo, los stents PDS y de PGA-co-ε-caprolactona, pueden proporcionar un buen soporte durante 5 y 2 semanas, respectivamente, mientras que las fibras de PLLA se recomiendan para un soporte más prolongado (Zilberman, et al., 2005).

También se encuentran disponibles en el mercado stents de silicona no degradables. Se pueden eliminar más fácilmente que los metálicos, pero el gran grosor del tubo puede causar obstrucciones. Saito et al. compararon la biocompatibilidad y lo idóneo de un stent tubular bioabsorbible hecho de PLLA y un stent de silicona convencional en las vías respiratorias normales de conejo. Tres de los ocho conejos en el grupo de stent de silicona murieron dentro de las 4 semanas posteriores a la implantación como resultado de la obstrucción de las vías respiratorias por las secreciones dentro de la luz del stent, mientras que ninguno de los conejos en el grupo con el stent de PLLA murió por complicaciones de las vías respiratorias.

Nakano (Nakano et al., 2009) desarrolló un dispositivo de anastomosis sin sutura que consiste en un stent PLLA y una banda de acero inoxidable para la anastomosis de extremo a extremo. Este procedimiento acorta el tiempo de la cirugía en comparación con la técnica tradicional de sutura, y fue factible en un modelo porcino durante al menos las 4 semanas del período de observación.

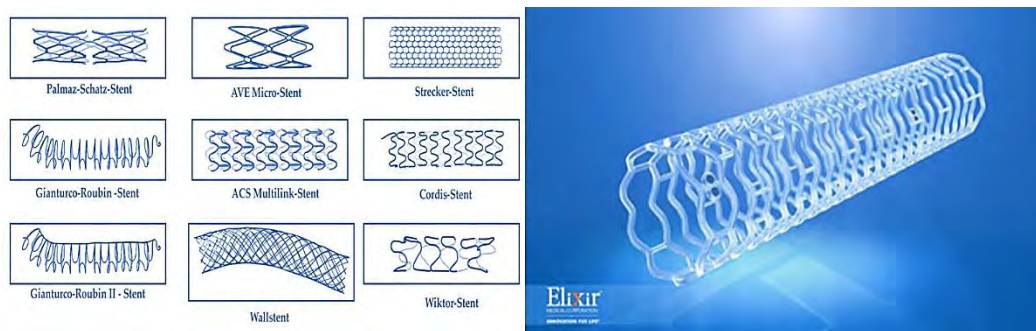


Fig. 6 Izq. Diferentes tipos de stent, donde se aprecia las diferentes arquitecturas. Der. Detalle de un stent de PLA empleado en procedimientos cardiacos. (Obtenido de: [http://www.meinherzdeinherz.info/Behandlungen/6PTCA/09\\_PTCA\\_Int.html](http://www.meinherzdeinherz.info/Behandlungen/6PTCA/09_PTCA_Int.html), <http://www.medicalexpo.es/prod/elixir-medical/product-83987-531237.html>)

Los problemas asociados con los stents biodegradables, como la migración poco después de la implantación y la ruptura repentina, son otra preocupación importante dentro de su diseño (Laaksovirta, et al., 2002; Isotalo, et al., 2001).

Isotalo y su equipo (Isotalo et al., 2006) compararon la biocompatibilidad de dos diseños diferentes de endoprótesis uretrales auto reforzadas con PLLA (SR-PLLA): espiral trenzada y tradicional, así como la endoprótesis de acero inoxidable en un modelo de conejo. Encontraron que la desintegración del stent trenzado estaba más controlada que la del stent espiral. No se encontraron diferencias en los análisis histológicos entre los dos stents SR-PLLA, mientras que los stents metálicos causaron las reacciones inflamatorias más fuertes.

### 2.5.2 Mallas

En la regeneración ósea guiada (GBR), las membranas de barrera se utilizan para dirigir el crecimiento de hueso nuevo en los defectos al prevenir el crecimiento de tejidos blandos. Se requiere que la membrana sea permeable para suministrar nutrientes. Se han utilizado con éxito membranas no degradables, como politetrafluoroetileno expandido (ePTFE) y etilcelulosa.

Debido a que se requiere una operación secundaria para eliminar estas membranas no degradables, se han aplicado materiales degradables para este propósito y están disponibles comercialmente (FDA, notificación previa a la comercialización 2000; Rechlin, et al., 1991; Gottlow, et al., 1993).

Las mallas PLLA también se han utilizado para las membranas GBR [31-33].

Debido a la alta resistencia de la malla PLLA, es posible crear estructuras 3D como bandejas y jaulas. Kinoshita y su grupo (Kinoshita et al., 2003) investigaron la reconstrucción mandibular utilizando una malla de PLLA y partículas de hueso esponjoso con médula ósea (PCMB) en 62 pacientes con tumores, quistes o atrofia alveolar (Fig. 7). La malla de PLLA estaba hecha de un monofilamento de peso molecular de 205,000 Da que se alargaba y se tejía en una malla. Después de cortar la malla de PLLA y doblarla a la forma y tamaño del defecto óseo, la bandeja se llenó con PCBM que se recogió del ilion y se implantó en los defectos de la mandíbula, fijándose con cables. Las evaluaciones clínicas 6 meses después de la cirugía mostraron que en 35 casos (56,5%) los resultados se consideraron excelentes (rango de formación ósea más allá de 2/3), en 17 casos (27,4%) fueron buenos (rango de formación ósea por debajo de 2/3, pero la re operación es innecesaria), y en 10 casos (16,1%) fueron deficientes (los casos no se clasificaron en ninguna de las categorías anteriores).

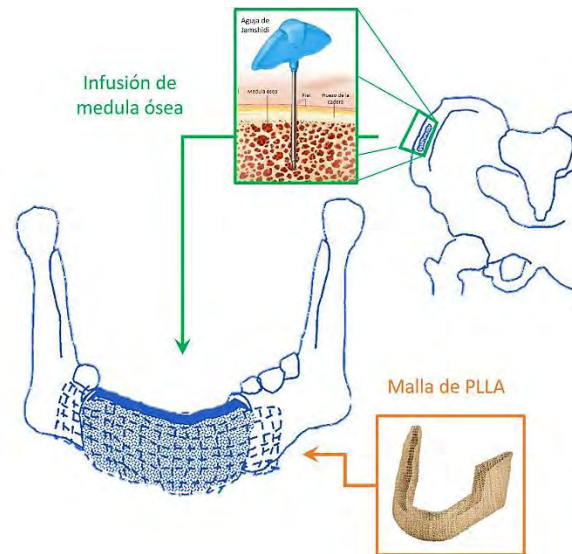


Fig. 7 Diagrama de la reconstrucción mandibular empleando la malla de PLLA y medula ósea (Modificada de “Reconstruction of the mandible with poly [L-lactide] mesh tray/sheet and trasplantation of particulate cancellous bone and marrow” Amagasa, T. et al. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery , Volume 28 , 161)

Ochi y colaboradores (Ochi et al., 2004) desarrollaron un tapón condral utilizando una jaula de PLLA con una esponja de colágeno tipo I cultivada con condrocitos (que se muestra en la Fig. 8). Este tapón condral se puede trasplantar mediante artroscopia, sin la necesidad de una artrotomía, que es una cirugía más invasiva. Sus resultados preliminares utilizando el defecto osteocondral del surco patelar de conejo mostraron un trasplante exitoso.

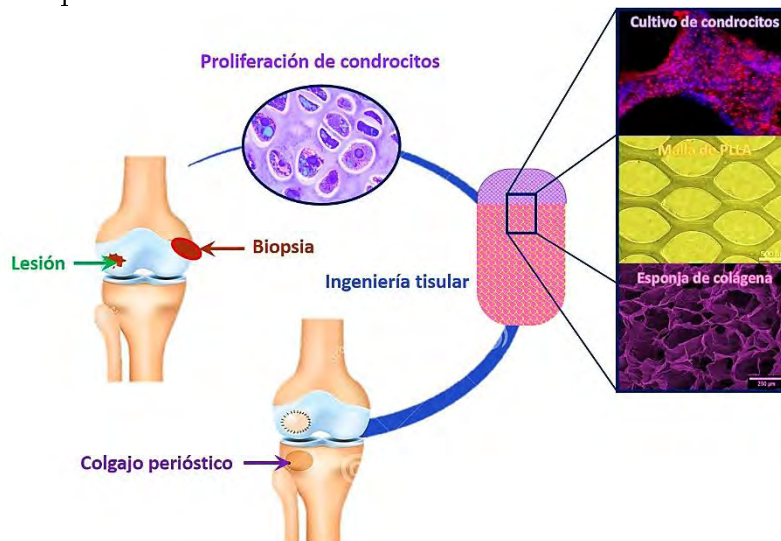


Fig. 8 Tapón condral de ingeniería tisular compuesto por una malla de PLLA que se encuentra rellena con esponja de colágena con gel que tiene dentro condrocitos cultivados (Basada en : Ochi, Mitsuo & Adachi, Nobuo & Nobuto, Hiroo & Yanada, Shinobu & Ito, Yohei & Agung, Muhammad. (2004). “Articular Cartilage Repair Using Tissue Engineering Technique - Novel Approach with Minimally Invasive Procedure”. Artificial organs. 28. 28-32. 10.1111/j.1525-1594.2004.07317.x.)



### 2.5.3 Dispositivos de fijación ósea

Recientemente, los materiales biodegradables han comenzado a remplazar los metálicos para la fijación de huesos fracturados en forma de placas, pasadores, tornillos y cables. Las fijaciones metálicas tienen varias desventajas, como son:

1. Se requiere cirugía secundaria para eliminar estos materiales después de que se vuelven a fijar los huesos fracturados. La extracción del implante puede llevar a la refracción debido al debilitamiento temporal del hueso.
2. Es posible que los materiales metálicos muy rígidos causen osteoporosis debajo de los implantes, debido a la protección contra el estrés que puede provocar una fractura en el borde del material (Kennedy, et al., 1989; Uthoff, et al., 1983).
3. La corrosión de los implantes metálicos también es una preocupación (French, et al., 1984).
4. Los implantes metálicos interfieren o distorsionan los Rayos X, la TC y la RM postoperatorios.
5. Para la radioterapia postoperatoria llevada a cabo para los pacientes a los que se les extirparon tumores, la presencia de implantes metálicos puede alterar la distribución de la dosis local (es decir, sobredosis delante y subdosificación detrás de los implantes) (Postlethwaite, et al., 1989; Stoll, et al., 1990).

Por lo tanto, el uso de materiales degradables para este propósito es ideal. Dado que los materiales para la fijación ósea requieren una alta resistencia, similar a la del hueso, el PLA tiene una gran aplicación en este campo.

Los dispositivos ortopédicos biodegradables se han revisado ampliamente en la literatura (Middleton, et al., 2000; Pietrzak, 2000; Barber, 1998), lo que se tradujo en la Tabla 7, que resume varios de los dispositivos de fijación ósea de PLA disponibles comercialmente en el mercado mundial (Ver. Fig. 9).

Tabla 7 Dispositivos de PLA disponibles en el mercado mundial. (Middleton, et al., 2000; Pietrzak, 2000; Barber, 1998).

Fabricante	País	Producto	Material
<b>CONMED</b>	Estados Unidos de Norteamérica	Taquetes y tornillos.	SR-PLLA
		Arpón para menisco.	PLLA extruido
<b>J&amp;J (Codman, DePuy, y Mitec)</b>	Estados Unidos de Norteamérica	Remache para cráneo.	PLLA
		Anclaje de sutura.	PLLA extruido



<b>Linvatec</b>	Estados Unidos de Norteamérica	Anclaje de sutura. Junta de interfaz.	PLLA extruido
<b>Arthrex</b>	Estados Unidos de Norteamérica	Junta de interfaz.	PLLA extruido
<b>Phusis</b>	Francia	Junta de interfaz.	P(LLA/DLLA)
<b>Centerpulse Orthopedics</b>	Estados Unidos de Norteamérica	Junta de interfaz.	PDLLA
<b>Livantec</b>	Estados Unidos de Norteamérica	Anclaje de sutura.	PLLA extruido
<b>BIOMET Orthopedics</b>	Estados Unidos de Norteamérica	Minitornillo.	PLLA extruido
<b>Geistlich Biomaterials</b>	Suiza	Grapas de fijación para membranas GTR y GBR.	P(LLA/DLLA) (70:30)
<b>Gunze</b>	Japón	Pasador, tornillo, miniplaca, varilla y tornillo de interfaz.	PLLA extruido
<b>Takiron</b>	Japón	Pasadores, tornillos, miniplacas y varillas.	PLLA extruido con apatita



Fig. 9 Diferentes dispositivos de PLA empleados en la fijación ósea. Arriba, de izq. a Der., se observan taquetes, arpones y fijadores de sutura. Abajo, de Izq. a Der., se observan placas de fijado, tornillos de interface, así como remaches para reconstrucción craneal.

### Tornillos, pasadores y varillas

El PLLA extruido y en forma SR se han usado ampliamente para la fijación de huesos en forma de tornillos, pasadores y varillas. Actualmente existen en el mercado

diferentes tamaños y formas de estos materiales como se observó en la Tabla 7 y en la Fig. 9.

La degradación y la biocompatibilidad de los implantes de PLA se han estudiado ampliamente en las últimas décadas. La mayoría de los estudios han demostrado una biocompatibilidad suficiente (Rokkanen, et al., 2000). Debido a su lenta degradación en comparación con la PGA, la reacción adversa del tejido a menudo no se observa (Böstman, et al., 2000; Nordström, et al., 2001).

Sin embargo, hay algunos informes de efectos secundarios adversos, que se analizarán más adelante en esta sección.

Matsusue y su equipo (Matsusue et al., 1992) investigaron la degradación del PLLA extraído *in vitro* e *in vivo*. Las barras de PLLA de resistencia ultra alta se fabricaron utilizando una técnica de extrusión. Las varillas con un diámetro de 3.2 mm y una relación de estiramiento de 2.5:1, y mostraron una resistencia inicial a la flexión y valores de módulo de 240 MPa y 13 GPa, respectivamente. El peso de las varillas de PLLA en la cavidad medular se redujo en un 22% a las 52 semanas y en un 70% a las 78 semanas después de la implantación en conejos. Histológicamente, no se observó reacción inflamatoria o de cuerpo extraño en la cavidad medular durante 52 semanas. La resistencia a la flexión, que era mayor que la del hueso cortical humano, se mantuvo durante 8 semanas en el canal medular.

Hasegawa y su equipo (Hasegawa et al., 2002) investigaron el efecto de degradación a largo plazo de los tornillos PLLA estirados utilizando modelos de fractura de puercos pequeños. No se observó formación de granuloma ni de fístula durante un período de 3 años. Los tornillos PLLA se degradaron sustancialmente entre 2 y 3 años, y solo se encontraron pequeños productos degradados residuales en macrófagos después de 3 años.

Se concluyó que el uso de tornillos PLLA para la reparación de fracturas no se asoció con ningún efecto secundario y fue seguro y útil hasta por 3 años.

Laine (Laine et al., 2004) resumió 10 años de estudios clínicos de SR-PLLA y SR-PDLLA en tornillos y miniplacas utilizados en cirugía ortognática<sup>XVI</sup>.

Con 163 pacientes que se sometieron a un total de 329 osteotomías ortognáticas con dispositivos de PLA, en general, el resultado fue excelente y se encontraron muy

---

<sup>XVI</sup> Cirugía ortognática; También conocida como cirugía correctiva de la mandíbula o simplemente cirugía de la mandíbula, es una cirugía diseñada para corregir afecciones de la mandíbula y la cara relacionadas con la estructura, el crecimiento, la apnea del sueño, trastornos de la articulación temporomandibular, problemas de maloclusión debidos a desarmonías esqueléticas u otros problemas de ortodoncia que no pueden tratarse fácilmente. con tirantes. Originalmente acuñado por Harold Hargis, esta cirugía también se usa para tratar afecciones congénitas como el paladar hendido. (Bill J, Proff P, Bayerlein T, Blens T, Gedrange T, Reuther J (September 2006). "Orthognathic surgery in cleft patients". J Craniomaxillofac Surg. 34 (Suppl 2): 77-81. doi:10.1016/S1010-5182(06)60017-6)

pocas complicaciones menores (8.6 %), que no afectaron los resultados finales de la operación.

En el caso de las aplicaciones mandibulares, donde los movimientos constantes dan como resultado una gran fuerza, la resistencia mecánica de los materiales bioabsorbibles ha sido una preocupación.

Maurer y sus colaboradores (Maurer et al., 2002) probaron cuatro tornillos usados clínicamente (hechos de copolímeros de PLLA o LLA) usando un modelo de elementos finitos en la fijación de la osteotomía sagital (FOS) bilateral que es el procedimiento más común para el avance mandibular (es decir, mover la posición de la mandíbula inferior hacia adelante). Se encontró que los cuatro tornillos eran suficientemente estables en el espacio de la osteotomía en lo que respecta a las fuerzas de masticación.

Oba et al. (Oba et al., 2008) compararon los tornillos PLLA extraídos (FIXSORB-MX, Takiron) y titanio para la estabilidad de la mandíbula después del tratamiento quirúrgico ortodóntico de FOS y el tratamiento con multibracket ortodóntico. No encontraron diferencias significativas en la estabilidad de los segmentos óseos para 23 pacientes tratados con tornillos de PLLA y 22 pacientes tratados con tornillos de titanio. Sin embargo, se indicó una ligera tendencia a la rotación en sentido horario del segmento distal en pacientes con tornillos de PLLA. Por lo tanto, sugieren que la fijación de segmentos óseos con tornillos de PLLA después del FOS puede ser efectiva en casos seleccionados adecuadamente.

Se ha demostrado que el PLLA es eficiente y seguro en la fijación de las fracturas en los maléolos<sup>XVII</sup> (Böstman, 1998) y la sindesmosis<sup>XVIII</sup> (Hovis, et al., 2002).

Böstman revisó a 1223 pacientes entre 1985 y 1994 que tenían fracturas malélicas tratadas por fijación interna con pernos y tornillos bioabsorbibles (Böstman, 1998). Los implantes utilizados fueron de PGA, PLA y sus copolímero. Solo 10 pacientes (0.8 %) mostraron efectos secundarios, que incluyeron diversas reacciones locales a cuerpos extraños, irritación sinovial y degeneración posterior.

---

<sup>XVII</sup> Un maléolo es la prominencia ósea a cada lado del tobillo humano. Cada pierna está apoyada por dos huesos, la tibia en el lado interno (medial) de la pierna y el peroné en el lado externo (lateral) de la pierna. El maléolo medial es la prominencia en la parte interna del tobillo, formada por el extremo inferior de la tibia. El maléolo lateral es la prominencia en el lado externo del tobillo, formado por el extremo inferior del peroné. (“Malleolus”. Merriam-Webster Dictionary. Retrieved 2016-01-22.)

<sup>XVIII</sup> Una sindesmosis es una articulación fibrosa ligeramente móvil en la que los huesos, como la tibia y el peroné, se unen mediante tejido conectivo. Los ejemplos incluyen la articulación del peroné de la tibia distal y la articulación radioulnar. Las lesiones en la sindesmosis del tobillo se conocen comúnmente como “esguince alto de tobillo”. Aunque la sindesmosis es una articulación, en la literatura el término lesión sindesmótica se usa para describir la lesión de los ligamentos sindesmóticos.

El tiempo de retención y degradación innecesariamente largo del PLLA ha sido una preocupación, y estos parámetros pueden ajustarse mediante la mezcla con PDLA. En un estudio, se compararon los tornillos de SR-PLLA y SR-P(L/DL)LA en proporciones (70:30) para la fijación de fracturas de tobillo (Joukainen, et al., 2007). Las resistencias iniciales de flexión y corte de SR-P(L/DL)LA fueron solo ligeramente más bajas que las de SR-PLLA.

El SR-P(L/DL)LA conserva su fuerza durante 24 semanas, que es más corto en duración que la SR-PLLA (36 semanas) en el hueso y se degrada más rápido que la SR-PLLA (Joukainen, et al., 2000). Sesenta y dos pacientes adultos con fracturas de tobillo fueron divididos aleatoriamente en dos grupos. En el seguimiento de un año, la osificación sindesmótica fue más frecuente en el grupo tratado con SR-P(L/DL)LA, pero no fue estadísticamente significativa (Joukainen, et al., 2007). Ambos tipos de implantes demostraron ser adecuados para esta aplicación.

Ito et al. (Ito et al., 2002) evaluaron el uso de tornillos PLLA para la fijación en cirugía de cadera en 61 pacientes con 68 osteotomías de cadera consecutivas. Llegaron a la conclusión de que los tornillos PLLA se pueden usar con éxito para la transfección de un acetábulo osteotomizado en la osteotomía rotacional, pero se pueden romper si se usan para la osteotomía trocánterea femoral.

A pesar de estos éxitos, existen algunas complicaciones asociadas con estos materiales (Ambrose, et al., 2004; Böstman, et al., 2000).

Konan y Haddad (Konan, et al., 2009) revisaron los efectos adversos de los tornillos de interferencia bioabsorbibles específicamente en el ligamento anterior cruzado. Aunque las complicaciones son poco frecuentes, han habido informes de daños condrales causados por la rotura del tornillo utilizado en el ligamento anterior cruzado (Lembeck, et al., 2005; Werner, et al. 2002; Appelt, et al., 2007; Takizawa, et al., 1998).

Dado que la cabeza del tornillo que queda en el tejido subcutáneo puede causar ruptura, dolor o reacción anaséptica a cuerpo extraño, Sugimoto et al. (Sugimoto et al., 2003) describieron la simple remoción de la cabeza del tornillo de PLLA usando una micro sierra para hueso, como una forma de superar estos problemas.

## Placas

Las placas de PLLA se utilizan principalmente para la cirugía maxilofacial, ya que no son lo suficientemente fuertes para aplicaciones de carga. Suzuki et al. (Suzuki et al., 2004) estudiaron un sistema de miniplacas de PLLA para el tratamiento de la fractura del proceso condilar mandibular en 14 pacientes (edades de  $23.1 \pm 5.7$  años). Aunque dos pacientes tuvieron una sensibilidad postoperatoria crónica leve en el sitio de implantación, no se observó infección de la herida. Encontraron una curación ósea

satisfactoria en todos los pacientes y ninguna evidencia de reabsorción anormal del proceso condilar.

Los implantes de PLLA también han encontrado aplicaciones en la cirugía de columna (Vaccaro, et al., 2003). La instrumentación espinal metálica y los implantes se han desarrollado para proporcionar una estabilidad estructural inmediata hasta que se produce la fusión ósea. Sin embargo, estos implantes han causado varias complicaciones, entre ellas, la migración y el fracaso de los implantes, la degradación de la imagen en la NMR y la protección contra el estrés que puede promover osteoporosis (Vaccaro, et al., 2003).

