



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA Y MATERIALES

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN METALURGIA Y CIENCIA DE LOS
MATERIALES**

**FABRICACIÓN DE ANDAMIOS COMPUESTOS DE POLICAPROLACTONA
(PCL)/FOSFATO TRICÁLCICO (β -TCP) POR SEPARACIÓN DE FASES
INDUCIDA TÉRMICAMENTE Y POR NO SOLVENTE (NTIPS) PARA
IMPLANTES ÓSEOS**

**Tesis que para obtener el grado de
Maestra en Metalurgia y Ciencia de los Materiales**

Presenta:

ING. ALMA ITZEL MENDOZA MARTINEZ

DIRECTOR DE TESIS

DRA. ENA ATHENEA AGUILAR REYES

Morelia, Mich. Febrero 2026



Morelia Mich., 17 de febrero de 2026

ING. ALMA ITZEL MENDOZA MARTÍNEZ

Presente

Por medio de la presente, esta dirección del Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, tiene a bien informarle que para presentar su examen de grado de Maestro en Metalurgia y Ciencias de los Materiales con la tesis titulada *"Fabricación de andamios compuestos de policaprolactona (PCL)/fosfato tricálcico (β -TCP) por separación de fases inducido térmicamente y por no solvente (NIPS) para implantes óseos."*, le ha sido asignada la siguiente mesa sinodal:

02001578	Dra. Ena Athenea Aguilar Reyes	Directora
93002670	Dr. Ignacio Mejía Granados	Vocal
97003581	Dr. Juan Zárate Medina	Vocal
10003991	Dr. Francisco Fernando Curiel López	Vocal
CONV0925	Dra. Deisy Ramírez Vinasco	Vocal
01000489	Dr. Jorge Alejandro Verduzco Martínez	Suplente

Agradeciendo de antemano las atenciones que se sirva prestar a la presente, aprovecho para enviarle un cordial saludo.



Dr. Arriosto Medina Flores

Director

Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

DEDICATORIA

A mis padres, Laura Elena Martínez Boiso y Osvaldo Mendoza Ayala por ser mi ejemplo de perseverancia y por creer en mi incluso cuando yo no lo hacía. A mi pareja, Freeman Gerardo Hernández Chiñas, por acompañarme en los días grises y ser mi apoyo incondicional en cada paso. Este logro es tanto mío como suyo.

"Nadie nace en este mundo para estar completamente solo"

AGRDECIMIENTOS

Agradezco al Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales por abrirme sus puertas y brindarme el apoyo y todas las facilidades académicas y el entorno necesario para el desarrollo de mi formación profesional.

A la Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo otorgado para el desarrollo de este proyecto.

A la Dra. Ena A. Aguilar Reyes por su paciencia infinita, el apoyo y dirección en el proyecto. Sus críticas constructivas y su pasión por la investigación fueron el motor que le dio forma a este proyecto.

A los miembros de mi sínodo, por sus valiosas observaciones que enriquecieron la calidad de este trabajo.

A los Doctores Investigadores que compartieron su conocimiento conmigo en las aulas y a mis compañeros de laboratorio con quienes compartí largas jornadas de aprendizaje mutuo.

A mi "yo" del pasado por no rendirse en los momentos de duda y por la disciplina mantenida hasta el final.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Biomaterial

Biaactividad

Biocompatibilidad

Biodegradabilidad

Osteinducción

Osteoconducción

Osteogénesis

Osteointegración

Autoinjerto

Alloinjerto

Xenoinjerto

Biopolímero o polímero natural

Polímero sintético

Angiogénesis

Vascularización

TIPS

NIPS

NTIPS

ÍNDICE

Capítulo 1. Introducción	1
1.1. Objetivos.....	2
1.1.1. Objetivo general	2
1.1.2. Objetivos específicos.....	3
1.2. Justificación	3
1.3. Hipótesis	4
1.4. Metas Científicas	5
Capítulo 2. Marco teórico	6
2.1. Ingeniería de tejidos.....	6
2.2. Biomateriales	10
2.2.1. Polímeros como biomateriales para andamiajes.....	11
2.2.2. Poli ϵ -caprolactona (PCL)	12
2.2.3. Biomateriales osteoinductivos	12
2.2.4. Angiogénesis y vascularización.....	14
2.3. Biomateriales compuestos	15
2.4. Modificación de la superficie del PCL	16
2.5. Requerimientos de andamios para aplicaciones en ingeniería de tejido óseo	18
2.6. Fabricación de andamios de PCL	18
2.6.1. Técnica de separación de fases	18
2.7. Ensayos <i>in vitro</i>	23
2.8. Propiedades mecánicas	28
Capítulo 3. Metodología Experimental	31
3.1. Materiales	31
3.2. Fabricación de andamios compuestos de PCL/ β -TCP	32
3.2.1. Fase I: Evaluación inicial (Caso 1).....	32
3.2.2. Fase II: Protocolo de consolidación estructural e intercambio criogénico (Caso 2)	33
3.2.3. Estabilización térmica y extracción multietapa	33
3.3. Parámetros de procesamiento	34

3.4. Caracterización de los andamios	35
3.4.1. Caracterización morfológica.....	35
3.4.2. Análisis térmico (TGA/DSC)	36
3.4.3. Propiedades mecánicas	36
3.4.4. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	37
3.4.5. Difracción de rayos X (DRX).....	37
3.4.6. Densidad real y porosidad	38
Capítulo 4. Resultados y Discusión.....	39
4.1. Análisis microestructural	41
4.1.1. Efecto de la temperatura de enfriamiento.....	46
4.1.2. Efecto del tiempo de envejecimiento.....	47
4.2. Análisis térmico simultáneo (TGA/DSC).....	48
4.2.1. Determinación del grado de cristalinidad.....	52
4.3. Ensayos de compresión	52
4.4. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	54
4.5. Difracción de rayos X (DRX).....	56
4.6. Densidad Real.....	57
Capítulo 5. Conclusiones.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Un esquema que muestra la relación entre la ingeniería de tejidos, la medicina regenerativa y los campos contribuyentes. Adaptado de [18].	7
Figura 2.2 Diagrama esquemático de la ingeniería de tejido óseo [18].	8
Figura 2.3 Estructura y organización ósea [18].	9
Figura 2.4 Estructura química de la unidad monomérica de la policaprolactona (PCL).12	
Figura 2.5 a) Andamio de PCL con 0.8 % de colágeno; b) andamio de PCL con 0.2 % de colágeno [64].	16
Figura 2.6 Diagrama ternario del sistema polímero-solvente-no solvente [95].	20
Figura 2.7. Mecanismos de crecimiento: a) coalescencia, b) maduración de Ostwald y c) crecimiento hidrodinámico [95].	21
Figura 2.8 Micrografía MEB de andamios de PCL: a) sin adición de agente porógeno; b) con 30% PEG [103].	22
Figura 2.9 Micrografías SEM de andamios obtenidos por separación de fases inducida por no solvente [89].	23
<i>Figura 2.10. Micrografía SEM de la superficie (izquierda) y sección transversal (derecha) de una capa de apatita formada en un vitrocerámico A-W en SBF [103].</i>	<i>24</i>
<i>Figura 2.11. Micrografía de la interfase entre el hueso de rata y la apatita formada en la superficie de un vitrocerámico A-W [103].</i>	<i>25</i>
<i>Figura 2.12. Morfología de andamios (a) PCL pura y (b) PCL/10% OCP después de 9 días de inmersión en SBF [105].</i>	<i>26</i>
<i>Figura 2.13 Proliferación de células osteoblásticas hG-292 en control, PCL pura y PCL/10% OCP evaluada mediante ensayo MTT ($p < 0.05$) [105].</i>	<i>26</i>
<i>Figura 2.14. Distribución de células MC3T3-E1 en andamios de PCL/β-TCP recubiertos con nano-DBM y PCL/β-TCP. Las flechas negras indican células vivas y las blancas, células muertas [106].</i>	<i>27</i>
<i>Figura 2.15. Ensayo CCK-8 para proliferación celular en andamios de PCL/β-TCP recubiertos con nano-DBM y PCL/β-TCP [106].</i>	<i>28</i>
<i>Figura 2.16 Comportamiento mecánico de los andamios de PCL/OCP fabricados mediante electrohilado [105].</i>	<i>29</i>
Figura 2.17 Comportamiento mecánico de andamios con diferentes geometrías de poro [107].	30

Figura 3.1 Proceso general de fabricación de andamios PCL/ β -TCP.....	31
Figura 3.2 Esquema de dimensiones de las probetas.....	37
Figura 4.1 Micrografías de los andamios fabricados por NTIPS con diferentes concentraciones de PCL y β -TCP a)15% PCL 5%TCP, b) 25%PCL 5%TCP, c)15%PCL 10%TCP, d) 25%PCL 10% TCP, e) 15% PCL 15%TCP, f)25%PCL 15%TCP.....	41
Figura 4.2 Micrografías de andamios con 15 % de PCL y 10% de TCP obtenidos con diferentes velocidades de agitación a) y c) 300 rpm, b) y d) 500rpm.	43
Figura 4.3 Influencia de la extracción del solvente a) extracción de solvente multietapa b) extracción de solvente en metanol.	44
Figura 4.4 Micrografía SEM de los andamios a)15%PCL 10% β -TCP b) 15%PCL/0% β -TCP.	46
Figura 4.5 a) 25% PCL 10% TCP b)25% PCL 10% TCP a diferentes temperaturas de enfriamiento.....	47
Figura 4.6 Efecto del tiempo de envejecimiento a) 15% PCL 0%TCP tras 7 días de envejecimiento b) 15% PCL 0% TCP tras 10 días de envejecimiento.	48
Figura 4.7 Curvas de TGA de los andamios con a) 0 % y 10 % de TCP, b) 15 % de TCP.	50
Figura 4.8 Diagrama DSC del andamio de PCL pura.	51
Figura 4.9 Comportamiento mecánico de los andamios fabricados. a) andamio de 25% PCL/0% β - TCP b) 25% PCL/15% β -TCP.....	54
Figura 4.10 Espectro de infrarrojo realizado a los andamios de PCL/TCP.	55
Figura 4.11 Difractograma de rayos X Del andamio 15% PCL/10% TCP.....	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Relación de los experimentos realizados	34
Tabla 4.1 Datos del comportamiento térmico de los andamios con 15 % de PCL obtenidos mediante análisis térmico.	51
Tabla 4.2 Grupos funcionales presentes en los andamios de PCL asociados a su número de onda.....	55
Tabla 4.3 Densidades obtenidas en los andamios de PCL.....	58
Tabla 4.4 Porcentaje de porosidad de los andamios fabricados	58

RESUMEN

En el presente trabajo se fabricaron andamios compuestos de policaprolactona (PCL) reforzados con fosfato tricálcico (β -TCP) mediante el método de separación de fases inducida térmicamente y por no solvente (NTIPS), empleando concentraciones de 10 % al 25 % de PCL en diclorometano (DCM) y diferentes contenidos de β -TCP (5 %, 10 % y 15 %). La morfología y la porosidad fueron evaluadas mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), lo que evidenció una arquitectura tridimensional con poros cerrados predominantemente esféricos y tamaños promedio cercanos a 30 μm . Se observó que el aumento en la concentración de PCL y β -TCP generó poros más pequeños, superficies más lisas e incremento en la densidad real del material, de 1.20 a 1.52 g/cm^3 . Asimismo, la velocidad de agitación durante la adición del no solvente influyó directamente en la estructura porosa. El análisis por espectroscopía FTIR confirmó la presencia de los componentes sin alteraciones químicas, mientras que los estudios térmicos (TGA/DSC) mostraron estabilidad hasta aproximadamente 380 °C y una temperatura de fusión cercana a 67 °C. En cuanto al desempeño mecánico, la incorporación de β -TCP produjo un efecto reforzante significativo, aumentando la resistencia máxima hasta 61.6 MPa. Los resultados demuestran el desarrollo de un biomaterial con propiedades estructurales, térmicas y mecánicas adecuadas para aplicaciones en regeneración ósea.

Palabras clave: andamios, policaprolactona (PCL), β -fosfato tricálcico (β -TCP), separación de fases inducida térmicamente y por no solvente (NTIPS), biomateriales compuestos.

ABSTRACT

In this study, polycaprolactone (PCL) scaffolds reinforced with β -tricalcium phosphate (β -TCP) were fabricated using the non-solvent thermally induced phase separation (NTIPS) method. PCL concentrations from 10 % to 25 % were prepared in dichloromethane (DCM) and different β -TCP contents (5%, 10%, and 15%). Scaffold morphology and porosity were evaluated by scanning electron microscopy (SEM), revealing a well-defined three-dimensional porous architecture with predominantly spherical and interconnected pores averaging approximately 30 μm in size. Increasing PCL and β -TCP concentrations resulted in reduced porosity, smoother surfaces, and higher material density (from 1.20 to 1.52 g/cm^3). The stirring rate during non-solvent addition was found to significantly influence pore structure. Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) confirmed the presence of the main components without chemical alterations after processing. Thermal analysis (TGA/DSC) demonstrated thermal stability up to approximately 380 $^{\circ}\text{C}$ and a melting temperature near 67 $^{\circ}\text{C}$. Mechanical testing showed a significant reinforcing effect of β -TCP incorporation, increasing the maximum compressive strength up to 61.6 MPa. These results demonstrate the development of a composite biomaterial with suitable structural, thermal, and mechanical properties for bone regeneration applications.

Keywords: scaffolds, polycaprolactone (PCL), β -tricalcium phosphate (β -TCP), non-solvent thermally induced phase separation (NTIPS), bone regeneration.

Capítulo 1. Introducción

La ingeniería de tejido óseo basada en el uso de andamios poliméricos ha sido ampliamente estudiada en las últimas décadas. Entre los polímeros empleados para este fin, la policaprolactona (PCL) destaca por ser un poliéster biocompatible y biodegradable caracterizado por su fácil disponibilidad, bajo costo e idoneidad para modificaciones químicas y estructurales. Sus propiedades fisicoquímicas ajustables, junto con su adecuada resistencia mecánica, le permiten soportar agresiones físicas, químicas y mecánicas sin pérdida significativa de sus propiedades [1].

La fabricación de andamios de PCL reforzados con otros compuestos ha sido reportada como una alternativa prometedora para la regeneración de tejido óseo. No obstante, el método de separación de fases ha recibido menor atención en comparación con otras técnicas de fabricación.

Antes de emplear un biomaterial en la regeneración ósea, es fundamental realizar un análisis exhaustivo de sus propiedades. Los factores determinantes incluyen su composición química, su estructura, respuesta biológica y sus tiempos de degradación. Desde esta perspectiva, los andamios poliméricos destacan por su capacidad de crear un sustituto osteoinductivo que favorece tanto a las células locales como a las transplantadas. Además, pueden proporcionar señales biológicas en tiempos y ubicaciones específicas, y su velocidad de degradación puede ajustarse para coincidir con el ritmo de formación del hueso nuevo [2].

La regeneración de defectos óseos continúa siendo uno de los mayores desafíos en la medicina regenerativa, debido a la limitada capacidad de autocuración del tejido óseo en lesiones de gran tamaño o que superan el tamaño de defecto crítico. Si bien los injertos óseos han sido considerados el estándar de referencia, las complicaciones asociadas a su uso han impulsado el desarrollo de la ingeniería de tejidos como una alternativa prometedora [3].

A este respecto, el diseño de andamios compuestos busca replicar la complejidad estructural y funcional del hueso natural. La presente investigación se fundamenta en la combinación sinérgica de la policaprolactona, como matriz principal, biodegradable y con excelentes propiedades mecánicas y de procesabilidad, y el fosfato tricálcico (β -TCP), un componente cerámico que aporta osteoconductividad y bioactividad.

La policaprolactona presenta excelentes propiedades termoplásticas y un perfil de degradación lenta, lo que permite que el andamio mantenga su integridad estructural durante el tiempo necesario para la consolidación del tejido óseo. Sin embargo, debido a la naturaleza hidrofóbica de la PCL, su combinación con fosfato tricálcico resulta conveniente para mejorar su desempeño biológico.

La combinación de dos técnicas de separación de fases, inducida térmicamente (TIPS) y por no solvente (NIPS), permite superar las limitaciones individuales de cada método. La adición de un no solvente acelera la precipitación del polímero y favorece una transición de fase mas compleja, lo que influye en la microestructura final del andamio.

La presente investigación se estructura en cinco capítulos organizados de manera lógica y progresiva. En el Capítulo 1 se contextualiza la problemática de la regeneración ósea dentro del marco de la ingeniería de tejidos y se fundamenta la selección de la policaprolactona (PCL) y el fosfato tricálcico (β -TCP) como materiales para la fabricación de andamios compuestos, mediante una técnica híbrida de separación de fases inducida térmicamente y por no solvente (NTIPS), estableciendo además los objetivos y la justificación del estudio. El Capítulo 2 desarrolla el marco teórico y el estado del arte, abordando los principios científicos relacionados con los biomateriales, los requisitos de los andamios para aplicaciones óseas y las técnicas de fabricación y caracterización reportadas en la literatura. El Capítulo 3 describe los materiales y la metodología experimental empleada para la obtención y evaluación de los andamios. El Capítulo 4 integra los resultados y su discusión, analizando de forma crítica la influencia de la composición y de los parámetros de procesamiento sobre la microestructura y las propiedades térmicas, mecánicas y biológicas del material. Finalmente, el Capítulo 5 presenta las conclusiones generales y las proyecciones derivadas del trabajo realizado.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Obtener andamios compuestos de policaprolactona/fosfato tricálcico (PCL/ β -TCP) mediante una técnica híbrida de separación de fases inducida térmicamente y por no solvente (NTIPS), y evaluar el efecto de la adición del β -TCP sobre sus propiedades fisicoquímicas, microestructurales y mecánicas.

1.1.2. Objetivos específicos

- Establecer los parámetros de procesamiento de la técnica híbrida de separación de fases inducida térmicamente y por no solvente para la obtención de andamios PCL/ β -TCP con porosidad abierta e interconectada.
- Evaluar el efecto del empleo del método híbrido sobre la microestructura de los andamios mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y densidad.
- Determinar la estabilidad y propiedades térmicas de los andamios mediante análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC).
- Evaluar las propiedades mecánicas de los andamios obtenidos mediante ensayos de compresión uniaxial.
- Caracterizar los andamios obtenidos mediante FTIR y DRX para determinar la integridad química de la PCL.

1.2. Justificación

En las últimas décadas ha aumentado la necesidad de intervenciones quirúrgicas para reparar o regenerar hueso dañado debido a enfermedades como osteoporosis y osteomielitis, fracturas complejas, cáncer óseo, cirugías de revisión de prótesis articulares y lesiones deportivas. La regeneración de defectos óseos de tamaño crítico representa uno de los mayores desafíos para la medicina contemporánea ya que los daños superan la capacidad natural de regeneración del organismo.

A diferencia de los procedimientos tradicionales de autoinjerto y aloinjerto, las estrategias basadas en ingeniería de tejidos permiten reducir problemas relacionados con la escasez de donantes, limitaciones de suministros, riesgo de transmisión de patógenos y rechazo inmunológico. Por ello, esta área ha experimentado un crecimiento significativo desde la introducción del concepto de ingeniería de tejidos [2].

La ingeniería de tejidos emplea generalmente matrices extracelulares artificiales o andamios (*scaffolds*), junto con células (como osteoblastos o células precursoras) y factores bioactivos que estimulan el reclutamiento, proliferación y diferenciación celular, promoviendo la formación de tejido óseo mineralizado [3].

En este contexto, la policaprolactona (PCL) es un polímero bioabsorbible con alto potencial para aplicaciones en reparación ósea y de cartílago [4]. Sus propiedades fisicoquímicas ajustables, biocompatibilidad y resistencia mecánica le convierten en un material adecuado para la fabricación de andamios [1].

El uso de la policaprolactona (PCL) como matriz polimérica es interesante debido a su biocompatibilidad y degradación lenta, ya que estas características permiten un soporte estructural prolongado.

Diversos materiales sintéticos, como metales, polímeros y cerámicos, han sido utilizados como sustitutos óseos [5-10]. Entre ellos, los fosfatos de calcio, particularmente la hidroxiapatita (HA), el β -fosfato tricálcico (β -TCP) y los fosfatos de calcio bifásicos (BCP); estos últimos son biomateriales cerámicos de vanguardia, compuestos por una mezcla de hidroxiapatita (HA) y β -fosfato tricálcico (β -TCP) [10-14].

En esta investigación se emplea el método de separación de fases inducida térmicamente y por no solvente (NTIPS) para la fabricación de andamios compuestos PCL/TCP. Este método permite un preciso control de la porosidad y ofrece un proceso de síntesis relativamente sencillo y de bajo costo.

1.3. Hipótesis

La integración de materiales cerámicos, como el fosfato tricálcico (TCP), reconocido por sus propiedades osteoconductoras, con materiales poliméricos como la policaprolactona (PCL), que aporta biodegradabilidad, resistencia mecánica y facilidad de procesamiento, permitirá superar las limitaciones inherentes a cada material por separado. El fosfato tricálcico tiene baja degradabilidad y limitada resistencia mecánica, así como dificultades en el control de las características físicas y geométricas de los andamios. Por su parte, la policaprolactona proporciona soporte mecánico adecuado, flexibilidad y mayor control estructural, aunque carece de bioactividad intrínseca, además de que es hidrofóbico.

Se plantea que la combinación de ambos materiales dará lugar a un compuesto biodegradable con resistencia mecánica mejorada, bioactividad adecuada y capacidad de adaptación a los requerimientos geométricos específicos de un andamio destinado a aplicaciones en ingeniería de tejido óseo. Asimismo, mediante el método de separación

de fases inducida térmicamente y por no solvente (NTIPS) será posible fabricar andamios con porosidad abierta e interconectada y con una superficie químicamente favorable para la adhesión, diferenciación y proliferación de células formadoras de tejido óseo.

1.4. Metas Científicas

- **Tamaño de poro:** obtener poros mayores a 20 μm , adecuados para la adhesión y proliferación celular.
- **Resistencia a la compresión:** alcanzar valores entre 2 y 12 MPa, dentro del rango requerido para soportar condiciones biomecánicas del tejido óseo trabecular.
- **Porosidad interconectada:** Lograr aproximadamente 70 % de porosidad interconectada para favorecer el transporte de nutrientes y productos de desecho metabólico.

Capítulo 2. Marco teórico

2.1. Ingeniería de tejidos

El concepto de *ingeniería de tejidos* fue introducido formalmente en la década de 1990 y, desde entonces, la ingeniería de tejido óseo se ha consolidado como una de las áreas de mayor crecimiento dentro de este campo [15]. Esta disciplina integra andamios, células y factores de crecimiento bioactivos con el objetivo de promover la reparación y regeneración de tejido óseo, constituyendo una plataforma innovadora dentro de la medicina regenerativa.

Los trastornos óseos representan un problema de gran relevancia debido a las funciones estructurales y metabólicas esenciales del hueso en la fisiología humana. Factores como el envejecimiento poblacional, la nutrición inadecuada y estilos de vida poco saludables han contribuido al incremento de enfermedades como la osteoporosis. Asimismo, malformaciones congénitas, cáncer, traumatismos, osteomalacia, raquitismo, osteomielitis e infecciones pueden ocasionar defectos óseos significativos [16]. Aunque el hueso posee capacidad regenerativa intrínseca, ésta es suficiente únicamente para reparar lesiones pequeñas. Los defectos mayores al tamaño de defecto crítico, generalmente mayores a 2 cm (dependiendo de la localización anatómica), requieren intervenciones externas [17].

La ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa (TERM, por sus siglas en inglés *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*) constituyen un campo multidisciplinario orientado al desarrollo de estrategias para reparar, regenerar o reemplazar tejidos u órganos enfermos o dañados [1]. Ver Figura 2.1.

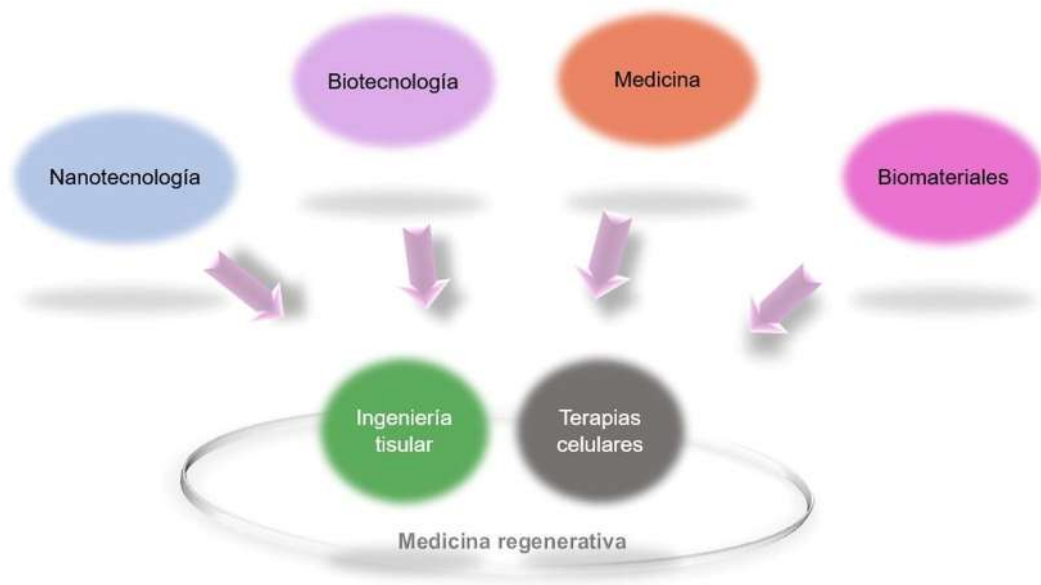


Figura 2.1 Un esquema que muestra la relación entre la ingeniería de tejidos, la medicina regenerativa y los campos contribuyentes. Adaptado de [18].

En particular, la ingeniería de tejido óseo ha recibido considerable atención en aplicaciones biomédicas, especialmente en el diseño de estructuras poliméricas tridimensionales [2]. El objetivo fundamental de la ingeniería de tejido óseo es diseñar materiales capaces de implantarse temporalmente en defectos óseos y facilitar su regeneración mediante la sustitución progresiva por tejido propio del paciente (Figura 2.2). Estos materiales se desarrollan comúnmente en forma de andamios, los cuales actúan como matrices temporales que soportan la adhesión, diferenciación y proliferación celular, desempeñando funciones análogas a la matriz extracelular (ECM por sus siglas en inglés *Extracellular Matrix*) hasta completarse la reparación tisular [19].

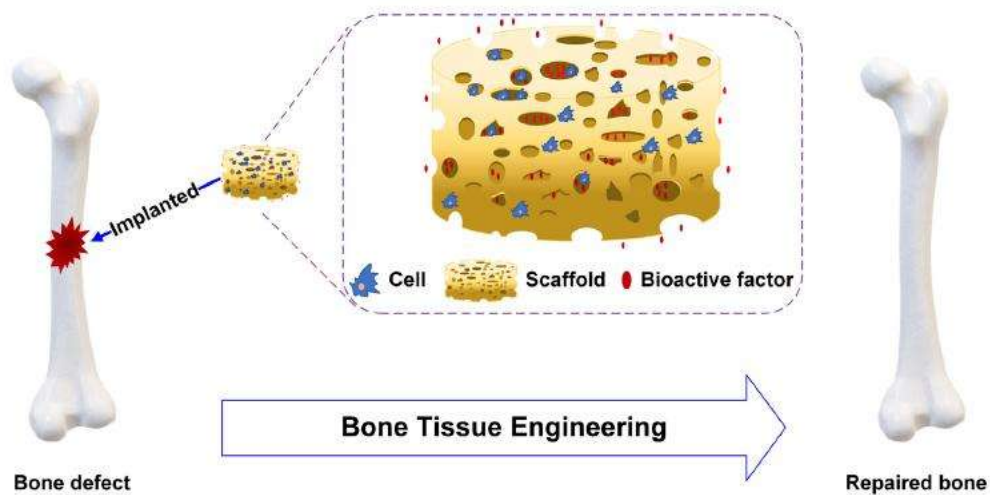


Figura 2.2 Diagrama esquemático de la ingeniería de tejido óseo [18].

Los andamios óseos deben cumplir requisitos químicos, físicos y mecánicos específicos. Su resistencia debe aproximarse a la del hueso receptor, y deben presentar poros abiertos e interconectados que permitan el transporte de nutrientes y el crecimiento celular desde la periferia hacia el interior del implante [19].

El hueso es un tejido conectivo mineralizado con una organización jerárquica compleja que abarca desde macroestructuras (hueso cortical y trabecular), microestructuras (osteonas y trabéculas individuales), submicroestructuras (láminas), hasta nanoestructuras (colágeno fibrilar) y subnanoestructuras (minerales y moléculas de colágeno) (Figura 2.3). Es un tejido dinámico que se remodela continuamente mediante la acción coordinada de células, estructuras y factores de crecimiento [2].

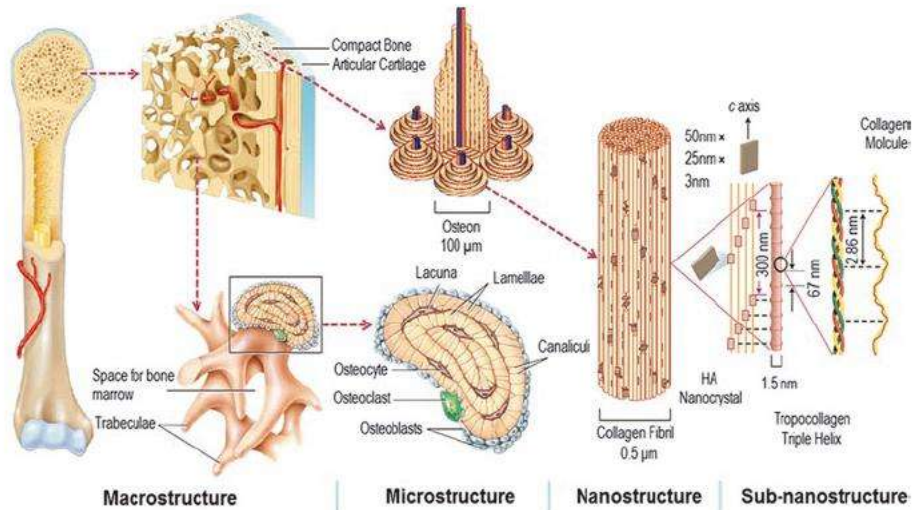


Figura 2.3 Estructura y organización ósea [18].

Los materiales para sustitución ósea han evolucionado en tres generaciones [2, 3]:

Primera generación: Materiales inertes con adecuada resistencia mecánica que ofrecen soporte mecánico, suelen desarrollar una capa fibrosa en la interfaz con el hueso, lo que limita la osteointegración y puede provocar aflojamiento del injerto. Incluye metales puros (acero inoxidable), aleaciones metálicas (Co-Cr-Mo), cerámicos (alúmina, zirconia) y polímeros (silicona, polipropileno, polimetilmetacrilato).

Segunda generación: Materiales bioactivos diseñados para mejorar la integración ósea. Este grupo incluye titanio y sus aleaciones, hidroxiapatita y fosfatos de calcio.

Tercera generación: Materiales biodegradables con capacidad osteoconductiva y potencial osteoinductivo como los vidrios bioactivos, ácido poliláctico, ácido poliglicólico y policaprolactona.

El injerto óseo se utiliza ampliamente en la práctica clínica. Se puede subagrupar en injerto óseo autólogo e injerto óseo alogénico. El hueso autólogo tiene efectos duales de osteoinducción y osteoconducción, y es el estándar de referencia para la reparación ósea con osteogénesis comprobada. Sin embargo, debido a la falta de tejido donante junto con defectos secundarios adicionales, no es apropiado para niños o pacientes de edad avanzada. El injerto óseo alogénico y xenoinjerto tiene un uso limitado debido a su integración y vascularización insuficientes en el área del huésped y los riesgos potenciales de rechazo inmunológico y transmisión de patógenos. El tratamiento criogénico puede

reducir la aparición de rechazo inmunológico, pero se sabe que su resistencia mecánica y actividad inducida por el hueso se reducen correspondientemente [19-21].

Un aspecto crítico en el diseño de andamios es la cinética de degradación, la cual debe estar sincronizada con la velocidad de formación ósea. Una degradación demasiado rápida puede comprometer la estabilidad estructural, impidiendo la transferencia de masa y provocando necrosis tisular. Mientras que una degradación demasiado lenta puede dificultar la integración tisular. Por lo tanto, una cinética óptima de degradación del andamiaje es fundamental. La degradación o resorción del andamio sigue una cinética específica para cada paciente, determinada por las características de su matriz extracelular y por la actividad de los distintos tipos celulares involucrados en el proceso regenerativo. Factores como la edad, el estado nutricional, las enfermedades subyacentes, el estilo de vida y el sexo influyen en la capacidad regenerativa individual y, en consecuencia, en la tasa de degradación óptima requerida para el andamio [19].

2.2. Biomateriales

El biomaterial constituye uno de los elementos fundamentales en la ingeniería de tejido óseo y forma el esqueleto para la regeneración tisular. Los biomateriales utilizados en la regeneración ósea se pueden subclasificar en materiales inorgánicos, orgánicos y compuestos [21].

El biomaterial es uno de los tres elementos clave en la ingeniería de tejidos óseos y forma el esqueleto para la regeneración tisular. Los biomateriales utilizados en la regeneración ósea se pueden subclasificar en materiales metálicos, cerámicos y poliméricos. A su vez, estos se dividen en materiales inorgánicos, materiales orgánicos y materiales compuestos [21].

Los materiales inorgánicos incluyen materiales metálicos y no metálicos, que se caracterizan por su alta resistencia mecánica y no se deforman ni degradan fácilmente. Algunos requieren cirugía secundaria para su extracción.

Los materiales metálicos son ideales para la reparación ósea en términos de defectos óseos que soportan carga debido a sus notables propiedades mecánicas. Los biomateriales a base de metal incluyen aleaciones a base de titanio, aleaciones a base de tantalio, aleaciones a base de cobalto y aleaciones a base de magnesio [21].

2.2.1. Polímeros como biomateriales para andamiajes

Las características de un biomaterial que deben evaluarse rigurosamente antes de su aplicación en ingeniería de tejido óseo incluyen su composición química, propiedades estructurales y biológicas, comportamiento de degradación y viabilidad de procesamiento. Los andamios poliméricos han despertado considerable interés debido a su versatilidad, ya que pueden albergar señales espacio-temporales, proporcionar un microambiente osteoinductivo para células residentes o trasplantadas y presentar una tasa de degradación comparable a la velocidad de osteogénesis e integrarse eficazmente con el tejido huésped mediante modificaciones químicas. Los polímeros utilizados en la ingeniería de tejido óseo pueden ser de origen natural o sintético y biodegradables o no biodegradables [2].

Actualmente, diversos materiales se encuentran en estudio o desarrollo como andamios para aplicaciones óseas, entre ellos los polímeros que pueden dividirse en naturales o sintéticos.

Polímeros naturales: Se caracterizan por su biocompatibilidad y bioactividad, lo que favorece la adhesión y proliferación celular. No obstante, presentan limitaciones como menor control en el procesamiento, posible variabilidad entre lotes y riesgo de contaminación. Entre ellos se incluyen proteínas (seda, colágeno, gelatina, fibrinógeno, elastina y queratina), polisacáridos (celulosa, dextrano y quitinosano) y polinucleótidos (ADN y ARN) [4].

Polímeros sintéticos: Son ampliamente utilizados como materiales para andamios debido a su química definida, facilidad de procesamiento, reproducibilidad y posibilidad de modificar sus propiedades fisicoquímicas según la aplicación requerida. Ofrecen ventajas como mejor costo, producción a gran escala y estabilidad en almacenamiento. Sus propiedades mecánicas, como resistencia a la tracción, módulo elástico y tasa de degradación, son comparables a las del tejido óseo. Sin embargo, su limitada bioactividad intrínseca puede inducir respuestas inflamatorias si no se modifican adecuadamente. Entre los polímeros sintéticos más utilizados se encuentran el ácido poliláctico (PLA), el ácido poliglicólico (PGA), los copolímeros de ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA), la poli ϵ -caprolactona (PCL) y los polihidroxialcanoatos (PHA) [5, 6]. Dentro de este grupo, la PCL ha emergido como un material particularmente prometedor para aplicaciones en ingeniería de tejido óseo [7-9].

2.2.2. Poli ϵ -caprolactona (PCL)

La poli ϵ -caprolactona (PCL) es un polímero sintético semicristalino biodegradable que pertenece a la familia de los poliésteres alifáticos, que incluye también el PLA y PGA. Presenta una temperatura de fusión entre 59 y 64 °C, superior a la temperatura corporal, y una temperatura de transición vítrea cercana a -60 °C [10]. A temperatura fisiológica, la PCL se encuentra en estado gomoso, lo que confiere alta tenacidad y buena flexibilidad, con propiedades mecánicas que pueden ajustarse en función de su peso molecular.

El PCL es biocompatible y no tóxico, y se ha utilizado en suturas reabsorbibles, sistemas de liberación controlada de fármacos y andamios para terapias regenerativas. Una de sus principales características es su lenta tasa de degradación (aproximadamente 2-3 años), la cual ocurre principalmente por hidrólisis de sus enlaces éster alifáticos en condiciones fisiológicas [11]. Debido a la presencia de cinco fracciones hidrofóbicas $-\text{CH}_2-$ en su unidad repetitiva, la PCL presenta una degradación más lenta en comparación con otros poliésteres biodegradables (Figura 2.4). En términos comparativos, la tasa de degradación sigue el orden: $\text{PGA} > \text{PLGA} > \text{PLLA} > \text{PCL}$ [12].

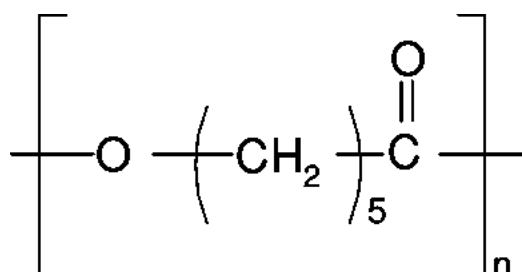


Figura 2.4 Estructura química de la unidad monomérica de la policaprolactona (PCL).

Gracias a su estabilidad mecánica prolongada y su degradación controlada, la PCL es considerada un material idóneo para la fabricación de andamios en aplicaciones de ingeniería de tejido óseo que requieren soporte estructural sostenido.

2.2.3. Biomateriales osteoinductivos

La inducción ósea es el proceso mediante el cual las células madre se diferencian hacia el linaje osteoblástico en respuesta a estímulos del microambiente. Este proceso determina en gran medida el éxito o fracaso de la regeneración ósea. Los andamios

pueden promover la diferenciación dirigida de células madre mediante señales bioquímicas y fisicoquímicas presentes en el microambiente, principalmente mediante la liberación de iones o la incorporación y liberación controladas de factores de crecimiento y fármacos. Los iones liberados del propio material del andamio, así como su función como vehículo de moléculas bioactivas, pueden inducir la diferenciación celular. De esta forma, se ha demostrado que proteínas morfogenéticas óseas (BMP, por sus siglas en inglés *Bone Morphogenetic Protein*) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) favorecen la inducción ósea en sistemas basados en andamios [22-24].

Los biomateriales osteoinductivos, también denominados biomateriales “inteligentes”, poseen la capacidad de inducir la formación de hueso ectópico al modular el entorno *in vivo* [13-14]. Aunque los mecanismos moleculares subyacentes no se han esclarecido completamente, se reconoce su alto potencial en aplicaciones de regeneración ósea. Diversas familias de biomateriales, especialmente cerámicos naturales y sintéticos, han demostrado propiedades osteoinductivas. Entre los ejemplos más estudiados se encuentran la hidroxiapatita (HA), los fosfatos de calcio (CaP) y compósitos como PLGA/HA.

Numerosos estudios han confirmado la osteoinducción de biomateriales basados en CaP en distintas formas físicas [25], incluyendo cerámicos sinterizados [26-30], cementos óseos [31-32] y recubrimientos [33, 34]. Asimismo, compósitos de polímero/cerámico, como PLGA/HA, han mostrado capacidad para inducir la formación ósea. Cabe señalar que el grado de osteoinductividad puede variar según la especie utilizada en estudios experimentales (variación interespecie).

Existen dos teorías principales que explican la osteoinductividad. La primera propone que las características superficiales del biomaterial favorecen la adsorción y presentación de factores osteoinductivos endógenos a las células circundantes. La segunda sugiere que la liberación de iones calcio y fosfato desde materiales basados en CaP estimula la diferenciación osteogénica de células madre. Hasta la fecha, ninguna de estas hipótesis cuenta con evidencia concluyente que explique completamente el fenómeno [14].

Por otro lado, la osteoconducción se refiere a la capacidad del biomaterial de actuar como estructura de soporte para el crecimiento óseo, proporcionando un entorno que facilita la adhesión, proliferación y migración celular, así como la vascularización. El tejido óseo y los capilares pueden crecer progresivamente dentro de los poros del material,

favoreciendo la formación de nuevo hueso. Este proceso depende en gran medida de la interacción entre el tejido huésped y el biomaterial.

El concepto de oseointegración fue introducido por Brånemark y describe la conexión estructural y funcional directa entre el hueso vivo y la superficie del implante, sin interposición de tejido fibroso [24]. Durante este proceso, los osteoblastos se adhieren a la superficie del implante, secretan matriz extracelular y promueven la formación de hueso nuevo. Dado que la remodelación ósea ocurre a lo largo de la vida, la oseointegración puede considerarse la etapa final del proceso de curación del hueso alrededor del implante. Para favorecerla, se emplean modificaciones superficiales como el arenado, el grabado ácido o el tratamiento láser, así como estrategias destinadas a modular el metabolismo óseo alrededor de la prótesis [35, 36].

En ingeniería de tejidos y medicina regenerativa, las células madre mesenquimales (MSC, por sus siglas en inglés *Mesenchymal Stem Cells*) aisladas de médula ósea o tejido adiposo han sido ampliamente utilizadas en el tratamiento de defectos óseos [37]. Estas células presentan elevada capacidad de autorrenovación y diferenciación multipotencial, lo que las convierte en candidatas ideales para aplicaciones en regeneración ósea [38-40]. Las células madre mesenquimales derivadas de médula ósea (BMSCs, por sus siglas en inglés *Bone Marrow Mesenchymal Stromal/Stem Cells*) pueden expandirse *in vitro* y diferenciarse en distintos linajes mesodérmicos, como osteoblastos, condrocitos y adipocitos, contribuyendo a la regeneración de tejidos osteocondrales [41, 42].

Las células madre derivadas de tejido adiposo (ADSCs, por sus siglas en inglés *Adipose-Derived Stem Cells*) constituyen una población estromal con morfología y fenotipo similares a las BMSC. Su obtención es relativamente sencilla y su capacidad proliferativa no parece verse significativamente afectada por la edad del donante. Las ADSC poseen potencial de diferenciación hacia osteoblastos, condrocitos y adipocitos [43-45]. Después de su implantación, pueden adaptarse a diversos microambientes fisiológicos y patológicos, manteniendo su actividad osteogénica y contribuyendo a la regeneración ósea [46].

2.2.4. Angiogénesis y vascularización

La integridad del hueso, como tejido altamente vascularizado, depende estrechamente de la angiogénesis y de la coordinación espacio-tiempo de las células óseas. En

consecuencia, una angiogénesis adecuada desempeña un papel fundamental en el desarrollo, mantenimiento y reparación del tejido óseo [47]. En las etapas iniciales posteriores al injerto, la vascularización local garantiza el aporte de nutrientes necesarios para la osteogénesis, además de facilitar la comunicación funcional entre el hueso y los tejidos u órganos adyacentes [48].

En condiciones fisiológicas del adulto, el endotelio vascular permanece en un estado quiescente, regulado por el contacto célula-célula y la inhibición de la proliferación endotelial. Sin embargo, ante determinados estímulos como angiogénesis, como hipoxia, alteraciones morfológicas celulares o variaciones en la expresión y sensibilidad a factores angiogénicos, las células endoteliales pueden activarse y desencadenar el proceso angiogénico [49].

Actualmente, muchos andamios utilizados en ingeniería de tejidos presentan limitaciones en cuanto al intercambio de masa y la formación de redes vasculares funcionales [49, 50]. La neovascularización tiende a concentrarse en la periferia del andamio, lo que restringe el transporte de nutrientes y oxígeno hacia las regiones internas. Esta deficiencia puede generar condiciones hipóxicas, favoreciendo la apoptosis celular y la formación de tejido necrótico, lo que compromete la infiltración de células óseas del huésped y la cavitación o dificulta la regeneración tisular en el interior del andamio [51].

2.3. Biomateriales compuestos

Los compuestos que combinan hidroxiapatita (HA) con polímeros como la policaprolactona (PCL) [52], ácido poliláctico (PLA) [53], ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA) [54], gelatina [55], quitosano [56, 57] y colágeno [58] han demostrado mejorar la formación ósea tanto *in vitro* como *in vivo*. Estos sistemas favorecen la formación, precipitación y deposición de fosfato de calcio en fluido corporal simulado (SBF, por sus siglas en inglés *Simulated Body Fluid*), lo que incrementa la resistencia en la interfaz hueso-material [59]. Después de la implantación, la incorporación de HA en andamios poliméricos mejora la bioactividad y las propiedades mecánicas en comparación con andamios de polímeros puros [60], además de mitigar posibles efectos adversos asociados a la degradación de algunos polímeros sintéticos [61].

Por ejemplo, Higashi y col. [62] observaron una formación ósea más rápida y abundante en defectos femorales de rata tratados con andamios compuestos de PLA/HA, en

comparación con andamios de PLA puro [62]. En general, los compuestos polímero/cerámico presentan mayor osteoconductividad que sus contrapartes poliméricas [3].

Munir y col. [63] fabricaron andamios compuestos de PCL/colágeno mediante el método de separación de fases, obteniendo estructuras porosas con variaciones en tamaño y distribución de poro. Como se muestra en la Figura 2.5, un mayor contenido de colágeno incrementó la porosidad total, pero redujo el tamaño promedio de los poros. En contraste, una menor proporción de colágeno produjo poros de mayor tamaño, aunque con menor porosidad total.

