

DESARROLLO EXPERIMENTAL PARA LA OBTENCIÓN DE UNA MALLA POROSA MEDIANTE IMPRESIÓN 3D A PARTIR DE POLICAPROLACTONA

María Isabel Martínez Pérez¹; José Peñaranda-Armbrrecht²

¹Aprendiz de la línea de biotecnología-tecnoacademia regional valle-ASTIN

²Facilitador de la línea de biotecnología-Tecnoacademia regional Valle-ASTIN
jpenaranda@sena.edu.co

Resumen

La presente investigación se enfoca en desarrollar una malla molecular tridimensional de policaprolactona mediante impresión 3D para ser utilizada en regeneración de piel, sin presentar propiedades citotóxicas. Para conseguir esto, se realizó la síntesis de la policaprolactona (PCL) mediante el método de polimerización por apertura de anillo (ROP) durante un tiempo de 48 h a 140 °C y bajo agitación constante, esto con el objeto de garantizar que la PCL no posea propiedades citotóxicas. La malla se desarrollará mediante la extrusión de la PCL y posteriormente se imprimirá en 3D a 70 °C, generando hilos de 2.74 mm de grosor por lo que permitirá el crecimiento y proliferación de queratinocitos y fibroblastos, para que una vez implantada en la piel lesionada producto de laceraciones, quemaduras, heridas, etc. ayude a que el proceso de cicatrización sea menos doloroso y lento.

Palabras Clave: fibroblastos, policaprolactona, regeneración de piel, malla molecular.

Abstract

This research focuses on the development of a three-dimensional molecular mesh of polycaprolactone through 3D printing to be used in skin regeneration, without exhibiting cytotoxic properties. To achieve this, the synthesis of polycaprolactone (PCL) was carried out by the ring opening polymerization method (ROP) for a time of 48 h at 140 °C and under constant stirring. The PCL is synthesized to guarantee that the PCL does not possess cytotoxic properties. The mesh will be developed by extruding the PCL and subsequently printed with a 3D printer at 70 °C, generating 2.74 mm thick threads, which will allow the growth and proliferation of keratinocytes and fibroblasts, so that once implanted in the injured skin resulting from physical injuries, burns, traffic accidents help to make the healing process less painful and slow.

Keywords: fibroblasts, polycaprolactone, skin regeneration, molecular mesh.

Introducción

La piel es el órgano más grande del ser humano; tiene como característica principal proteger al cuerpo de diversos daños causados por la radiación solar, polvo, quemaduras, raspones, entre otros. Adicionalmente, actúa como una barrera semipermeable permitiendo la entrada de algunos compuestos como agua, cremas, apósitos y dejando salir otros como sudor, todo esto lo hace con el fin de mantener la integridad del cuerpo del ser humano (Adeli-Sardou, 2019).

Por lo que, en caso de algún accidente que represente compromiso de piel, su curación es muy tediosa; ya que se obtiene como resultado un tejido cicatricial muy profundo y estéticamente desfavorable,

causando en las personas que lo padecen estrés o en muchos casos problemas psicológicos. El tejido de piel nunca se regenera completamente, sino que es reparado mediante la producción de tejido fibroso conectivo hecho con células llamadas fibroblastos de piel humana o queratinocitos, cuya única función es tapar estas heridas por medio de una cicatriz. Estas células no poseen ninguna funcionalidad que pueda reemplazar el órgano o tejido dañado conllevando así a un posible deterioro funcional (Gómez, 2017).

Por lo descrito anteriormente, se hace indispensable la fabricación de apósitos de piel con biopolímeros

que le permitan lograr una cicatrización mínima o por qué no, una regeneración perfecta; pero para lograr esto, es necesario que el apósito pueda proporcionar una cierta humectabilidad a la herida para prevenir la infección e inflamación, por lo que es indispensable proteger la piel del medioambiente o del exterior. El material del apósito es la policaprolactona (PCL), esta debe ser biodegradable y biocompatible para promover el crecimiento celular y una homeostasis rápida.

Por este motivo, se han creado nuevos desarrollos tecnológicos que mejoran la salud y la calidad de vida mediante la creación de biomateriales, los cuales deben tener propiedades de biocompatibilidad con el organismo humano (no generar rechazo) y al mismo tiempo no ser citotóxicos y presentar una buena resistencia mecánica (Mano, 2014).

Por lo anterior, es obligatorio que se desarrollen materiales poliméricos en el campo de la medicina, con el fin de aportar una solución a problemas reconstructivos por medio de la implantación de estos biomateriales en el organismo, tales como una malla molecular porosa fabricada de ϵ -caprolactona, todos estos materiales deben garantizar una determinada vida media (Albertsson, 2003). Esta malla puede ser una herramienta fundamental para ayudar a la proliferación de fibroblastos o queratocitos de piel humana. Las mallas hechas de polímeros biocompatibles y biodegradables se utilizan para ayudar a la curación de lesiones cutáneas profundas (Gómez, 2017).