Se ha desarrollado un dispositivo de caja intersomática lumbar que se ha utilizado de manera efectiva para el tratamiento de pacientes con diversos trastornos degenerativos de la columna, en particular la región lumbar (Fig. 10).

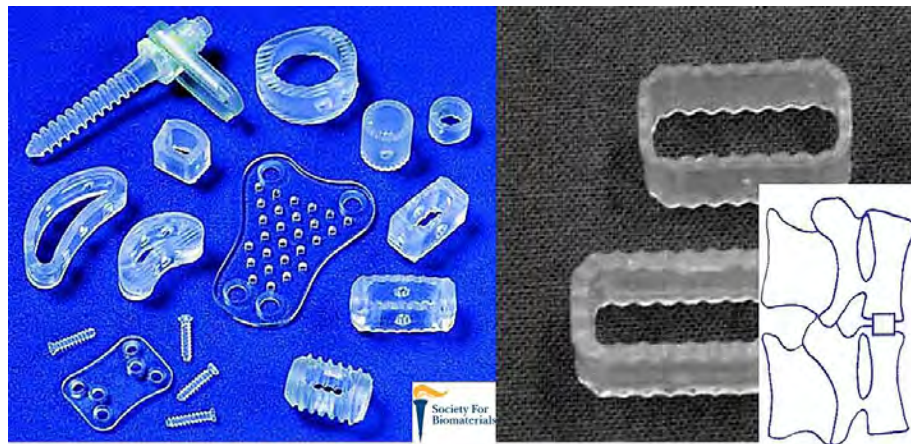


Fig. 10 Sistema de jaula para columna vertebral. Izq. Sistema completo de sujeción, Der. Se muestra detalle de la jaula y de la región en la cual se coloca el dispositivo. (Modificada de: Van Dijk, M., Tunc, D. C., Smit, T. H., Higham, P., Burger, E. H. and Wuisman, P. I. (2002), "In vitro and in vivo degradation of bioabsorbable PLLA spinal fusion cages". *J. Biomed. Mater. Res.*, 63: 752-759. doi:10.1002/jbm.10466)

Las jaulas de PLLA empaquetadas con injertos de hueso esponjoso tenían suficiente resistencia mecánica directamente después de la implantación (Van Dijk, et al., 2002). Un estudio in vivo reveló que la rigidez reducida de las jaulas de PLLA mejoró significativamente la tasa de fusión intersomática en comparación con las jaulas de titanio después de seis meses de implantación (Van Dijk, et al., 2002). Para la aplicación en fusión intersomática lumbar, que es una condición de alta carga, la jaula de PLLA mantuvo su forma y altura sin colapsar y permitió que se produjera la fusión (Van Dijk, et al., 2002).



## 2.6 Ingeniería tisular y medicina regenerativa

La ingeniería de tejidos es una de las áreas de investigación interdisciplinaria y multidisciplinaria donde el uso de PLA, con el tiempo, ha crecido exponencialmente. Los materiales para fabricar andamios y las tecnologías de fabricación desempeñan un papel crucial en la ingeniería y regeneración de tejidos (Dhandayuthapani, et al., 2011).

EL PLA como material de soporte dentro de una matriz ha encontrado un enorme interés debido al hecho de que el soporte desaparece del sitio de trasplante con el paso del tiempo, dejando atrás un parche perfecto dando paso al nuevo tejido natural (Savioli, et al., 2012; Gupta, et al., 2007). Se ha investigado el PLA para aplicaciones de ingeniería de tejidos, tales como andamios óseos, debido a la buena biocompatibilidad de este polímero (Mitragotri, et al., 2009). Sin embargo, la diferente naturaleza del tejido requiere una resistencia relativa del material con un perfil de biodegradación planificado previamente.

Se informó que las propiedades mecánicas de la PLA mejoraron para la ingeniería de tejidos utilizando una variedad de métodos, como la mezcla, la formación de compuestos (Zhang, et al., 2011) y la copolimerización (Hamad, et al., 2015). Se han creado andamios porosos tridimensionales de PLA para cultivar diferentes tipos de células, utilizando la terapia génica basada en células para enfermedades cardiovasculares; tejidos musculares, regeneración de hueso y cartílago y otros tratamientos de afecciones cardiovasculares, neurológicas y ortopédicas (Coutu, et al., 2009; Kellomaki, et al., 2000; Papenburg, et al., 2009). Otros dos estudios han informado que células madre osteogénicas sembradas en andamios de este material e implantadas en defectos óseos o por vía subcutánea para recapitular ambos procesos de desarrollo de la formación ósea: osificación endocondral y osificación intramembranosa (Behonick, et al., 2007; Caplan, 2009). Debido a la alta resistencia de la malla PLLA, es posible crear estructuras 3D como bandejas y jaulas (Kinoshita, et al., 2003).

El PLA puede tardar de 10 meses a 4 años en degradarse, dependiendo de factores microestructurales como la composición química, la porosidad y la cristalinidad que pueden influir en sus características y esto dependerá de sus usos específicos. Además, los polímeros lácticos pueden estimular las células aisladas para regenerar tejidos y liberar fármacos como los analgésicos, los antiinflamatorios y los antibióticos, lo que motivó su estudio como andamiajes para el trasplante de células (Lasprilla, et al., 2012; Dai, et al., 2010; Kulkarni, et al., 2010).

Los andamios de PLA deben mantener sus propiedades mecánicas hasta que ya no sean necesarios. En orden consecutivo, el andamio será degradado, absorbido y excretado por el cuerpo, sin dejar rastro (Middleton, et al., 2000). Los andamios se



degradan gradualmente por períodos predeterminados para ser reemplazados por tejido recién generado por las células adheridas (Langer, et al., 1993). La degradación da como resultado el dismantelamiento de los andamios y la disolución/reabsorción del material a través de los tipos de degradación y/o superficie de los andamios (Middleton, et al., 2000; Dhandayuthapani, et al., 2011).

La velocidad de biodegradación de un biopolímero depende principalmente de sus propiedades intrínsecas, incluidas (Ye, et al., 1997):

- A. La estructura química
- B. La presencia de enlaces hidrolíticamente inestables
- C. El nivel de hidrofiliicidad/ hidrofobicidad,
- D. La morfología cristalina/amorfa
- E. El valor de Tg
- F. La proporción de copolímero
- G. Su peso molecular Mw.

Se deben tener en cuenta otros factores interrelacionados para predecir el mecanismo de bioerosión, incluyendo los siguientes:

- a) Presencia de catalizadores, aditivos, impurezas o plastificantes
- b) Geometría del dispositivo
- c) Ubicación del dispositivo.

También se ha reportado que los implantes bajo estrés se degradan más rápido. Una posible explicación de este fenómeno ha propuesto que, en un implante estresado, se pueden formar microfisuras, lo que lleva a un aumento en el área de la superficie expuesta al agua (Athanasίου, et al., 1998; PolyUMod Software, 2015).

Para el balance, se equilibran todos estos factores para adaptar un implante para una degradación lenta y transferir el estrés al tejido circundante, a medida que sana, a la velocidad adecuada son las claves para el éxito del dispositivo biomédico.

Se encontró que la combinación del proceso de manufactura aditiva con las propiedades intrínsecas del PLA es una forma prometedora de producir dispositivos biomédicos complejos de acuerdo con el diseño obtenido mediante el empleo de la computadora, utilizando datos anatómicos específicos del paciente, así como en una amplia gama de aplicaciones industriales y arquitectónicas (Gross, et al., 2014).

Específicamente, en aplicaciones biomédicas, la manufactura aditiva con el empleo del PLA ha evolucionado lentamente para crear dispositivos únicos y también

mejoras en los implantes y el rendimiento de andamios para ingeniería de tejidos, plataformas de diagnóstico y sistemas de administración de fármacos (Chia, et al., 2015).

La impresión del PLA fue factible para las aplicaciones antes mencionadas, principalmente mediante el uso de impresión 3D directa o indirecta y las tecnologías de modelado por deposición fundida (FDM). Helena y Benjamin publicaron un excelente resumen del progreso reciente en las tecnologías de impresión PLA 3D para ingeniería de tejidos (Chia, et al., 2015).

Combinada con los recientes avances en tecnología de manipulación celular y nano-maquinaría, se puede anticipar que el interés en combinar células madre con andamios personalizados de PLA 3D para la medicina regenerativa personalizada es el punto de crecimiento de la impresión 3D de PLA. Sin embargo, antes de usar esta metodología para la regeneración de tejidos complejos (por ejemplo, hueso, cartílago, músculos, vasos, nervios en el complejo craneomaxilofacial) y órganos complejos con una micro arquitectura 3D compleja (por ejemplo, hígado, órganos linfoides) se deben resolver varios aspectos tecnológicos.

Deben abordarse las limitaciones y el equilibrio entre las propiedades físicas/mecánicas y la biodegradación. La comprensión profunda de estas limitaciones debe motivar la investigación futura y avanzar este campo fascinante para la fabricación avanzada.

Dentro de los avances más importantes de la técnica de manufactura aditiva para la ingeniería de tejidos empleando el PLA y sus composites tenemos lo reportado en Tabla 8, y uno de los avances más importantes está descrito en la Fig. 11, lo que nos muestra que el PLA es un material de creciente interés en el área biomédica, principalmente dentro de la subespecialidad de manufactura aditiva, por ello es de vital importancia la profundización y desarrollo con este enfoque.

**Tabla 8 Andamios basados en PLA y obtenidos por técnica de manufactura aditiva.**

Material	Experimento	Aplicación	Ref.
<b>PLA/polidopamina</b>	<i>In vitro</i> – hADSC's	Reparación de lesiones craneales y maxilofaciales	Kao, et al., 2015
<b>PLLA/PLGA</b>	<i>In vitro</i> – hFS	Ingeniería de tejidos	Yang, et al., 2002
<b>HA/Colágena/PLA</b>	<i>In vivo</i> – Conejos	Andamios de hueso	Liao, et al., 2004
<b>PLA/PEG/partículas de vidrio G5</b>	<i>In vitro</i> – rMSC adhesión	Ingeniería de tejidos	Serra, et al., 2013

<b>PLA/<math>\beta</math> – TCP</b>	<i>In vivo</i> – Conejos	Formación de hueso heterotopico	Cao, et al., 2012
<b>PDLA/rhBMP – 2</b>	<i>In vivo</i> – Rata	Reparación de hueso mandibular	Schliephake, et al., 2008

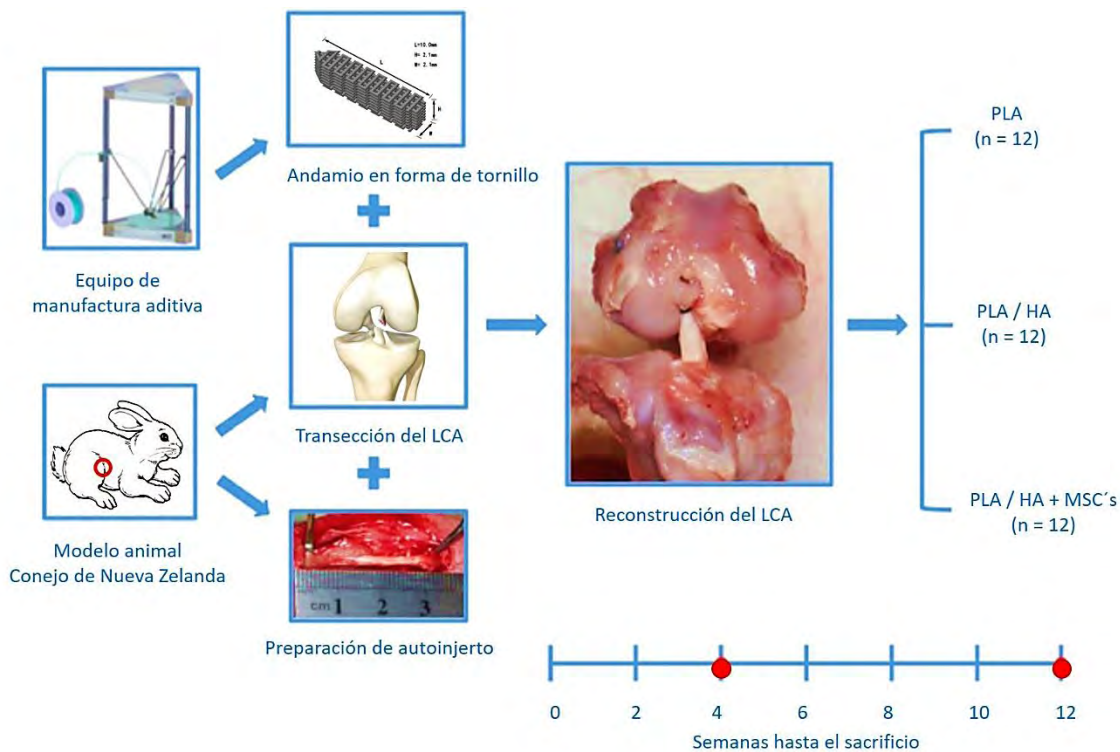


Fig. 11 Figura 2. Diseño del estudio in vivo. El andamio con forma de tornillo fue diseñado y fabricado por el equipo D3DP. Todos los conejos se dividieron al azar en el grupo de PLA (implante de andamio de PLA, n = 12), el grupo de PLA/HA (implante de andamio de PLA/HA, n = 12) y el grupo de MSC (Mesenchymal Stem Cells (Células Madre Mesenquimales) cargadas en el andamio de PLA/HA, n = 12). Se establecieron transecciones agudas completas en el ligamento cruzado anterior de conejos machos adultos de Nueva Zelanda. El tendón extensor digital largo (2 mm de diámetro y 3 cm de longitud) se recolectó como injerto de tendón. El andamio se presionó en el túnel femoral para fijar el injerto del tendón. Los conejos se sacrificaron en las semanas 4, 12 para su posterior análisis.



# CAPÍTULO III

## OBJETIVOS

## 3. – OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo General

Proponer características fisicoquímicas para evaluar su cambio debido al proceso de manufactura aditiva y con ello analizar su impacto en la producción de implantes, en particular empleando PLA en forma de filamento.

### 3.2 Objetivos particulares.

1) Realizar una revisión sobre el PLA y con ello determinar su importancia dentro de la fabricación de dispositivos médicos así como su relación con la elaboración de implantes.

2) Seleccionar los parámetros de trabajo de la impresora 3D con los cuales se obtendrán los materiales a comparar con la materia prima sin procesar.

3) Evaluar las siguientes propiedades y determinar su posible variación asociada al proceso de manufactura aditiva:

- Peso molecular
- Grado de cristalinidad
- Propiedades térmicas ( $T_g$ ,  $T_c$ ,  $T_m$ ,  $\Delta H_c$ ,  $\Delta H_m$ )
- Estructura de las cadenas y productos degradados
- Tacticidad

4) Validar su biocompatibilidad, mediante la medición de:

- Viabilidad celular
- Proliferación celular



**CAPÍTULO IV**  
**METODOLOGÍA**  
**EXPERIMENTAL**



## 4. - METODOLOGÍA

El análisis que se realizó al PLA se puede resumir en las siguientes etapas:

I.- Material sin ser sometido al proceso de manufactura, es decir empleando el filamento del distribuidor.

II.- Material después de pasar por el proceso de depósito de material fundido, empleando una impresora 3D modelo MM1 de la marca MakerMex®, con lo que se observó si existen diferencias fisicoquímicas, antes y después del proceso de manufactura.

III.- Evaluación biológica de los constructos obtenidos para determinar su biocompatibilidad.

Se emplearon las siguientes condiciones de trabajo para obtener los andamios con los cuales se realizó la comparación entre el material base y el material procesado (ver Fig. 12):

- Filamento transparente de 1.75 mm de diámetro
- Boquilla de 200 µm de diámetro fabricada en bronce
- Temperatura de trabajo de la impresora de 200 °C sin uso de cama caliente
- Velocidad de extrusión de 50 mm/s
- Patrón de impresión rectilíneo con una densidad de relleno del 75% sin bordes
- Superposición entre relleno y perímetro del 15%
- Código G generado empleando Slic3r Versión 1.2.9

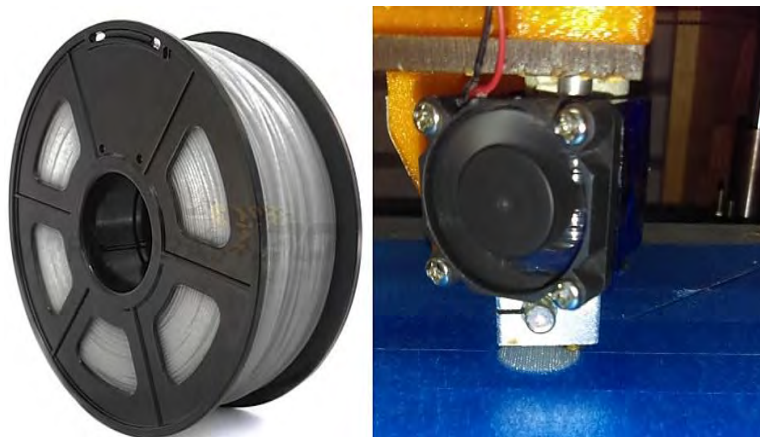


Fig. 12 Materiales empleados para el estudio. Izq. Filamento distribuido por “Impresoras 3D Puebla®”. Der. Proceso de obtención de los andamios para realizar la comparación. (Izq. modificada de: <https://www.impresoras3dpuebla.com/filamento>; Der. de autoría propia).

## 4.1 Materiales y Equipos

### 4.1.1 Reactivos

- Acetona, reactivo ACS, 99.7 %, J.T. Baker®
- Agua desionizada ( $H_2O_{di}$ ),  $18.2 M\Omega \cdot cm$  a  $25\text{ }^\circ C$ ,  $<1\text{ }\mu g/L$ , Simplicity
- Amortiguador fosfato salino (PBS),  $pH\ 7.4 \pm 0.2$ ,  $25\text{ }^\circ C$ , MBL® BION
- Etanol (EtOH), alcohol reactivo para HPLC, Sigma – Aldrich®
- Fibroblastos Humanos (HGF) ATCC® PCS-201-018™
- Medio mínimo esencial Eagle ( $\alpha MEM$ ), Sigma – Aldrich®
- Suero fetal bovino (FBS), Gibco®
- p-Formaldehído (PFA), Sigma – Aldrich®
- Agua bidestilada ( $H_2O_{bi}$ )
- Kit de proliferación celular I MTT Sigma – Aldrich®
- Tripsina-EDTA, 0.25 %, 1x, Gibco®
- Cloroformo, BAKER ANALYZED® reactivo grado ACS
- Tetrahidrofurano (THF) grado HPLC
- Filamento de PLA distribuido por Impresoras 3D Puebla®

### 4.1.2. Equipos

- Balanza analítica Sartorius® M-Power
- Lector de placas de ELISA BioTek® Epoch
- Espectrómetro FTIR-ATR Bruker® Alpha Platinum
- Incubadora Thermo Scientific® 3422
- Equipo termogravimétrico TA Instruments® Q5000IR
- Calorímetro diferencial de barrido TA Instruments® Q2000
- Microscopio electrónico de barrido JEOL® JCM-6000
- Difractómetro de polvos Bruker® axs D8 Advance con software Diffrac Plus Release 2000.
- Instrumento de resonancia magnética nuclear Bruker® Avance III HD 400.
- Cromatografía por Exclusión de Tamaño de Alta Resolución (HPSEC), marca Waters®, modelo ALLIANCE 2695, con detector de índice de refracción, marca Waters®, modelo 2414.
- Impresora 3D modular marca MakerMex® modelo MM1.

## 4.2 Cromatografía por permeación de gel.

El peso molecular de un polímero está relacionado con múltiples características, como son la cinética de degradación, sus temperaturas características ( $T_g$ ,  $T_m$ ,  $T_c^{XIX}$ ), grado de polimerización entre otras muchas; es por ello que se realizó el estudio de peso molecular empleando la técnica de permeación de gel usando el protocolo estándar que a continuación se describe.

Se utilizó un equipo Waters ALLIANCE 2695 con módulo de separación, que cuenta con un detector de índice de refracción integrado modelo Waters 2414, des-gasificador en línea y un banco de dos columnas marca Waters HPLC: Styragel HR 4E con rango de exclusión  $M_w$  de 50 a  $1 \times 10^5$  Da y Styragel HR 5E con de exclusión  $M_w$  de  $2 \times 10^3$  a  $4 \times 10^6$  Da, siendo ambas columnas de cromatografía por permeación de gel (GPC, por sus siglas en inglés). El tetrahidrofurano (THF) es utilizado como eluyente (Fase Móvil) Las condiciones de medición fueron: una velocidad de flujo de 1.0 mL/min, con una temperatura del detector de 35 °C y del horno, guarda columnas, de 33 °C.

Se realiza una curva de calibración a las condiciones anteriormente descritas, utilizando 18 estándares de poliestireno con rango de Masa Molecular Pico Promedio ( $M_p$ ) de  $3.7 \times 10^2$  a  $4.3 \times 10^6$  Da.

La muestra se preparó a una concentración aproximada de 4.0 mg/mL, se dejó reposar toda una noche en THF grado HPLC, para asegurar una completa solvatación de la muestra. Al siguiente día, previo a ser introducida en el equipo HPSEC, se filtró con un acrodisco de PTFE con tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$ .

Para la muestra, de la materia prima, se emplearon pinzas de corte para fraccionar el filamento en secciones que fueran más sencillas de disolver en el THF y así obtener las soluciones de corrida, y para el material que ya había sido manufacturado se emplearon andamios fabricados mediante el empleo de la impresora MM1, que igualmente fueron disueltos en el solvente THF; ambas muestras fueron calentadas a 35 °C para realizar las mediciones.

---

<sup>XIX</sup> Cuando a un polímero se le administra calor alcanzan una temperatura adecuada, ha ganado la suficiente energía como para adoptar una disposición sumamente ordenada, es decir una forma cristalina. Cuando los polímeros se disponen en esos ordenamientos cristalinos, liberan calor, y a esta temperatura se le denomina temperatura de cristalización  $T_c$ . (De: <https://pslc.ws/spanish/dsc.htm>)

### 4.3 Difracción de rayos X.

Para determinar el grado de cristalinidad se empleó la técnica de difracción de rayos X (DRX), con la cual se puede calcular el porcentaje de fase cristalina presente en el polímero, así como la contribución de material amorfo. Para dicho ensayo se empleó un difractómetro de polvos Bruker axs D8 Advance con software Diffrac Plus Release 2000, operando a 40Kv y 30mA. Los Rayos X se obtuvieron de un tubo sellado de Cu y la radiación fue monocromatizada con un monocromador de grafito ( $\lambda (K_{\alpha 1})=1.5406\text{\AA}$ ). Los difractogramas fueron obtenidos en el rango angular de  $5^\circ$  a  $85^\circ$  en  $2\theta$ , con un paso de  $0.02^\circ$  y un tiempo por paso de 1.2 s, a temperatura ambiente. Las muestras fueron colocadas en un plato en rotación constante durante la medida para obtener los perfiles de pico más óptimos para el análisis, así como para minimizar el efecto de la orientación preferente.