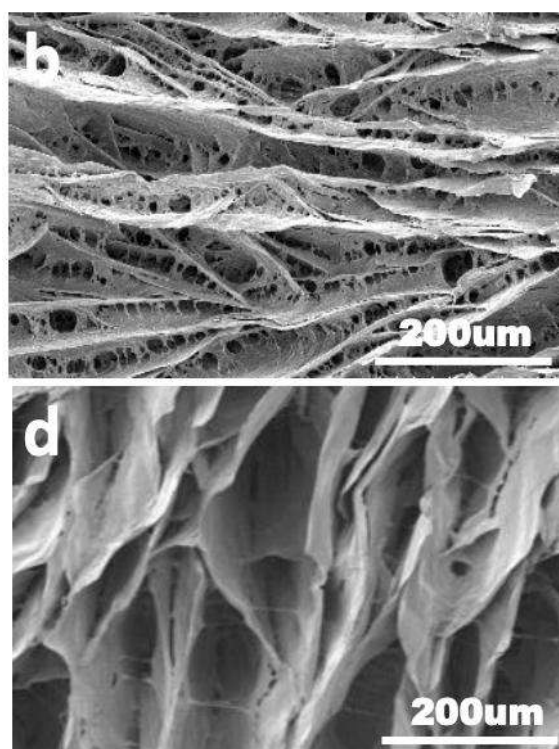


Figura 2.5 a) Andamio de PCL con 0.8 % de colágeno; b) andamio de PCL con 0.2 % de colágeno [64].

2.4. Modificación de la superficie del PCL

La policaprolactona (PCL) es inherentemente hidrofóbica, lo que limita su desempeño como andamio en ingeniería de tejidos, donde se requiere adecuada hidrofiliidad y compatibilidad celular. Para optimizar la adhesión celular, se ha reportado que el ángulo de contacto del agua debe situarse aproximadamente entre 30 y 70°. Valores demasiado

bajos favorecen una excesiva absorción de agua que puede afectar la adsorción de proteínas, mientras que ángulos elevados, asociados a una baja energía superficial, reducen la adhesión celular y puede inducir desnaturalización de las proteínas [64].

Debido a su carácter hidrofóbico y a la limitada presencia de grupos funcionales reactivos, la PCL presenta interacciones celulares restringidas. Por ello, la modificación superficial es fundamental para mejorar su bioactividad y desempeño regenerativo [65].

Una estrategia común consiste en funcionalizar la superficie con componentes de la matriz extracelular o péptidos bioactivos, como la secuencia arginina-glicina-aspartato (RGD), fibronectina, gelatina o fibrina. Se ha demostrado que andamios de PCL modificados con péptido RGD mejoran la supervivencia, adhesión y proliferación de células madre mesenquimales derivadas de médula ósea (BMSC) [66]. De manera similar, fibras de PCL funcionalizadas con RGD promovieron la adhesión, proliferación y actividad osteogénica de células Saos-2, línea celular de osteosarcoma humano que presenta diversas características osteoblásticas [67].

También se han empleado recubrimientos con fibrina, fibronectina, gelatina, factores de crecimiento y proteoglicanos. Un doble recubrimiento de gelatina tipo B seguido de fibronectina incrementó significativamente la colonización de preosteoblastos y favoreció su diferenciación hacia osteoblastos y su densidad [68].

Los tratamientos con plasma constituyen otra estrategia eficaz, ya que permiten introducir grupos funcionales (aminas, carboxilos, hidroxilos o aldehídos) en la superficie del PCL, dependiendo del gas utilizado (NH_3 , N_2 , N_2/H_2 o alquilaminas). Estas modificaciones aumentan la hidrofiliidad y mejoran la adhesión celular; no obstante, pueden alterar la cinética de degradación del material [65, 69-71].

Además, los recubrimientos biomiméticos inspirados en proteínas adhesivas del mejillón, como la polidopamina, permiten funcionalizar la superficie mediante la generación de grupos catecol y amina en condiciones alcalinas, sin necesidad de disolventes orgánicos. Andamios de PCL recubiertos con polidopamina y funcionalizados con proteína morfogenética ósea humana recombinante tipo 2 (rhBMP-2, por sus siglas en inglés *Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2*) han mostrado mejoras en humectabilidad, proliferación celular y capacidad osteogénica [72].

Por otra parte, el tratamiento alcalino modifica la topografía superficial de la PCL, aumentando su rugosidad y porosidad, hasta alcanzar una porosidad aproximadamente de 35%, lo que favorece la respuesta celular [73]. Por ejemplo, andamios de PCL funcionalizados con grupos hidroxilo, con porosidad del 70 % y módulo de compresión comparable al hueso trabecular, presentaron mayor adhesión celular, actividad metabólica y potencial osteogénico en comparación con andamios de PCL no funcionalizados [74].

2.5. Requerimientos de andamios para aplicaciones en ingeniería de tejido óseo

Hildebrand y col. [75] reportaron que el espesor trabecular promedio del hueso esponjoso oscila entre 100 y 150 μm , mientras que Jowsey [76] estimó que el diámetro de la sección transversal de los sistemas de Havers en hueso cortical humano varía entre 50 y 250 μm . Según Hulbert y col. [77], un tamaño de poro mínimo de 100 μm es ideal para estructuras óseas, aunque poros más grandes ($>300 \mu\text{m}$) promueven la osteogénesis directa, mientras que poros más pequeños promueven la osificación osteocondral [78]. En términos generales, se considera óptimo un tamaño de poro entre 100 y 900 μm , con una porosidad superior al 70%, para aplicaciones de ingeniería de tejido óseo. Poros más pequeños (5-15 μm) favorecen la neovascularización, mientras que aquellos entre 15 y 50 μm facilitan el transporte de nutrientes [79, 80].

Un andamio ideal debe presentar alta porosidad y adecuada interconectividad para favorecer la adhesión celular, la vascularización y el crecimiento óseo [81, 82].

2.6. Fabricación de andamios de PCL

La selección de la técnica de fabricación de andamios de PCL depende de la arquitectura y propiedades estructurales requeridas. Para la obtención de andamios porosos, se emplean métodos como la lixiviación de porógenos, la saturación y liberación de CO_2 , la impresión 3D, la separación de fases y la liofilización. En contraste, los andamios fibrosos se producen comúnmente mediante técnicas como el electrohilado y el electrohilado por fusión [83-85].

2.6.1. Técnica de separación de fases

La separación de fases inducida térmicamente es una técnica utilizada para fabricar estructuras poliméricas nanofibrosas que imitan la arquitectura de la matriz extracelular. El procedimiento consiste en disolver el polímero en un diluyente líquido o sólido de bajo

peso molecular y alto punto de ebullición, formando una solución homogénea a temperatura elevada. Posteriormente, la solución se moldea en la forma deseada y se enfría, lo que induce la separación de fases. Finalmente, el diluyente se elimina por liofilización para obtener una estructura porosa tridimensional [86].

El fundamento del método radica en la formación de fases ricas y pobres en polímero. Al disminuir la temperatura, la solución se solidifica y la posterior eliminación del solvente congelado origina la red porosa. La morfología final del andamio depende de variables como la concentración de polímero, el tipo de solvente empleado y la velocidad de enfriamiento [87].

La separación de fases progresa hasta que el sistema alcanza un estado de energía libre mínima. Dependiendo de la composición y temperatura, pueden generarse separaciones de tipo líquido-líquido o sólido-líquido. En sistemas sólido-líquido, el polímero precipitado constituye la fase sólida, mientras que la fase líquida es pobre en polímero y contiene el solvente remanente. En cambio, la separación líquido-líquido produce una red interpenetrante en la cual la fase rica en polímero forma el esqueleto estructural, mientras que la fase pobre origina los poros después del envejecimiento y secado [88].

La técnica NTIPS requiere un disolvente como el diclorometano, cuya temperatura de fusión es -95.1°C . La producción de andamios mediante esta técnica emplea el calor como fuente de energía para inducir la separación de fases, dividiendo la solución en dos componentes: una fase rica en polímero y otra pobre en polímero. Este proceso puede llevarse a cabo mediante la exposición a un no solvente inmiscible o mediante el enfriamiento de la solución por debajo de su temperatura de solubilidad [89-93].

En un diagrama típico de fases composición-temperatura para sistemas polímero-disolvente existen dos curvas principales: la curva binodal y la curva espinodal (Figura 2.6). La curva espinodal divide la región bifásica en zonas metaestables e inestables. Cuando la temperatura se encuentra por encima de la curva binodal, la solución polimérica permanece homogénea [94].

El proceso NTIPS consiste en disminuir la temperatura de una solución homogénea hasta un punto crítico en el cual el sistema pierde su estabilidad termodinámica, generando una separación espontánea en dos fases: una con alta concentración de polímero y otra con

baja concentración. La incorporación de un no solvente incrementa la energía libre de mezcla, que favorece aún más la separación de fases [95-97].

La estructura del andamio obtenido depende directamente de las condiciones termodinámicas durante el enfriamiento. Como se observa en la Figura 2.6, al disminuir la temperatura de la solución de polímero desde el punto A al punto B, esta puede ingresar a regiones de dos fases a una concentración determinada. Si la solución ingresa en zonas metaestables, la separación de fases ocurre mediante nucleación y crecimiento; en cambio, en zonas inestables, el mecanismo dominante es la descomposición espinodal [98].

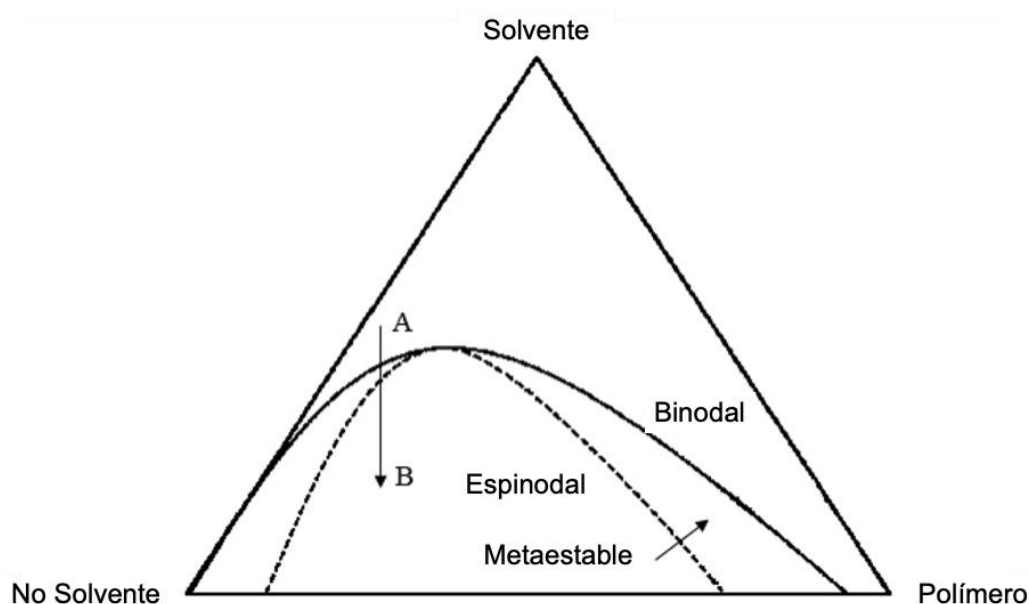


Figura 2.6 Diagrama ternario del sistema polímero-solvente-no solvente [95].

En la región metaestable, la separación de fases ocurre mediante nucleación y crecimiento impulsados por fluctuaciones térmicas y de composición, generando gotas de una nueva fase que posteriormente crecen y coalescen. Tras la formación de las gotas, el entorno local experimenta una disminución en la concentración del soluto, lo que limita el crecimiento de las gotas debido a la difusión molecular a través del gradiente de concentración [95].

En la zona inestable, la ausencia de una barrera cinética que impida la separación de fases permite que ocurra la descomposición espinodal, lo que conduce a la formación de una

estructura bicontinua. Como se observa en la Figura 2.7, esta red es especialmente sensible a la presencia de una fase con baja concentración de polímero, generando una alta energía interfacial. Dicha energía puede reducirse mediante mecanismos de engrosamiento, como la coalescencia de gotas, la maduración de Ostwald y el crecimiento hidrodinámico [95, 99 – 101].

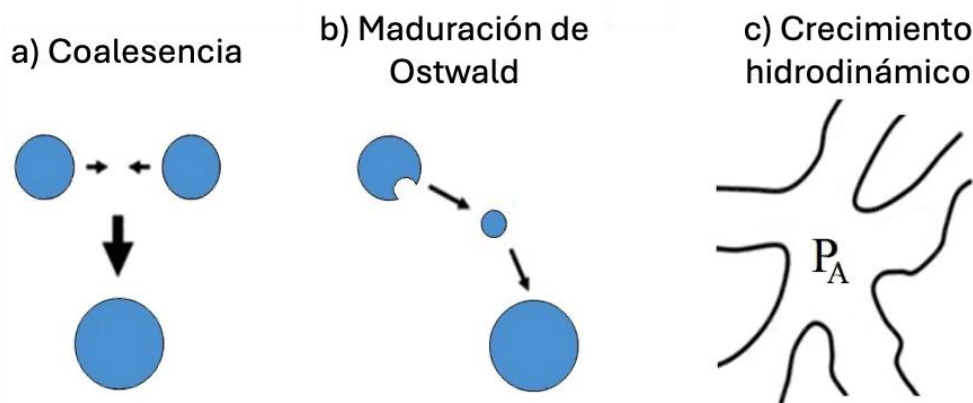


Figura 2.7. Mecanismos de crecimiento: a) coalescencia, b) maduración de Ostwald y c) crecimiento hidrodinámico [95].

Una vez que el proceso de separación de fases ha concluido o se ha detenido, el disolvente puede eliminarse utilizando tres métodos distintos: liofilización, secado supercrítico o reemplazo por un disolvente no soluble seguido de secado al vacío [95].

Grandi y col. [102] demostraron que la técnica de separación de fases permite obtener andamios de poli(ϵ -caprolactona) con porosidad, tamaño y distribución de tamaño de poro comparables a las del tejido óseo. Además, mediante el uso de poli(etilenglicol), sacarosa, fructosa y alginato de Ca^{2+} como agentes porógenos, se lograron estructuras tridimensionales porosas con diferentes tamaños y geometrías de poro. Los andamios fabricados sin agentes porógenos presentaron una superficie externa lisa y formaciones globulares internas (Figura 2.8 a)). En contraste, la incorporación de un 30% de poli(etilenglicol) (PEG) como agente porógeno permitió alcanzar una porosidad aproximada del 72% (Figura 2.8 b)).

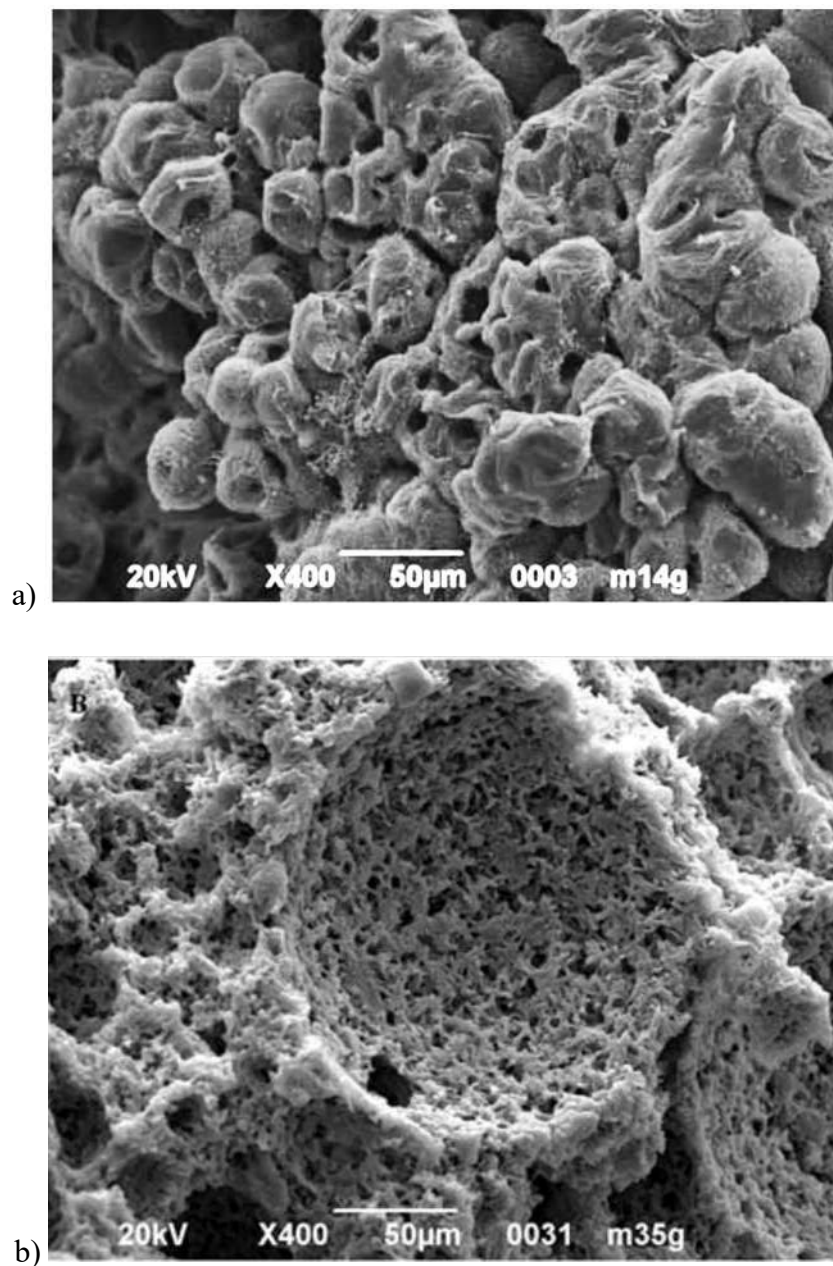


Figura 2.8 Micrografía MEB de andamios de PCL: a) sin adición de agente porógeno; b) con 30% PEG [103].

Rezabeigi y col. [89] fabricaron monolitos porosos de ácido poliláctico mediante el método de separación de fases inducida por no solvente, demostrando que sistemas con una relación $v/v < 1$ exhiben tiempos de gelificación prolongados (8-20 días) en comparación con sistemas con $v/v = 1$. Además, temperaturas de reposo más bajas reducen la contracción del material e incrementan la porosidad (Figura 2.9).

Las micrografías SEM (Figura 2.9a y 2.9b) muestran distorsiones significativas en los poros debido a la contracción del sistema. En contraste, las imágenes 2.9c y 2.9d

evidencian una mayor porosidad con una distribución bimodal del tamaño de poro. La combinación de poros grandes y esféricos con poros más pequeños dio lugar a una estructura más homogénea y altamente porosa, adecuada para aplicaciones de ingeniería tisular.

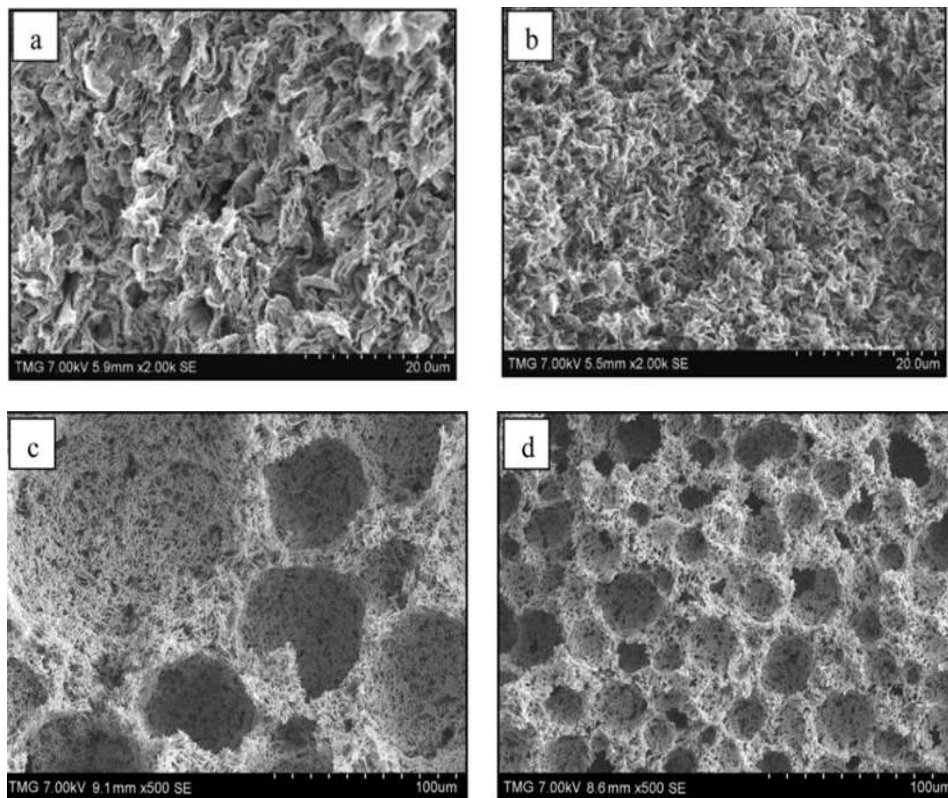


Figura 2.9 Micrografías MEB de andamios obtenidos por separación de fases inducida por no solvente [89].

2.7. Ensayos *in vitro*

Actualmente, los ensayos *in vitro* permiten evaluar y predecir la biocompatibilidad, citotoxicidad y bioactividad de los biomateriales mediante la determinación de parámetros específicos. Una de las técnicas más empleadas para analizar la bioactividad es la inmersión en fluido corporal simulado (SBF, por sus siglas en inglés *Simulated Body Fluid*), una solución acuosa con composición iónica similar a la de plasma sanguíneo humano.

La capacidad de unión ósea de un material se evalúa examinando la formación de apatita en su superficie después de su inmersión en SBF. En 1991, Kokubo y col. [103]

propusieron que la formación de una capa de apatita similar a la del hueso en la superficie del material es un requisito esencial para su unión al tejido óseo del huésped, fenómeno que puede reproducirse *in vitro* utilizando SBF.

Previamente, en 1980, Hench y col. [104] demostraron que el Bioglass® 45S5, al implantarse en el organismo, forma una capa superficial compuesta de gel de SiO₂ y fosfato de calcio amorfo que facilita su integración con el hueso vivo. Además, señalaron que este proceso puede reproducirse en solución tampón Tris, (compuesta por tris(hidroximetil)aminometano y ácido clorhídrico). No obstante, en 1990, Kokubo y col. [103] evidenciaron que la apatita formada *in vivo* en vitrocerámicos cristalinos de apatita-wollastonita (A-W) solo puede reproducirse en SBF y no en solución tampón Tris (Figura 2.10).

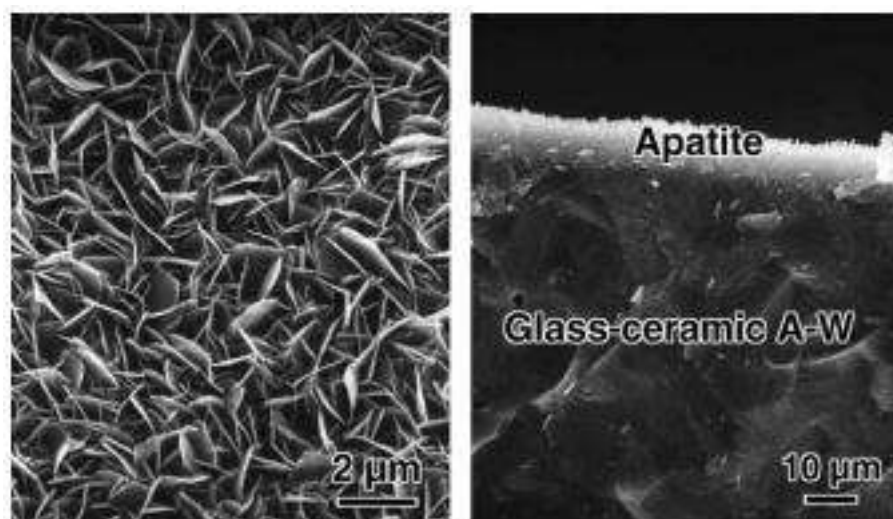


Figura 2.10. Micrografía SEM de la superficie (izquierda) y sección transversal (derecha) de una capa de apatita formada en un vitrocerámico A-W en SBF [103].