En este trabajo de investigación se pretende desarrollar, mediante impresión 3D, una malla molecular de policaprolactona que permita la proliferación de queratinocitos sin exhibir propiedades citotóxicas. También, se busca en un futuro que esta malla sea susceptible a ser implantada en la piel en un modelo murino y realizarle cortes histológicos para ver el grado de asociación celular.

1. Metodología

Síntesis de la policaprolactona

La síntesis de la PCL se llevó a cabo agregando 120 μL del iniciador octoato de estaño $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ a un balón de fondo redondo de 200 mL previamente lavado, secado y puesto en baño de arena. Se insertó el agitador magnético durante 2 minutos en la mezcla

y se adicionaron poco a poco la caprolactona. El resultado se dejó bajo calentamiento a 140 $^{\circ}\text{C}$ y agitación constante durante 24 horas, además, se cubrió completamente con papel aluminio como se muestra en la figura 1.



Figura 1: Montaje experimental de la PCL

Una vez cumplidas las 48 horas se procedió a apagar la estufa, se retiró el papel aluminio y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Por último, se aisló el balón de la plancha de calentamiento y se observó un sólido blanco duro dentro del balón como se aprecia en la figura 2.



Figura 2: PCL sintetizada por ROP

La policaprolactona se disolvió en diclorometano (DCM) a una temperatura de 50 $^{\circ}\text{C}$, una vez disuelta en su totalidad, se procedió a precipitarla con metanol en caliente para sacarla del balón, el producto final se filtró al vacío, se puso en horno a 45 $^{\circ}\text{C}$ y finalmente la PCL se recolectó en cajas Petri, como se muestra en la figura 3.



Figura 3: PCL sintetizada y sacada del balón de reacción

Caracterización de la PCL sintetizada

A la PCL sintetizada se le realizó la caracterización molecular por medio de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), también se llevaron a cabo pruebas térmicas con Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) y un análisis termogravimétrico (TGA) para ver su comportamiento de degradación en el tiempo.

Modelamientos en *software Tinkercad* de la malla de PCL

Antes de imprimir la malla molecular, se le realizó un modelamiento en *tinkercad* con sus respectivos diámetros, como se muestra en la figura 4.

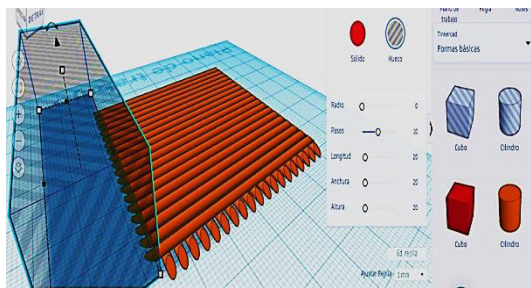


Figura 4: Desarrollo del prototipo de la malla por Tinkercad

Una vez realizado el prototipo se procedió a meter la PCL sintetizada en una extrusora con el objetivo de obtener un hilo de 2.75 mm compatible con aquel que utiliza la impresora 3D,

El equipo de extrusión se muestra en la figura 5.



Figura 5: Equipo de extrusión (ubicado en SENA, Cali, centro ASTIN).

Impresión 3D de la malla de PCL

La impresión de la malla de PCL se llevó a cabo en una impresora marca DREMEL, a una temperatura de 230 °C con una velocidad 100 mm/s, se ilustra en la figura 6.

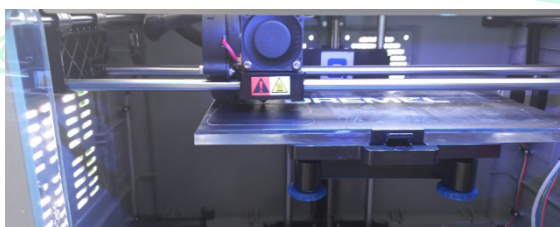


Figura 6: Impresión de la malla de PCL.

Pruebas de citotoxicidad

Las pruebas de citotoxicidad se realizaron por medio del kit de roche, el cual es un método colorimétrico que es usado para medir la cantidad de Lactato deshidrogenasa (LDH) que es liberada durante la apoptosis o muerte celular. Se introdujeron fragmentos circulares de la malla de PCL a este kit sumergido en una caja de 24 pozos, como se ilustra en la figura 7.



Figura 7: Pruebas de citotoxicidad de la malla de PCL.

La citotoxicidad se determinó mediante cálculos la cantidad de LDH liberada, si esta es menor del 23% el material no presenta citotoxicidad y puede ser utilizado en aplicaciones médicas.