Las muestras de la materia prima se cortaron del filamento en forma de pellets y fueron depositadas en una base de un cristal orientado para evitar el ruido de fondo ocasionado por un soporte tipo vítreo.

Las muestras a analizar, como material manufacturado, fue una pastilla impresa con este fin con los parámetros previamente mencionados.

### 4.4 Análisis térmico.

Las características térmicas del filamento empleado para la impresión se evaluaron por medio de análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC).

El estudio de TGA se llevó a cabo empleando una muestra de 4.836 mg dentro de un intervalo de temperatura de  $30^\circ\text{C}$  a  $500^\circ\text{C}$ , con una rampa de calentamiento de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  dentro de una atmosfera de nitrógeno.

El estudio de DSC se llevó a cabo empleando una muestra de 6.5 mg empleando una dentro de un intervalo de  $25^\circ\text{C}$  a  $250^\circ\text{C}$ , con una rampa de calentamiento de  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  empleando una atmósfera de nitrógeno

Los termogramas obtenidos se normalizaron y se determinó el porcentaje de pérdida de peso, las temperaturas de transición vítrea, de cristalización y de fusión, así como sus entalpías asociadas utilizando el programa *OriginPro 8*.

### 4.5 Resonancia magnética nuclear.

Se añadieron aproximadamente 10 mg a partir de pellets de PLA a un tubo limpio de NMR, después se disolvió la muestra en un solvente deuterado, en este caso cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), procurando una altura adecuada del solvente para un buen espectro, que es de entre 4.5 a 5 cm.

Se cerró el tubo cuidadosamente y escribió el nombre de la muestra en la tapa, se procedió a agitar la muestra suavemente para asegurar homogeneidad en la disolución. Se insertó el tubo de NMR cuidadosamente en un spinner que giró una vez insertado en el imán para asegurar que toda la muestra experimentará un campo magnético homogéneo.

Se limpió el exterior del tubo y spinner con 2-propanol para eliminar las huellas dactilares y la suciedad después de lo cual colocamos la muestra en el espectrómetro de NMR. En este caso se utilizó un espectrómetro Varian de 400 MHz, equipado con un automuestreador.

Después de terminar la medición de NMR, el espectro del proceso se analizó y se asignaron los picos en el espectro, así como la integración de cada pico identificado. Esto sería en términos generales la metodología para la obtención del espectro de NMR de  $^1\text{H}$  empleado en el PLA.

#### 4.6 Espectroscopia infrarroja

Se empleó un espectrómetro FTIR-ATR Bruker® Alpha Platinum en el rango espectral para el número de onda de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  configurado para la toma de 32 espectros por medición, a una resolución de 2  $\text{cm}^{-1}$  en modo de reflectancia total atenuada (ATR) a una temperatura de 25 °C.

Para las mediciones se necesitaba que fueran muestras delgadas, por lo que se procedió a pesar 5 mg de muestras (tanto de materia prima como del material manufacturado) y se disolvieron en cloroformo grado reactivo, y se procedió a elaborar membranas por la técnica de evaporación de solvente, empleando la campana de extracción y dejando reposar doce horas, con lo cual obtenemos membranas que se pueden colocar en el equipo de FTIR-ATR.

## 4.7 Caracterización Biológica de PLA

### 4.7.1 Cultivo Celular

Para el cultivo celular se emplearon fibroblastos gingivales humanos, ya que este linaje celular se ha reportado en la literatura como uno de los iniciadores de la señalización para comenzar el proceso de vascularización y fijado de un implante (Ver Fig. 13), además de ser de los linajes celulares más resistentes, lo que implica que si esta variedad de células no puede sobrevivir al cultivo en los andamios, es probable que otras variedades tampoco puedan sobrevivir.

Esto es fundamental, ya que si se desea realizar implantes empleando este material se tiene que validar que el mismo no sea toxico, ni dañino.

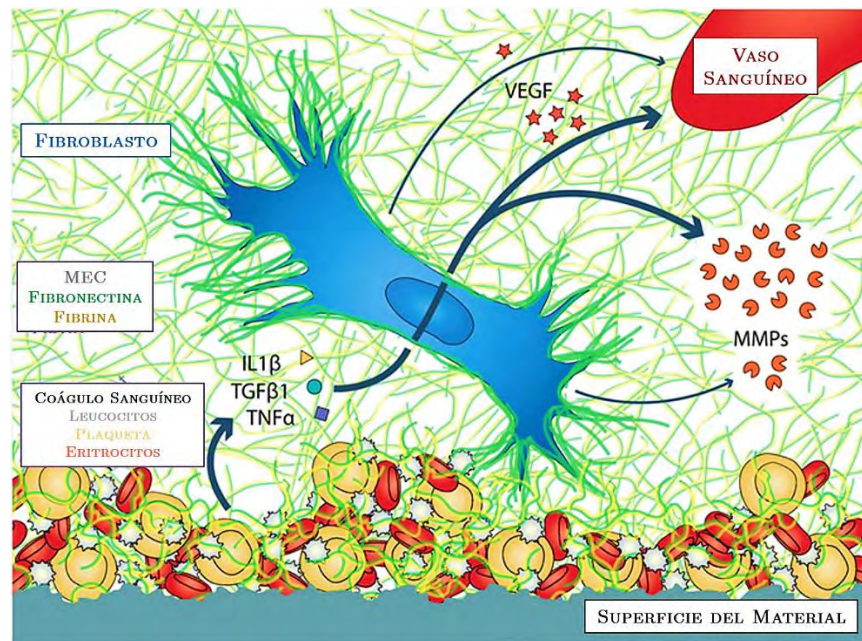


Fig. 13 Mecanismo propuesto en la literatura para el proceso de implantación y su respuesta celular y molecular, mostrando los componentes principales del proceso de señalización iniciado por los fibroblastos. Mecanismo sugerido de cómo los fibroblastos y la sangre adherida a la superficie del material trabajan sinérgicamente la capacidad de remodelación y el potencial angiogénico. La superficie del implante proporciona un sustrato para el coágulo sanguíneo compuesto de fibrina-fibronectina y matriz extracelular (ECM), varias células sanguíneas y un conjunto de factores de crecimiento (VEGF y TGFβ1), citocinas inflamatorias (TNFα e IL1β) y enzimas degradadoras de la matriz (MMP). La secreción de MMP asociada a la sangre acelera la degradación del coágulo sanguíneo, mientras que la secreción del factor de crecimiento VEGF promueve la angiogénesis. (Modificada de: Burkhardt MA, Waser J, Milleret V, et al. Synergistic interactions of blood-borne immune cells, fibroblasts and extracellular matrix drive repair in an in vitro peri-implant wound healing model. *Scientific Reports*. 2016; 6:21071. doi: 10.1038/srep21071.)



En particular se emplearon fibroblastos gingivales humanos (HGF) para evaluar la adhesión y viabilidad celular sobre los andamios manufacturados con una estructura 3D Honeycomb empleando los parámetros de trabajo mencionados al inicio de la sección (Ver Fig.14).

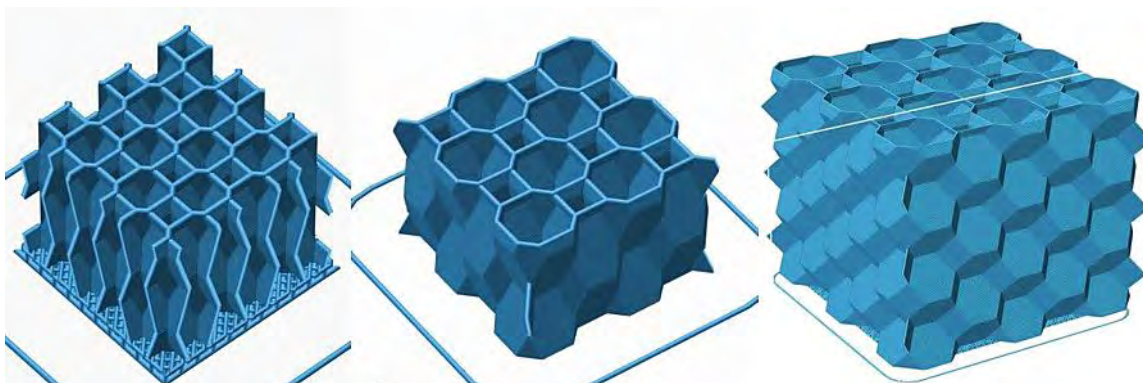


Fig. 14 Diferentes vistas de los andamios tipo 3D Honeycomb diseñados empleando el software Slic3r. (De: <http://slic3r.org/blog/new-stable-1.2.9>).

Las células se cultivaron y se expandieron empleando medio de cultivo DMEM suplementado con FBS al 10 %, una disolución de antibióticos (penicilina 100 U.I./mL, estreptomina 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y fungizona 0.3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y L-glutamina 2 mM. Los cultivos celulares se mantuvieron a una temperatura de 37 °C, en una atmósfera de aire - CO<sub>2</sub> (de 95% y 5 % respectivamente) y con una humedad del 100 %. Para los ensayos *in vitro* se utilizaron cultivos en el 5<sup>to</sup> pasaje.

#### 4.7.2 Viabilidad Celular

La viabilidad de las células HGF en los andamios se evaluó empleando el método de la sal MTT. Este ensayo se basa en la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) realizada por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa en un compuesto de color morado (formazán), un indicativo de la funcionabilidad mitocondrial de las células tratadas.

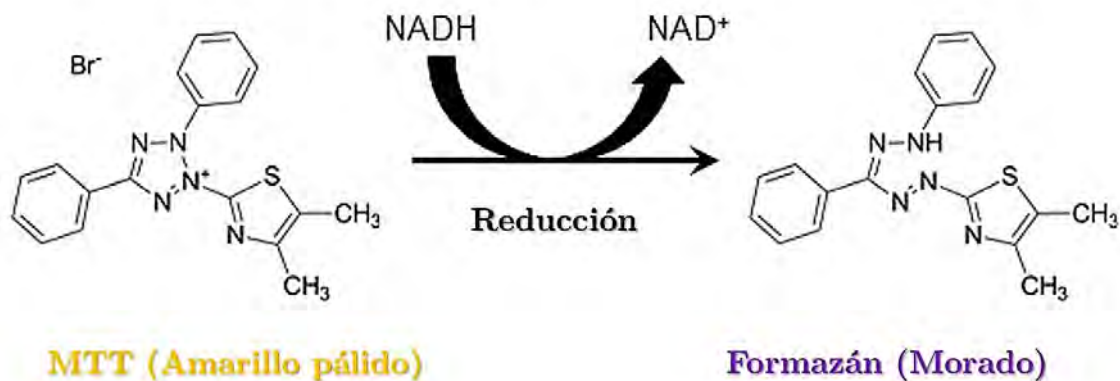


Fig. 15 Proceso de reducción de la sal MTT para formar Formazán. (Modificada de: “Structures of MTT and colored formazan product”. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/figure/mttassays.F1/>)

Este método ha sido muy utilizado para medir supervivencia y proliferación celular. La cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producido. Los fibroblastos se sembraron sobre los andamios de PLA a una densidad celular de  $1 \times 10^5$  células/mL y se cultivaron por 1, 3, 5, 7 y 14 días, realizando el cambio de medio cada tercer día, vigilando diariamente que el indicador rojo de metilo no mostrara una acidificación del medio, lo que conllevaría la muerte celular.

Al término de cada periodo de cultivo de las células en los andamios, estos mismos se incubaron con 10  $\mu$ L de la disolución del MTT por 4 h, transcurrido este tiempo, se retiraron 200  $\mu$ L del medio de cultivo y se colocaron en una micro placa de 96 pozos, después de lo cual se colocó el andamio en un nuevo pozo y en otro el sobrenadante, añadiendo DMSO para re-suspender el formazán y se midió la densidad óptica (D.O.) a una longitud de onda de 550 nm empleando un lector de placas de ELISA. El experimento se realizó por triplicado y empleando como referencia células cultivadas sin la presencia del PLA.

#### 4.7.3 Proliferación Celular

Para medir la proliferación celular emplearemos el método de MTT que se comparó con un control positivo, que en nuestro caso fueron pozos de la placa de cultivo celular, que sabemos que tienen una respuesta bien conocida en el cultivo celular.



**CAPÍTULO V**  
**RESULTADOS Y**  
**DISCUSIÓN**

## 5.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Cromatografía por permeación de gel.

En este estudio se observó que la materia prima presentó un peso molecular promedio de 72,531 Da (Ver Tabla 9), lo que permite un margen de trabajo con el material, ya que por procesos térmicos este peso disminuirá, lo que disminuirá su tiempo de biodegradación, sin embargo el peso del PLA<sub>PM</sub> fue de 65,988 Da que lo coloca dentro del rango de pesos moleculares empleados en la ingeniería de tejidos que son superiores a los 20,000 Da (Middleton et al., 2000), lo que es indicativo de que el posible implante, generado por el proceso de manufactura aditiva, tendrá un tiempo de degradación aceptable, es decir del orden de meses o años, aunque esto se puede modificar mediante procesos de envejecimiento (da Silva et al. 2018; Felfel et al. 2015).

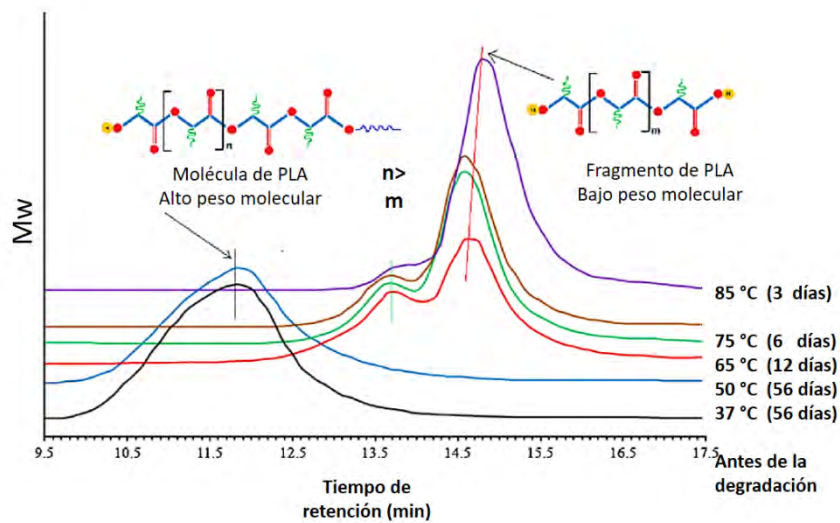
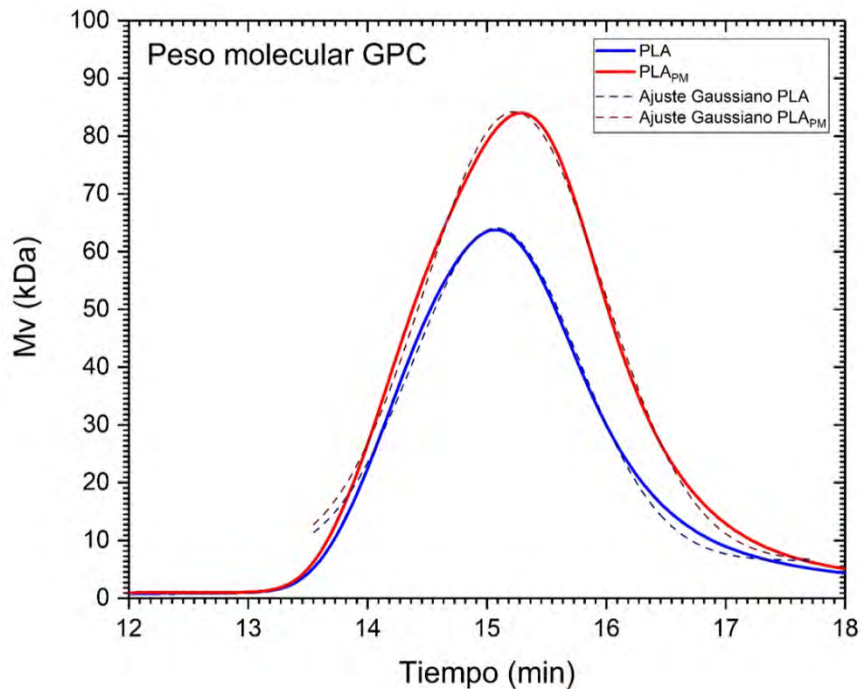
Otra característica a mencionar, es el hecho que el peso molecular después del proceso de manufactura, disminuye un 9.02 %, que se puede asociar a procesos térmicos, que si bien existen no modifican significativamente sus características asociadas al peso, como podrían ser las mecánicas.

El PDI nos muestra que la anchura de dispersión de pesos moleculares se ubica entre los típicos valores de entre 1 a 3 (recordemos que PDI de uno equivale a una distribución gaussiana perfecta), con lo cual podemos sugerir que no existen plastificantes que aumenten el valor del PDI. En la Tabla 9 se muestran los valores calculados para otros pesos característicos como son Mw, Mp y Mz que pueden servir como una referencia para trabajos posteriores que deseen utilizar este material.

Tabla 9 Pesos moleculares del PLA, directo del distribuidor y después del proceso de manufactura.

Muestra	Tiempo de retención (min)	Mn	Mw	Mp	Mz	PDI (Đ)
PLA	15.069	72,531	136,171	113,113	220,189	1.877
PLA <sub>PM</sub>	15.287	65,988	124,948	91,978	211,011	1.893

Un dato más que podemos obtener de estos datos y empleando el hecho que el ácido láctico tiene un peso de 90.08 g/mol es el grado de polimerización que es de 805 para el PLA distribuido por el fabricante y de 733 para el polímero ya manufacturado, lo que deja de manifiesto el acortamiento de las cadenas poliméricas, lo que aumentará la velocidad de degradación del implante que pueda fabricar con este método de manufactura y empleando este material.



Gráfica 1 Sup. Medida del peso molecular promedio viscoso en relación con el tiempo de retención. Se observa un corrimiento a la derecha, indicativo de una baja del peso molecular; así mismo se presenta un ensanchamiento del pico después del proceso de manufactura, lo que se asocia a un aumento en el PDI.

Inf. Analisis del proceso de degradación de muestras de PLA sumergidas en PBS a diferentes temperaturas y diferentes tiempos, se observa la aparición de cadenas de menor peso molecular conforme pasa el tiempo. (Modificada de: Felfel, Reda & Hossain, K M Zakir & Parsons, Andrew & Rudd, Christopher & Ahmed, Ifty. (2015). Accelerated in vitro degradation properties of polylactic acid/phosphate glass fibre composites. *Journal of Materials Science*. 50. 3942-3955. 10.1007/s10853-015-8946-8.)



## 5.2 Difracción de Rayos X.

El PLLA puede cristalizar en tres formas ( $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\gamma$ ), generalmente referidas como polimorfismo (Pan et al. 2009). La estructura cristalina de la forma  $\alpha$  ha sido estudiada por varios grupos de investigación que utilizan técnicas de difracción de electrones y de rayos X (Alemán et al. 2001; Sasaki et al. 2003). La estructura  $\alpha$  con una  $T_m$  de 185 °C es más estable que la estructura  $\beta$  con una  $T_m$  de 175 °C (Arnoult et al. 2007). La pureza quiral del PLA tiene muchos efectos profundos sobre las propiedades estructurales, térmicas, de barrera y mecánicas del polímero (Tsuji et al. 2005; Sarasua et al. 2005; Hutchinson et al. 2006; Pyda et al. 2004).

La forma  $\alpha$  se caracteriza por dos cadenas antiparalelas en una conformación helicoidal izquierda  $10_3$  (o  $10_3$  distorsionada) empaquetada en una celda unitaria ortorrómbica (o pseudo-ortorrómbica) (Fig. 16) (Sasaki et al. 2003).