Igualmente, se confirmó la adherencia entre la capa de apatita formada sobre el material y el hueso vivo (Figura 2.11). También se encontró que la hidroxiapatita sinterizada y el fosfato tricálcico forman capas de apatita después de la inmersión en SBF, corroborando su capacidad de unión ósea [103]. Estos resultados evidencian la elevada bioactividad y reactividad de estos materiales.

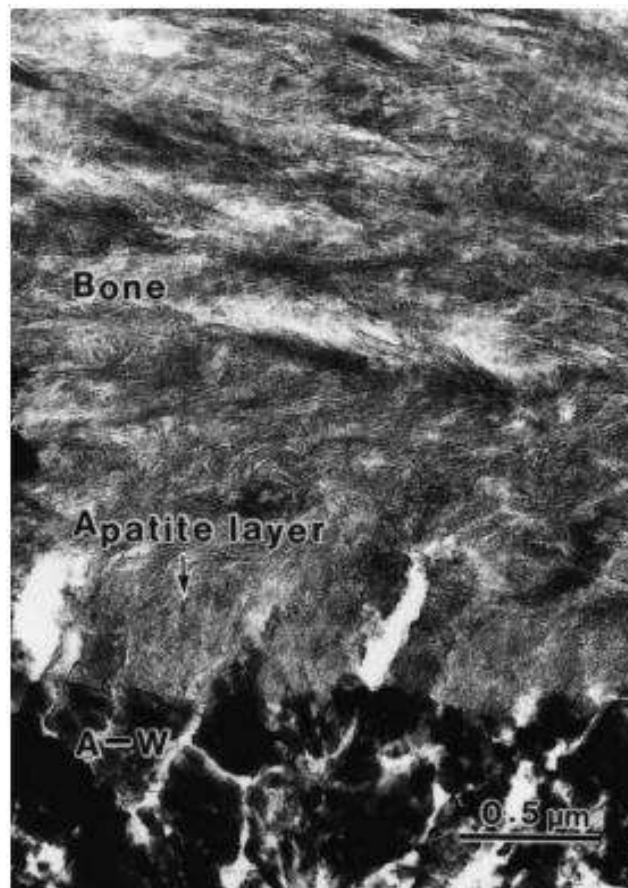


Figura 2.11. Micrografía de la interfase entre el hueso de rata y la apatita formada en la superficie de un vitrocerámico A-W [103].

Heydari y col. [105] fabricaron andamios de policaprolactona (PCL) con 0 % y 10 % de fosfato octacálcico (OCP) mediante electrohilado. Después de la inmersión en SBF, evaluaron la formación de apatita y observaron mineralización en los andamios con 10 % de OCP después de 9 días (Figura 2.12), mientras que en los de PCL pura no se detectó formación de apatita incluso después de 28 días.

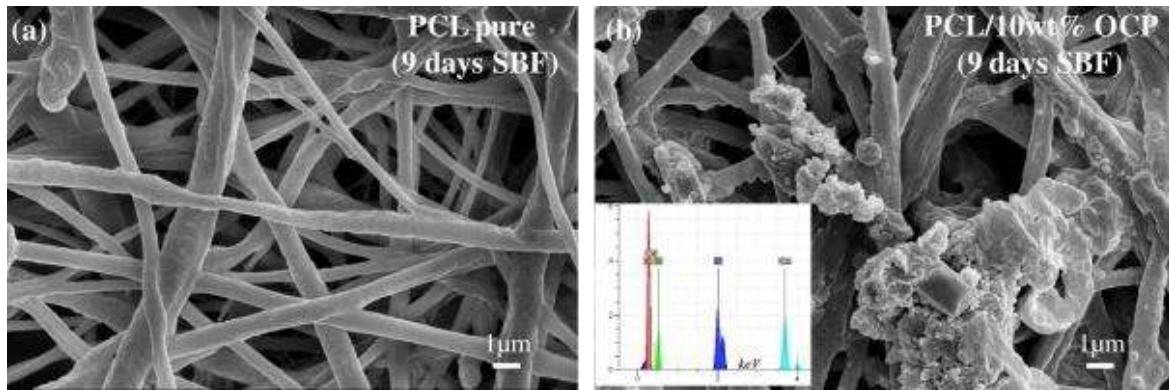


Figura 2.12. Morfología de andamios (a) PCL pura y (b) PCL/10% OCP después de 9 días de inmersión en SBF [105].

Estos autores también evaluaron la viabilidad y proliferación celular mediante el ensayo MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio), demostrando que los andamios con 10 % de OCP promovieron un mayor número de células viables en comparación con los de PCL pura. Además, la proliferación aumentó progresivamente con el tiempo (Figura 2.13), lo que indica que la incorporación de OCP mejora el entorno para el crecimiento celular.

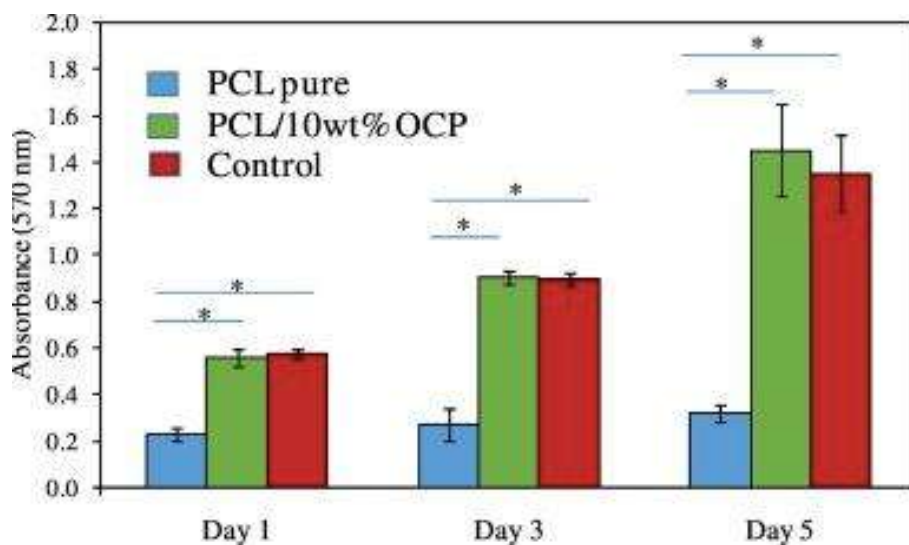


Figura 2.13 Proliferación de células osteoblásticas hG-292 en control, PCL pura y PCL/10% OCP evaluada mediante ensayo MTT ($p < 0.05$) [105].

En otro estudio, Yuan y col. [106] investigaron andamios de PCL y fosfato tricálcico (β -TCP) recubiertos con nano-DBM mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*. La matriz ósea desmineralizada (DBM, por sus siglas en inglés *Demineralized Bone Matrix*) es un sustituto de injerto óseo alogénico, que solo se puede utilizar como material de relleno en

lugar de como injerto óseo estructural. Durante 7 días analizaron la distribución celular (Figura 2.14). A las 24 h se observó escasa adhesión celular; sin embargo, la proliferación aumentó significativamente con el tiempo, formando poblaciones densas al séptimo día.

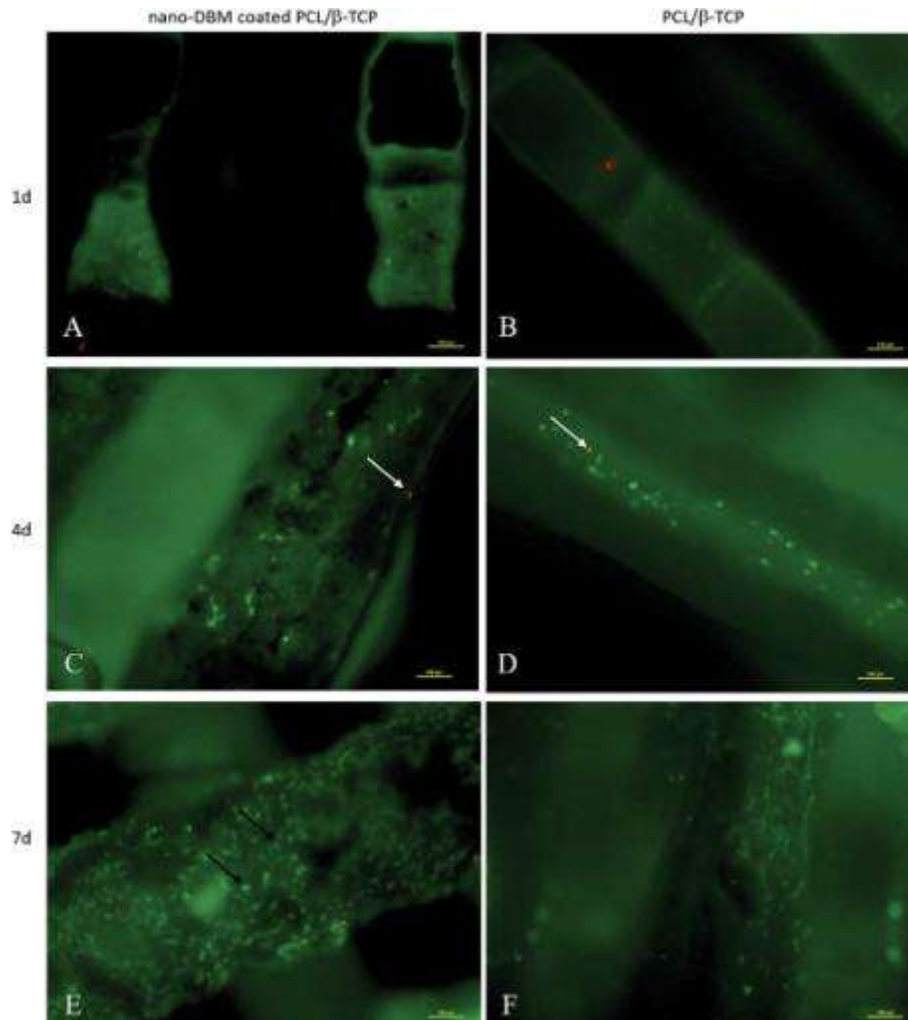


Figura 2.14. Distribución de células MC3T3-E1 en andamios de PCL/β-TCP recubiertos con nano-DBM y PCL/β-TCP. Las flechas negras indican células vivas y las blancas, células muertas [106].

La viabilidad celular se evaluó mediante el ensayo CCK-8 después de 1, 4 y 7 días de incubación (Figura 2.15). Los andamios recubiertos con nano-DBM mostraron mayor actividad celular en comparación con los de PCL/β-TCP sin recubrimiento, lo que sugiere que la modificación superficial con nano-DBM mejora las propiedades biológicas del material.

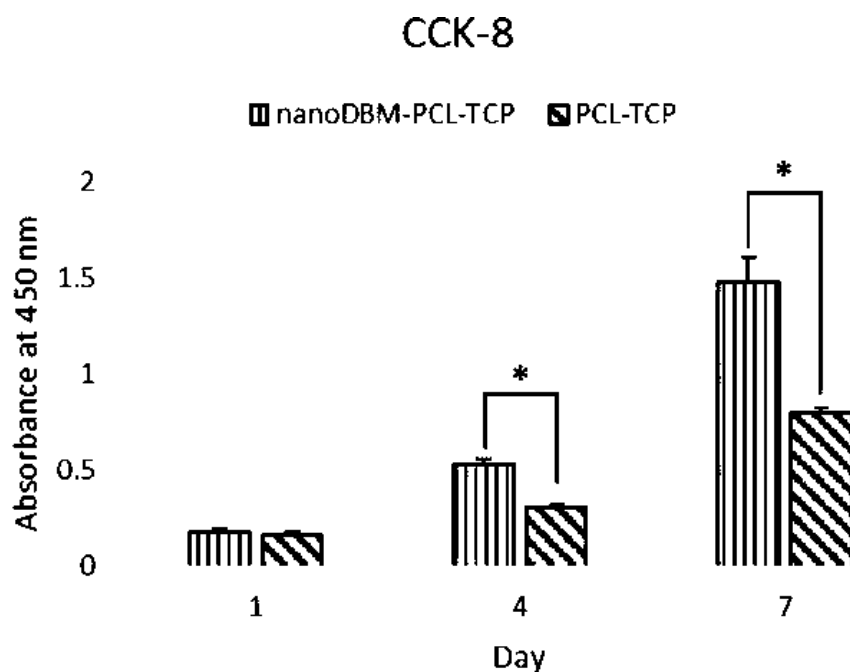


Figura 2.15. Ensayo CCK-8 para proliferación celular en andamios de PCL/ β -TCP recubiertos con nano-DBM y PCL/ β -TCP [106].

2.8. Propiedades mecánicas

Heydari y col. [105], evaluaron las propiedades mecánicas de andamios de policaprolactona/fosfato octacálcico (PCL/OCP) fabricados mediante electrohilado. Como se observa en la Figura 2.16, los andamios de PCL pura presentaron una resistencia máxima a la tracción de 3.19 ± 0.68 MPa, una deformación a la rotura de 140.32 ± 26.26 % y un módulo de Young de 5.23 ± 0.77 MPa.

Al incrementar la concentración de OCP al 5 % en peso, la resistencia máxima a la tracción aumentó significativamente hasta 4.34 ± 0.44 MPa, la deformación a la fractura alcanzó a 182.01 ± 34.10 % y el módulo de Young se incrementó a 5.59 ± 0.41 MPa. Sin embargo, al elevar el contenido de OCP al 10 % en peso, la resistencia máxima a la tracción se mantuvo prácticamente constante (4.33 ± 0.32 MPa), mientras que la deformación a la fractura y el módulo de Young disminuyeron a 156.41 ± 6.52 % y 4.50 ± 0.37 MPa, respectivamente.

Al final, el andamio con 5 % en peso de OCP presentó el mejor desempeño mecánico global, lo cual se atribuyó a la reducción del diámetro de fibra obtenida durante el proceso de electrohilado.

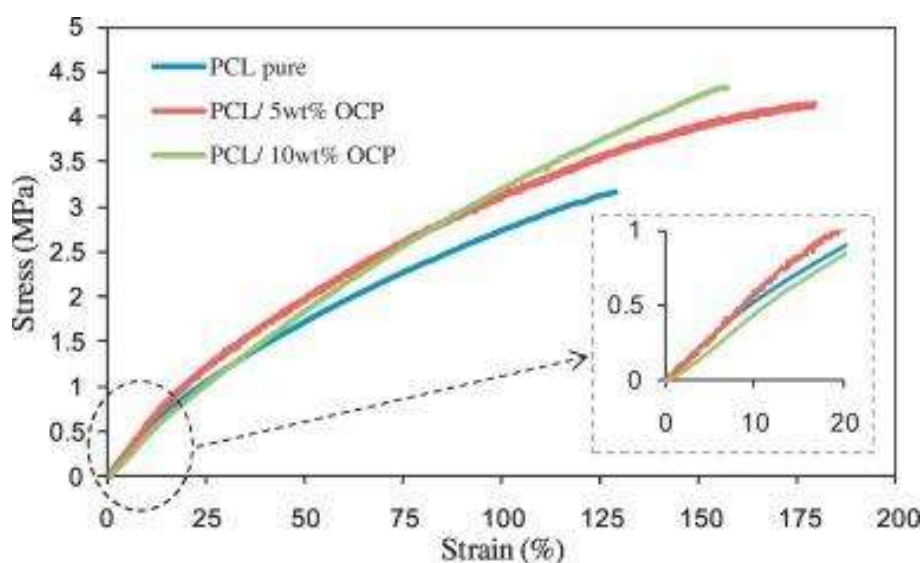


Figura 2.16 Comportamiento mecánico de los andamios de PCL/OCP fabricados mediante electrohilado [105].

Estos resultados indican que el contenido de OCP influye directamente en las propiedades mecánicas, particularmente en la resistencia a la tracción y la deformación a la fractura. Esta mejora se relaciona con la disminución del diámetro de fibra, fenómeno asociado al aumento de la conductividad de la solución durante el electrohilado. En general, la combinación de PCL y OCP mejora el comportamiento mecánico del andamio, favoreciendo su potencial aplicación en ingeniería de tejido óseo.

En otro estudio, Eshraghi y col. [107] analizaron el comportamiento mecánico de andamios de PCL fabricados mediante sinterizado selectivo por láser, variando la arquitectura ortogonal de los poros. Como se observa en la Figura 2.17, la optimización de los parámetros de fabricación permitió obtener módulos de compresión entre 14.9 y 113.4 MPa, y resistencias máximas a la compresión entre 0.6 y 10 MPa, dependiendo de la porosidad, la cual osciló entre 44.8% y 76.5%. Estos valores resultan relevantes, ya que se encuentran dentro del rango mecánico reportado para el hueso trabecular humano.

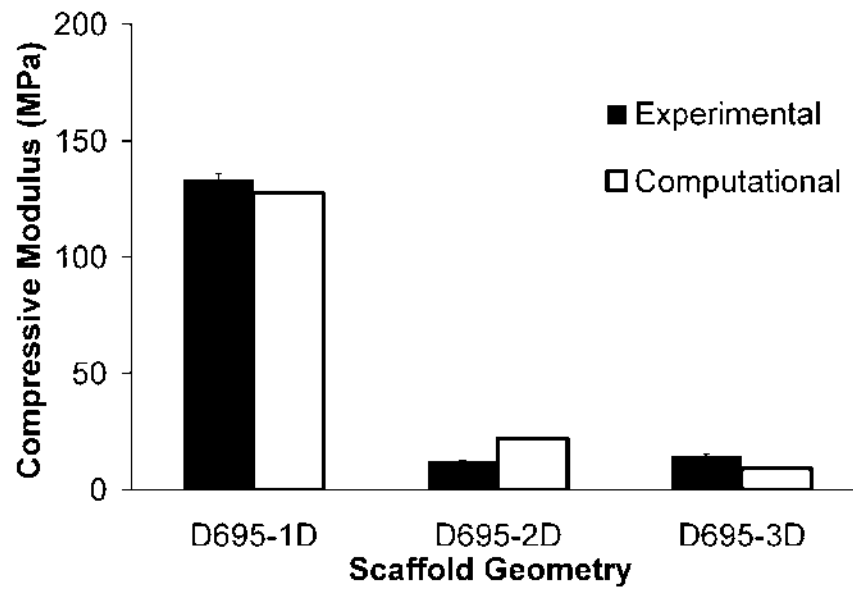


Figura 2.17 Comportamiento mecánico de andamios con diferentes geometrías de poro [107].

Capítulo 3. Metodología Experimental

En el presente capítulo se describe la metodología empleada para la fabricación de andamios PCL/ β -TCP mediante la técnica híbrida de separación de fases inducida térmicamente y por no solvente (NTIPS). Asimismo, se presentan los métodos de caracterización aplicados a las muestras obtenidas. En la Figura 3.1 se muestra de forma esquemática el proceso general desarrollado durante el proyecto.



Figura 3.1 Proceso general de fabricación de andamios PCL/ β -TCP.

3.1. Materiales

En el presente estudio se emplearon los siguientes materiales: policaprolactona (*Sigma-Aldrich*, 99 % de pureza, densidad de 1.145 g/cm³), fosfato tricálcico (*Sigma-Aldrich*, >98 % de pureza), diclorometano (*J. T. Baker*, >95.5 %, densidad de 1.33 g/cm³), hexano (*J. T. Baker*, >95 %, densidad de 0.66 g/cm³) y metanol (*J. T. Baker*, 99.9 %, densidad de 0.7918 g/cm³).

3.2. Fabricación de andamios compuestos de PCL/ β -TCP

La fabricación de los andamios compuestos de PCL/ β -TCP se fundamentó en el protocolo desarrollado por Rezabeigi y col. [89], empleando una técnica híbrida que combina la separación de fases inducida térmicamente (TIPS) y por no solvente (NIPS). Dado que la termodinámica del sistema permite que la separación de fases ocurra a temperatura ambiente, el diseño experimental se centró en la optimización de dos variables críticas: la concentración de policaprolactona (PCL) en diclorometano (DCM) y la relación volumétrica entre el no solvente (hexano) y el solvente (DCM).

La evolución del proceso se documentó en dos etapas diferenciadas, orientadas a resolver problemas de estabilidad estructural e integridad morfológica.

3.2.1. Fase I: Evaluación inicial (Caso 1)

En esta primera etapa, el objetivo fue establecer el rango de trabajo para la matriz polimérica. Se prepararon disoluciones de PCL en DCM con concentraciones del 15 %, 20 % y 25 % en peso. El proceso de disolución se llevó a cabo mediante agitación magnética constante a 500 rpm. Se determinó que la temperatura ambiente constituye la condición óptima para este paso, ya que cualquier incremento térmico acelera la volatilización del DCM. Este fenómeno de evaporación prematura altera significativamente la reología de la mezcla, confiriéndole una consistencia gomosa y altamente viscosa que dificulta la agitación homogénea y la adecuada dispersión de los componentes, especialmente en concentraciones elevadas de PCL.

Una vez obtenida una solución translúcida y libre de partículas sólidas, se incorporó el refuerzo de fosfato tricálcico (β -TCP) en tres niveles de concentración: 5 %, 10 % y 15 % (p/p) respecto a la mezcla final. Posteriormente se adicionó el hexano mediante goteo controlado bajo agitación rápida. Para evitar una separación de fases abrupta o la precipitación descontrolada del polímero, se reguló cuidadosamente la velocidad de adición.

Posteriormente las muestras se moldearon y fueron sometidas a congelación a -40°C y -30°C durante periodos entre 5, 7 y 10 días para inducir la gelación. La extracción de solventes en esta fase se realizó mediante la inmersión de los cuerpos sólidos en 200 mL de metanol a temperatura ambiente durante 24 h bajo agitación a 400 rpm. Sin embargo, se observó que aproximadamente el 80 % de las muestras colapsaba, regresando a un

estado semilíquido al entrar en contacto con el metanol o durante la descongelación. Este fallo estructural sugirió que la diferencia térmica entre el estado de congelación y el baño de extracción, sumada a la presencia de trazas de DCM, comprometía la consolidación de la red porosa.

Para las muestras fabricadas a -30 °C y las que se llevaron a enfriamiento durante 10 días, únicamente se realizó este proceso para observar el impacto que tiene la temperatura de enfriamiento y el tiempo de envejecimiento en la morfología de las piezas.

3.2.2. Fase II: Protocolo de consolidación estructural e intercambio criogénico (Caso 2)

A partir de los resultados de la primera etapa, se rediseñó el procedimiento con el objetivo de obtener muestras cilíndricas estructuralmente estables. Se estandarizó el uso de 1.5 g para las diferentes concentraciones de PCL, manteniendo la relación 1:0.7 entre DCM/hexano bajo agitación a 500 rpm a temperatura ambiente.

En esta etapa se implementó una modificación crítica en el orden de adición de los componentes para las muestras reforzadas. En primer lugar, se adicionó el no solvente (hexano) a una velocidad constante de una gota cada 5 s aproximadamente. Este flujo permitió identificar con precisión el punto de opalescencia o enturbiamiento de la solución, indicador físico de que el sistema había alcanzado el límite de solubilidad necesario para iniciar la separación de fases.