Resultados preliminares

Hasta la fecha se ha realizado la síntesis de la PCL con un excelente rendimiento, de los 500 g de caprolactona que se pesaron, se recolectaron 417 g de PCL ya precipitada, dando un porcentaje de rendimiento de 83.4%. Lo anterior se comprueba con la figura 8:

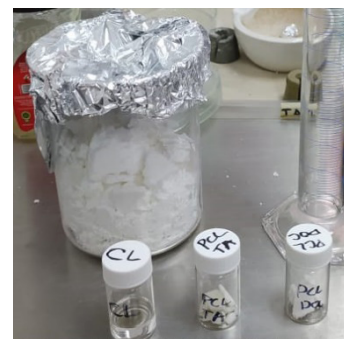


Figura 8: PCL obtenida

Caracterización FT-IR de la PCL obtenida por ROP.

La caracterización estructural de la PCL sintetizada

por ROP se realizó por medio de la técnica de FT-IR obteniendo un espectro como el que se ilustra en la Figura 9:

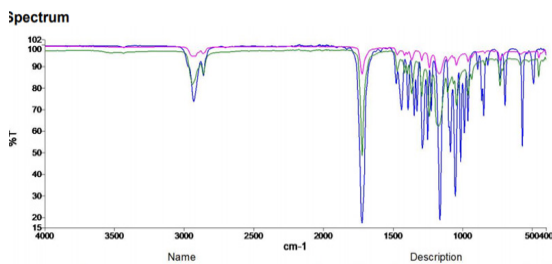


Figura 9: Espectro de Infrarrojo de la PCL sintetizada.

Impresión 3D de la malla de PCL

La impresión en 3D de la malla de PCL se llevó a cabo con una impresora DREMEL, se obtuvo una malla como la ilustrada en la figura 9.

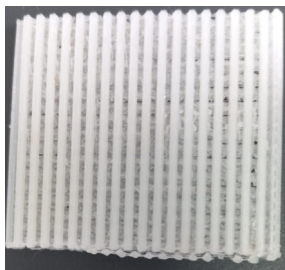


Figura 9: Malla de PCL impresa en 3D

Esta malla tiene las siguientes dimensiones:

- 51.00 mm x 54.00 mm x 4.75 mm

En un tiempo muy corto se pretende empezar con la realización de la prueba de citotoxicidad y la siembra de células en la malla.

Conclusiones

Durante el desarrollo de estos resultados preliminares se pudo evidenciar que el método de polimerización por apertura de anillo de la caprolactona para dar policaprolactona es un método sencillo y que presentan excelentes rendimientos de 83.4%, por lo que puede ser empleado ampliamente en la síntesis de polímeros para la regeneración de tejidos.

En el espectro de infrarrojo se evidencia que hubo polimerización, ya que hay unas bandas en el monómero que no aparecen en el polímero, esto se debe a que hubo efectivamente una apertura del

anillo de la caprolactona.

La PCL pudo ser extruida e impresa en 3D sin presentar inconvenientes.

Se está a la espera del kit de Roche para poder realizar la prueba de citotoxicidad de la malla.

Referencias

- Adeli-Sardou, M., Mendi, M., Torkzadeh-Mahani, M & Dodel, M. (2019). Controlled release of lawsome from polycaprolactone/gelatin electrospun nanofibers for skin tissue regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 124: 478-491.
- Adhikari, U., An, X., Rijal, N., Hopkins, T. Et. Al. (2019). Embedding magnesium metallic particles in polycaprolactone nanofibers mesh improves applicability for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*. 98: 215-234.
- Bao, W., Cao, L., Wei, H., Zhu, D. Et.al. (2021). Effect of 3D printed polycaprolactone scaffold with bionic structure on early stage of fat grafting. *Materials & Science Engineering C*. 1-30.
- Gomes, S., Rodrigues, G., Martins, G., Henriques, C., & Carvalho, J. (2017). Evaluation of nanofibrous scaffolds obtained from blends of chitosan gelatin and polycaprolactone for skin tissue regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 102: 1174-1185.
- Velasquez-Puerta, D.A., Pineda-Molina. C., Cardona-Cano. M.E., Gomez-Suarez. N.E., Grete. J., Et. Al. (2008). <http://www.scielo.org.co/pdf/rinbi/v2n3/v2n3a11.pdf> Vol. 2 no.27: 1909–9762.
- Joseph, B., Augustine, R., Kalarikkal, N., Thomas, S., et. Al. (2019). Recent advances in electrospun polycaprolactone based scaffolds for wound healing and skin bioengineering applications. *Materials Today Communications*. 19: 319-335.
- Kim, S.Y., (2019). Application of the three-dimensionally printed biodegradable polycaprolactone (PCL) mesh in repair of orbital wall fractures. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 47: 1065-1071.