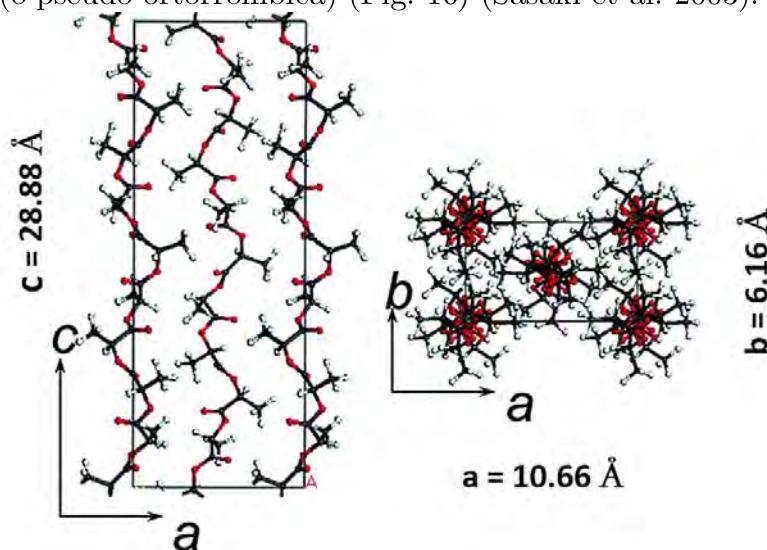


Fig. 16 Estructura cristalina de la  $\alpha$ -forma del PLLA propuesta por Sasaki y Asakura, se observan las dimensiones de la celda unitaria para esta forma. (Modificada de: *Macromolecules* 2011, 44, 16, 6441-6452)

La relación de los ejes  $a$  y  $b$  es cercana a  $3^{1/2}$ , lo que indica un empaque de hélices casi hexagonal. La forma  $\beta$  del PLA también ha sido ampliamente investigada (Sawai et al. 2002; Puiggali et al. 2000; Sawai et al. 2003; Takahashi et al. 2004; Sawai et al. 2006) desde que Eling (Eling et al. 1982) detectó por primera vez la existencia de la forma  $\beta$  al extruir en caliente las fibras de PLLA hiladas por fusión o hiladas en solución bajo una relación de extracción alta. Los cristales en forma  $\beta$  se preparan generalmente estirando sus contrapartes  $\alpha$  empleando una alta temperatura. Se ha propuesto un modo de empaquetamiento casi hexagonal de las cadenas moleculares de los cristales en forma  $\beta$  (Sawai et al. 2002). Puiggali et al. sugirió que la forma  $\beta$  se apoyaba en un paquete frustrado de tres cadenas de hélices  $3_1$  en una celda de unitaria trigonal con un grupo espacial  $P3_2$ . Esta estructura frustrada parece estar

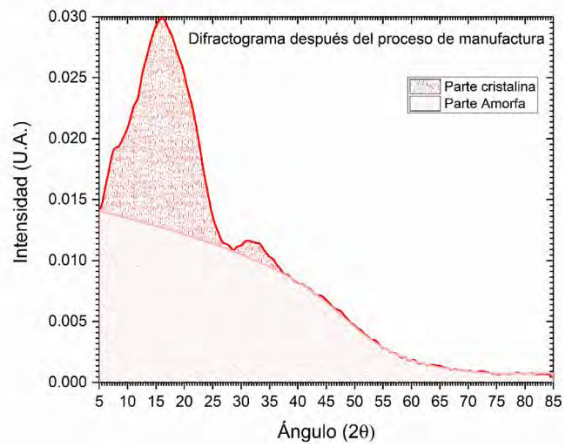
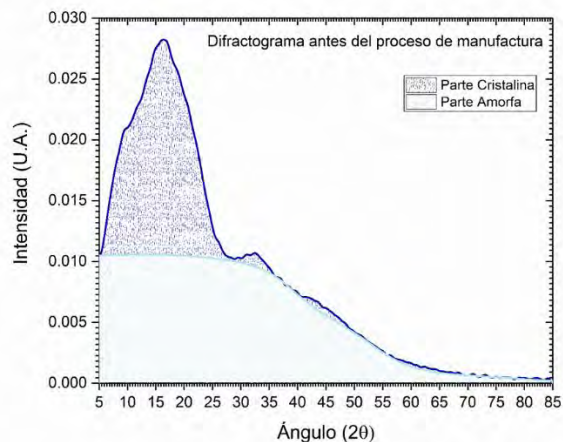


formada para adaptarse a la orientación aleatoria de las cadenas vecinas asociadas con la rápida cristalización durante el estiramiento. En cuanto a la transición entre las fases cristalinas  $\alpha$  y  $\beta$ , Kanamoto y sus colaboradores encontraron que la transición de la fase cristalina  $\alpha$  a  $\beta$  presente en el PLLA avanzaba más rápidamente con un aumento de la presión de extrusión. La formación de los cristales en forma  $\beta$  también dependía de la temperatura de extrusión. La transición cristalina de  $\alpha$  a  $\beta$  se desarrolló eficientemente a temperaturas de entre 130°C a 140 ° C. Ellos sugirieron que la tensión de estirado y el endurecimiento de los cristales tenían efectos opuestos sobre el grado de conversión de la transición de fase  $\alpha$  a  $\beta$  con el aumento de la extrusión o la temperatura de extracción (Takahashi et al. 2004). Además, la proporción de la formación de la forma  $\beta$  aumentó a medida que aumentó el peso molecular en las mismas condiciones de procesamiento (Sawai et al. 2006).

Cartier y colaboradores (Cartier et al. 2000) produjeron una nueva modificación del cristal, encontrando la forma  $\gamma$ , mediante cristalización epitaxial en un sustrato de hexametilbenceno. La estructura de este cristal se ha confirmado mediante el análisis de difracción de electrones y de su energía de empaquetamiento, sin embargo aún es objeto de estudio, por las condiciones en las que se obtuvo.

En nuestro caso en particular por los resultados encontrados podemos suponer la presencia de la forma  $\alpha$  del PLLA, lo que contribuye con una porción cristalina en nuestro polímero de estudio. Es importante hacer notar que si no tuviéramos una fracción cristalina en nuestro material no podríamos tener una temperatura de fusión que si logramos hallar con nuestras pruebas térmicas.

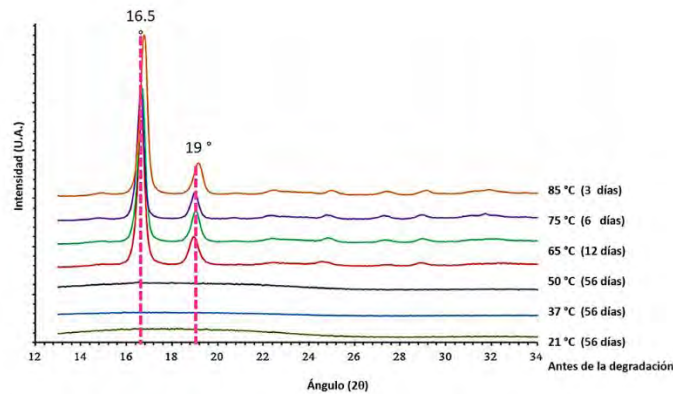
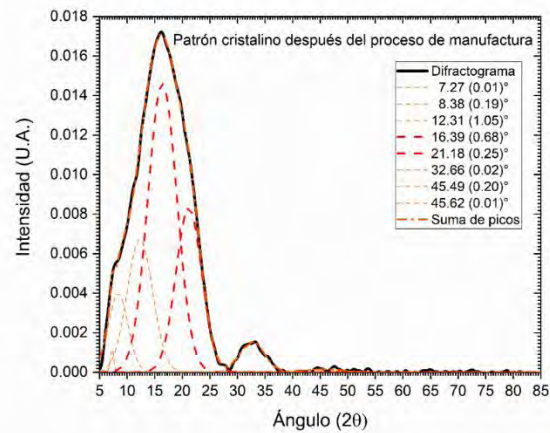
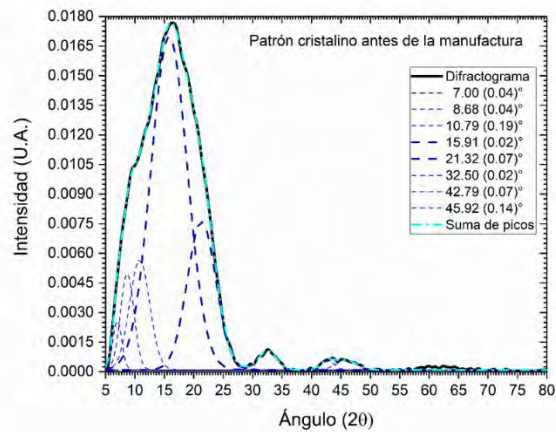
El porcentaje de cristalinidad se calculó comparando las áreas asociadas a las fracciones, amorfa y cristalina obtenidas mediante el análisis de los patrones de difracción (Ver Gráfica 2), con lo que se obtuvo un porcentaje de cristalinidad del PLA antes de ser manufacturado del  $X_c=22.67\%$ , mientras que después de ser manufacturado disminuyó hasta un porcentaje de  $X_c=18.18\%$ , efecto que podemos asociar a acortamiento de las cadenas poliméricas observado en el análisis de peso molecular, lo que nos deja con un material con una cristalinidad adecuada para su empleo en la fabricación de implantes (30% máximo) (da Silva et al. 2018).



Gráfica 2 Comparación entre las partes cristalinas y amorfas presentes en nuestro polímero antes y después del proceso de manufactura. Se observó un decremento de la cristalinidad del 4.49% posiblemente asociado al proceso de extrusión.

Otro resultado que obtuvimos, mediante esta técnica, fue la identificación de los dos picos asociados al patrón de difracción del PLLA, que se encuentran en  $16.5^\circ$  y  $19^\circ$  en el eje  $2\theta$  del difractograma (Felfel et al. 2015).

En nuestras muestras los encontramos en los valores de  $15.81(0.02)^\circ$  y  $21.32(0.07)^\circ$  para nuestra materia prima, mientras que para nuestra material ya manufacturado los encontramos en  $16.39(0.68)^\circ_{PM}$  y  $21.18(0.25)^\circ_{PM}$ , (Ver Gráfica 3) teniendo un error porcentual máximo del 12.21%, lo que nos deja ver, que quizá tengamos contribuciones de la forma  $\beta$  del PLLA, lo que implicaría un análisis más detallado empleando una técnica diferente y específica para observar dicha forma, sin embargo, notamos que en la gráfica 3, los picos más intensos son los que se corresponden con los picos reportados para la forma  $\alpha$ , así que podemos concluir que sería la forma dominante dentro de la fase cristalina.



Gráfica 3 Superior. Difractogramas del PLA, antes y después del proceso de manufactura, donde se observa que los picos dominantes son los asociados a la estructura  $\alpha$  del PLLA.

Inferior. Se muestra la importancia de la cristalinidad en los procesos de biodegradación del PLA, ya que se observa que las partes atacadas por el PBS, en este caso, fueron las amorfos, dejando las partes cristalinas en mayor proporción, lo que implicó una mayor definición en los picos del difractograma. (Modificada de: Felfel, Reda & Hossain, K M Zakir & Parsons, Andrew & Rudd, Christopher & Ahmed, Ifty. (2015). Accelerated in vitro degradation properties of polylactic acid/phosphate glass fibre composites. *Journal of Materials Science*. 50. 3942-3955. 10.1007/s10853-015-8946-8.)

## 5.3 Análisis térmico.

### 5.3.1 Análisis termogravimétrico

Se ha encontrado que la descomposición a altas temperaturas de PLA depende de un rango de factores, tales como el peso molecular, grado de cristalinidad, pureza, temperatura, pH, presencia de grupos terminales carboxilo o hidroxilo, permeabilidad al agua y aditivos que actúan catalíticamente, que pueden incluir enzimas, bacterias o rellenos inorgánicos (Park et al. 2009).

Celli (Celli et al. 1992) y Sodegard (Sodegard et al. 2002) afirman que el PLLA es sensible a la descomposición térmica, y la descomposición térmica de la PLA puede verse afectada por los siguientes factores:

1. Hidrólisis por trazas de agua, catalizada por monómeros hidrolizados
2. Despolimerización, similar a una cremallera, fomentada por los catalizadores de polimerización que queden presentes en la estructura del PLA
3. Escisión aleatoria de la cadena principal
4. Transesterificación intermolecular a monómeros y ésteres oligoméricos o transesterificación intramolecular que resulta en la formación de monómeros y láctidas oligoméricas de bajo peso molecular.

La temperatura de descomposición de PLA es normalmente de 230 °C a 260 °C, por lo tanto, se considera segura para aplicaciones a temperatura ambiente. El PLA rara vez se usa a temperaturas elevadas, como el punto de ebullición del agua, debido a que tiende a perder sus propiedades estructurales a temperaturas de 60 °C por ser su temperatura de transición vítrea.

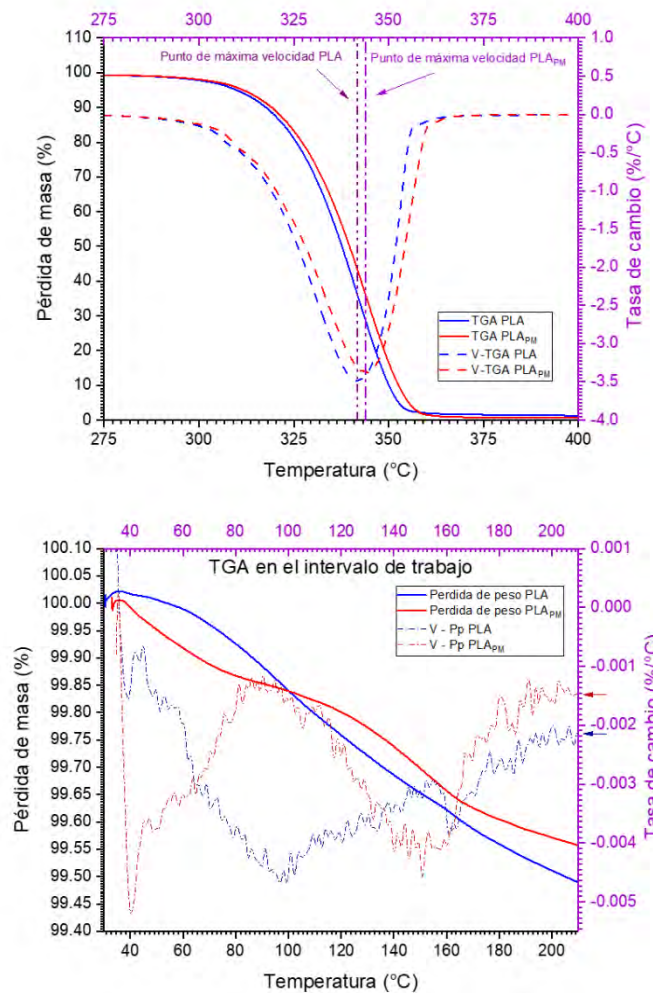
Si bien es poco probable que el PLA libere sustancias tóxicas en gran medida, los residuos de plastificantes u oligómeros aún necesitan mayor atención. El PLA sufre una descomposición térmica inicial a temperaturas superiores a 200 °C por reacción de hidrólisis seguida de reformación de la lactida, escisión oxidativa de la cadena principal y reacción de transesterificación intramolecular interior (Jamshidi et al., 1988). La descomposición térmica puede ocurrir a 200 °C sin catalizadores, pero requiere temperaturas más altas para inducir una reacción más rápida y prevalente (Achmad et al., 2009)

Debido a que el PLA se encuentra entre los polímeros que son altamente sensibles al calentamiento, muchos investigadores han realizado estudios que varían las condiciones del PLA. McNeil (McNeil et al. 1985) llevaron a cabo la degradación del PLA en condiciones isotérmicas a varias temperaturas y encontraron que la energía de activación era de 119 kJ/mol para el rango de temperatura 240 °C a 270 °C, donde se creía que el mecanismo de degradación térmica se iniciaba desde el éster e hidroxilo final. La propagación de la cadena de escisión se produce para generar oligómeros cíclicos, lactida, acetaldehído y monóxido de carbono, y finalmente a temperaturas

más altas produce productos como el dióxido de carbono y la metilceteno. En un estudio adicional realizado por McNeil (McNeil et al. 1985) bajo condiciones de calentamiento programadas, se observó que los oligómeros representan más del 50% de lo volátil total hasta 440 °C, que es la temperatura a la que se completa la volatilización. El dióxido de carbono, el acetaldehído y el dióxido de carbono también se forman en la corriente volátil.

Para este análisis termogravimétrico se encontró que el PLA (antes y después de ser manufacturado), dentro de la zona de trabajo, es decir de 30 °C a 210 °C, no presentar una degradación mayor al 0.5% (Ver Gráfica 4), lo que implica que si bien pudiera existir degradación térmica (McNeil et al. 1985), no es significativa.

Esta ventana de trabajo se escogió debido a que va de la temperatura ambiente a 10°C por encima de la temperatura de trabajo de impresora MM1.



Gráfica 4 Resultados del estudio de TGA. Superior. Se observa una pérdida acelerada de masa cerca de los 330°C, temperatura que está fuera de la zona de trabajo, además se observa un corrimiento a la derecha de la tendencia de pérdida de masa, indicativo de un aumento de la energía necesaria para degradar el material. Inferior. Detalle de la zona de trabajo.



Se observa que se tiene una pérdida de agua de aproximadamente 0.5% de la masa total, lo que nos indica una hidratación del material, además que de 160°C a 180 °C se observa un proceso de degradación térmica (Fig. 17), aunque sea baja la cantidad degradada.

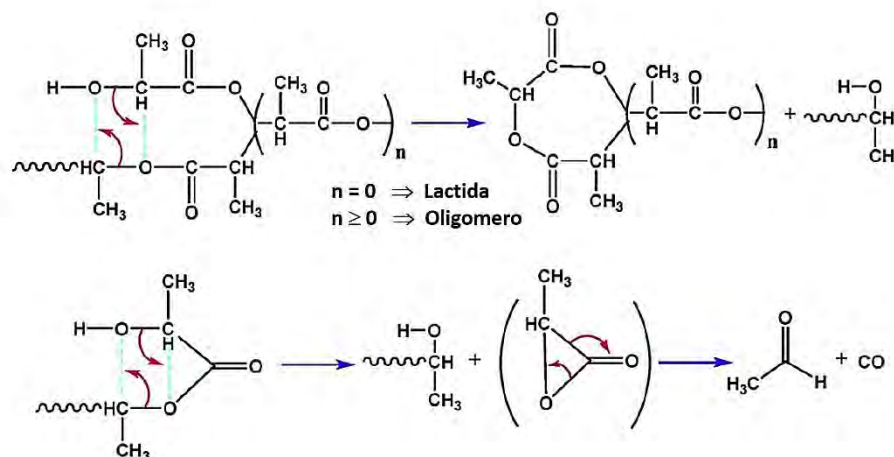


Fig. 17 Degradación térmica del PLA por diversas rutas.

La degradación del PLA durante la fusión es causada principalmente por reacciones de transesterificación intramolecular que conducen a oligómeros cíclicos de ácido láctico y lactida. Simultáneamente, hay una recombinación de los oligómeros cíclicos con poliésteres lineales a través de reacciones de inserción, mientras que se favorecen las moléculas con longitudes de cadena más largas. En el caso de la transesterificación intermolecular, una reacción entre dos moléculas de éster intercambia sus radicales, lo que conduce a una variación de la distribución de los pesos moleculares Mw.

Kopinke et al. propusieron que por encima de 200 ° C, el PLA puede degradarse a través de las reacciones de intercambio de éster intra e intermolecular, lo que resulta en la formación de CO, CO<sub>2</sub>, acetaldehído y metilceteno. En contraste, McNeill y Leiper propusieron que la degradación térmica de PLA es una reacción de intercambio de éster no radical, que involucra los extremos de la cadena -OH.

Dependiendo del punto en el esqueleto en el que se produce la reacción, el producto puede ser una molécula de lactida, un anillo oligomérico o acetaldehído más CO (Fig. 17). Se espera que la formación de acetaldehído aumente al aumentar la temperatura del proceso debido al aumento de la velocidad de las reacciones de degradación. Por encima de 230 ° C, McNeill y Leiper informaron sobre una degradación térmica del acetaldehído, lo que implica una reacción en cadena compleja para formar metano y CO a una temperatura elevada (Fig. 17). McNeill y Leiper también propusieron que la formación de butano-2,3-diona, otro subproducto detectado, probablemente sea causada por la combinación de radicales acetilo de la reacción en cadena (Fig. 5). La hidrólisis de PLA condujo a la escisión de los enlaces éster, con la producción de



grupos ácidos y alcohol. La división del éster depende del contenido de agua, mientras que la eliminación pirolítica conduce a la formación de un ácido y una molécula con grupos terminales acrílicos. Esta es una reacción secundaria es menos importante.

### 5.3.2 Calorimetría diferencia de barrido (DSC)

Las condiciones de procesamiento y las propiedades finales de los PLA's están fuertemente determinadas por la estructura cristalina o amorfa del polímero (Gupta et al. 2007; Lim et al. 2008).

La naturaleza quiral del ácido láctico da como resultado formas distintas del PLA, que son el PLLA, el PDLA y el PDLLA, que se sintetizan a partir de los monómeros de ácido láctico L, D y DL, respectivamente, o de las correspondientes láctidas.

Los estereoisómeros L y D son naturales; sin embargo, la mayor parte del ácido láctico en la naturaleza es de tipo L o, a veces, racémico. El hecho de que el ácido láctico que se produce en el cuerpo humano se encuentra en la forma enantiomérica L y el interés en las aplicaciones biomédicas de este polímero ha llevado a la investigación y la producción de esta variedad.

Cabe destacar el hecho de que en los primeros trabajos de Kulkarni (Kulkarni et al. 1971) el pico de transición vítrea del PDLLA a aproximadamente 60 °C se malinterpretó y se atribuyó al proceso de fusión. El PLLA puro y el PDLA tienen las mismas propiedades, es decir, una temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de entre 50 °C y 70 °C; una temperatura de fusión ( $T_m$ ) de entre 170 °C y 190 °C, y una cristalinidad de alrededor del 35% (Fambri et al. 2002; Tsusj et al. 2002; Hyon et al. 1984). En el caso de la polilactida sindiotáctica, debido a la diferente configuración estereotáctica, se encontró que la temperatura de transición vítrea más baja y la temperatura de fusión eran de 34°C y 155 °C, respectivamente (Ovitt et al. 1999). La cristalización, el grado de cristalinidad y las propiedades térmicas de PLLA dependen del peso molecular del polímero, las condiciones de polimerización, la historia térmica, la pureza, etc. Según lo informado por Ikada et al. (Ikada et al. 1987), la mezcla de PLLA y PDLA da como resultado la formación de un estéreo-complejo con una estructura cristalina diferente de la de cada homopolímero y temperaturas de fusión que alcanzan los 230 °C (Ikada et al. 1987). Se informan datos contradictorios sobre la entalpía de fusión de PLLA, que varían en la literatura de entre 40 J/g a 203 J/g. Los valores más comunes adoptados para la entalpía de fusión de PLLA son 93.6 J/g, según lo informado por Fisheretal. (Fisheretal et al. 1973), o 140 J/g, según lo evaluado por Loomis (Loomis et al. 1990).

La relación que existe entre el peso molecular y las diferentes propiedades térmicas del PLA se pueden observar en la Tabla 10, donde observamos la importancia de la historia térmica del material, tal y como se aprecia en la Fig. 18., donde observamos que si se tiene un proceso de enfriamiento después del calentamiento podemos promover el proceso de cristalización.

Tabla 10 Temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) y cambio de calor específico en  $T_g$  ( $\Delta C_p$ ), temperatura de fusión ( $T_m$ ) y su entalpía asociada ( $\Delta H_m$ ), y temperatura de cristalización ( $T_c$ ) y entalpía del proceso ( $\Delta H_c$ ) para diferentes pesos moleculares de muestras de PLLA durante un ciclo de Calentamiento – Enfriamiento – Calentamiento en una prueba DSC (Auras et al. 2010).