A diferencia del caso anterior, el β -TCP se agregó posteriormente a la adición del hexano. Esta decisión técnica resultó fundamental debido a que el β -TCP, al ser un polvo blanco, opaca la solución e impide visualizar el cambio de turbidez generado por el hexano. Al posponer su incorporación, fue posible controlar el volumen máximo de no solvente sin riesgo de saturar el sistema y provocar la sedimentación del polímero.

3.2.3. Estabilización térmica y extracción multietapa

Las soluciones se vertieron en moldes cilíndricos y se congelaron a -40 °C por 7 días. Para la remoción de solventes, se diseñó un protocolo de intercambio en etapas utilizando 200 mL de etanol absoluto preenfriado a 2-3 °C. La inmersión en un medio frío durante 24 h minimizó el gradiente térmico, evitando el colapso de las paredes porosas y permitiendo que el etanol sustituyera gradualmente al DCM y al hexano mientras la matriz polimérica permanecía rígida. Posteriormente, se aplicó una secuencia de lavados:

acetona pura durante 15 min y agua destilada durante otros 15 min para eliminar cualquier residuo orgánico persistente.

Para el secado se emplearon dos métodos: liofilización durante 24 h, con el fin de preservar la microestructura generada, y secado ambiental durante 72 h. Ambos métodos permitieron obtener andamios con estabilidad mecánica y geométrica significativamente superior a la observada en el Caso 1.

3.3. Parámetros de procesamiento

Para establecer las condiciones óptimas de síntesis, se realizó un barrido sistemático de concentraciones de PCL y relaciones solventes/no solvente, cuyos resultados se presentan en la Tabla 3.1. Este análisis permitió identificar los parámetros de procesamiento en la que el sistema se mantiene en un equilibrio antes de la precipitación del polímero.

Se observó una dependencia crítica entre la concentración de la matriz polimérica y la cantidad de no solvente admitida:

- **Zona monofásica (1F):** En relaciones bajas de hexano/DCM el sistema permanece homogéneo, lo que indica que la energía libre de mezcla es favorable y no se ha alcanzado el punto de turbidez.
- **Límite de separación de fases (LF):** Corresponde a la frontera termodinámica donde el sistema entra en la región metaestable del diagrama ternario, permitiendo una separación de fases controlada.
- **Precipitación prematura (SF):** Un exceso de hexano desplaza el sistema hacia la región de inestabilidad provocando la sedimentación del polímero antes del moldeo.
- Las casillas marcadas con x corresponden a los experimentos no realizados

Tabla 3.1 Relación de los experimentos realizados

Relación DCM/hexano	Concentración de PCL en DCM (% en peso)							
	9	10	13	15	18	20	23	25
1:1	SF	SF	SF	SF	×	SF	SF	SF
1:0.9	SF	SF	SF	SF	×	SF	SF	SF
1:0.8	SF	SF	SF	SF	SF	SF	×	SF
1:0.7	×	LF	×	LF	LF	LF	×	LF

1:0.6	×	1F	×	1F	1F	1F	×	1F
1:0.5	×	1F	×	1F	1F	1F	×	1F

En base a los resultados obtenidos en la Tabla 3.1 se determinó que las condiciones óptimas de fabricación de andamios se alcanzaron en una relación de 1:0.7 entre DCM y Hexano siendo el punto donde la mezcla alcanzó el grado de turbidez óptimo. Las posteriores caracterizaciones se realizaron únicamente a los andamios con 15% y 25% de PCL.

3.4. Caracterización de los andamios

La caracterización de los andamios compuestos de PCL/ β -TCP se llevó a cabo mediante un conjunto de técnicas complementarias. En primer lugar, se evaluó la microestructura y morfología de los andamios por microscopía electrónica de barrido (MEB), con el fin de analizar la arquitectura porosa generada por la combinación de las técnicas de separación de fases. Posteriormente, se estudiaron las propiedades térmicas mediante análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC), lo que permitió determinar el comportamiento térmico y la estabilidad de las matrices poliméricas puras y compuestas, así como su grado de cristalinidad. Se realizaron ensayos de compresión uniaxial para evaluar las propiedades mecánicas y validar la integridad estructural de los andamios obtenidos. Finalmente, se evaluaron la densidad aparente y la porosidad.

3.4.1. Caracterización morfológica

La caracterización de la morfología superficial de los andamios fabricados se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), empleando los microscopios JEOL JSM-6400 y JEOL JSM-7600. Este análisis permitió evaluar el impacto del método de separación de fases inducida térmicamente y por no solvente (NTIPS) sobre la estructura porosa resultante.

A partir de las micrografías se examinó la homogeneidad de la red polimérica, la interconectividad de los poros y la distribución del refuerzo cerámico. Adicionalmente, el análisis SEM facilitó la identificación de posibles aglomerados de partículas, proporcionando una evaluación de la integridad física del andamio.

3.4.2. Análisis térmico (TGA/DSC)

El comportamiento térmico y la estabilidad de las matrices de PCL pura, así como de los andamios compuestos (15 % de PCL con adiciones de 10 % y 15 % de β -TCP), se caracterizaron mediante análisis térmico simultáneo (TGA/DSC) utilizando un equipo TA Instruments SDT Q600. Los ensayos se llevaron a cabo en un intervalo desde temperatura ambiente a 700°C, empleando una rampa de calentamiento constante de 10 °C/min. y atmósfera protectora de argón.

Este análisis permitió determinar las temperaturas características del sistema, incluyendo el punto de fusión y el seguimiento de la degradación térmica. Asimismo, la evaluación simultánea de la pérdida de masa y el flujo de calor facilitó la identificación del grado de cristalinidad de la PCL.

3.4.3. Propiedades mecánicas

La evaluación del desempeño mecánico de los andamios se llevó a cabo mediante ensayos de compresión uniaxial, siguiendo los lineamientos de la norma ASTM-D695 [109]. Para ello se utilizó una máquina universal de ensayos LLOYD Instruments EZ50, equipada con una celda de carga de 50 kN. Las pruebas se realizaron a una velocidad de desplazamiento de 1.3 mm/min, garantizando un régimen de deformación adecuado para materiales poliméricos celulares.

Con el fin de asegurar la reproducibilidad estadística, se analizaron cinco probetas por cada composición, registrando las curvas de esfuerzo-deformación correspondientes. Este análisis permitió determinar parámetros fundamentales como la resistencia máxima a la compresión y el módulo elástico en compresión. Estos resultados fueron determinantes para cuantificar el efecto de la incorporación de β -TCP y evaluar cómo su interacción con la matriz polimérica modifica la rigidez y la capacidad de soporte de carga del andamio en comparación con las muestras de polímero puro.

Las pruebas mecánicas se realizaron en especímenes de PCL con contenidos de 0 % y 15 % de β -TCP. La Figura 3.2 ilustra las dimensiones, la geometría de las probetas y la dirección de la carga aplicada.

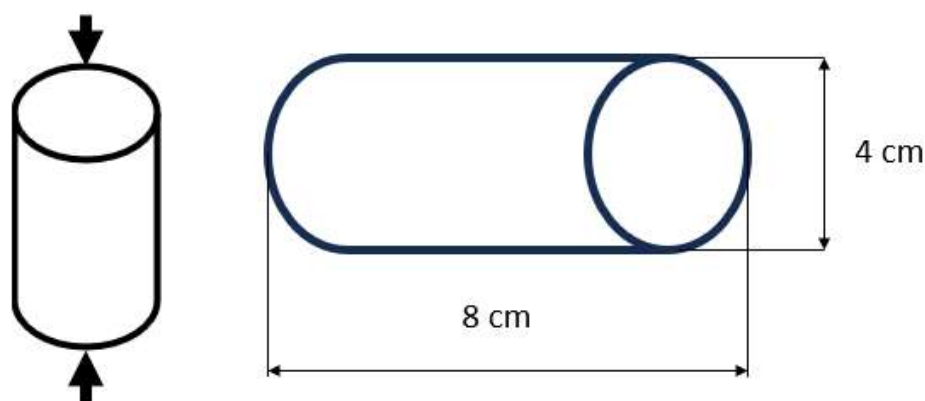


Figura 3.2 Esquema de dimensiones de las probetas.

3.4.4. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

El análisis de los grupos funcionales de los andamios se realizó mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). Los espectros de transmitancia se registraron en un intervalo de números de onda de 600 a 4000 cm^{-1} , lo que permitió identificar las bandas de absorción características tanto de la matriz polimérica como de la fase cerámica.

Este estudio fue fundamental para verificar la integridad química de la policaprolactona tras el proceso de separación de fases y confirmar la presencia de los grupos funcionales de fosfato inherentes al β -TCP. Asimismo, el análisis FTIR se empleó como herramienta de control para detectar posibles trazas residuales de solventes orgánicos, como diclorometano y hexano, cuya presencia podría comprometer la biocompatibilidad del material. Finalmente, el análisis de desplazamientos en las bandas permitió evaluar posibles interacciones intermoleculares entre el refuerzo inorgánico y la matriz polimérica.

3.4.5. Difracción de rayos X (DRX)

La identificación de las fases cristalinas y la integridad estructural de los componentes del andamio se determinaron mediante difracción de rayos X (DRX), empleando un difractómetro BRUKER D8 ADVANCE DAVINCI. Los patrones de difracción se obtuvieron para evaluar la cristalinidad de la matriz de PCL y verificar la estabilidad de la fase cerámica tras su incorporación en el sistema.

Para la indexación de los perfiles obtenidos, los resultados experimentales se compararon con bases de datos cristalográficos de referencia. Específicamente se usó la tarjeta ICDD #00-048-1762 para identificar los planos de difracción característicos de la policaprolactona y la tarjeta JCPDS #9-0169 para validar la fase de fosfato tricálcico (β -TCP). Este análisis permitió confirmar la pureza de los precursores y descartar transiciones de fase no deseadas o la formación de productos de degradación durante el proceso NTIPS.

3.4.6. Densidad real y porosidad

La densidad real de los andamios de PCL/ β -TCP se determinó mediante picnometría de desplazamiento de gas, utilizando helio como gas de análisis, debido a su capacidad para penetrar incluso los microporos más pequeños de la estructura gracias a su reducido radio atómico. Para estas mediciones se empleó un picnómetro de gases de alta precisión, registrando el volumen sólido real de las muestras tras una serie de ciclos de purga y equilibrio de presión.

Este análisis permitió obtener una medición precisa del volumen excluido por la matriz polimérica y el refuerzo cerámico, eliminando las incertidumbres asociadas a la tensión superficial presentes en métodos líquidos convencionales. A partir de los valores de densidad real y de la masa de las muestras, se calculó la porosidad total de los andamios, lo cual resultó fundamental para validar la eficiencia de la técnica de separación de fases en la obtención de estructuras altamente porosas y para correlacionar la densidad estructural con las propiedades mecánicas observadas.

Para determinar la porosidad total se empleó la relación entre la densidad aparente y la densidad real, expresada en la Ecuación 3.1, la cual cuantifica el porcentaje de volumen de poros cerrados respecto al volumen total del espécimen:

$$P(\%) = \left(1 - \frac{\rho_{aparente}}{\rho_{real}}\right) \times 100 \quad (3.1)$$

Capítulo 4. Resultados y Discusión

La fabricación de andamios de PCL/ β -TCP se fundamentó en la técnica híbrida de separación de fases inducida térmicamente (TIPS) y por no solvente (NIPS), adaptando la metodología reportada por Rezabeigi y col. [89]. El proceso se dividió en dos fases experimentales orientadas a la optimización de la estabilidad estructural y la eliminación de solventes residuales.

El proceso de síntesis comenzó con la preparación de la matriz polimérica disolviendo la policaprolactona (PCL) en diclorometano (DCM) bajo agitación vigorosa. Una vez consolidada la fase líquida, se incorporó el agente de refuerzo de fosfato tricálcico (β -TCP) en las proporciones preestablecidas (5 %, 10 % y 15 % p/p) respecto a la mezcla final.

Fase 1: determinación de parámetros críticos y estabilidad térmica (Caso 1)

En esta etapa inicial, la incorporación del hexano se realizó mediante un goteo controlado, iniciando con intervalos de 5 segundos y extendiéndose hasta 10 segundos conforme el sistema se aproximaba al punto de opalescencia. Se aplicó agitación de alta velocidad para mitigar el riesgo de precipitación prematura, fenómeno especialmente crítico en formulaciones con altas cargas de polímero y refuerzo cerámico.

Los tiempos de consolidación por congelación a -40°C se ajustaron según la viscosidad de la mezcla: 5 días para las muestras al 25 % de PCL y 7 días para aquellas al 15 %. Los resultados preliminares, sintetizados en la Tabla 3.1, revelaron que la cinética de separación de fases es directamente proporcional tanto a la concentración de PCL como a la relación DCM/hexano. Sin embargo, se identificó una limitación crítica: aproximadamente el 80% de las muestras procesadas en esta fase retornaban a un estado semilíquido tras la descongelación o al entrar en contacto con metanol a temperatura ambiente. Este colapso estructural se atribuyó al choque térmico y a la plastificación del polímero inducida por el DCM aún presente en la matriz.

Fase II: Optimización mediante intercambio gradual de solvente (Caso 2)

Con el objetivo de resolver la inestabilidad observada en la Fase 1, se rediseñó el protocolo de síntesis. La adición de hexano se estandarizó con un flujo constante de una gota cada 5 segundos hasta alcanzar el volumen calculado o la turbidez incipiente. Tras

un periodo de congelación uniforme de 7 días a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ se implementó un proceso de intercambio de solventes multietapa:

- **Estabilización en etanol frío:** A diferencia de la Fase 1, el primer contacto se realizó con etanol absoluto a aproximadamente $2\text{-}3\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Esta reducción del gradiente térmico fue determinante para consolidar la arquitectura porosa y evitar el colapso de las paredes del andamio antes de que el solvente fuera extraído.
- **Lavado intermedio con acetona:** Se realizó un intercambio con acetona durante 15 minutos para facilitar la remoción de trazas residuales de DCM y hexano aprovechando la miscibilidad del sistema.
- **Purificación en medio acuoso:** Finalmente, se realizó un lavado en agua destilada durante 15 minutos para asegurar la eliminación total de residuos orgánicos.

La transición desde un intercambio a temperatura ambiente (Fase 1) hacia uno escalonado (Fase 2) resultó en la obtención de andamios cilíndricos con una integridad estructural superior, una morfología consolidada y una mayor reproducibilidad experimental.

El proceso de separación de fases líquido-líquido está principalmente gobernado por la descomposición espinodal, especialmente en soluciones con concentraciones de PCL moderadas a altas [89]. Este mecanismo conduce a la formación de dos fases distintas: una fase rica en polímero, que constituye la estructura base del andamio, y una fase pobre en polímero, que posteriormente se transforma en poros [88].

La gelificación de la fase rica en polímero es un resultado directo de este fenómeno, donde se forma una estructura similar a un gel a medida que avanza este proceso. La separación de fases líquido-líquido (LLPS) da lugar a una estructura en red compuesta por una fase rica en polímero, que incluye tanto el polímero como una porción del solvente, y una fase pobre en polímero formada por el no solvente y el resto del solvente [96].

Los resultados obtenidos confirman que el ajuste preciso de la concentración de PCL y de la relación DCM/hexano constituye un factor crítico para garantizar la formación de andamios con propiedades morfológicas óptimas para aplicaciones biomédicas.

4.1. Análisis microestructural

La morfología superficial y la arquitectura porosa de los andamios de PCL/ β -TCP se analizaron mediante micrografías SEM, presentadas en la Figura 4.1. Este análisis permitió identificar el impacto de la concentración de polímero y de la carga de refuerzo sobre la organización estructural resultante del proceso de separación de fases optimizado en la metodología.

Como se observa en las imágenes, los andamios presentan una morfología característica compuesta por estructuras predominantemente esféricas. Todas las formulaciones exhiben porosidad, aunque la definición de la textura superficial varía significativamente según la composición. Para las concentraciones de 15 % y 25 % de PCL, se observó que los andamios con el nivel máximo de refuerzo (15 % de β -TCP, Figura 4.1e y 4.1f) presentan una morfología superficial más lisa a escala microestructural, careciendo de la organización laminar o fibrilar que es claramente visible en las muestras con 5 % y 10 % de β -TCP (Figura 4.1c y 4.1d). Esta transición sugiere que el incremento de la carga cerámica interfiere con la cristalización laminar de la PCL durante el enfriamiento a -40°C, resultando en paredes de poros con una textura más continua, aunque microporosa.

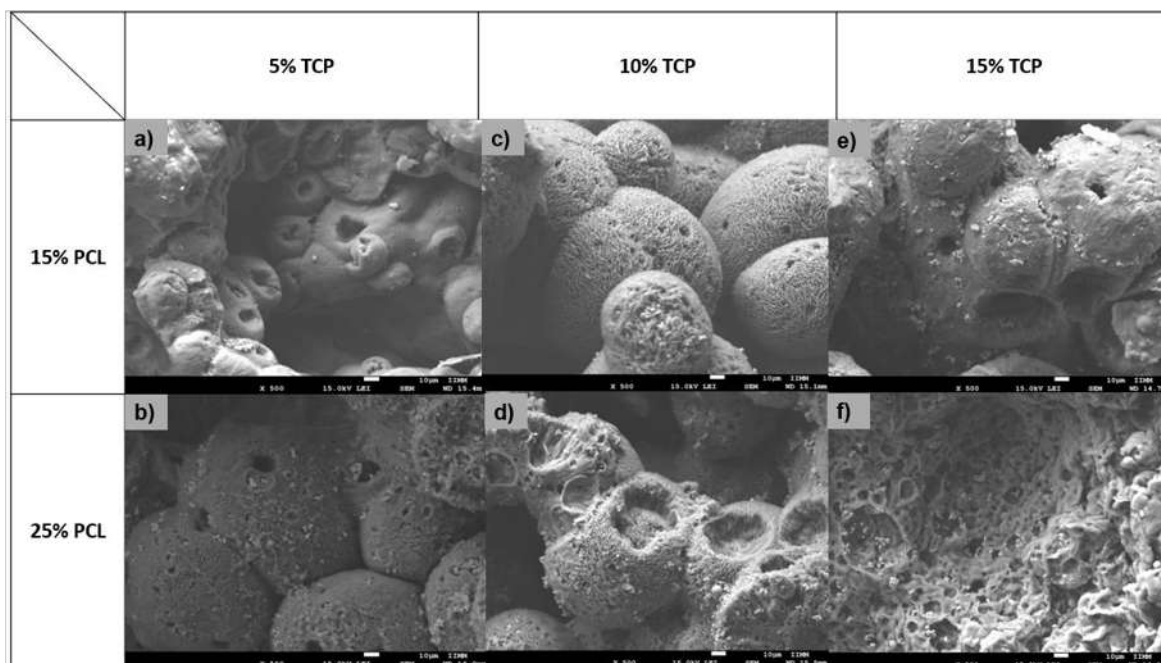


Figura 4.1 Micrografías de los andamios fabricados por NTIPS con diferentes concentraciones de PCL y β -TCP a) 15% PCL 5% β -TCP, b) 25% PCL 5% β -TCP, c) 15% PCL 10% β -TCP, d) 25% PCL 10% β -TCP, e) 15% PCL 15% β -TCP, f) 25% PCL 15% β -TCP.

c) 15%PCL 10% β -TCP, d) 25%PCL 10% β -TCP, e) 15% PCL 15% β -TCP, f) 25%PCL 15% β -TCP.

Estos hallazgos son consistentes con lo reportado por Hong y col. [110] quienes señalaron que la cantidad de refuerzo afecta tanto la porosidad como la organización de la fase polimérica, considerando un 30 % como límite superior para algunos sistemas.

La formación de los poros y la unión entre las microesferas se atribuyen a la coalescencia de gotas de hexano dentro de la matriz polimérica. La velocidad de agitación de 500 rpm y la relación de DCM/hexano sugerido en la Tabla 3.1 fueron determinantes para alcanzar el punto de opalescencia necesario, permitiendo que incluso las muestras con 15 % de PCL desarrollaran una red interconectada sin colapsar durante el intercambio de solventes.

Además de la composición química, se determinó que los parámetros de procesamiento durante la síntesis desempeñan un papel crucial en la arquitectura final del andamio. Como se ilustra en la Figura 4.2, la velocidad de agitación es un factor determinante en el control del tamaño de poro, actuando directamente sobre la coalescencia de las fases durante la separación.

Al comparar las micrografías, se observa que una agitación más lenta (Figura 4.2a) favorece la formación de poros de menor tamaño y una distribución más compacta. En contraste, una agitación más vigorosa (Figura 4.2b) induce un aumento significativo en el diámetro de los poros. Este fenómeno sugiere que una mayor energía cinética facilita la formación de dominios de solvente/no solvente más voluminosos antes de la gelación de la matriz de PCL, permitiendo el desarrollo de una red porosa más abierta y expansiva.

La morfología no solo se define durante la adición del hexano, sino que continúa evolucionando durante el intercambio de solvente. Se identificó que la velocidad de agitación del medio del lavado también impacta en el tamaño final de las cavidades; una agitación rápida durante esta etapa acelera la difusión del solvente hacia el exterior, lo que puede expandir los canales de interconexión y consolidar la estructura fibrilar u opaca observada en los detalles de las Figura 4.2c y 4.2d.

Estos resultados validan la decisión técnica de mantener una agitación constante y elevada, de 500 rpm, descrita en el Caso 1 y 2 de la metodología, asegurando que el

incremento en la relación DCM/hexano se traduzca efectivamente en una porosidad interconectada apta para la colonización celular.

En un estudio, Mahmoudi y col. [111] realizaron observaciones relevantes respecto al impacto de la velocidad de agitación en la morfología de las partículas. Encontraron que el aumento de la velocidad, produce un doble efecto: por un lado, conduce a una reducción del tamaño de las partículas; por otro, favorece la formación de burbujas de aire de mayor tamaño.

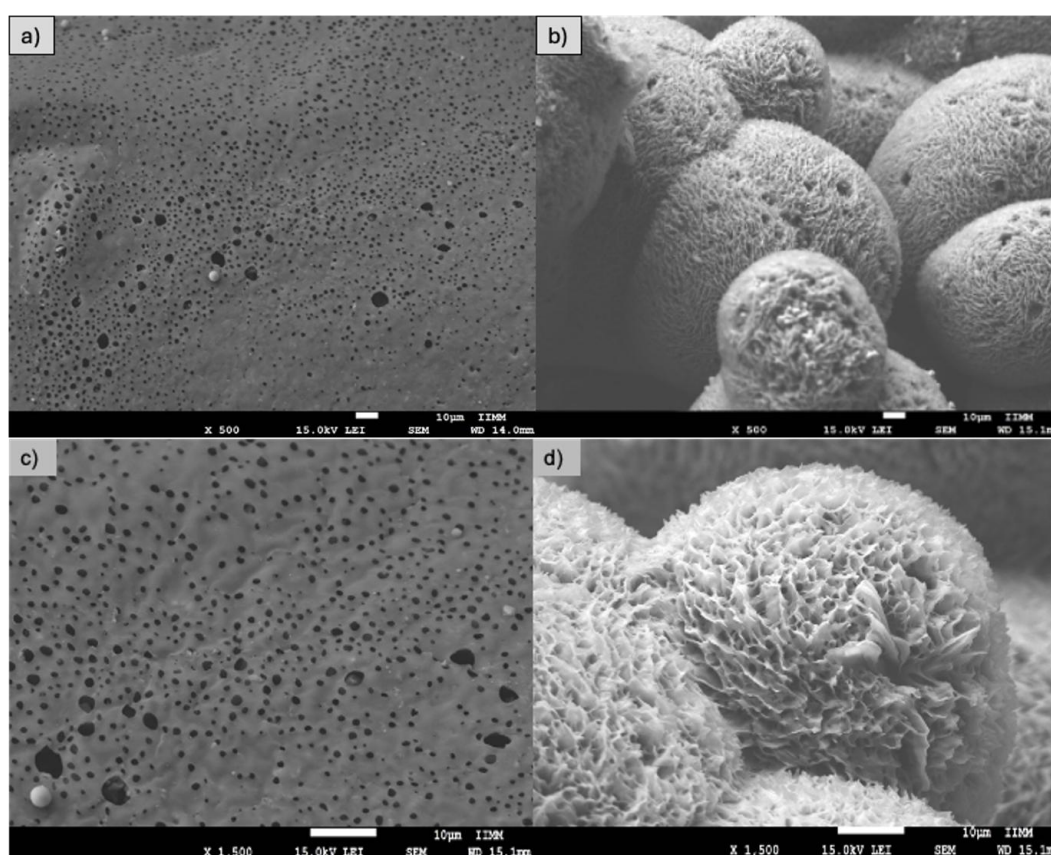


Figura 4.2 Micrografías de andamios con 15 % de PCL y 10% de β -TCP obtenidos con diferentes velocidades de agitación a) y c) 300 rpm, b) y d) 500rpm.

La integridad estructural y la textura superficial de los andamios de PCL/ β -TCP no solo dependen de la etapa de mezcla, sino que están fuertemente condicionadas por la velocidad y el control de la extracción del solvente. Como se ilustra en la Figura 4.3, el método de intercambio empleado determina si la red porosa conserva su diseño original o presenta irregularidades derivadas de una difusión agresiva.

En la micrografía de la Figura 4.3a se observan microesferas con una arquitectura definida y un empaquetamiento más compacto. La superficie exhibe una textura homogénea y estable, lo que sugiere que un proceso de extracción lento y gradual permitió un reordenamiento eficiente de las cadenas poliméricas. Este comportamiento valida la implementación del intercambio en etanol frío (2-3 °C) descrito en el Caso 2, el cual minimiza el gradiente térmico y previene el colapso de las paredes porosas antes de su solidificación definitiva.

Aunque en la Figura 4.3b la muestra mantiene una morfología esferoidal general, se percibe una estructura superficial significativamente más irregular. La textura fibrilar o laminar es mucho más evidente y rugosa, lo que puede indicar una separación de fases más agresiva o una difusión acelerada del solvente hacia el medio externo. Este fenómeno es característico de procesos donde el intercambio ocurre a temperaturas más altas o con solventes de alta afinidad (como el metanol a temperatura ambiente empleado en el Caso 1), lo que puede comprometer la homogeneidad de la superficie del andamio.

La transición hacia un protocolo de lavado multietapa y térmicamente controlado resultó esencial para estabilizar la fase rica en polímero. La obtención de una superficie más homogénea en el Caso 2 no solo mejora la reproducibilidad geométrica de los andamios, sino que también optimiza la superficie de contacto disponible para una futura posible interacción con el medio biológico.

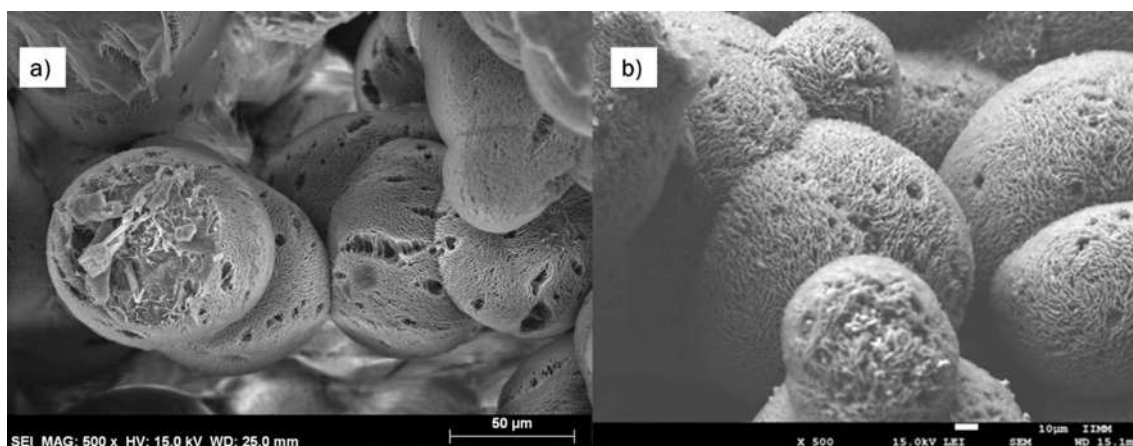


Figura 4.3 Influencia de la extracción del solvente a) extracción de solvente multietapa
b) extracción de solvente en metanol.

Se realizó un análisis detallado a mayores aumentos de los andamios procesados bajo las condiciones optimizadas del Caso 2. La Figura 4.4 revela la microarquitectura interna y superficial de las partículas de PCL, permitiendo visualizar los efectos de la consolidación térmica y del intercambio de solvente controlado.

La micrografía confirma el mantenimiento de una morfología de microesferas porosas con una textura superficial rugosa y fibrilar, característica del proceso de separación de fases inducida por no solvente. Se observa una densa red de microporos cerrados que no se encuentran ocluidos, lo que valida la eficiencia de la ruta de síntesis. Esta topografía fibrosa es fundamental desde una perspectiva biológica, ya que el aumento del área superficial y la porosidad abierta son requisitos críticos para facilitar la difusión de nutrientes, la adsorción de proteínas plasmáticas y la posterior colonización celular.

Un hallazgo relevante a esta escala es la consistencia de la red de PCL, la cual se presenta libre de colapsos estructurales aparentes. Este resultado es una evidencia directa del éxito del protocolo de intercambio en etanol y los lavados multietapa implementados. La estabilidad de las paredes del poro a nivel microscópico indica que el solvente y el no solvente fueron removidos gradualmente sin comprometer la rigidez mecánica del polímero durante la transición del estado de congelación hasta temperatura ambiente.

Estos resultados demuestran que el volumen de hexano determinado en los valores de referencia de la Tabla 3.1, en conjunto con una agitación vigorosa, permitió desplazar el sistema hacia la región espinodal del diagrama ternario. Esto dio lugar a la estructura observada, la cual posee la robustez necesaria para soportar los procesos de secado y posterior almacenamiento sin perder su funcionalidad como andamio óseo.

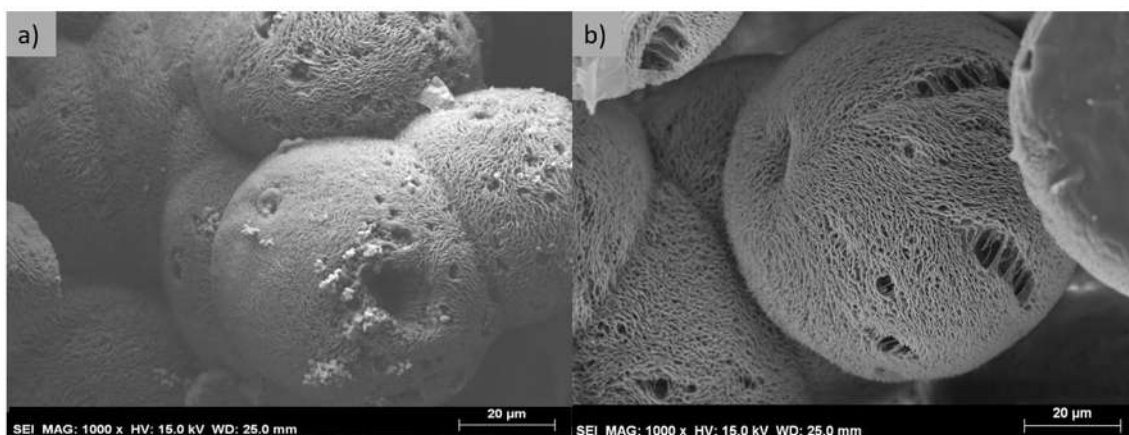


Figura 4.4 Micrografía SEM de los andamios a)15%PCL 10%β-TCP b) 15%PCL/0%β-TCP.

4.1.1. Efecto de la temperatura de enfriamiento

La temperatura de enfriamiento es un factor crítico en el proceso de separación de fases y cristalización, ya que influye directamente en la formación de la microestructura final de los andamios. Durante la etapa inicial del enfriamiento, el sistema atraviesa una región metaestable, donde predomina un mecanismo de nucleación y crecimiento; posteriormente, al avanzar hacia la región termodinámicamente inestable, ocurre la descomposición espinodal. Un enfriamiento más rápido favorece una transición más breve por la región metaestable y promueve el ingreso temprano a la región inestable del diagrama de fases, modificando significativamente la morfología obtenida [97].

La Figura 4.5 muestra el efecto de la temperatura de enfriamiento sobre la estructura de los andamios de PCL. La muestra presentada en la Figura 4.5a fue sometida a un proceso de enfriamiento durante 7 días a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, observándose una estructura porosa bien definida. En contraste, la muestra de la Figura 4.5b, procesada durante el mismo tiempo, pero a una temperatura de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, presenta una estructura predominantemente lisa y con ausencia de porosidad apreciable. Este comportamiento se atribuye a que, al incrementarse la temperatura de enfriamiento, la fase rica en polímero experimenta un retraso en el proceso de gelificación, lo que impide la consolidación de la red porosa antes del intercambio de solvente.

Aunque ambas muestras fueron sometidas a 7 días de enfriamiento, la diferencia de temperatura produjo morfologías completamente distintas. Este fenómeno tiene implicaciones directas sobre el tiempo necesario para la consolidación estructural, ya que

al aumentar la temperatura de enfriamiento el sistema requiere periodos más prolongados para completar la gelificación y la separación de fases. De no cumplirse este tiempo crítico, el material puede regresar a un estado semilíquido durante el intercambio de solvente, debido a que la red polimérica aún no se encuentra completamente estabilizada.

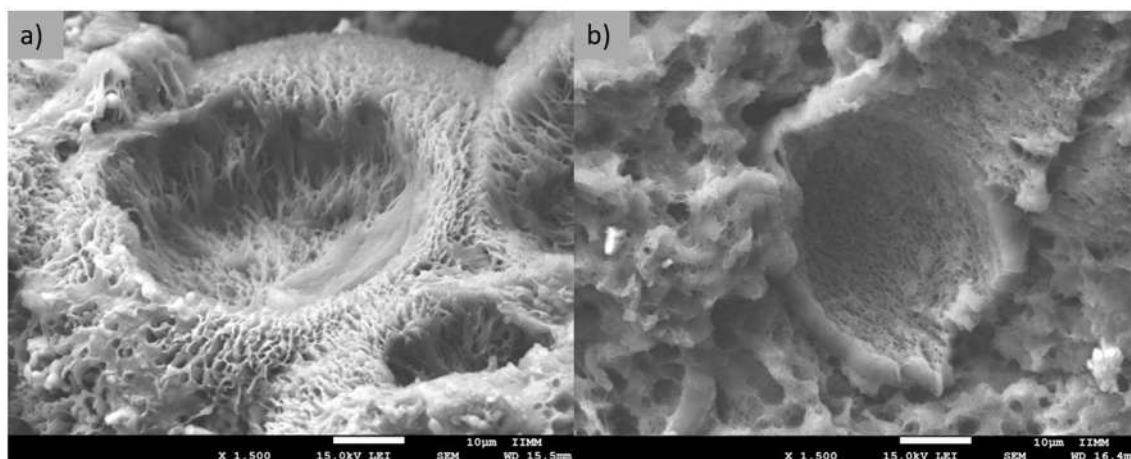


Figura 4.5 a) 25% PCL 10% β -TCP a -40°C b) 25% PCL 10% β -TCP a -30°C .

4.1.2. Efecto del tiempo de envejecimiento

La morfología de los andamios mediante separación de fases también puede controlarse a través del tiempo de envejecimiento del sistema [97]. La Figura 4.6 muestra el impacto de este parámetro sobre las estructuras de PCL, donde se observa que un tiempo de envejecimiento prolongado provoca una contracción en la estructura que junto con el proceso de liofilización pudo generar grietas internas afectando directamente en la estructura interna.

La estructura porosa interconectada característica se origina principalmente durante la etapa inicial de la separación de fases, la cual se encuentra gobernada por un mecanismo de descomposición espinodal. Sin embargo, durante períodos prolongados de envejecimiento, pueden ocurrir fenómenos simultáneos de sedimentación y engrosamiento de la fase rica en polímero. La sedimentación, impulsada por la gravedad, favorece la formación de regiones diferenciadas: una fase rica en solvente y una fase concentrada en polímero. Este proceso afecta negativamente la uniformidad estructural, generando andamios con interconectividad deficiente y poros irregulares o parcialmente cerrados [112, 113].

Además, como se observa en la Figura 4.6, tiempos de envejecimiento excesivos provocan la aglomeración de la PCL y el bloqueo parcial de los poros de la estructura. Como consecuencia, se produce una disminución tanto del diámetro medio de los poros como de la porosidad total.

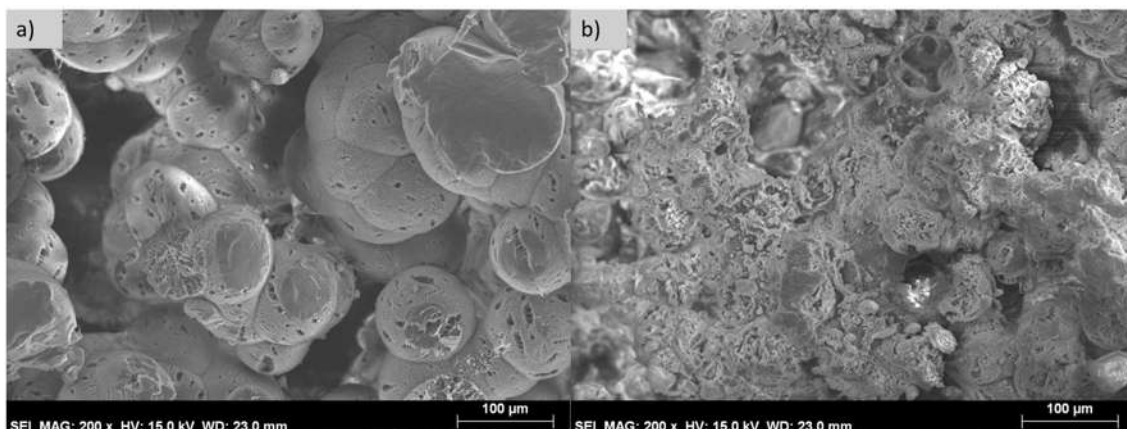


Figura 4.6 Efecto del tiempo de envejecimiento a) 15% PCL 0% β -TCP tras 7 días de envejecimiento b) 15% PCL 0% β -TCP tras 10 días de envejecimiento.

4.2. Análisis térmico simultáneo (TGA/DSC)

El comportamiento térmico de los andamios se evaluó mediante análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC). En la Figura 4.7 se presentan las curvas TGA para andamios fabricados con una base de 15 % de PCL y diferentes proporciones de refuerzo cerámico (0 %, 10 % y 15 % de TCP). Estas curvas proporcionan información relevante sobre la estabilidad térmica del material.

En las tres muestras analizadas (PCL pura, PCL/ β -TCP 10% y PCL/ β -TCP15%) se identificó una pérdida de masa inicial de aproximadamente 1 % alrededor de los 100°C. Este fenómeno se atribuye a la evaporación de humedad adsorbida y a la eliminación de trazas mínimas de solventes residuales, lo que confirma la eficiencia del protocolo de secado y liofilización empleado en la metodología.

La pérdida de masa principal, correspondiente a la descomposición térmica de las cadenas de la PCL, ocurre en el intervalo comprendido entre 300 °C y 500 °C. Para el andamio de PCL pura (línea roja, Figura 4.7a), la reducción de masa fue del 91.78 %, dejando un residuo mínimo. En contraste, las muestras reforzadas mostraron una mayor fracción

residual: el andamio con 10 % de β -TCP (línea azul, Figura 4.7a) presentó una pérdida del 81%, mientras que el material con 15 % de β -TCP (Figura 4.7b) redujo su masa en aproximadamente 65%. Estos resultados se relacionan directamente con la composición del sistema, ya que el β -TCP, al ser un material cerámico refractario, permanece como residuo inorgánico al final del ensayo.

De manera complementaria, el análisis DSC permitió identificar las transiciones térmicas del material mediante el monitoreo del flujo calorífico. La policaprolactona es un polímero semicristiano cuya flexibilidad está determinada por su temperatura de transición vítrea (T_g) de -60°C . Este valor implica que tanto a temperatura ambiente como en condiciones fisiológicas (37°C), el polímero se encuentra en estado gomoso, lo cual resulta favorable para aplicaciones en ingeniería de tejido óseo, ya que confiere al andamio alta tenacidad y capacidad de deformación plástica antes de la fractura. En contraste, si el material operara por debajo de su T_g , presentaría un comportamiento vítreo y frágil, aumentando el riesgo de falla mecánica.

El análisis DSC del andamio compuesto por 15 % de PCL sin refuerzo reveló dos eventos térmicos principales, como se muestra en la Figura 4.8. Se observó un pico endotérmico pronunciado a 67.6°C , correspondiente a la fusión de los dominios cristalinos de la policaprolactona (T_m). Este valor es consistente con lo reportado en la literatura y confirma la integridad de la matriz polimérica tras el proceso de separación de fases y extracción de solventes. El área bajo este pico corresponde a una entalpía de fusión (ΔH_m) de 100 J/g , parámetro fundamental para la determinación del grado de cristalinidad del polímero.

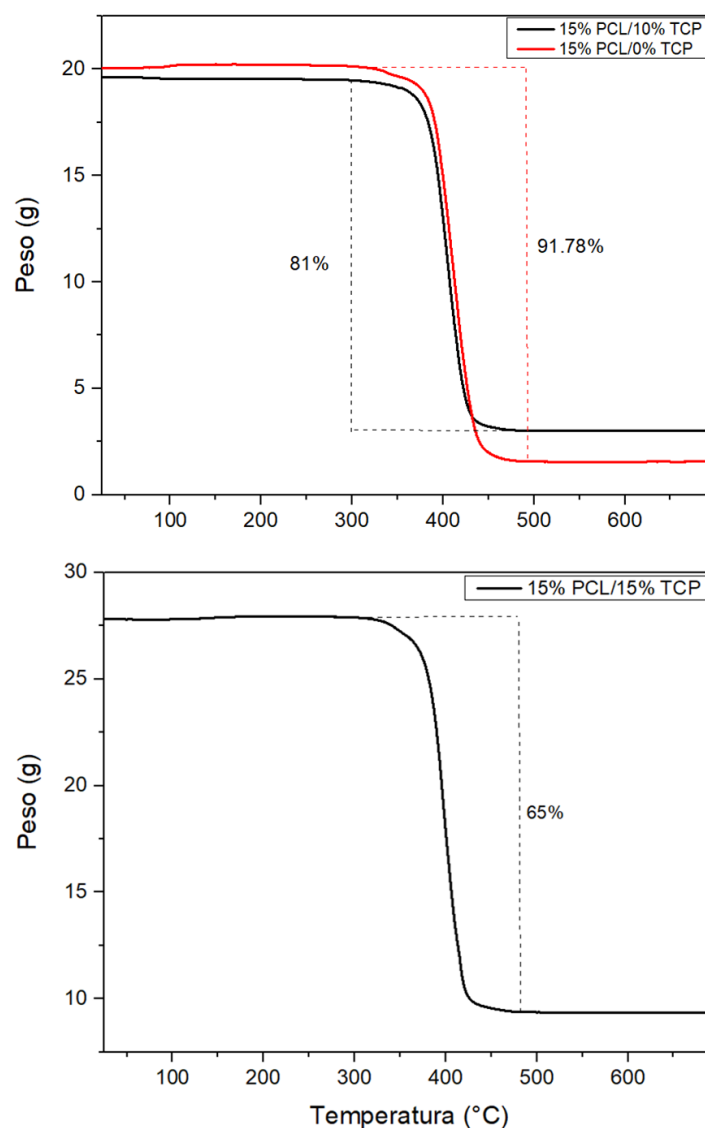


Figura 4.7 Curvas de TGA de los andamios con a) 0 % y 10 % de TCP, b) 15 % de TCP.

Adicionalmente, la curva DSC presentó un segundo evento endotérmico de mayor magnitud que inicia a los 380.26 °C, con una entalpía asociada de 340 J/g, el cual se vincula con la degradación térmica de las cadenas de PCL, en concordancia con los resultados obtenidos mediante TGA. En la Tabla 4.1 se resume el comportamiento térmico comparativo de los en función del contenido de refuerzo cerámico.

Al analizar las muestras con refuerzo cerámico, se observa una ligera disminución de la temperatura de fusión desde 67.6 °C hasta aproximadamente 65-66 °C con el incremento del contenido de β -TCP. Este comportamiento puede atribuirse a que las partículas cerámicas actúan como obstáculos físicos que interfieren parcialmente con el crecimiento

de los cristales de PCL. Adicionalmente, se observó una reducción en la temperatura de descomposición térmica desde 380.26 °C hasta aproximadamente 350 °C al aumentar la carga cerámica. Este fenómeno podría asociarse a una mayor conductividad térmica del material compuesto, lo que facilita la transferencia de calor y el inicio de la degradación de las cadenas poliméricas a temperaturas ligeramente inferiores.

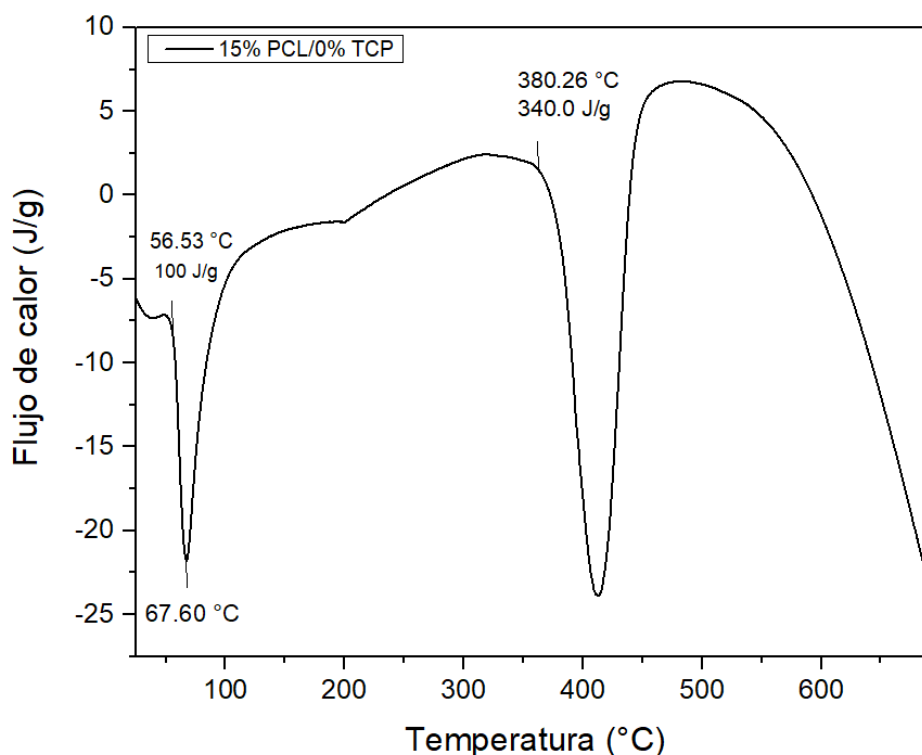


Figura 4.8 Diagrama DSC del andamio de PCL pura.