<b>Primer calentamiento</b>							
Mw (kDa)	$T_g$ (°C)	$\Delta C_p$ (J/(gK))	$T_m$ (°C)	$\Delta H_m$ (J/g)	X (%)		
2	58	0.17	147	48	51		
30	79	0.06	171	68	73		
200	73	0.22	192	67	72		
<b>Enfriamiento</b>							
Mw (kDa)	$T_c$ (°C)	$\Delta H_c$ (J/g)	$T_g$ (°C)	$\Delta C_p$ (J/(gK))			
2	-	-	39	0.56			
30	96	21	50	0.32			
200	-	-	55	0.50			
<b>Segundo calentamiento</b>							
Mw (kDa)	$T_g$ (°C)	$\Delta C_p$ (J/(gK))	$T_c$ (°C)	$\Delta H_c$ (J/g)	$T_m$ (°C)	$\Delta H_m$ (J/g)	X (%)
2	43	0.54	107	9	142	9	0
30	55	0.32	97	21	174	50	31
200	64	0.51	127	25	181	26	1

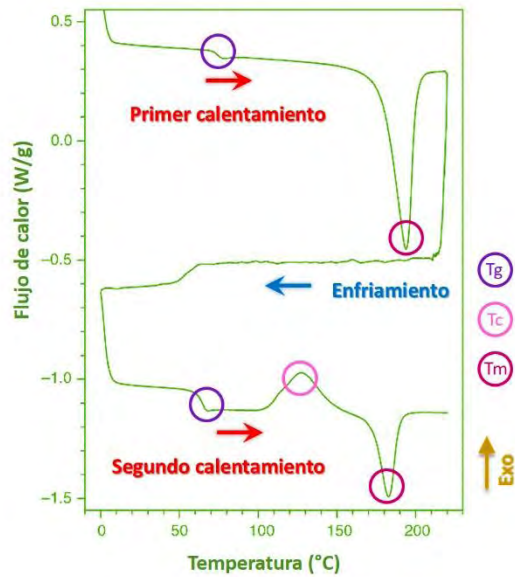


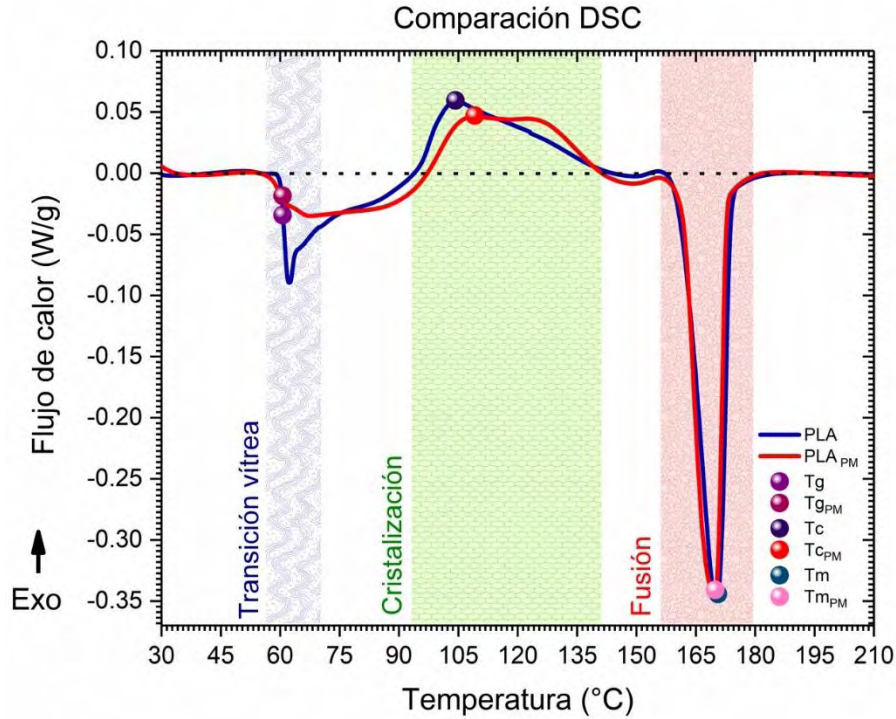
Fig. 18 PLLA comercial (L210 deBoehringer, Ingelheim, Alemania) con un peso molecular de 200 kDa, sometidos a los siguientes tres ciclos en un DSC a 10 ° C / min:

- I.- Calentamiento de 0 °C a 220 °C
- II.- Enfriamiento de 220 °C a 0 °C
- III.- Calentamiento de 0 °C a 220 °C.

El polímero inicialmente cristalino presentó una Tg a 73°C y se fundió a 192°C. Durante el enfriamiento, aparentemente no se desarrolló cristalización y la siguiente corrida térmica sobre los materiales inicialmente amorfos mostró transición vítrea (a Tg = 64 ° C), cristalización (a Tc = 127 ° C) y fusión (a Tm = 181 ° C).

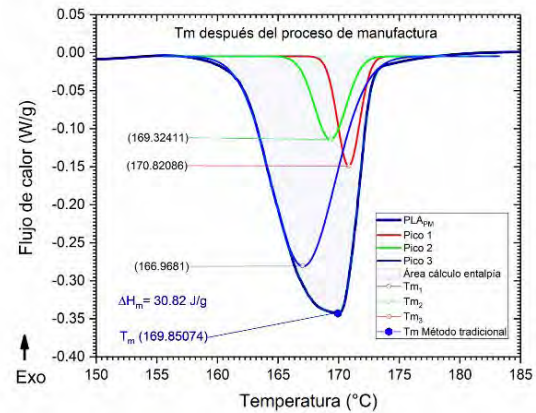
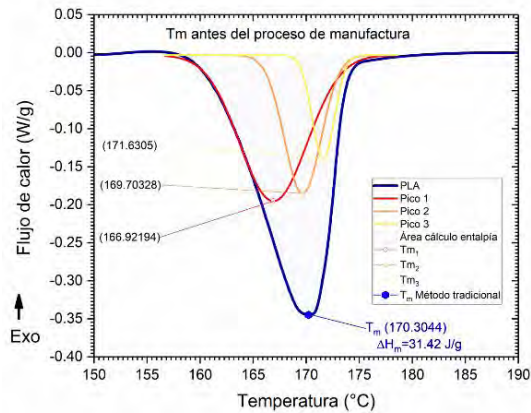
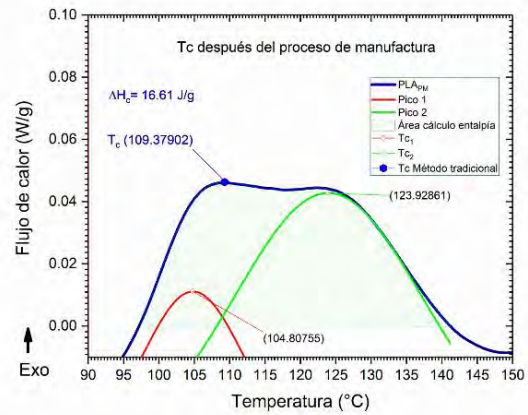
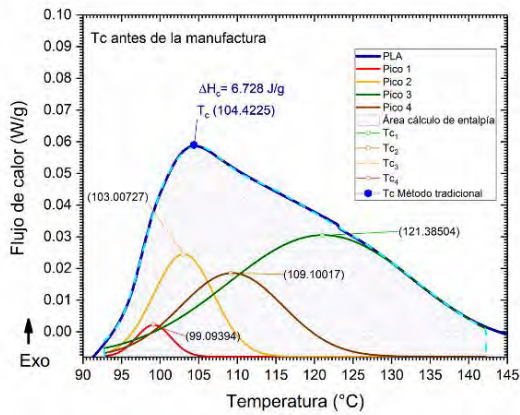
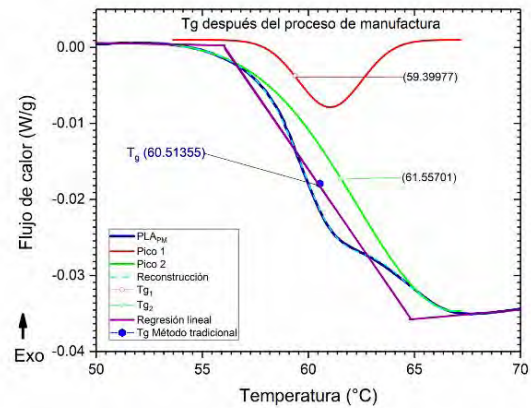
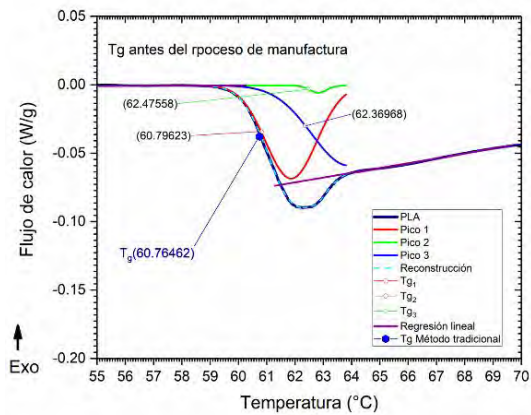
Una de las principales implicaciones de los cambios de pesos moleculares del PLA debido al proceso de manufactura, es el aumento en la dispersión de los valores de las temperaturas características del polímero (Gráfica 5). La causa de este aumento en la dispersión, es el decremento en la longitud de las cadenas poliméricas, lo que conlleva un aumento en el índice de polidispersión, que ya fue mostrado en la sección de análisis de peso molecular.

Es necesario recordar que los polímeros no poseen un único valor de peso molecular, por el contrario, poseen una distribución de pesos, que se ve modificada con la temperatura. En nuestro caso de estudio, podemos observar una dispersión mayor entre los posibles pesos representativos de nuestro PLA. Para realizar el estudio de dispersión se propuso un análisis en el cual se deconvolucionan la respuesta obtenida en el DSC, haciendo una previa segmentación de los procesos, tal y como se muestra en la gráfica 5.



Gráfica 5 Comparativa entre los análisis DSC efectuados al PLA, tanto el que no tiene ninguna modificación realizado por nosotros, como el que fue sometido al proceso de manufactura. Se marcaron las regiones de estudio donde se llevan a cabo procesos importantes para la descripción del polímero.

Una característica importante que se puede observar en la gráfica 5, además del ensanchamiento de los picos, es el corrimiento a la derecha de la curva, en particular en la región de cristalización, lo que podemos interpretar como un aumento en la energía necesaria para realizar este proceso, aunque la energía para realizar la fusión disminuye debido al acortamiento de las cadenas poliméricas



Gráfica 6 Estudios de calorimetría diferencial de barrido. En cada recuadro se muestra una región a analizar así como las temperaturas características (en azul se pone el dato representativo), y en dado caso el dato termodinamico obtenido. Se muestra la deconvolución de las señales que forman la respuesta total del DSC.



En la gráfica 6 se observan las deconvoluciones de los DSC, así como los puntos más relevantes en cada una de las regiones (Tg, Tc, Tm). Es muy importante este estudio, ya que permite identificar zonas en las cuales trabajar cuando empleamos el proceso de manufactura aditiva seleccionado para ser evaluado. Los resultados más importantes se muestran en la tabla 11.

**Tabla 11 Resumen de los datos obtenidos por los estudios de DSC.**

	Mw (kDa)	Tg (°C)	Tc (°C)	Tm (°C)	ΔHc (J/g)	ΔHm (J/g)	Xc <sup>xx</sup> (%)
PLA	136,171	60.76	104.42	170.30	6.728	31.42	26.38
PLA <sub>PM</sub>	124,948	60.51	109.38	169.85	16.61	30.82	15.18
Δ	- 6,223	- 0.25	+ 4.96	- 0.45	+ 9.882	- 0.6	- 11.2

La tabla 11 nos muestra que una temperatura de trabajo adecuada, sería por encima de los 170 °C, también observamos que el porcentaje de cristalinidad disminuye, que concuerda con lo obtenido en el estudio de XRD. Es de esperar que en un trabajo posterior se pueda evaluar el grado de cristalinidad en función de la temperatura del proceso de manufactura.

Podemos observar que existe un decremento en varias propiedades termodinámicas, a continuación haremos una breve discusión sobre cada una.

- El proceso de manufactura promueve la ruptura de cadenas poliméricas, lo que explica el decremento del peso molecular promedio del PLA.
- La disminución de la temperatura de transición vítrea, la asociaremos al hecho de que como las cadenas ahora son de menor longitud, necesitaran una menor energía inicial para comenzar a tener movilidad (Teoría de Flory).
- El aumento de la temperatura de cristalización (así como de la entalpía asociada) se entenderá por la necesidad de mayor energía para dar orden a una estructura, más tendiente a lo amorfo, producto del proceso de extrusión.
- El que la temperatura y energía de fusión decaigan, se puede entender sencillamente, como una consecuencia del hecho de que el polímero aumento su desorden, gracias a la energía suministrada por el proceso de manufactura.

<sup>xx</sup> El porcentaje de cristalinidad fue obtenido con los datos del DSC, empleando la ecuación

$$Xc \% = 100 \frac{\Delta H_m - \Delta H_c}{\Delta H_m^0}$$

Donde  $\Delta H_m$  y  $\Delta H_c$  son las entalpias de fusión y de cristalización respectivamente, mientras que  $\Delta H_m^0$  es la entalpía de fusión para el PLLA con longitud de cadena polimerica infinita y tiene un valor de 93.6 J/g. (Fischer et al. 1973)



Es importante observar que si no se tuviera una fracción cristalina, no tendría sentido hablar de una temperatura de fusión del PLA, ya que implicaría que sería totalmente amorfo, con lo que podemos concluir que nuestro PLA si presenta una fracción cristalina.

#### 5.4 Resonancia magnética nuclear.

##### **Estructura química del ácido poliláctico.**

El PLA comercial es una mezcla de PLLA y PDLA o copolímero PDLLA, obtenido por la polimerización de LLA y DLLA, respectivamente (Auras, et al, 2004). Muchas propiedades importantes de PLA están controladas por la relación de enantiómeros<sup>XXI</sup> “D –” y “L –” utilizados y la secuencia de disposición de los enantiómeros en los polímeros. El PLLA constituye la fracción principal de PLA derivado de fuentes renovables ya que la mayoría del ácido láctico obtenido de fuentes biológicas existe como LLA. El PLA con contenido de PLLA superior al 90% tiende a ser cristalino, mientras que el que tiene una menor pureza quiral es amorfo. La temperatura de fusión (T<sub>m</sub>), la temperatura de transición vítrea (T<sub>g</sub>) y la cristalinidad del PLA disminuyen con cantidades decrecientes de PLLA (Urayama et al, 2003; Tsuji et al, 1996; Dorgan et al, 2005; Lim et al, 2008).

Las propiedades del PLA, como la estabilidad térmica y la resistencia al impacto, son inferiores a las de los polímeros convencionales utilizados para aplicaciones termoplásticas. Por lo tanto, el PLA no es ideal para competir contra los polímeros convencionales en este ámbito (Lim et al, 2008). Con el fin de mejorar las propiedades del PLA y aumentar sus aplicaciones potenciales, se han desarrollado copolímeros de ácido láctico y otros monómeros tales como derivados de estireno, acrilato y óxido de polietileno (PEO). El PLA también se ha formulado y asociado con materiales en proporciones nanométricas. La modificación del PLA, la copolimerización con otros monómeros y los compuestos de PLA son algunos enfoques que se han utilizado para mejorar las propiedades del PLA, como la rigidez, la permeabilidad, la cristalinidad y la estabilidad térmica (Urayama et al, 2003; Tsuji et al, 1996; Dorgan et al, 2005; Lim et al, 2008).

Las estructuras químicas del PLA, incluida la estructura de la cadena, la configuración, la tacticidad, la conformación y la estructura cristalina, son parámetros importantes que rigen las propiedades del PLA.

---

<sup>XXI</sup> En química, los enantiómeros, también llamados isómeros ópticos, son una clase de estereoisómeros tales que en la pareja de compuestos la molécula de uno es imagen especular de la molécula del otro y no son superponibles. Cada uno de ellos tiene, en su nombre, la letra correspondiente: R (del latín *rectus*, derecho) o S (del latín *sinister*, izquierdo). (De: IUPAC Gold Book. Compendium of Chemical Terminology. 2a. ed. (1997).)

### Estructura de cadena y configuración.

La unidad constitucional (es decir, la estructura química o la estructura molecular) del PLA se muestra en la Fig. 19. El PLA es un polímero quiral<sup>XXII</sup> que contiene átomos de carbono asimétricos con una conformación helicoidal. Dos isómeros ópticos, L – y D – del ácido láctico, se utilizan para sintetizar PLA. El ácido láctico se puede producir biológica o químicamente (Averous et al., 2008). El ácido láctico que se produce por fermentación existe exclusivamente como ácido L – láctico y la polimerización por condensación del ácido L – láctico conduce a PLLA con pesos moleculares bajos, mientras que el ácido láctico producido por procesos químicos se puede obtener con diversas proporciones de L – y D – de ácido láctico.

Las reacciones químicas que forman el ácido láctico dímero cíclico como un paso intermedio para la producción de PLA podrían dar como resultado cadenas macromoleculares con unidades monoméricas LLA y DLA (Bordes et al, 2009). La ruta de polimerización por apertura de anillo (ROP) tiene la ventaja de producir polímeros de alto peso molecular (Okada 2002; Albertsson et al. 2002) y también permite el control de las propiedades de PLA mediante el ajuste de las proporciones y la secuencia de unión de las unidades L– y D – del ácido láctico.

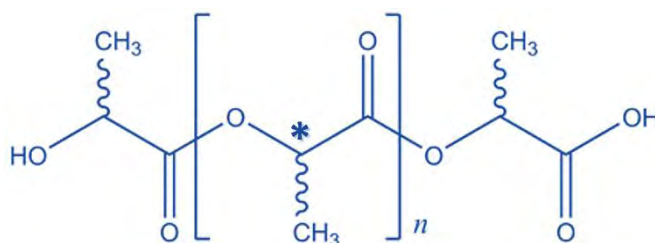


Fig. 19 Constitución del PLA, una molécula quiral. El átomo de carbono con un asterisco es un átomo quiral.

Los polímeros que tienen estereocentros en la unidad de repetición pueden presentar dos estructuras de orden máximo, es decir, isotácticas y sindiotácticas. Los polímeros isotácticos contienen estereocentros secuenciales de la misma configuración relativa mientras que los polímeros sindiotácticos contienen estereocentros secuenciales de configuración relativa opuesta. Estos polímeros estereorregulares son típicamente cristalinos y se usan en una amplia variedad de aplicaciones. Los polímeros estereorregulares como el polipropileno isotáctico comparten una fracción

<sup>XXII</sup> La quiralidad es una propiedad geométrica de algunos iones y moléculas. Una molécula/ion quiral no se puede superponer a su imagen especular. La presencia de un centro de carbono asimétrico es una de varias características estructurales que inducen la quiralidad en moléculas orgánicas e inorgánicas. (De IUPAC, Compendium of Chemical Terminology, 2<sup>da</sup> Ed. (the “Gold Book”) (1997)).

significativa del mercado de polímeros a granel. El grado y la distribución de estereorregularidades o estereodefectos en estos polímeros pueden afectar directamente su cristalinidad final. Por lo general, las LA's tienen tres estereoisómeros diferentes (LLA, DLA y DLLA). Sus polímeros correspondientes (PLLA, PDLA y PDLLA) pueden tener diferentes configuraciones de cadena. La estereoquímica de la cadena puede, a su vez, influir en las propiedades físicas y mecánicas de los PLA's.

### Configuración

En 1983, Francois et al. informaron sus investigaciones sobre la configuración del PLA. Estudiaron los espectros de NMR de las especies  $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$  de una serie de estereocopolímeros de PLA preparados por tres métodos sintéticos diferentes:

1. ROP de L-, rac- y meso-LA iniciadas por Zn en polvo
2. Copolimerización de L- y rac-LA en diferentes proporciones
3. Polimerización por condensación de ácido rac-láctico.

Aquí, rac- es la abreviatura de racimo que representa la mezcla de dos enantiómeros, y meso- es la abreviación de mesómero que representa el compuesto de dos átomos de carbono quirales con diferentes configuraciones estereoquímicas.

La espectroscopía de NMR  $^1\text{H}$  a 500 MHz de alta resolución es una herramienta eficaz para analizar y caracterizar el PLA. Puede proporcionar con precisión información sobre la distribución de algunas estereosecuencias en el polímero cuyas resonancias están bien resueltas en el espectro de NMR. La NMR  $^{13}\text{C}$  proporciona información de estereosecuencia complementaria; sin embargo, su precisión no es comparable a la de la NMR  $^1\text{H}$  debido a la baja relación señal/ruido.

Thakur et al. utilizaron NMR de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  para determinar la estructura del PLA. Se descubrió que la separación de la resonancia de metina<sup>XXIII</sup> causada por el acoplamiento a los protones Me<sup>XXIV</sup> en el polímero se eliminó por desacoplamiento homonuclear. Siguiendo la polimerización reversible de D, L-LA (rac-LA), se demostró que la estereoscopia (o relación de reactividad) para la adición sindiotáctica se reducía a medida que aumentaba el grado de polimerización. La creciente polimerización aleatoria se debe a la interacción de los efectos cinéticos y termodinámicos. Los efectos cinéticos controlan la estereoquímica en la etapa más temprana de la polimerización mientras que los efectos de equilibrio dominan la estereoquímica en la etapa posterior. El cambio en la distribución de la

---

<sup>XXIII</sup> En química, el metino es un grupo funcional trivalente = CH-, derivado formalmente del metano. Consiste en un átomo de carbono unido por dos enlaces simples y un enlace doble, donde uno de los enlaces simples es un hidrógeno. (De: Chemical Entities of Biological Interest (ChEBI) database).

<sup>XXIV</sup> Electrones del grupo metilo.

estereosecuencia durante la polimerización también se puede monitorear mediante la NMR  $^1\text{H}$ .

Los resultados mostraron que había una preferencia por la adición sindiotáctica durante la estereocopolimerización de LA's. Los cambios de viscosidad durante la polimerización en estado fundido también pueden influir en la estereoquímica. Munson y colaboradores (Zell et al. 1998) también utilizaron  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR para determinar si el PDLA que contenía 3% de LLA como el estereodefecto se incorporó a las regiones cristalinas o regiones amorfas del polímero. Obtuvieron tres resultados principales.

1. Aproximadamente el 50% de la L-lactida se incorpora a la red cristalina del polímero.
2. El ambiente de los sitios de defectos cristalinos está bien definido.
3. El cambio químico promedio para los sitios defectuosos es superior al cambio químico del PLA amorfo, y el cambio químico promedio de los picos para el PLA altamente cristalino es inferior al cambio químico del PLA amorfo.

La microestructura estereoquímica de los polímeros puede controlarse mediante la composición del monómero en la alimentación o la preferencia estereoquímica relacionada con el sistema iniciador o catalítico (Chamberlain et al. 2001; Ovitt et al. 2002; Nomura et al. 2002; Majerska et al. 2004; Tang et al. 2004).

Chamberlain et al. (Chamberlain et al. 2001) prepararon una serie de complejos de alcóxido de zinc que actúan como iniciadores activos de sitio único para la polimerización de DLA o LLA a PLA isotáctico, rac-LA a PLA atáctico y meso-LA a PLA sindiotáctico.