Tabla 4.1 Datos del comportamiento térmico de los andamios con 15 % de PCL obtenidos mediante análisis térmico.

β -TCP (%)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	Temperatura de descomposición	Entalpía de descomposición	Pérdida de masa (%)
0	67.6	100	380.26	340 J/g	91.78
10	65	100	359	340 J/g	81
15	66	100	350	340 J/g	65

4.2.1. Determinación del grado de cristalinidad

El grado de cristalinidad es un parámetro clave para comprender la rigidez mecánica y la cinética de degradación de los andamios. A partir de los datos de entalpía de fusión obtenidos por DSC, el porcentaje de cristalinidad puede calcularse mediante la Ecuación (4.1):

$$\text{Cristalinidad (\%)} = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^0 \times w} \times 100 \quad (4.1)$$

Donde:

ΔH_m = entalpía de fusión

w = porcentaje en peso de la PCL

ΔH_m^0 = entalpía de fusión del material 100% cristalino (139.5 J/g) [87].

Para el andamio de PCL pura (0 % β -TCP):

$\Delta H_m = 100 \text{ J/g}$

$w = 1.0$

$\Delta H_m^0 = 139.5 \text{ J/g}$

$$\text{Cristalinidad (\%)} = \frac{100}{139.5 \times 1.0} \times 100 = 71.68 \%$$

Este elevado grado de cristalinidad sugiere que las condiciones de procesamiento, particularmente el enfriamiento a -40°C durante la etapa de gelificación, favorecieron una cristalización eficiente de la matriz polimérica.

4.3. Ensayos de compresión

La ingeniería de tejido óseo tiene como objetivo desarrollar estructuras funcionales capaces de soportar eficazmente las cargas que actúan de forma natural en el tejido óseo. La porosidad desempeña un papel crucial en las propiedades mecánicas de los andamios, ya que se requieren estructuras altamente porosas e interconectadas para facilitar el crecimiento tridimensional del tejido, el transporte de nutrientes y la formación de vasos

sanguíneos (vascularización). Sin embargo, un incremento en la porosidad generalmente conlleva una reducción de la resistencia mecánica, debido a la formación de paredes de poros más delgadas.

Cabe señalar que concentraciones bajas de PCL (por ejemplo, 10 %) pueden ocasionar una disminución de las propiedades mecánicas del material, como consecuencia de una menor densidad de la matriz polimérica y una estructura frágil. Por esta razón, en el presente estudio se emplearon andamios con un contenido de 25 % de PCL para la evaluación mecánica.

El desempeño mecánico de los andamios se evaluó mediante ensayos de compresión uniaxial. Las curvas esfuerzo-deformación obtenidas revelan una capacidad de soporte de carga considerablemente mayor a la estimada inicialmente, alcanzando valores superiores a 45 MPa.

Como se muestra en la Figura 4.9a, el andamio de PCL pura presenta un incremento progresivo del esfuerzo hasta alcanzar un pico máximo de 48.5 MPa. Posteriormente, la muestra experimenta una disminución de la resistencia, finalizando el ensayo alrededor de 26.5 % de deformación, lo que indica un comportamiento mecánico relativamente rígido con menor capacidad de deformación plástica.

Por otra parte, el andamio reforzado con 15 % de β -TCP (Figura 4.9b) exhibió un incremento en la resistencia máxima, registrando un valor de 57 MPa, manteniendo la integridad estructural hasta alcanzar una deformación de 65.5 %. Este comportamiento puede atribuirse a la incorporación de partículas de fosfato tricálcico, las cuales actúan como refuerzo cerámico dentro de la matriz polimérica, promoviendo una mejor distribución de esfuerzos y una mayor resistencia a la compresión.

Los valores de resistencia obtenidos en este estudio se encuentran por arriba del rango reportado para el hueso trabecular humano (2-12 MPa) y por debajo del hueso cortical humano (100-150 MPa) [114]. En comparación con otros estudios, Hou y col. [115] reportaron resistencias a la compresión entre 1.5 y 2.8 MPa en andamios de PCL, destacando además la influencia del peso molecular del polímero sobre las propiedades mecánicas, donde mayores pesos moleculares conducen a un incremento en la resistencia mecánica.

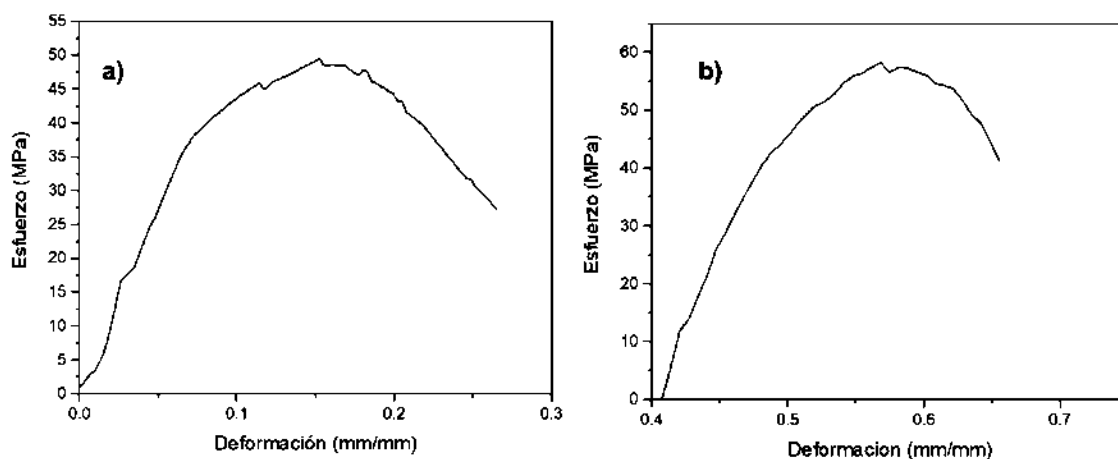


Figura 4.9 Comportamiento mecánico de los andamios fabricados. a) andamio de 25% PCL/0%β- TCP b) 25% PCL/15% β-TCP.

4.4. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

El análisis por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), presentado en la Figura 4.10, permitió identificar las señales características tanto de la matriz polimérica como del refuerzo cerámico, confirmando la composición química de los andamios fabricados.

El espectro obtenido en el rango de 4000 a 600 cm^{-1} revela la presencia de grupos funcionales clave que validan la integración del sistema PCL/β-TCP. Se identificó la presencia del grupo fosfato (PO_4^{3-}) mediante bandas situadas alrededor de 700 cm^{-1} y a $1041\text{-}1042\text{ cm}^{-1}$. En esta región se observa un solapamiento entre el estiramiento del enlace C–O–C del polímero y las vibraciones características del grupo fosfato del material cerámico.

Las bandas intensas localizadas en 1170 cm^{-1} y 1240 cm^{-1} corresponden a los estiramientos simétricos y asimétricos del enlace C–O–C, respectivamente. La banda observada en 1293 cm^{-1} se asocia a los estiramientos C–O y C–C de la fase cristalina de la PCL, lo cual es consistente con el alto grado de cristalinidad (71.68 %) determinado previamente por DSC. La señal más prominente, localizada en 1727 cm^{-1} , corresponde al modo de estiramiento del grupo carbonilo (C=O) del grupo éster de la policaprolactona. Finalmente, se registraron bandas en 2865 cm^{-1} y 2943 cm^{-1} asociadas a los estiramientos simétricos y asimétricos del grupo $-\text{CH}_2$.

En conjunto, el análisis FTIR complementa los resultados obtenidos mediante TGA/DSC, confirmando que el proceso de fabricación de separación de fases no alteró la estructura química de los componentes, permitiendo una adecuada coexistencia entre la fase orgánica y la fase inorgánica.

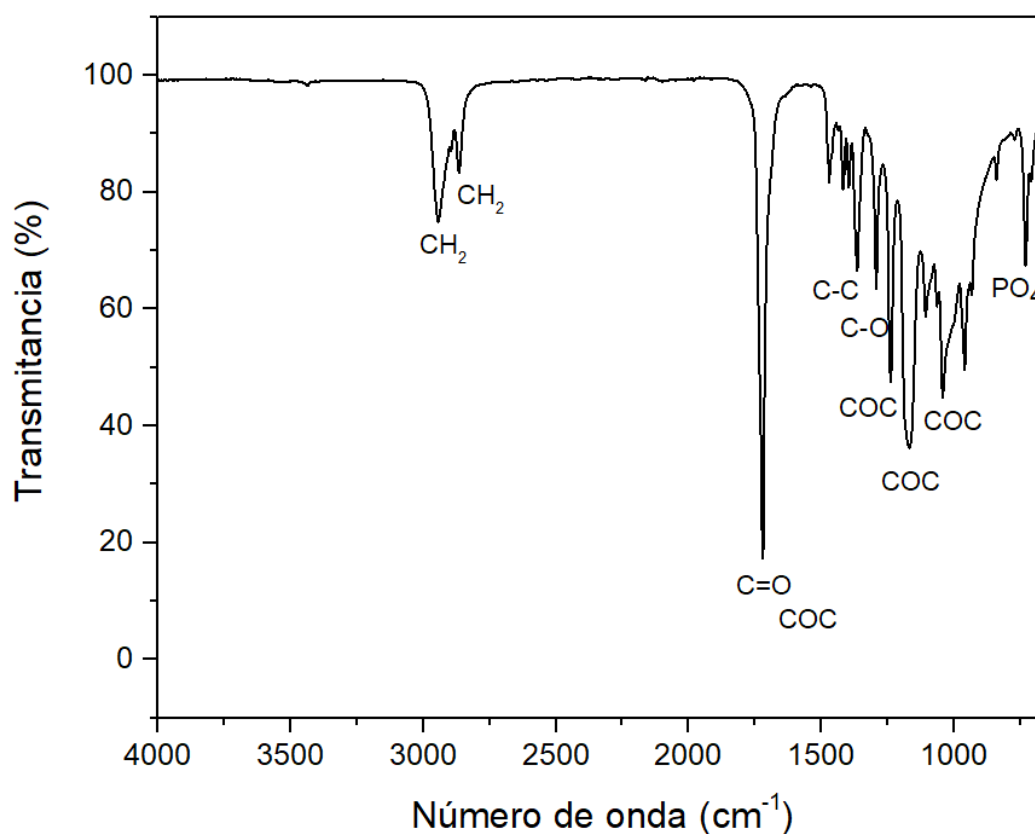


Figura 4.10 Espectro de infrarrojo realizado a los andamios de 15% PCL/10% β -TCP.

Para facilitar la identificación de cada señal, las bandas detectadas y sus respectivas asignaciones vibracionales se resumen en la Tabla 4.2

Tabla 4.2 Grupos funcionales presentes en los andamios de PCL asociados a su número de onda.

Número de onda (cm^{-1})	Vibración	Abreviación
700	PO_4^{3-}	PO_4^{3-}

1041	PO_4^{3-}	PO_4^{3-}
1042	Estiramiento C–O–C simétrico	$V_s (\text{COC})$
1170	Estiramiento C–O–C simétrico	$V_s (\text{COC})$
1240	Estiramiento C–O–C asimétrico	$V_{as} (\text{COC})$
1293	Estiramientos C–O y C–C	V_{cr}
1727	Estiramiento C=O	$V (\text{C=O})$
2865	Estiramiento –CH ₂ simétrico	$V_s (\text{CH}_2)$
2943	Estiramiento –CH ₂ asimétrico	$V_{as} (\text{CH}_2)$

4.5. Difracción de rayos X (DRX)

El análisis de difracción de rayos X (DRX) se empleó como una técnica complementaria para evaluar la organización microestructural y determinar la naturaleza de las fases cristalinas presentes en los andamios. Específicamente, se utilizó la tarjeta ICDD #00-048-1762 para identificar los planos de difracción característicos de la policaprolactona y la tarjeta JCPDS #9-0169 para validar la fase de fosfato tricálcico (β -TCP). En el difractograma presentado en la Figura 4.11 se identifican claramente los picos de difracción característicos de la matriz de policaprolactona, lo cual confirma su comportamiento polimérico semicristalino.

El patrón de difracción revela dos reflexiones prominentes que dominan el perfil. Se observa una señal de alta intensidad y gran definición centrada alrededor de los 22.14° (2θ), seguida de un segundo pico localizado en 24.5° (2θ).

La elevada intensidad y la estrechez de estas señales confirman el marcado carácter semicristalino del material, indicando que las cadenas de PCL alcanzaron un ordenamiento de largo alcance durante el proceso de fabricación por separación de fases. Estos hallazgos son consistentes con lo reportado en la literatura, donde esta firma cristalográfica se asocia con una matriz polimérica bien consolidada [116].

La nitidez de los picos observados en DRX guarda una estrecha relación con el porcentaje de cristalinidad obtenido previamente mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). Mientras que la región basal del difractograma (halo amorfo) representa las zonas

desordenadas de la matriz, la predominancia de los picos a 22.14° y 24.5° confirma que el método de separación de fases inducida térmicamente y por no solvente, junto con un enfriamiento controlado a -40°C , favoreció el crecimiento de dominios cristalinos bien definidos.

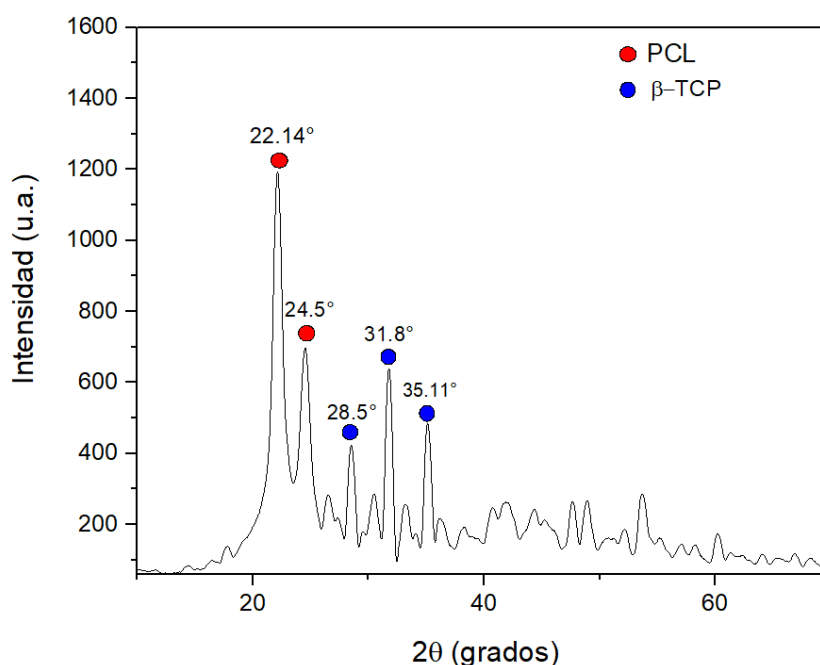


Figura 4.11 Difractograma de rayos X Del andamio 15% PCL/10% TCP.

4.6. Densidad Real

La densidad real de los andamios se determinó utilizando un picnómetro de gases, lo que permitió medir con precisión el volumen del material excluyendo la porosidad abierta de las muestras. Los valores obtenidos para los andamios que contienen 25 % de PCL se presentan en la Tabla 4.3.

Los resultados revelan un incremento significativo de la densidad al incorporar la fase inorgánica. Las muestras de 25 % de PCL sin refuerzo presentaron una densidad promedio de $1.20 \pm 0.0004 \text{ g/cm}^3$, valor consistente con la densidad teórica de la policaprolactona semicristalina (aprox. 1.145 g/cm^3). El ligero incremento observado puede atribuirse al alto grado de cristalinidad identificado previamente en este estudio, lo que conduce a un empaquetamiento molecular más compacto.

Por otro lado, los andamios con un 10 % de refuerzo de β -TCP exhibieron una densidad promedio de $1.52 \pm 0.0039 \text{ g/cm}^3$. Este aumento del 26.4 % en la densidad real confirma

la incorporación efectiva de las partículas de fosfato tricálcico dentro de la matriz polimérica. Dado que el β -TCP posee una densidad significativamente mayor (aprox. 3.14 g/cm³), su presencia incrementa la masa volumétrica del material compuesto.

Tabla 4.3 Densidades obtenidas en los andamios de PCL

Formulación	Muestra	Densidad real (g/cm³)	Promedio (g/cm³)
25 % PCL/0 % β-TCP	1-5	1.2013, 1.2013, 1.2018, 1. 2020, 1.2021	1.2017 $\pm$ 0.0004
25 % PCL/10 % β-TCP	1-5	1.5232, 1.5236, 1.5150, 1.5168, 1.5175.	1.5192 $\pm$ 0.0039

La porosidad es un parámetro crítico en la ingeniería de tejidos, ya que determina el espacio disponible para la colonización celular y el transporte de metabolitos. En este estudio, la porosidad cerrada total se determinó mediante la relación entre la densidad aparente del andamio y la densidad real obtenida por el picnómetro de gases, empleando la ecuación 3.1.

A partir de una masa promedio de 3.5 g y un volumen geométrico de 8 cm³, se determinó una densidad aparente de 0.4375 g/cm³. Con base en los valores de densidad real obtenidos experimentalmente, se calcularon los porcentajes de porosidad que se presentan en la Tabla 4.4

Tabla 4.4 Porcentaje de porosidad de los andamios fabricados

Muestra	Densidad real (g/cm³)	Densidad aparente (g/cm³)	Porosidad total (%)
25% PCL/0% TCP	1.20 $\pm$ 0.0004	0.625	47.91
25% PCL/10% TCP	1.52 $\pm$ 0.0039	0.75	50.65

Capítulo 5. Conclusiones

Se logró la fabricación de andamios compuestos de policaprolactona (PCL) y fosfato tricálcico (β -TCP) mediante un método híbrido de separación de fases inducida térmicamente y por no solvente, utilizando el sistema PCL-DCM-hexano a una temperatura de -40°C . Los andamios obtenidos presentaron concentraciones de polímero de 15 % y 25 %, y contenidos de refuerzo de 5 %, 10 %, y 15 %.

El método de separación de fases combinado (NTIPS), bajo el protocolo correspondiente al Caso 2, demostró ser una técnica altamente reproducible. La integración de los mecanismos de separación de fases inducida térmicamente (TIPS) y por no solvente (NIPS) constituye una estrategia más eficiente que la aplicación de cada método por separado, ya que esta dualidad permitió compensar las limitaciones individuales de ambas técnicas.

Los resultados morfológicos mostraron que la adición de 15 % de β -TCP reduce significativamente la porosidad de los andamios y genera una morfología más homogénea, caracterizada por poros de menor tamaño o incluso ausentes. Además, se comprobó que la velocidad de agitación y la técnica de incorporación del no solvente (hexano) influyen directamente en la formación de la estructura porosa. Una agitación lenta y la adición gradual del hexano mediante goteo a baja velocidad favorecieron la formación de poros más pequeños y uniformes. Por el contrario, una agitación rápida promovió la sedimentación del polímero, dificultando la obtención de andamios homogéneos.

Se determinó que existe una relación inversamente proporcional entre la porosidad total y la resistencia a la compresión, si bien no se alcanzó el porcentaje de porosidad previsto en el diseño original, los valores logrados permitieron alcanzar un esfuerzo máximo de 61.6 MPa superando considerablemente las expectativas del desempeño mecánico.

En relación con las propiedades térmicas, los análisis TGA/DSC evidenciaron que los andamios con mayor contenido de refuerzo cerámico presentan una menor pérdida de masa, lo que sugiere que la incorporación de β -TCP mejora la estabilidad térmica del material. Este comportamiento se atribuye a la naturaleza cerámica y refractaria del β -TCP, que permanece como residuo inorgánico a altas temperaturas.

RECOMENDACIONES Y TRABAJO A FUTURO

A partir de los hallazgos obtenidos en este proyecto, se propone evaluar la biocompatibilidad de los andamios mediante ensayos de citotoxicidad y proliferación celular empleando líneas de osteoblastos o células madre mesenquimales. Esto permitiría confirmar si la porosidad obtenida y la presencia de fosfato tricálcico promueven efectivamente la adhesión y diferenciación celular.

Asimismo, se recomienda explorar el uso de diferentes agentes porógenos con el fin de aumentar el tamaño de los poros dentro de los andamios. También se sugiere modificar la superficie de los materiales mediante recubrimientos o tratamientos fisicoquímicos, considerando que la PCL es inherentemente hidrofóbica, lo que puede limitar la adhesión celular, la cual generalmente se favorece en superficies más hidrofílicas.

Resulta fundamental realizar estudios de degradación in vitro en fluido corporal simulado (SBF). Dado que la PCL presenta una degradación lenta, evaluar cómo la incorporación de TCP influye en la velocidad de degradación o en el pH del microambiente permitirá predecir con mayor precisión el comportamiento del implante en condiciones fisiológicas.

Adicionalmente, se propone investigar la formación de una capa de apatita sobre la superficie de los andamios tras su inmersión en SBF. La presencia de esta capa mineral constituye un indicador clave de la bioactividad del material y de su capacidad para integrarse directamente con el tejido óseo del huésped.

Finalmente, debido a que el tejido óseo está sometido a cargas cíclicas durante su funcionamiento, se recomienda realizar ensayos de fatiga mecánica para determinar la vida útil de los andamios bajo condiciones de esfuerzo repetitivo.

REFERENCIAS

- [1] Elfawy, L. A., Ng, C. Y., Amirrah, I. N., Mazlan, Z., Wen, A. P. Y., Fadilah, N. I. M., y Fauzi, M. B. *Sustainable approach of functional biomaterials–tissue engineering for skin burn treatment: A comprehensive review*. **Pharmaceuticals**, 16(5), p. 701, 2023.
- [2] Dwivedi, R., Kumar, S., Pandey, R., Mahajan, A., Nandana, D., Katti, D. S., & Mehrotra, D. *Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: Review of literature*. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, 10(1), p. 381-388, 2020.
- [3] Amini, A. R., Laurencin, C. T., & Nukavarapu, S. P. *Bone tissue engineering: recent advances and challenges*. **Critical Reviews in Biomedical Engineering**, 40(5), 2012.
- [4] Stevens, B., Yang, Y., Mohandas, A., Stucker, B., & Nguyen, K. T. *A review of materials, fabrication methods, and strategies used to enhance bone regeneration in engineered bone tissues*. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, 85(2), 573-582, 2008.
- [5] You, Y., Min, B. M., Lee, S. J., Lee, T. S., & Park, W. H. *In vitro degradation behavior of electrospun polyglycolide, polylactide, and poly (lactide-co-glycolide)*. **Journal of Applied Polymer Science**, 95(2), 193-200, 2005.
- [6] Chen, G., Ushida, T., & Tateishi, T. *A biodegradable hybrid sponge nested with collagen microsponges*. **Journal of Biomedical Materials Research**, 51(2), 273-279, 2000.
- [7] Nair, L. S., & Laurencin, C. T. *Biodegradable polymers as biomaterials*. **Progress in Polymer Science**, 32(8-9), 762-798, 2007.
- [8] Gunatillake P. A., Adhikari R. *Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering*. **European Cells & Materials**, 20(5) p. 1-16, 2003.
- [9] Mondal, D., Griffith, M., & Venkatraman, S. S. *Polycaprolactone-based biomaterials for tissue engineering and drug delivery: Current scenario and challenges*. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, 65(5), 255-265, 2016.