La síntesis de alcóxidos quirales de aluminio e itrio como catalizadores estereoespecíficos utilizados para la polimerización de LA también ha sido reportada por Ovitt y Coates (Ovitt et al. 2002). También se ha informado el uso de RMN de  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  de alta resolución para el estudio de estructuras de PLA (Thakur et al. 1997, 1998; Chisholm et al. 1999; Munson et al. 2003). La tácticidad de los polímeros se puede determinar mediante la inspección del espectro de  $^1\text{H}$  NMR homonuclear desacoplado de la región del grupo metino. Los ejemplos de espectros de NMR de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de PLA se muestran en la Fig. 20 (Ovitt et al. 2002).

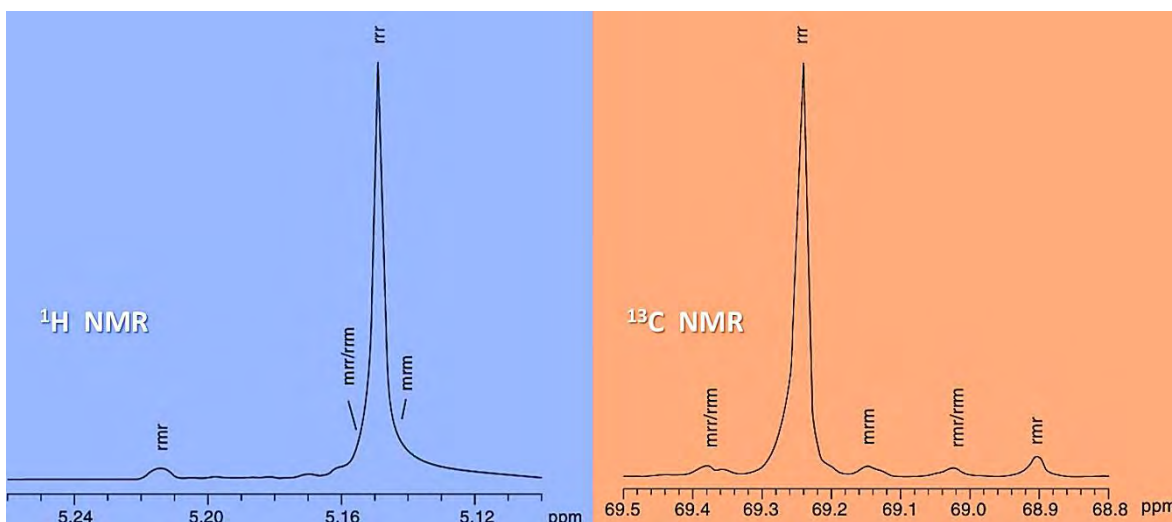


Fig. 20 Espectros de NMR para el PLA. Izq. <sup>1</sup>H NMR homonuclear desacoplado para la región del metino (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>). Der. Espectro de NMR del <sup>13</sup>C de la región del metino de PLA sindiotáctico (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>). (De American Chemical Society)

Los desplazamientos químicos de los picos asociados a las tétradas típicas se enumeran en la Tabla 12.

Tabla 12 Desplazamientos químicos de las tétradas en el PLA (Ovitt et al. 2002; Chisholm et al. 1999)

Tétradas		Desplazamientos químicos (ppm)	
		<sup>1</sup> H NMR	<sup>13</sup> C NMR
rrr		5.148	69.240
mrr / rrm		5.154	69.380, 69.020
mrm		5.142	69.144
rmr		5.214	68.902

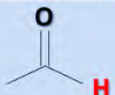
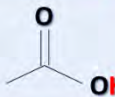
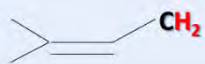
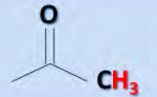

Un complejo de aluminio/azometino basado en un ligando voluminoso e isopropóxido de aluminio fue preparado y empleado para el ROP estereoselectivo de rac-LA (Tang et al. 2004). La reacción de iniciación y la polimerización de monómeros siguieron cinéticas de primer orden. Hubo una relación lineal entre la conversión de rac-LA y el peso molecular promedio en número de rac-PLA con una distribución poco dispersa de pesos moleculares ( $\bar{M}$  de entre 1.04 y 1.08). La alta temperatura de fusión (196 °C a 201 °C) se debe a la formación de estéreocomplejos y la isotacticidad de rac-PLA,

lo que indica que el complejo fue un iniciador altamente estereoselectivo para la ROP de rac-LA. La estereoselectividad fue de hasta el 90%. La configuración de los centros quirales en la cadena de polímero tiene una gran influencia sobre la cristalinidad. Los contenidos cristalinos y amorfos del polímero con centros quirales se pueden obtener por deconvolución del espectro  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR. Para un polímero sintetizado a partir de 97% de DLA y 3% de LLA marcado con  $^{13}\text{C}$  como un estereofecto, aproximadamente el 50% de los estereofectos se incorporan a la región cristalina (Thakur et al. 1998).

Otra aplicación interesante de la NMR es la identificación de los protones que causan los picos reportados en los resultados. Existen múltiples bases de datos con las cuales comparar los picos obtenidos y los patrones ya estudiados en la literatura. En la tabla 13 se muestran estas relaciones entre desplazamientos químicos y los protones a los que se encuentran asociados

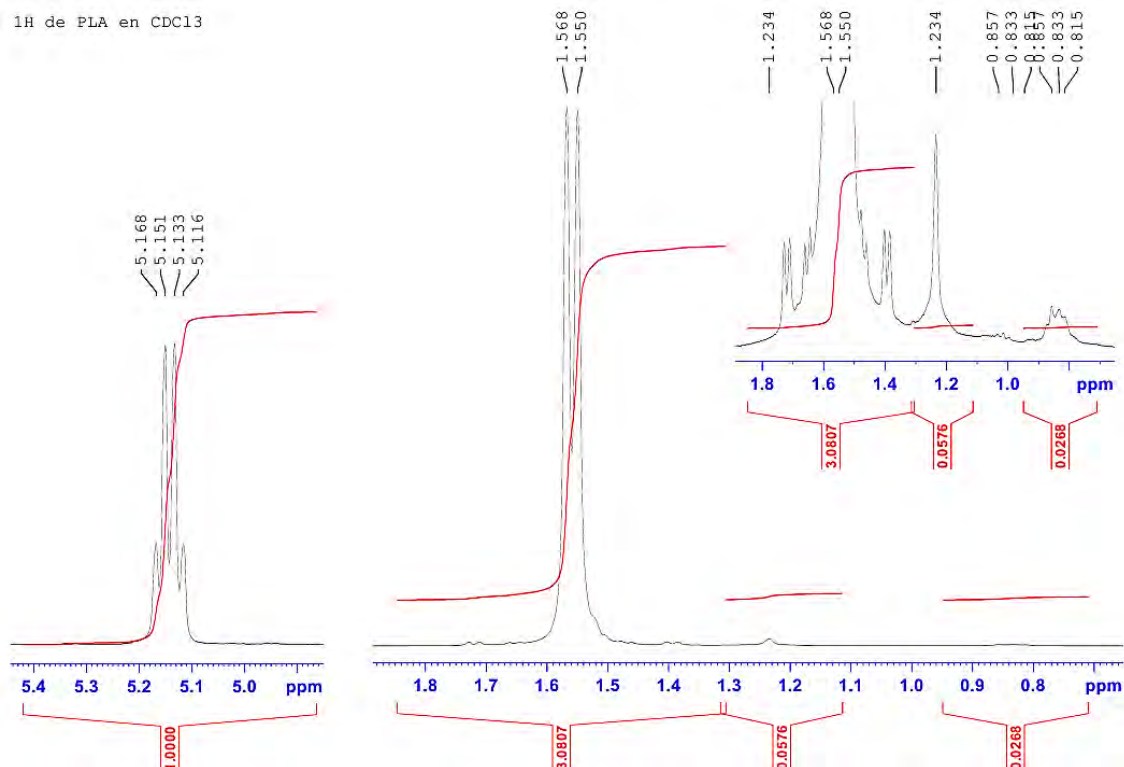
Tabla 13 Relación entre los protones (en rojo) que generan las señales en el estudio de NMR y su desplazamiento químico.

(Adaptada de <https://www.cpp.edu/~lsstarkey/courses/NMR/NMRshifts1H-general.pdf>)

Tipo de protón	Despl. Químico ( $\delta$ )	Tipo de protón	Despl. Químico ( $\delta$ )
$-\text{CH}_3$	0.7 – 1.3		9.5 – 10.0
$-\text{CH}_2-$	1.2 – 1.4		10.0 – 12.0
$-\text{CH}$	1.4 -1.7	$-\text{C}-\text{OH}$	1.0 – 6.0
	1.5 – 2.5	$\text{O}-\text{C}-\text{H}$	3.3 – 4.0
	2.1 – 2.6	$-\text{C}-\text{NH}_2$	1.5 – 4.0
$-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	2.5 – 3.1	$\text{Cl}-\text{C}-\text{H}$	3.0 – 4.0
$\text{Ar}-\text{H}$	6.0 – 9.0	$\text{Br}-\text{C}-\text{H}$	2.5 – 4.0
	4.5 – 6.5	$\text{I}-\text{C}-\text{H}$	2.0 – 4.0



Los resultados de nuestro estudio de  $^1\text{H}$  NMR, se muestran en la gráfica 7 y se sintetizan en la tabla 14.



Gráfica 7 Izq. Desplazamientos químicos obtenidos en nuestro análisis de NMR de  $^1\text{H}$ , Der. Espectro de PLA reportado en la literatura.

Tabla 14 Datos encontrados mediante el estudio  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

Desplazamiento químico (ppm)	Área integrada	Posible protón	Tacticidad
0.815	0.0268	$\text{CH}_3$	5.142
0.833			mrm (promedio)
0.857			
1.234	0.0576	$\text{C} - \text{OH}$	
1.550	3.0807	$\text{C} - \text{OH}$ , $\text{CH}_2$	5.154
1.568			mrr / rrm
5.116	1.0000	$\text{C} - \text{OH}$	
5.133			
5.151			
5.168			

Con este estudio podemos concluir lo siguiente:

- Se pudieron identificar los  $^1\text{H}$  asociados a las partes representativas de la molécula de PLLA ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{C} - \text{OH}$ ,  $\text{CH}$ ) logrando clasificar todos los picos observados en el estudio, con lo cual podemos determinar que si existe la componente PLLA en nuestro PLA, lo que le confiere su naturaleza semicristalina.
- Se logró calcular la integral de cada pico del estudio de  $^1\text{H}$  NMR, lo que servirá como antecedente para continuar un estudio posterior de este material.
- Encontramos dos formas de tacticidad principales, la correspondiente a la forma mrm y la perteneciente a la mrr(rrm), siendo la primera la más significativa, al encontrarse dentro de nuestros valores medidos, mientras que la contribución de mrm se obtiene únicamente al promediar todas las contribuciones dentro del intervalo de estudio. El tipo de tacticidad encontrada en este estudio muestra una resistencia de parte del PLA a ataque químico por impedimento estérico<sup>xxv</sup>.

## 5.5 Espectroscopia infrarroja.

Los primeros estudios sobre PLLA se centraron principalmente en la identificación de bandas características para investigar la cristalinidad del polímero. Dado que la espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) es sensible a la conformación y al entorno molecular local, esta técnica también se ha utilizado para dilucidar la estructura de los polímeros cristalinos. Más recientemente, la investigación sobre la caracterización de superficies PLLA utilizando FTIR ha sido un objeto de interés. EL potencial de la técnica de FTIR se puede resumir en tres posibles opciones, que son: análisis estructural, caracterización de superficies y estudios de cristalización, sin embargo por el tipo de datos obtenidos solo nos concentraremos en el análisis estructural.

### **Análisis estructural: Asignación de bandas**

El espectro de FTIR de un polímero en la región de la huella digital ( $\nu \leq 1500 \text{ cm}^{-1}$ ) se utiliza para identificar y caracterizar el material, ya que los picos observados se

---

<sup>xxv</sup> Este efecto se produce cuando el volumen ocupado por un grupo funcional o átomo en una molécula impide que otra parte de la misma reaccione. Aunque el efecto estérico sea un problema de vez en cuando, también puede ser una herramienta muy útil: a menudo es utilizado por los químicos para modificar el comportamiento de una molécula en una reacción química o detener ésta (*protección estérica*). El impedimento estérico, como ya se mencionó, también se atribuye a la velocidad a la que se llevan las reacciones. (De Wade, L.G. (2004). Química Orgánica. Pearson Educación)

pueden asignar a diferentes modos de vibración de grupos químicos que se pueden comparar con los espectros de FTIR reportados en la literatura.

Muchos autores (Mehta et al. 2005; Matsusaki et al. 2001; Gutierrez-Villarreal et al. 2008; Song et al. 2007; Khorasani et al. 2008; Kim et al. 2006; Ren et al. 2006) han utilizado la técnica de FTIR para caracterizar la estructura de materiales basados en PLA (desde nuevos materiales compuestos a mezclas de polímeros, copolímeros, al efecto de adición de plastificantes, solo por mencionar algunos) sintetizados por diferentes métodos para diferentes propósitos y establecer diferencias en el polímero obtenido en diferentes condiciones experimentales.

Varios autores utilizaron la espectroscopia FTIR para medir la concentración de lactida en una matriz de PLA, que utilizaron señales diferentes para normalizar la absorbancia de lactida característica, por lo que se puede emplear una metodología parecida en el caso de nuestros análisis (Braun et al. 2006; Degee et al. 1999; Jalabert et al. 2007; Kister et al. 1998).

No debemos olvidar la convención que existe para poder clasificar los modos vibracionales en las moléculas, esto se presenta en la Fig. 21.

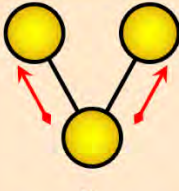
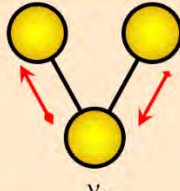
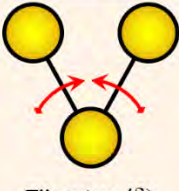
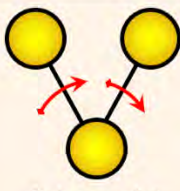
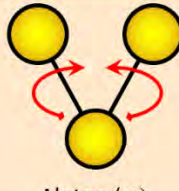
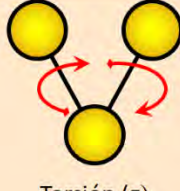
	Simétrico	Asimétrico
Estiramiento	 $\nu_s$	 $\nu_{As}$
Oscilación	 Tijereteo ( $\delta$ )	 Balanceo ( $\rho$ )
Rotación	 Aleteo ( $\omega$ )	 Torsión ( $\tau$ )

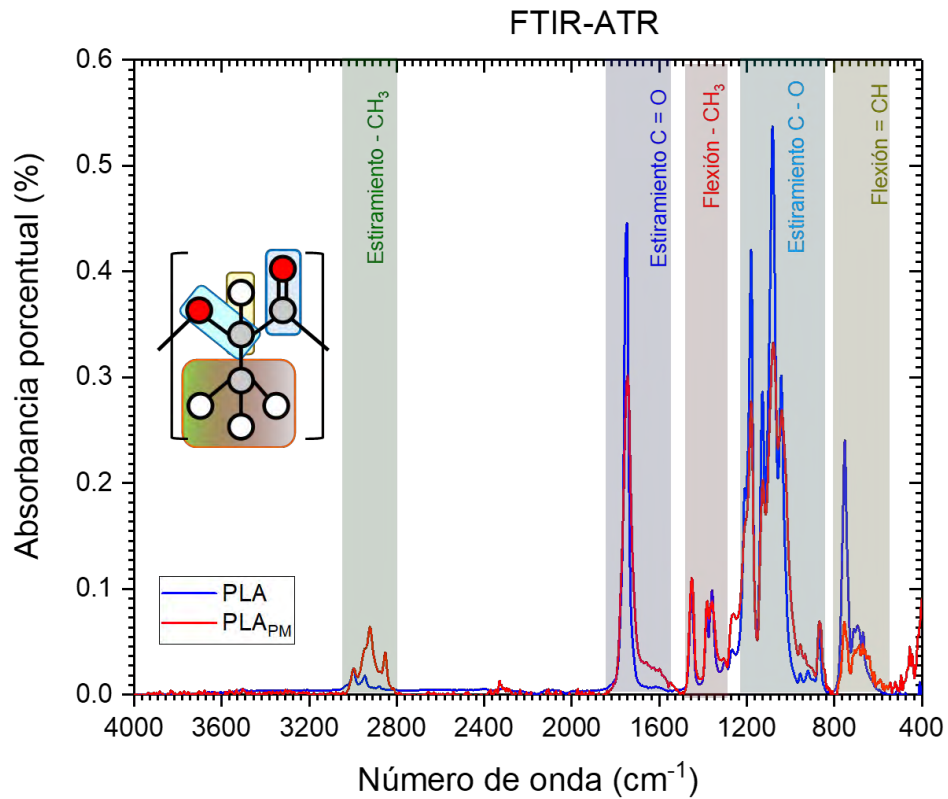
Fig. 21 Modos vibracionales presentes en las moléculas. Se incluye la notación para cada tipo de vibración.

Las asignaciones generales de banda para polímeros basados en PLA se presentan en la Tabla 15.

Tabla 15 Espectroscopia infrarroja del PLA. Se presentan datos tanto para el polímero amorfo como para el semicristalino. Obtenida de: (Auras et al. 2004; Kister et al. 1995, 1998; Gonçalves et al. 2010; Garlotta 2001).

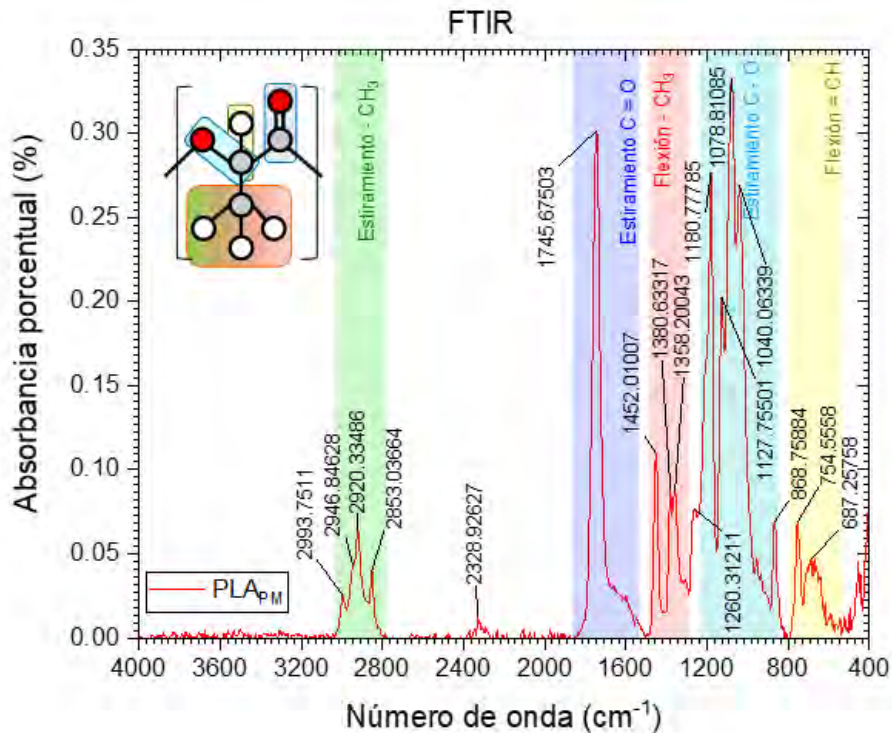
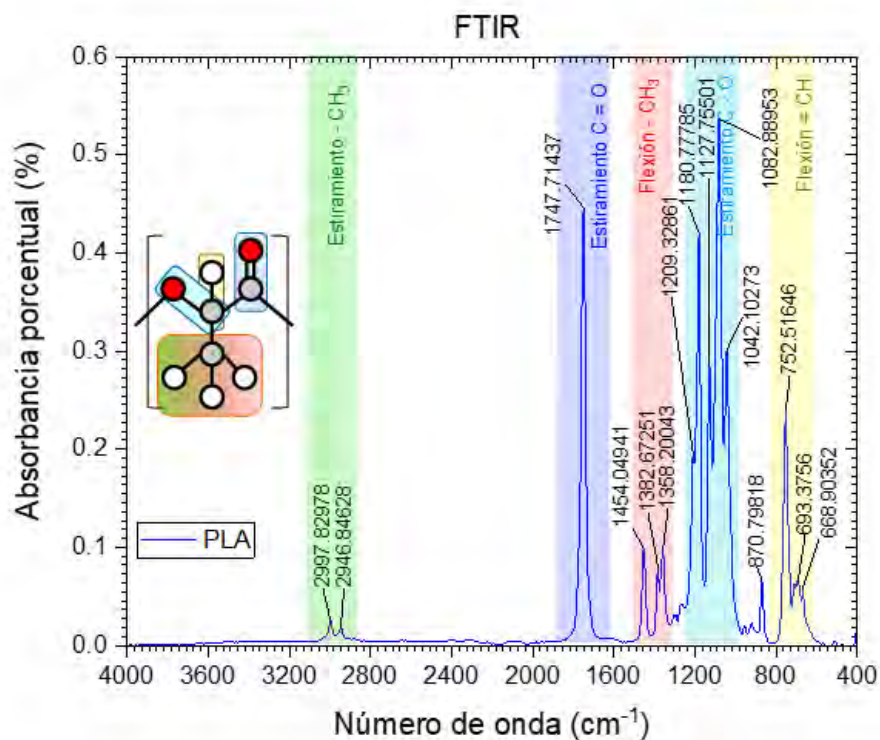
PLA Semicristalino		PLA Amorfo		Modo vibracional
$\nu$ (cm <sup>-1</sup> )	I	$\nu$ (cm <sup>-1</sup> )	I	
3571	*	-		$\nu$ OH (libre)
2997	**	2997	**	$\nu_{as}$ CH <sub>3</sub>
2947	**	2947	**	$\nu_s$ CH <sub>3</sub>
2882	*	2882	*	$\nu$ CH
1760	****	1760	****	$\nu$ (C = O)
1452	***	1452	***	$\delta_{as}$ CH <sub>3</sub>
1348, 1388	***	1385	***	$\delta_s$ CH <sub>3</sub>
1368	***	1365	***	$\delta_1$ CH + $\delta_s$ CH <sub>3</sub>
1360	***	1360	***	$\delta_1$ CH + $\delta_s$ CH <sub>3</sub>
1300, 1313	**	1300, 1315	**	$\delta_2$ CH
1270	*	1270	***	$\delta$ CH + $\nu$ COC
1215	****	1211	****	$\nu_{as}$ COC
1185	****	1185	****	$\nu_{as}$ COC
1130	***	1130	***	$r_{as}$ CH <sub>3</sub>
1090	****	1090	****	$\nu_s$ COC
1045	***	1045	***	$\nu$ C – CH <sub>3</sub>
960	*	960	Desnivel.	$r$ CH <sub>3</sub> + $\nu$ CC
925	*	-		$r$ CH <sub>3</sub> + $\nu$ CC
875	**	873	**	$\nu$ C – COO
760	***	760	***	$\delta$ C = O
740	Desnivel.	740	Desivel.	$\delta$ C = O
715	**	710	**	$\gamma$ C = O
695	**	690	**	$\gamma$ C = O
515	*	-		$\delta_1$ C – CH <sub>3</sub> + $\delta$ CCO
415	Desnivel.	415	Desnivel.	$\delta$ CCO
400	**	395	**	$\delta$ CCO
350	**	345	**	$\delta_2$ C – CH <sub>3</sub> + $\delta$ COC
300	**	300	**	$\delta_\sigma$ C – CH <sub>3</sub> + $\delta$ COC
295	Desnivel.	295	Desnivel.	deformación COC
240	**	240	**	$\tau$ CC

Los espectros obtenidos por la técnica de FTIR-ATR se muestran en la gráfica 8, en la cual se pudo identificar los modos vibracionales de la molécula de PLA. En particular si eran producto de estiramientos o flexiones. Se muestra una correlación entre las secciones de la molécula de PLA con sus modos vibracionales.



Gráfica 8 Espectro de IR del PLA después del proceso de fusión, en él se pueden observar las zonas típicas y asociadas a diferentes secciones de la molécula, así como cambios relativos a la estructura original.

En la gráfica 9 se muestra la identificación y clasificación de cada pico presente en el espectro.



Gráfica 9 Espectro de IR del PLA antes y después del proceso de manufactura, en él se pueden observar las zonas típicas y asociadas a diferentes secciones de la molécula, así como cambios relativos a la estructura original.



Para tener mayor facilidad de comparación entre los datos del PLA antes y después del proceso de manufactura, los resultados se han colocado en la Tabla 16

Tabla 16 Comparativa entre los picos de emisión antes y después del proceso térmico. En rojo se marcan las diferencias porcentuales negativas, mientras que en verde se localizan los incrementos en las zonas d emisión.

PLA		PLA <sub>PM</sub>		$\Delta\lambda$	$\Delta H$
Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Absorbancia (% normalizado)	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Absorbancia (% normalizado)	Diferencia en el número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Diferencia de alturas (%)
2997.8297	0.0249	2993.7511	0.0247	4.0786	<b>-0.803</b>
2946.8463	0.0179	2946.8463	0.0434	0.0000	<b>142.514</b>
-	-	2920.3349	0.0641	-	<b>-</b>
-	-	2853.0366	0.0399	-	<b>-</b>
-	-	2328.9263	0.0131	-	<b>-</b>
1747.7144	0.4455	1745.6750	0.3014	2.0394	<b>-32.346</b>
1454.0494	0.0900	1452.0101	0.1102	2.0393	<b>22.389</b>
1382.6725	0.0802	1380.6332	0.0885	2.0393	<b>10.349</b>
1358.2004	0.0980	1358.2004	0.0876	0.0000	<b>-10.582</b>
1209.3286	0.1952	1260.3121	0.0764	-50.9835	<b>-60.861</b>
1180.7779	0.4206	1180.7779	0.0277	0.0000	<b>-93.414</b>
1127.7550	0.2862	1127.7550	0.2025	0.0000	<b>-29.245</b>
1082.8895	0.5370	1078.8109	0.3327	4.0786	<b>-38.045</b>
1042.1027	0.3017	1040.0634	0.2692	2.0393	<b>-10.772</b>
870.7982	0.0670	868.7588	0.0691	2.0394	<b>3.134</b>
752.5165	0.2403	754.5558	0.0685	-2.0393	<b>-71.494</b>
693.3756	0.0656	687.2576	0.0476	6.1180	<b>-27.439</b>
668.9035	0.0591	670.9429	0.0434	-2.0394	<b>-26.565</b>

Dentro de las principales diferencias antes y después de la fusión está el incremento en la zona asociada al grupo CH<sub>3</sub>, lo que implica una mayor soltura de parte de las cadenas, lo cual la vuelve más reactiva, y por ende un mejor material para el cultivo celular, también se nota un incremento en los modos de vibración de los grupos CH, lo que nos habla de una movilidad mayor.

## 5.6 Caracterización Biológica

### 5.6.1 Viabilidad Celular.

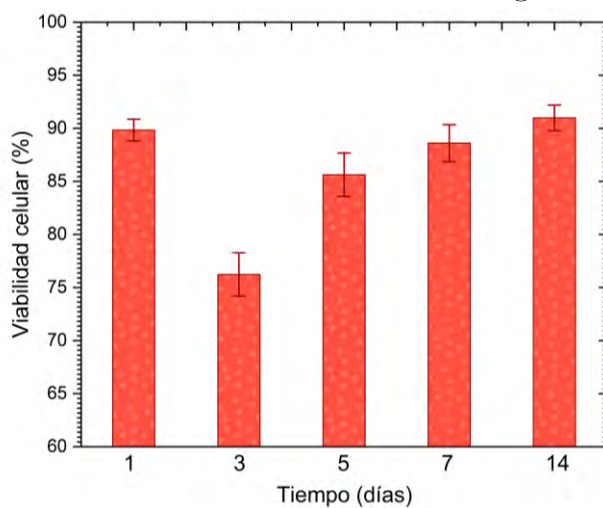
Para evaluar la viabilidad y proliferación celular se empleó la técnica de MTT, con fibroblastos gingivales humanos, en presencia de nuestro PLA procesado mediante la técnica de manufactura aditiva.

La técnica de MTT es una forma de medición colorimétrica del metabolismo mitocondrial de la célula, que tiene como base la reducción de la sal de MTT, como se muestra en la Fig. 22.



Fig. 22 Respuesta colorimétrica para diferentes cultivos celulares de fibroblastos gingivales humanos en el PLA después del proceso de manufactura aditiva. Izq. Andamios después de realizada la prueba de MTT. Der. Pozos empleados para la lectura en placa ELISA; en el recuadro se observa uno de los cristales de formazán.

Lo que se busca al realizar la prueba para la viabilidad celular es comparar el número de células que se encuentran vivas contra un control, que en nuestra caso fueron los pozos sin ningún material, ya que sabemos que estos no son citotóxicos y mantienen los cultivos celulares. Los resultados se muestran en la gráfica 10.



Gráfica 10 Viabilidad celular en diferentes días de cultivo. Se colocaron las barras de SD.

Se observó que los cultivos celulares se mantuvieron estables lo largo de la prueba, con un 85% de viabilidad, lo cual es indicativo de que nuestro material procesado no es citotóxico. El hecho de que no tengamos una viabilidad mayor puede deberse a la geometría del andamio, ya que la metabolización de la sal MTT se dará cuando las células ya se encuentren adheridas al sustrato y tengan energía suficiente para realizar el proceso metabólico en la mitocondria, es por ello que no logramos una viabilidad superior.

Esto nos permite concluir, que al menos en pruebas in vitro, no tendremos un efecto adverso en los cultivos realizados con HGF.

### 5.6.2 Proliferación Celular.

La proliferación celular nos indica el aumento en el número de células dentro de nuestros andamios, al asociar la respuesta metabólica de las mitocondrias que producen formazán con el número de células presentes. Por ello es conveniente recordar la típica respuesta para un cultivo.

El crecimiento celular consiste en tres fases que a continuación se describen y que se pueden localizar en la Fig. 23.

Cuando una población celular se encuentra en un nuevo ambiente con elevada concentración de nutrientes que le permite crecer necesita un periodo de adaptación a dicho ambiente. Esta primera fase se denomina fase de adaptación o fase lag y conlleva un lento crecimiento, donde las células se preparan para aumentar su tasa de crecimiento y una elevada tasa de biosíntesis de las proteínas necesarias para ello, como ribosomas, proteína de membrana etc.

La segunda fase de crecimiento se denomina fase exponencial, ya que se caracteriza por el crecimiento exponencial de las células. La velocidad de crecimiento durante esta fase se conoce como la tasa de crecimiento  $K$  y el tiempo que tarda cada célula en dividirse, como el tiempo de generación. Durante este proceso los nutrientes son metabolizados a la máxima velocidad posible, hasta que dichos nutrientes se agoten, dando paso a la siguiente fase.

La última fase de crecimiento se denomina fase estacionaria, en esta fase las células reducen drásticamente su actividad metabólica y comienzan a utilizar como fuente energética aquellas proteínas celulares no esenciales. La fase estacionaria es un periodo de transición desde el rápido crecimiento a un estado de respuesta a estrés en el metabolismo antioxidante y en el transporte de nutrientes.

Después de concluido el crecimiento ocurre la muerte celular, etapa que tiene múltiples motivos, desde la falta de nutrientes, hasta la muerte por confinamiento.

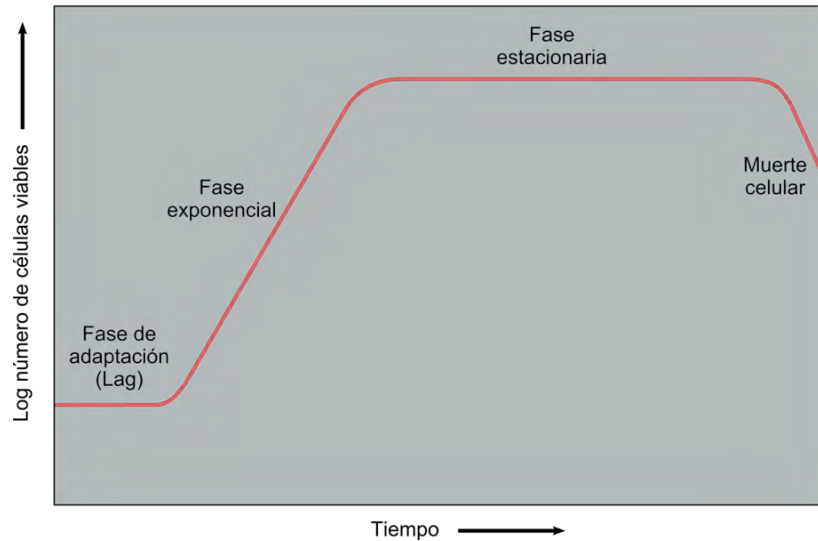
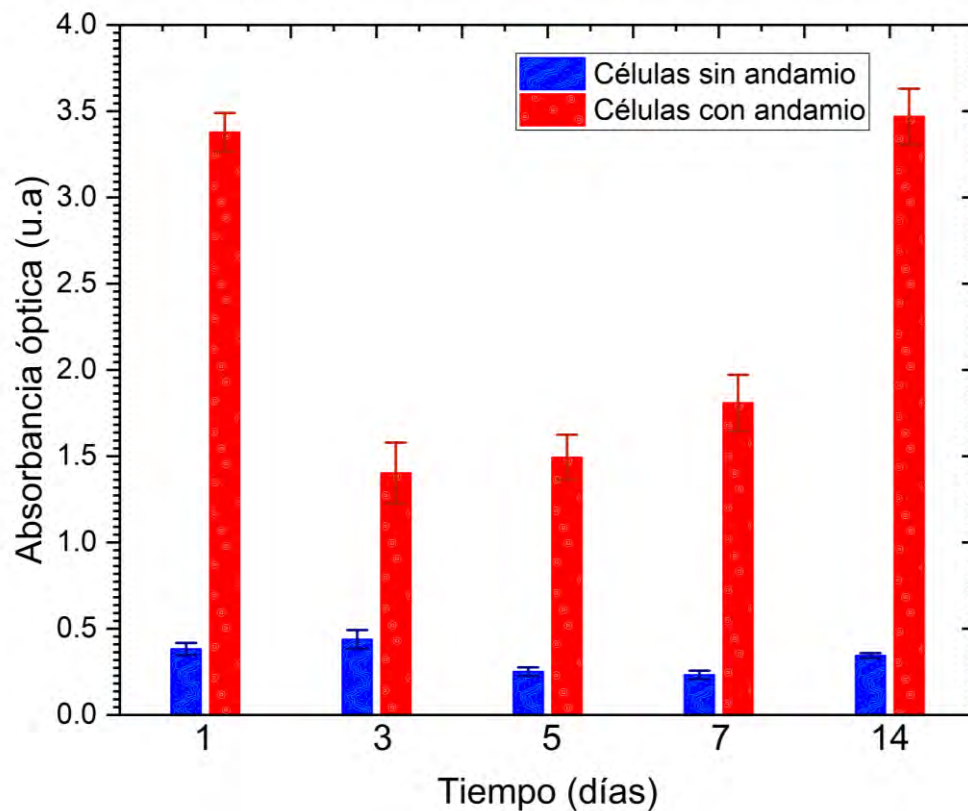


Fig. 23 Típicas fases de los cultivos celulares. (Adaptado de: <https://slideplayer.es/slide/1633144/>)

La respuesta biológica mostrada en la gráfica 11, nos muestra que nuestro material no solo no es citotóxico, sino, que además de poseer una típica respuesta al cultivo celular, es mejor que nuestro control, que en nuestro caso es el plato de cultivo sin el andamio, lo que es un indicativo de su potencial para el desarrollo de implantes.



Gráfica 11 Respuesta biológica de los andamios fabricados por medio de manufactura aditiva, empleando nuestro material de estudio. Se colocaron las barras de SD.



# CAPÍTULO VI

# CONCLUSIONES



## 6.- CONCLUSIONES

Dentro de este trabajo se seleccionaron diferentes propiedades del PLA para ser evaluadas y comprender sus modificaciones después de realizado el proceso de manufactura aditiva y con ello plantear la importancia de estos parámetros dentro del diseño y fabricación de implantes.

Las características medidas fueron las siguientes:

- **Peso molecular.** El peso molecular es un factor determinante para evaluar la velocidad de degradación de un implante, se midió mediante el empleo de GPC y se obtuvieron pesos ( $M_n$ ) de 72,531 Da y 65,988<sub>PM</sub> Da, antes y después del proceso de manufactura (PM), lo que nos indica una disminución del tamaño de las cadenas y de la aparición de subproductos.
- **Grado de cristalinidad.** Esto influirá la biocompatibilidad del material y que tanto demorara la biodegradación una vez que se coloque el implante, y lo que se obtuvo fue una cristalinidad de 22.38 % y 15.18<sub>PM</sub> %, lo que lo coloca dentro del intervalo aceptado para implantes que es de aproximadamente 30 %.
- **Zonas de reactividad.** Una vez que conocemos que partes de la molécula son las más propensas a reaccionar podemos conocer que tan fácilmente los tejidos podrán adherirse e integrar el implante, además que plantea la opción a futuro de funcionalizar la superficie. Dentro de los resultados obtenidos, por medio de la técnica de FTIR-ATR, tenemos la identificación de las bandas pertenecientes a los grupos funcionales CH, CH<sub>3</sub>, C = O, C - O - C, C - CH<sub>3</sub>, presentando un particular aumento en intensidad las asociadas al grupo CH<sub>3</sub> después del proceso de manufactura, lo que se asocia con la producción de desechos, sin embargo por su aumento porcentual no son significativos. Los espectros de FTIR además mostraron que después del proceso de manufactura, los grupos funcionales CH<sub>3</sub> y CH quedan más propensos a reaccionar, lo que nos indica que se podrían llegar a unir más fácilmente con moléculas señalizadoras de las células, lo que implicaría un incremento en la adhesión y proliferación celular.
- **Estructura química.** La resonancia magnética nuclear nos permite saber si en realidad solo tenemos PLA o también tenemos algunos aglutinantes, que causarían una variación en la respuesta del material, esto gracias a la comparación con patrones ya bien conocidos, obtenidos mediante la técnica de NMR de H. En nuestros resultados se logran identificar los desplazamientos químicos



pertenecientes al PLA, además de la tacticidad  $mrr$  lo que puede proteger al material de ataque químico por impedimento estérico.

- **Propiedades térmicas.** Dichas propiedades nos permiten conocer límites de estabilidad, ya que al emplear algún método en particular para esterilizar, se puede someter al material a condiciones de trabajo que lo degraden o modifiquen perjudicialmente. Así mismo identificamos las ventanas de trabajo para procesar nuestra materia prima sin que exista degradación.

Los estudios de TGA y DSC mostraron las siguientes propiedades del material, antes y después de la manufactura:

$$T_g = 60.76 \text{ }^\circ\text{C}, \quad T_c = 104.42 \text{ }^\circ\text{C}, \quad T_m = 170.30 \text{ }^\circ\text{C},$$
$$\Delta H_m = 31.42 \text{ J/g} \qquad \qquad \qquad \Delta H_c = 6.73 \text{ J/g};$$

$$\%X_c = 26.38$$

$$T_{gPM} = 60.51 \text{ }^\circ\text{C} \quad T_{cPM} = 109.38 \text{ }^\circ\text{C} \quad T_{mPM} = 169.85 \text{ }^\circ\text{C},$$

$$\Delta H_{mPM} = 30.82 \text{ J/g} \qquad \qquad \qquad \Delta H_{cPM} = 16.61 \text{ J/g};$$

$$\%X_{cPM} = 15.18$$

Con lo cual podemos concluir que nuestro material es estable dentro de nuestra zona de trabajo que se encuentra alrededor de los 200 °C, además se observó que la disminución de parte cristalina favorecerá la integración de un posible implante.

- **Respuesta biológica.** Nada podríamos hacer si él material no tuviera una adecuada respuesta biológica, ya que en ello radica que se pueda manufacturar un implante que sea biocompatible, y nuestro material no muestra toxicidad en las pruebas de viabilidad y la proliferación celular realizadas con fibroblastos gingivales humanos muestra una curva de crecimiento que supera la respuesta obtenida por los platos de cultivo, lo que nos sugiere que es un material biocompatible, lo que es una característica deseada.

Finalmente, con la serie de pruebas realizadas, podemos concluir dos cosas principales, una, es que el material antes y después de ser sometido al proceso de manufactura aditiva no sufre cambios significativos desde el punto de vista microscópico, y la segunda, es que con las propiedades encontradas en nuestro material después de haber sido sometido al proceso de manufactura, tenemos una respuesta biológica adecuada para su posible implementación en el diseño y fabricación de implantes.



# CAPÍTULO VII

# REFERENCIAS

## 7.- REFERENCIAS

### A

- F. **Achmad**, K. Yamane, S. Quan, K. Kokugan, *Chem. Eng. J.* 2009, 151, 342-350.
- A.C. **Albertsson**, I. K. Varma, *Adv. Polym. Sci.* 2002, 157, 1-40.
- C. **Alemán**, B. Lotz, J. Puiggali, *Macromolecules* 2001, 34 (14), 4795-4801
- J. M., **Anderson**, A. Rodriguez, and D. T. Chang. *Seminars in immunology* 20.2, 2008, 86-100. PMC. Web. 30 Sept. 2018.
- Y. **Amano**, M. Ota, K. Sekiguchi, Y. Shibukawa, S. Yamada, *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2004, 97, 155-163.
- C. G. **Ambrose**, T. O. Clanton, *Ann. Biomed. Eng.* 2004, 32, 171-177.
- M. **Aoki**, S. Miyamoto, K. Okamura, T. Yamashita, Y. Ikada, S. Matsuda, *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2004, 71B, 252-259.
- A. **Appelt**, M. Baier, *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 2007, 15, 378-380.
- M. **Arnoult**, E. Dargent, J. F. Mano, *Polymer* 2007, 48(4), 1012-1019.
- R. **Auras**, B. Harte, S. Selke, *Macromol. Biosci.* 4, 2004, 835-864.
- L. **Averous**, Polylactic acid: synthesis, properties and applications, in: N. Belgacem, A. Gandini (Eds.), *Monomers, Oligomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, Elsevier, Oxford, 2008, pp. 433-450.

### B

- S. **Barantian**, E.S. Hall, J.S. Lin, R. Xu, J. Runt, *Macromolecules* 34 (2001) 4857-4864.
- F. A. **Barber**. *Orthop. Special Ed.* 1998, 4, 1111-1117.
- H. **Benninga**, *A History of Lactic Acid Making*, Springer, New York, 1990.
- P. **Bordes**, E. Pollet, L. Averous, *Prog. Polym. Sci.* 2009, 34, 125-155.
- O.M. **Böstman**, *J Bone Joint Surg (Br)*, 1998, 80-B, 333-338.
- O.M. **Böstman**, H. Pihlajamäki, *Biomaterials* 2000, 21, 2615-2621.
- O.M. **Böstman**, H.K. Pihlajamäki, *Clin.Orthop.*2000, 216-227.
- M.A. **Burkhardt**, J. Waser, V. Milleret, et al. *Scientific Reports.* 2016; 6, 21071. doi:10.1038/srep21071.
- B. **Braun**, J. R. Dorgan, S. F. Dec, *Macromolecules* 2006, 39, 9302-9310.

### C

L. **Cao**, P.G. Duan, H.R. Wang, X.L. Li, F.L. Yuan, Z.Y. Fan, S.M. Li, J. Dong, *Int. J. Nanomed.* 7, 2012, 5881–5888.

**Cargill/NatureWorks** LLC Press Release, July 1, 2009, disponible en: <http://www.natureworksllc.com>.

W. H. **Carothers**, G. L. Dorough, F. J. van Natta. *J. Am. Chem. Soc.* 1932, 54, 761–772.

L. **Cartier**, T. Okihara, Y. Ikada, H. Tsuji, J. Puiggali, B. Lotz, *Polymer* 2000, 41(25), 8909–8919.

A. **Celli**, M. Scandola, *Polymer* 1992, 33, 2699–2703.

B.M. **Chamberlain**, M. Cheng, D. R. Moore, T. M. Ovitt, E. B. Lobkovsky, G. W. Coates, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123(14), 3229–3238.

M.H. **Chisholm**, S. S. Iyer, D. G. McCollum, M. Pagel, U. Werner- Zwanziger, *Macromolecules* 1999, 32(4), 963–973.

T. I. **Croll**, A. J. O’Connor, G. W. Stevens, J. J. Cooper-White, *Biomacromolecules* 2004, 5.

D. E. **Cutright**, E. E. Hunsuck, *J. Oral Surg.* 1971, 31, 134–139.

D. E. **Cutright**, E. E. Hunsuck, J. D. Beasley, *J. Oral Surg.* 1971, 29, 393–397.

## D

D. da **Silva**, M. Kaduri, M. Poley, O. Adir, N. Krinsky, J. Shainsky-Roitman, A. Schroeder, *Chemical Engineering Journal*, 340, 2018, 9-14.

P. **Degee**, P. Dubois, S. Jacobsen, H. G. Fritz, R. Jerome, *J. Polym. Sci. Polym. Chem.* 1999, 37, 2413–2420.

J.R. **Dorgan**, J.Jansen, M. P. Clayton, *J. Rheol.* 2005, 49, 607–619.

L. **Durselen**, G. Hehl, M. Simnacher, L. Kinzl, L. Claes, *Clin. Biomech.* 2001, 63, 222–228.

## E

B. **Ehmke**, S. G. Rüdiger, A. Hommens, H. Karch, T. F. Flemmig, *J. Clin. Periodontol.* 2003, 30, 368–374.

B. **Eling**, S. Gogolewski, A. J. Pennings, *Polymer* 1982, 23 (11), 1587–1593.

H. **Eufinger**, C. Rasche, J. Lehmbruck, M. Wehmöller, S. Weihe, I. Schmitz, C. Schiller, M. Epple, *Biomaterials* 2007, 28, 475–485.

## F

L. **Fambri**, C. Migliaresi., K. Kesenci, E. Piskin, Biodegradable polymers, in: R. Barbucci (Ed.), *Integrated Biomaterials Science*, Kluwer Plenum Publications, New York, 2002, Chapter 4, pp. 119–187.

**FDA Premarket Notification K993610**, US FDA, March 2, 2000.

R. **Felfel**, K.M. Zakir A. Parsons, C. Rudd, I. Ahmed. *Journal of Materials Science*, 2015, 50, 3942-3955.

E.W. **Fischer**, H.J. Sterzel, G. Wegner, *Kolloid-Z.Z. Polym.* 1973, 251, 980–990.

C. **Francois**, V. Michel, C. Stella, G. Pierre, *Polymer* 1983, 24, 53–59.

Y. **Furuhashi**, Y. Kimura, N. Yoshie, H. Yamane, *Polymer* 2006, 47, 5965–5972.

H. G. **French**, S. D. Cook, R. J. Jr. Haddad, *J. Biomed. Mater. Res.* 1984, 18, 817–828.

## G

D.**Garlotta**, *J. Polym. Environ.* 2001, 9(2), 63–84.

D. K. **Gilding**, in: D. F. Williams (Ed.), *Biocompatibility of Clinical Implant Materials*, CRC Press, Boca Raton, 1981, pp. 209–232.

C. M. B. **Gonçalves**, L. C. Tome´ J. A. P. Coutinho, I. M. Marrucho, *J. Appl. Polym. Sci.* 2011, 119(4), 2468-2475.

J. **Gottlow**, L. Laurell, S. Nyman, A. Hugosonm, N. Ravald, J. Fornell, G. Johard, *J. Dent. Res.* 1993, 72, 825.

D. W. **Grijpma**, A. J. Pennings, *Macromol. Chem. Phys.* 1994, 196, 1649–1663.

P. R. **Gruber**, E. S. Hall, J. J. Kolstad, M. L. Iwen, R. D. Benson, R. L. Borchardt, U.S. Patent 5,357,035, 1994.

P. R. **Gruber**, E. S. Hall, J. J. Kolstad, M. L. Iwen, R. D. Benson, R. L. Borchardt, U.S. Patent 6,326,458, 2001.

A.P. **Gupta**, V. Kumar, *Eur. Polym. J.* 2007, 43, 4053–4074.

B. **Gupta**, N. Revagade, J. Hilborn, *Prog. Polym. Sci.* 2007, 32, 455–482

M. H. **Gutierrez-Villarreal**, M. G. Ulloa-Hinojosa, J. G. Gaona-Lozano, *J. Appl. Polym. Sci.* 2008, 110, 163–169.

## H

“**Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices**”  
Publicado por Elsevier Inc.®, 2014, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-22805-3.00003-7>.

M.H. **Hartmann**, in: D.L. Kaplan (Ed.), *Biopolymers From Renewable Resources*, Springer-Verlag, Berlin 1998, pp. 367–411.

Y. **Hasegawa**, S. Sakano, T. Iwase, K. Warashina, J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater. 2002, 63, 679–685.

D.E. **Henton**, P. Gruber, J. Lunt, J. Randall, in: A.K. Mohanty, M. Misra, L.T. Drzal (Eds.), Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites, Taylor & Francis, F.L. Boca Raton 2005, pp. 527–577.

W. D. **Hovis**, B. W. Kaiser, J. T. Watson, R. W. Bucholz, J. Bone Joint Surg. Am. 2002, 84.

J. **Huang**, M.S. Lisowski, J. Runt, E.S. Hall, R.T. Kean, N. Buehler, J.S. Lin, Macromolecules 31 (1998) 2593–2599.

M. **Hutchinson**, J. Dorgan, D. Knauss, S. Hait, J. Polym. Environ. 2006, 14, 119–124.

S. H. **Hyon**, K. Jamshidi, Y. Ikada, Melt spinning of poly-L-lactide and hydrolysis of the fibre in vitro, in: S. W. Shalaby, A. S. Hoffmann, B. D. Ratner, T. A. Horbett (Eds.), Poly-mers as Biomaterials, Plenum Press, New York, 1984, pp. 51–65.

## I

Y. **Ikada**, K. Jamshidi, H. Tsuji, S.H. Hyon, Macromolecules 20 (1987) 904–906.

Y. **Ikada**, Seitzaizairyogaku (Japones), Sanjoyu-Tosho, Tokyo, 1994.

Y. **Ikada**, H. Tsuji, Macromol. Rapid Commun. 2000, 21, 117–132.

T. M. **Isotalo**, M. Talja, P. Hellström, I. Perttilä, T. Välimaa, P. Törmälä, T. L. J. Tammela, BJU Int. 2001, 88, 30–34.

T. M. **Isotalo**, J. P. Nuutinen, A. Vaajanen, P. M. Martikainen, M. Laurila, P. Törmälä, T. Talja, T. Tammela, BJU Int. 2006, 97, 856–859.

H. **Ito**, A. Minami, H. Tanino, T. Matsuno, Acta Orthop. Scand. 2002, 73, 60–64.

## J

M. **Jalabert**, C. Fraschini, R. E. Prud'Homme, J. Polym. Sci. Polym. Chem. 2007, 45, 1944–1955.

K. **Jamshidi**, S.H. Hyon, Y. Ikada, Polymer 1988, 29, 2229–2234.

M. **Jamshidian**, E. Arab-Tehrany, M. Imran, M. Jacquot, S. Desobry, Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 9 (2010) 552–571.

A. **Joukainen**, H. Pihlajamäki, E. A. Mäkelä, N. Ashammakhi, J. Viljanen, H. Päätiälä, M. Kellomäki, P. Törmälä, P. Rokkanen, J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 2000, 11, 1411–1428.

A. **Joukainen**, E. K. Partio, P. Waris, J. Joukainen, H. Kröger, P. Törmälä, P. Rokkanen, J. Orthop. Sci. 2007, 12, 28–34.



Y. K. **Jung**, T. Y. Kim, S. J. Park, S. Y. Lee, *Biotechnol. Bioeng.* 2010, 105, 161–171.

## K

C.T. **Kao**, C.C. Lin, Y.W. Chen, C.H. Yeh, H.Y. Fang, M.Y. Shie, *Mater. Sci. Eng. C* 56, 2015, 165–173.

M. **Karlheinz**. "*Hydroxycarboxylic Acids, Aliphatic*". Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 2000. doi:10.1002/14356007.a13\_507. ISBN 3527306730.

S. **Kempers**, H.I. Katz, R. Wildnauer, B. Green. "An evaluation of the effect of an alpha hydroxy acid-blend skin cream in the cosmetic improvement of symptoms of moderate to severe xerosis, epidermolytic hyperkeratosis, and ichthyosis". *Cutis* (June 1998). 61 (6): 347–350. PMID 9640557.

M. C. **Kennady**, M. R. Tucker, G. E. Lester, M. J. Buckley, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1989, 18, 170–174.

M. T. **Khorasani**, H. Mirzadeh, S. Irani, *Radiat. Phys. Chem.* 2008, 77, 280–287.

Y. S. **Kim**, E. S. Gil, T. L. Lowe, *Macromolecules* 2006, 39, 7805–7811.

Y. **Kinoshita**, S. Yokoya, T. Amagasa, et al. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2003, 32 (Suppl. 1), 117.

G. **Kister**, G. Cassanas, M. Vert, B. Pauvert, A. Terol, *J. Raman Spectrosc.* 1995, 26, 307–311.

G. **Kister**, G. Cassanas, M. Vert, *Polymer* 1998, 39, 267–273.

H. **Kobayashi**, Y. Kawamoto, S. Hara, N. Tomizawa, D. F. Gibbons, C. L. VanKampen, H. V. Mendenhall, 4th Japan International SAMPE Symposium, 1995.

J. J. **Kolstad**, *J. Appl. Polym. Sci.* 1996, 62, 1079–1091.

S. **Konan**, F. S. Haddad, *The Knee* 2009, 16, 6–13.

J. **Kopecek**, K. Ulbrich, *Prog. Polym. Sci.* 1983, 9,1.

R. K. **Kulkarni**, K. C. Pani, C. Neuman, F. Leonard, *Arch. Surg.* 1966, 93, 839–843.

R. K. **Kulkarni**, E. G. Moore, A. F. Hegyeli, F. Leonard, *J. Biomed. Mater. Res.* 1971, 5, 169–171.

## L

S. **Laaksovirta**, T. Isotalo, M. Talja, T. Välimaa, P. Törmälä, T. L. Tammela, *J. Endourol.* 2002, 16, 311–315.

P. **Laine**, R. Kontio, C. Lindqvist, R. Suuronen, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2004, 33, 240–244.

O. **Laitinen**, P. Törmälä, R. Taurio, K. Skutnabb, K. Saarelainen, T. Iivonen, S. Vainionpää, *Biomaterials* 1992, 13, 1012–1016.

- B. **Lembeck**, N. Wülker, *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 2005, 13, 283–286.
- S.S. **Liao**, F.Z. Cui, W. Zhang, Q.L. Feng, *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 69, 2004, 158–165.
- L. T. **Lim**, R. Auras, M. Rubino, *Prog. Polym. Sci.* 2008, 33, 820–852.
- G.L. **Loomis**, J.R. Murdoch, K.H. Gardner, *Polym. Prepr.* 1990, 31(2), 55.

## M

- K. **Majerska**, A. Duda, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126(4), 1026–1027.
- M. **Matsusaki**, A. Kishida, N. Stainton, C. W. G. Ansell, M. Akashi, *J. Appl. Polym. Sci.* 2001, 82, 2357–2364.
- Y. **Matsusue**, T. Yamamuro, M. Oka, Y. Shikinami, S. H. Hyon, Y. Ikada, *J. Biomed. Mater. Res.* 1992, 26, 1553–1567.
- P. **Maurer**, S. Holwef, W. D. Knoll, J. Schubert, *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2002, 40, 76–83.
- I.C. **McNeil**, H.A. Leiper, *Polym. Degrad. Stabil.* 1985, 11, 309–326.
- I.C. **McNeil**, H.A. Leiper, *Polym. Degrad. Stabil.* 1985, 11, 267–285.
- R. **Mehta**, V. Kumar, H. Bhunia, S.N. Upadhyay, *J. Macromol. Sci. Polym. Rev. C45* (2005) 325–349.
- D. R. **Mest**, G. Humble, *Antivir. Ther.* 2004, 9, L36.
- J.C. **Middleton**, A.J. Tipton, *Biomaterials*, 2000, 21, 2335–2346.
- E.J. **Munson**, L. K. Carlson, J. E. Jorvig, M. T. Zell, J. S. Abbott, M. A. Hillmyer, Determining stereodeflect locations in polylactide using solid-state NMR spectroscopy, in: *Abstracts of Papers, 225th ACS National Meeting, New Orleans, LA, 2003, POLY-685.*

## N

- Y. **Nakano**, Y. Hori, A. Sato, T. Watanabe, T. Takada, H. Goto, A. Inagaki, Y. Ikada, S. Satomi, *Ann. Vasc. Surg.* 2009, 23, 231–238.
- R. **Narayan**, Drivers & rationale for use of biobased materials based on life cycle assessment (LCA), GPC 2004 Paper Abstract #18, Michigan State University, 2004.
- J. **Nieuwenhuis**, *Clin. Mater.* 1992, 10, 59–67.
- N. **Nomura**, R. Ishii, M. Akakura, K. Aoi, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124(21), 5938–5939.
- P. **Nordström**, H. Pihlajamäki, T. Toivonen, P. Törmälä, P. Rokkanen, *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2001, 382, 247–257.

## O

- Y. **Oba**, A. Yasue, K. Kaneko, R. Uchida, A. Shioyasono, K. Moriyama, *Orthodontic Waves* 2008, 67, 1–8.
- M. **Ochi**, N. Adachi, H. Nobuto, S. Yanada, Y. Ito, M. Agung, *Artif. Organs* 2004, 28, 28–32.
- M. **Okada**, *Prog. Polym. Sci.* 2002, 27, 87–133.
- T.M. **Ovitt**, G.W. Coates, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 4072–4073.
- T.M. **Ovitt**, G.W. Coates, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 38 (2000) 4686–4692
- T. M. **Ovitt**, G. W. Coates, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124(7), 1316–1326.

## P

- P. **Pan**, Y. Inoue, *Prog. Polym. Sci.* 2009, 34, 605–640.
- K.I. **Park**, M.A. Xanthos, *Polym. Degrad. Stabil.* 2009, 94, 834–844.
- G. **Perego**, G.D. Cella, C. Bastioli, *J. Appl. Polym. Sci.* 59, 1996, 37–43.
- W. S. **Pietrzak**. *Tissue Eng.* 2000, 6, 425–433.
- PLA Polymer**—A Product From Nature Works, Injection Molding Process Guide, Cargill Dow LLC, pp. 1–2.
- PLA Polymer**—A Product From Nature Works, Injection Molding Process Guide, Cargill Dow LLC, pp. 1–2.
- PLA Polymer 6200 D**—A Product From Nature Works, Continuous Filament and Staple Fibers, Cargill Dow LLC, pp. 1–2.
- PLA Polymer 6700 D**—A Product From Nature Works, High Strength Monofilament, Cargill Dow LLC, pp. 1–2
- PLA Polymer 4041D**—A Product From Nature Works, Biaxially Oriented Films—General Purpose, Cargill Dow LLC, pp. 1–2.
- PLA Polymer 4040D**—A Product From Nature Works, Biaxially Oriented Films—General Purpose, Cargill Dow LLC, pp. 1–2.
- PLA Polymer 4031D**—A Product From Nature Works, Biaxially Oriented Films—High Heat, Cargill Dow LLC, pp. 1–2.
- PLA Polymer 1100D**—A Product From Nature Works, Extrusion Coating Product Information, Cargill Dow LLC, pp. 1–2.
- PLA (96:4 L:D ratio content)** produced by NatureWorks Co., technical data sheet, [www.natureworkslc.com](http://www.natureworkslc.com).
- K. R. **Postlethwaite**, J. G. Philips, S. Booth, J. Shaw, A. Slater, *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1989, 27, 375–378.

- J. **Puiggali**, Y. Ikada, H. Tsuji, L. Cartier, T. Okihara, B. Lotz, *Polymer* 2000, 41(25), 8921–8930.
- M. **Pyda**, R. C. Bopp, B. Wunderlich, *J. Chem. Thermodyn.* 2004, 36, 731–742.

## R

- C.P. **Radano**, G.L. Baker, M.R. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 1552–1553.
- G. **Rechlin**, J. P. Gardella, M. Boubilil, *J. Parodontol. (Francés)* 1991, 10, 289–293.
- Z. J. **Ren**, L. S. Dong, Y. M. Yang, *J. Appl. Polym. Sci.* 2006, 101, 1583–1590.
- P. U. **Rokkanen**, O. Böstman, E. Hirvensalo, E. A. Mäkelä, E. K. Partio, H. Pātiälä, S. Vainionpää, K. Vihtonen, P. Törmälä, *Biomaterials* 2000, 21, 2607–2613.
- S.G. **Rüdiger**, B. Ehmke, A. Hommens, H. Karch, T. F. Flemmig, *J. Clin. Periodontol.* 2003, 30, 19–25.

## S

- Y. **Saito**, K. Minami, M. Kobayashi, Y. Nakao, H. Omiya, H. Imamura, N. Sakaida, A. Okamura, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2002, 123, 161–167.
- J.R. **Sarasua**, R.E. Prudhomme, M. Wisniewski, A. Le Borgne, N. Spassky, *Macromolecules* 31 (1998) 3895–3905.
- J. R. **Sarasua**, A. L. Arraiza, P. Balerdi, I. Maiza, *Polym. Eng. Sci.* 2005, 45, 745–753.
- S. **Sasaki**, T. Asakura, *Macromolecules* 2003, 36(22), 8385–8390.
- D. **Sawai**, K. Takahashi, T. Imamura, K. Nakamura, T. Kanamoto, S. H. Hyon, *J. Polym. Sci. Polym. Phys.* 2002, 40, 95–104.
- D. **Sawai**, K. Takahashi, A. Sasashige, T. Kanamoto, S. H. Hyon, *Macromolecules* 2003, 36(10), 3601–3605.
- D. **Sawai**, T. Yokoyama, T. Kanamoto, M. Sungil, S. H. Hyon, L. P. Myasnikova, *Macromol. Symp.* 2006, 242, 93–103.
- C. **Schiller**, C. Rasche, M. Wehmöller, F. Becjmann, H. Eufimger, M. Epple, *Biomaterials* 2004, 25, 1239–1247.
- H. **Schliephake**, H.A. Weich, C. Dullin, R. Gruber, S. Frahse, *Biomaterials* 29, 2008, 103–110
- T. **Serra**, J.A. Planell, M. Navarro, *Acta Biomater.* 9, 2013, 5521–5530.
- N.B. **Seymour**, C.H.E. Carraher, *Polymer Chemistry*, fifth ed. Marcel Dekker, Basel, 2000.
- R. G. **Sinclair**, E. S. Lipinsky, U.S. Patent PATN 5,502,158, 1996 (to Ecopol LLC).
- A. **Sodergard**, M. Stolt, *Prog. Polym. Sci.* 27 (2002) 1123–1163.
- W. H. **Song**, Z. Zheng, W. L. Tang, X. L. Wang, *Polymer* 2007, 48, 3658–3663.

P. **Stoll**, R. Wächter, N. Hodapp, W. Schilli, J. Craniomaxillofac. Surg. 1990, 18, 361–366.

J. **Suganuma**, H. Alexander, J. Appl. Biomater. 1993, 4, 13–27.

K. **Sugimoto**, Y. Takakura, Y. Tanaka, Foot Ankle Int. 2003, 24, 372–373.

T. **Suzuki**, H. Kawamura, T. Kasahara, H. Nagasaka, J. Oral Maxillofac. Surg. 2004, 62, 919–924.

## T

K. **Takahashi**, D. Sawai, T. Yokoyama, T. Kanamoto, S. H. Hyon, Polymer 2004, 45(14), 4969–4976.

T. **Takizawa**, S. Akizuki, H. Horiuchi, Y. Yasukawa, Arthroscopy 1998, 14, 329–330.

Z. **Tang**, X. Chen, Y. Yang, X. Pang, J. Sun, X. Zhang, X. Jing, J. Polym. Sci. Part A 2004, 42(23), 5974–5982.

K.A.M. **Thakur**, R. T. Kean, E. S. Hall, J. J. Kolstad, T. A. Lindgren, M. A. Doscotch, J. I. Siepmann, E. J. Munson, Macromolecules 1997, 30(8), 2422–2428.

K.A.M. **Thakur**, R. T. Kean, M. T. Zell, B. E. Padden, E. J. Munson, Chem. Commun. 1998, 1913–1914.

K.A.M. **Thakur**, R. T. Kean, E. S. Hall, J. J. Kolstad, E. J. Munson, Int. J. Polym. Anal. Charact. 1998, 4(5), 379–391.

K.A.M. **Thakur**, R. T. Kean, E. S. Hall, J. J. Kolstad, E. J. Munson, Macromolecules 1998, 31(5), 1487–1494.

H. **Tsuji**, Y. Ikada, Macromol. Chem. Phys. 1996, 197, 3483–3499.

H. **Tsuji**, Y. Ikada, Polymer 40 (1999) 6699–6708.

H. **Tsuji**, R. Okino, H. Daimon, K. Fujie, J. Appl. Polym. Sci. 2005, 99, 2245–2252.

H. **Tsuji**, Poly (lactic acid) (Japanese), Yoneda Shuppan, Chiba, 2008.

H. **Tsusj**, Polylactide, in: Y. Doi, A. Steinbuchel (Eds.), Biopolymers. Polyesters III. Applications and Commercial Products, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2002, Chapter 5, pp. 129–177.

D. **Träger**, K. Pohle, W. Tschirner, Arch. Orthop. Trauma Surg. 1995, 114, 278–

## U

H. **Ueda**, Y. Tabata, Adv. Drug Deliv. Rev. 2003, 55, 501–518.

H. K. **Uhthoff**, M. Finnegan, J. Bone Joint Surg. 1983, 65-B, 66–71.

H. **Urayama**, S. I. Moon, Y. Kimura, Macromol. Mater. Eng. 2003, 288, 137–143.

## V

A. R. **Vaccaro**, K. Singh, R. Haid, S. Kitchel, P. Wuisman, W. Taylor, C. Branch, S. Garfin, *Spine J.* 2003, 3, 227–237.

K. **Van de Velde**, P. Kiekens, *Polym. Test.*, 2002, 21, 433–442.

M. **van Dijk**, D.C. Tunc, T. H. Smit, P. Higham, E. H. Burger, P.I.J.M. Wuisman, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* 2002, 63, 752–759.

## W

D. R. **Witzke**, Introduction to properties, engineering, and prospects of polylactide polymers, Ph.D. thesis, Department of Chemical Engineering, Michigan State University, East Lansing, MI, 1997.

A. **Werner**, A. Wild, A. Ilg, R. Krauspe, *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 2002, 10, 30–32.

## Y

H. **Yamane**, K. Sasai, *Polymer* 44 (2003) 2569–2575.

J. **Yang**, G. Shi, J. Bei, S. Wang, Y. Cao, Q. Shang, G. Yang, W. Wang, *J. Biomed. Mater. Res.* 62 (2002) 438–446.

M. J. **Yaszemski**, R. G. Payne, W. C. Hayes, R. Langer, A. G. Mikos, *Biomaterials* 1996, 17, 175–185.

N. **Yoshino**, S. Takai, Y. Watanabe, K. Kamata, Y. Hirasawa, *Foot Ankle Int.* 1998, 19, 634–637.

## Z

M. T. **Zell**, B. E. Padden, A. J. Paterick, M. A. Hillmyer, R. T. Kean, K. A. M. Thakur, E. J. Munson, *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120(48), 12672–12673.

M. **Zilberman**, K. D. Nelson, R. C. Eberhart, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* 2005, 74B, 792–799.