- [10] Bezwada, R. S., Jamiolkowski, D. D., Lee, I. Y., Agarwal, V., Persivale, J., Trenka-Benthin, S., ... & Liu, S. *Monocryl® suture, a new ultra-pliable absorbable monofilament suture*. **Biomaterials**, 16(15), 1141-1148, 1995.
- [11] Anderson, J. M., & Shive, M. S. *Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres*. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 28(1), 5-24, 1997.
- [12] Engelberg, I., & Kohn, J. *Physico-mechanical properties of degradable polymers used in medical applications: a comparative study*. **Biomaterials**, 12(3), 292-304, 1991.
- [13] Blokhuis, T. J., & Arts, J. C. *Bioactive and osteoinductive bone graft substitutes: definitions, facts and myths*. **Injury**, 42, S26-S29, 2011.
- [14] Barradas, A. M., Yuan, H., van Blitterswijk, C., & Habibovic, P. *Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms*. **European Cells & Materials**, 21, 407-429, 2010.
- [15] Langer, R., & Vacanti, J. *Advances in tissue engineering*. **Journal of Pediatric Surgery**, 51(1), 8-12, 2016.
- [16] Sadeghinia, A., Davaran, S., Salehi, R., & Jamalpoor, Z. (). *Nano-hydroxy apatite/chitosan/gelatin scaffolds enriched by a combination of platelet-rich plasma and fibrin glue enhance proliferation and differentiation of seeded human dental pulp stem cells*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 109, 1924-1931, 2019.
- [17] Jones, A. C., Arns, C. H., Sheppard, A. P., Hutmacher, D. W., Milthorpe, B. K., & Knackstedt, M. A. *Assessment of bone ingrowth into porous biomaterials using MICRO-CT*. **Biomaterials**, 28(15), 2491-2504, 2007
- [18] Pei B, Hu M, Wu X, Lu D, Zhang S, Zhang L, Wu S. *Investigations into the effects of scaffold microstructure on slow-release system with bioactive factors for bone repair*. **Front Bioeng Biotechnol**. 11:1230682, 2023.
- [19] Tajvar, S., Hadjizadeh, A., & Samandari, S. S. *Scaffold degradation in bone tissue engineering: an overview*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 180, 105599, 2023.

- [20] Salamanca, E., Hsu, C. C., Huang, H. M., Teng, N. C., Lin, C. T., Pan, Y. H., & Chang, W. J. *Bone regeneration using a porcine bone substitute collagen composite in vitro and in vivo*. **Scientific Reports**, 8(1), 984, 2018.
- [21] Xue, N., Ding, X., Huang, R., Jiang, R., Huang, H., Pan, X., ... & Wang, Y. (). *Bone tissue engineering in the treatment of bone defects*. **Pharmaceuticals**, 15(7), 879, 2022.
- [22] Wu, Q., Wang, X., Jiang, F., Zhu, Z., Wen, J., & Jiang, X. *Study of Sr-Ca-Si-based scaffolds for bone regeneration in osteoporotic models*. **International Journal of Oral Science**, 12(1), 25, 2020.
- [23] van Houdt, C. I., Koolen, M. K., Lopez-Perez, P. M., Ulrich, D. J., Jansen, J. A., Leeuwenburgh, S. C., ... & van den Beucken, J. J. *Regenerating critical size rat segmental bone defects with a self-healing hybrid nanocomposite hydrogel: effect of bone condition and BMP-2 incorporation*. **Macromolecular Bioscience**, 21(8), 2100088, 2021.
- [24] Gurel Pekozer, G., Abay Akar, N., Cumbul, A., Beyzadeoglu, T., & Torun Kose, G. *Investigation of vasculogenesis inducing biphasic scaffolds for bone tissue engineering*. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, 7(4), 1526-1538, 2021.
- [25] LeGeros, R. Z. *Properties of osteoconductive biomaterials: Calcium phosphates*. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, 395, 81-98, 2002.
- [26] Ripamonti, U. *The induction of bone in osteogenic composites of bone matrix and porous hydroxyapatite replicas: an experimental study on the baboon (*Papio ursinus*)*. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, 49(8), 817-830, 1991.
- [27] Yamasaki, H., & Sakai, H. *Osteogenic response to porous hydroxyapatite ceramics under the skin of dogs*. **Biomaterials**, 13(5), 308-312, 1992.
- [28] Klein, C., de Groot, K., Chen, W., Li, Y., & Zhang, X. *Osseous substance formation induced in porous calcium phosphate ceramics in soft tissues*. **Biomaterials**, 15(1), 31-34, 1994.

- [29] Pollick, S., Shors, E. C., Holmes, R. E., & Kraut, R. A. *Bone formation and implant degradation of coralline porous ceramics placed in bone and ectopic sites.* **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, 53(8), 915-922, 1995.
- [30] Ripamonti, U. *Osteoinduction in porous hydroxyapatite implanted in heterotopic sites of different animal models.* **Biomaterials**, 17(1), 31-35, 1996.
- [31] Gosain, A. K., Song, L., Riordan, P., Amarante, M. T., Nagy, P. G., Wilson, C. R., ... & Ricci, J. L. *A 1-year study of osteoinduction in hydroxyapatite-derived biomaterials in an adult sheep model: Part I.* **Plastic and Reconstructive Surgery**, 109(2), 619-630, 2002.
- [32] Habibovic, P., Gbureck, U., Doillon, C. J., Bassett, D. C., van Blitterswijk, C. A., & Barralet, J. E. *Osteoconduction and osteoinduction of low-temperature 3D printed bioceramic implants.* **Biomaterials**, 29(7), 944-953, 2008.
- [33] Barrère, F., van der Valk, C. M., Dalmeijer, R. A., Meijer, G., van Blitterswijk, C. A., de Groot, K., & Layrolle, P. *Osteogenecity of octacalcium phosphate coatings applied on porous metal implants.* **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, 66(4), 779-788, 2003.
- [34] Habibovic, P., Van der Valk, C. M., Van Blitterswijk, C. A., De Groot, K., & Meijer, G. *Influence of octacalcium phosphate coating on osteoinductive properties of biomaterials.* **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, 15(4), 373-380, 2004.
- [35] Qiu, L., Zhu, Z., Peng, F., Zhang, C., Xie, J., Zhou, R., ... & Li, M. *Li-doped Ti surface for the improvement of osteointegration.* **ACS Omega**, 7(14), 12030-12038, 2022.
- [36] Ocaña, R. P., Rabelo, G. D., Sassi, L. M., Rodrigues, V. P., & Alves, F. D. A. *Implant osseointegration in irradiated bone: an experimental study.* **Journal of Periodontal Research**, 52(3), 505-511, 2017.
- [37] Yousefi, A.-M., James, P.F., Akbarzadeh, R., Subramanian, A., Flavin, C., & Oudadesse, H. *Prospect of stem cells in bone tissue engineering: A review.* **Stem Cells International**, 6180487, 2016.

- [38] Bai, H., Zhao, Y., Wang, C., Wang, Z., Wang, J., Liu, H., ... & Liu, H. *Enhanced osseointegration of three-dimensional supramolecular bioactive interface through osteoporotic microenvironment regulation*. **Theranostics**, 10(11), 4779, 2020.
- [39] Shang, F., Yu, Y., Liu, S., Ming, L., Zhang, Y., Zhou, Z., ... & Jin, Y. *Advancing application of mesenchymal stem cell-based bone tissue regeneration*. **Bioactive Materials**, 6(3), 666-683, 2021.
- [40] Ju, T., Zhao, Z., Ma, L., Li, W., Li, S., & Zhang, J. *Cyclic adenosine monophosphate-enhanced calvarial regeneration by bone marrow-derived mesenchymal stem cells on a hydroxyapatite/gelatin scaffold*. **ACS Omega**, 6(21), 13684-13694, 2021.
- [41] Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C., Jaiswal, R. K., Douglas, R., Mosca, J. D., ... & Marshak, D. R. *Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells*. **Science**, 284(5411), 143-147, 1999.
- [42] Almubarak, S., Nethercott, H., Freeberg, M., Beaudon, C., Jha, A., Jackson, W., ... & Bahney, C. *Tissue engineering strategies for promoting vascularized bone regeneration*. **Bone**, 83, 197-209, 2016.
- [43] Sheykhhasan, M., Wong, J. K., & Seifalian, A. M. *Human adipose-derived stem cells with great therapeutic potential*. **Current Stem Cell Research & Therapy**, 14(7), 532-548, 2019.
- [44] Cho, J. H., Lee, J. H., Lee, K. M., Lee, C. K., & Shin, D. M. *BMP-2 Induced Signaling pathways and phenotypes: comparisons between senescent and non-senescent bone marrow mesenchymal stem cells*. **Calcified Tissue International**, 110(4), 489-503, 2022.
- [45] Mitra, D.; Whitehead, J.; Yasui, O.W.; Leach, J.K. *Bioreactor culture duration of engineered constructs influences bone formation by mesenchymal stem cells*. **Biomaterials**, 146, 29–39, 2017.
- [46] Fukunishi, T., Best, C. A., Ong, C. S., Groehl, T., Reinhardt, J., Yi, T., ... & Hibino, N. *Role of bone marrow mononuclear cell seeding for nanofiber vascular grafts*. **Tissue Engineering Part A**, 24(1-2), 135-144, 2018.

- [47] Pezzotti, G., Enomoto, Y., Zhu, W., Boffelli, M., Marin, E., & McEntire, B. J. *Surface toughness of silicon nitride bioceramics: I, Raman spectroscopy-assisted micromechanics*. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, 54, 328-345, 2016.
- [48] Jin, L., Li, P., Wang, Y. C., Feng, L., Xu, R., Yang, D. B., & Yao, X. H. *Studies of superb microvascular imaging and contrast-enhanced ultrasonography in the evaluation of vascularization in early bone regeneration*. **Journal of Ultrasound in Medicine**, 38(11), 2963-2971, 2019.
- [49] Kanczler, J.M.; Oreffo, R.O. *Osteogenesis and angiogenesis: The potential for engineering bone*. **European Cell & Materials**, 15, 100-114, 2008.
- [50] Novosel, E. C., Kleinhans, C., & Kluger, P. J. *Vascularization is the key challenge in tissue engineering*. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 63(4-5), 300-311, 2011.
- [51] Thevenot, P., Nair, A., Dey, J., Yang, J., & Tang, L. *Method to analyze three-dimensional cell distribution and infiltration in degradable scaffolds*. **Tissue Engineering Part C: Methods**, 14(4), 319-331, 2008.
- [52] Munir, N., & Callanan, A. *Novel phase separated polycaprolactone/collagen scaffolds for cartilage tissue engineering*. **Biomedical Materials**, 13(5), 051001, 2018.
- [53] Wei, G., & Ma, P. X. *Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering*. **Biomaterials**, 25(19), 4749-4757, 2004.
- [54] Kim, S. S., Park, M. S., Gwak, S. J., Choi, C. Y., & Kim, B. S. *Accelerated bonelike apatite growth on porous polymer/ceramic composite scaffolds in vitro*. **Tissue Engineering**, 12(10), 2997-3006, 2006.
- [55] Kim, H. W., Kim, H. E., & Salih, V. *Stimulation of osteoblast responses to biomimetic nanocomposites of gelatin–hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds*. **Biomaterials**, 26(25), 5221-5230, 2005.
- [56] Zhang, Y., Ni, M., Zhang, M., & Ratner, B. *Calcium phosphate-chitosan composite scaffolds for bone tissue engineering*. **Tissue Engineering**, 9(2), 337-345, 2003.

- [57] Chesnutt, B. M., Yuan, Y., Buddington, K., Haggard, W. O., & Bumgardner, J. D. *Composite chitosan/nano-hydroxyapatite scaffolds induce osteocalcin production by osteoblasts in vitro and support bone formation in vivo*. **Tissue Engineering Part A**, 15(9), 2571-2579, 2009.
- [58] Rodrigues, C. V. M., Serricella, P., Linhares, A. B. R., Guerdes, R. M., Borojevic, R., Rossi, M. A., ... & Farina, M. *Characterization of a bovine collagen–hydroxyapatite composite scaffold for bone tissue engineering*. **Biomaterials**, 24(27), 4987-4997, 2003.
- [59] Krogman, N. R., Weikel, A. L., Kristhart, K. A., Nukavarapu, S. P., Deng, M., Nair, L. S., ... & Allcock, H. R. *The influence of side group modification in polyphosphazenes on hydrolysis and cell adhesion of blends with PLGA*. **Biomaterials**, 30(17), 3035-3041, 2009.
- [60] Ho, E., Lowman, A., & Marcolongo, M. *Synthesis and characterization of an injectable hydrogel with tunable mechanical properties for soft tissue repair*. **Biomacromolecules**, 7(11), 3223-3228, 2006.
- [61] Santin, M., Motta, A., Borzachiello, A., Nicolais, L., & Ambrosio, L. *Effect of PMMA cement radical polymerisation on the inflammatory response*. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, 15(11), 1175-1180, 2004.
- [62] Higashi, S., Yamamuro, T., Nakamura, T., Ikada, Y., Hyon, S. H., & Jamshidi, K. *Polymer-hydroxyapatite composites for biodegradable bone fillers*. **Biomaterials**, 7(3), 183-187, 1986.
- [63] Munir, N., & Callanan, A. J. B. M. *Novel phase separated polycaprolactone/collagen scaffolds for cartilage tissue engineering*. **Biomedical Materials**, 13(5), 051001, 2018.
- [64] Schugens, C., Maquet, V., Grandfils, C., Jérôme, R., & Teyssie, P. *Poly lactide macroporous biodegradable implants for cell transplantation. II. Preparation of poly lactide foams by liquid-liquid phase separation*. **Journal of Biomedical Materials Research**, 30(4), 449-461, 1996.
- [65] Fu, X., Sammons, R. L., Bertóti, I., Jenkins, M. J., & Dong, H. *Active screen plasma surface modification of polycaprolactone to improve cell attachment*. **Journal of**

- Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 100(2), 314-320. 2012.
- [66] Zhang, H., Lin, C. Y., & Hollister, S. J. *The interaction between bone marrow stromal cells and RGD-modified three-dimensional porous polycaprolactone scaffolds*. **Biomaterials**, 30(25), 4063-4069, 2009.
 - [67] Guler, Z., Silva, J. C., & Sezai Sarac, A. *RGD functionalized poly (ϵ -caprolactone)/poly (m-anthranilic acid) electrospun nanofibers as high-performing scaffolds for bone tissue engineering RGD functionalized PCL/P3ANA nanofibers*. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, 66(3), 139-148, 2017.
 - [68] Declercq, H. A., Desmet, T., Berneel, E. E., Dubruel, P., & Cornelissen, M. J. *Synergistic effect of surface modification and scaffold design of bioploted 3-D poly- ϵ -caprolactone scaffolds in osteogenic tissue engineering*. **Acta biomaterialia**, 9(8), 7699-7708, 2013.
 - [69] Singh, N. L., Qureshi, A., Mukherjee, S., Rakshit, A. K., Tripathi, A., & Avasthi, D. K. *Surface modification of polymeric blends by nitrogen plasma implantation*. **Surface and Coatings Technology**, 201(19-20), 8278-8281, 2007.
 - [70] Salerno, S., Piscioneri, A., Laera, S., Morelli, S., Favia, P., Bader, A., ... & De Bartolo, L. *Improved functions of human hepatocytes on NH3 plasma-grafted PEEK-WC-PU membranes*. **Biomaterials**, 30(26), 4348-4356, 2009.
 - [71] Lopez, L. C., Belviso, M. R., Gristina, R., Nardulli, M., d'Agostino, R., & Favia, P. *Plasma-Treated Nitrogen-Containing Surfaces for Cell Adhesion: The Role of the Polymeric Substrate*. **Plasma Processes and Polymers**, 4(S1), S402-S405. 2007.
 - [72] Lee, S. J., Lee, D., Yoon, T. R., Kim, H. K., Jo, H. H., Park, J. S., ... & Park, S. A. *Surface modification of 3D-printed porous scaffolds via mussel-inspired polydopamine and effective immobilization of rhBMP-2 to promote osteogenic differentiation for bone tissue engineering*. **Acta Biomaterialia**, 40, 182-191, 2016.
 - [73] Zander, N. E., Orlicki, J. A., Rawlett, A. M., & Beebe Jr, T. P. *Quantification of protein incorporated into electrospun polycaprolactone tissue engineering scaffolds*. **ACS Applied Materials & Interfaces**, 4(4), 2074-2081, 2012.

- [74] Seyednejad, H., Gawlitta, D., Dhert, W. J., Van Nostrum, C. F., Vermonden, T., & Hennink, W. E. *Preparation and characterization of a three-dimensional printed scaffold based on a functionalized polyester for bone tissue engineering applications.* **Acta Biomaterialia**, 7(5), 1999-2006, 2011.
- [75] Hildebrand T, Laib A, Müller R, Dequeker J & Rüegsegger P *Direct three-dimensional morphometric analysis of human cancellous bone: Microstructural data from spine, femur, iliac crest, and calcaneus.* **Journal of Bone Mineral Research**, 14, 1167-1174, 1999.
- [76] Jowsey, J. *Studies of Haversian systems in man and some animals.* **Journal of Anatomy**, 100(Pt 4), 857, 1966.
- [77] Hulbert, S., Young, F. A., Mathews, R. S., Klawitter, J. J., Talbert, C. D., & Stelling, F. H. *Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses.* **Journal of Biomedical Materials Research**, 4(3), 433-456, 1970.
- [78] Kuboki, Y., Jin, Q., & Takita, H. (2001). Geometry of carriers controlling phenotypic expression in BMP-induced osteogenesis and chondrogenesis. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 83(Suppl 1), S105-S115.
- [79] Kawitter, J. J., & Hulbert, S. F. *Application of porous ceramics for the attachment of load bearing internal orthopedic applications*. **Journal of Biomedical Materials Research**, 5, 161-229, 1971.
- [80] Cerroni, L., Filocamo, R., Fabbri, M., Piconi, C., Caropreso, S., & Condo, S. G. *Growth of osteoblast-like cells on porous hydroxyapatite ceramics: an in vitro study.* **Biomolecular Engineering**, 19(2-6), 119-124. 2002.
- [81] Wijmans, J. G., Kant, J., Mulder, M. H. V., & Smolders, C. A. *Phase separation phenomena in solutions of polysulfone in mixtures of a solvent and a nonsolvent: relationship with membrane formation.* **Polymer**, 26(10), 1539-1545, 1985.
- [82] Dehghani, F., & Annabi, N. *Engineering porous scaffolds using gas-based techniques.* **Current Opinion in Biotechnology**, 22(5), 661-666, 2011.

- [83] Pitt, C. G., Chasalow, F. I., Hibionada, Y. M., Klimas, D. M., & Schindler, A. *Aliphatic polyesters. I. The degradation of poly (ϵ -caprolactone) in vivo.* **Journal of Applied Polymer Science**, 26(11), 3779-3787, 1981.
- [84] Chen, G., Ushida, T., & Tateishi, T. *Preparation of poly (L-lactic acid) and poly (DL-lactic-co-glycolic acid) foams by use of ice microparticulates.* **Biomaterials**, 22(18), 2563-2567, 2001.
- [85] Ma, J., Wang, H., He, B., & Chen, J. *A preliminary in vitro study on the fabrication and tissue engineering applications of a novel chitosan bilayer material as a scaffold of human neonatal dermal fibroblasts.* **Biomaterials**, 22(4), 331-336, 2001.
- [86] Wang, W., Miao, Y., Zhou, X., Nie, W., Chen, L., Liu, D., ... & He, C. *Local delivery of BMP-2 from poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres incorporated into porous nanofibrous scaffold for bone tissue regeneration.* **Journal of Biomedical Nanotechnology**, 13(11), 1446-1456, 2017.
- [87] Harris, L. D., Kim, B. S., & Mooney, D. J. *Open pore biodegradable matrices formed with gas foaming.* **Journal of Biomedical Materials Research**, 42(3), 396-402, 1998.
- [88] Xin, Y., Fujimoto, T., & Uyama, H. *Facile fabrication of polycarbonate monolith by non-solvent induced phase separation method.* **Polymer**, 53(14), 2847-2853, 2012.
- [89] Rezabeigi, E., Wood-Adams, P. M., & Drew, R. A. *Isothermal ternary phase diagram of the polylactic acid-dichloromethane-hexane system.* **Polymer**, 55(14), 3100-3106, 2014.
- [90] Nam, Y. S., & Park T. G. *Porous biodegradable polymeric scaffolds prepared by thermally induced phase separation.* **Journal of Biomedical Materials Research**, 47.1 8-17, 1999.
- [91] Osman, N. A. A., Ibrahim, I. D. F., Abas, W. A. B. W., Rahman, H. S. A., & Ting, H. N. (Eds.). *4th Kuala Lumpur International Conference on Biomedical Engineering 2008: BIOMED 2008, 25-28 June 2008, Kuala Lumpur, Malaysia (Vol. 21).* **Springer Science & Business Media**. 2008.

- [92] Stevens, M. M. *Biomaterials for bone tissue engineering*. **Materials Today**, 11(5), 18-25, 2008.
- [93] Ravichandran, R., Sundarrajan, S., Venugopal, J. R., Mukherjee, S., & Ramakrishna, S. *Advances in polymeric systems for tissue engineering and biomedical applications*. **Macromolecular Bioscience**, 12(3), 286-311, 2012.
- [94] Shastri, V. P., Altankov, G., & Lendlein, A. (Eds.). *Advances in Regenerative Medicine: Role of Nanotechnology, and Engineering Principles*. **Springer**. 2010.
- [95] Ghorbandoust, M., Fasihi, M., & Norouzbeigi, R. *Tuning pore size and density of rigid polylactic acid foams through thermally induced phase separation and optimization using response surface methodology*. **Scientific Reports**, 14(1), 12395. 2024.
- [96] Mannella, G. A., Carfi Pavia, F., Conoscenti, G., La Carrubba, V., & Brucato, V. *Evidence of mechanisms occurring in thermally induced phase separation of polymeric systems*. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, 52(14), 979-983. 2014.
- [97] Torino, E., Aruta, R., Sibillano, T., Giannini, C., & Netti, P. A. *Synthesis of semicrystalline nanocapsular structures obtained by Thermally Induced Phase Separation in nanoconfinement*. **Scientific Reports**, 6(1), 32727. 2016.
- [98] Hua, F. J., Kim, G. E., Lee, J. D., Son, Y. K., & Lee, D. S. *Macroporous poly (L-lactide) scaffold I. Preparation of a macroporous scaffold by liquid-liquid phase separation of a PLLA-dioxane-water system*. **Journal of Biomedical Materials Research**, 63(2), 161-167. 2002.
- [99] Cinar, H., & Winter, R. *The effects of cosolutes and crowding on the kinetics of protein condensate formation based on liquid-liquid phase separation: a pressure-jump relaxation study*. **Scientific Reports**, 10(1), 17245. 2020.
- [100] Carmona, P., Röding, M., Särkkä, A., von Corswant, C., Olsson, E., & Lorén, N. *Structure formation and coarsening kinetics of phase-separated spin-coated ethylcellulose/hydroxypropylcellulose films*. **Soft Matter**, 18(16), 3206-3217. 2022.

- [101] Mahmoudi, E., Ng, L. Y., Ang, W. L., Chung, Y. T., Rohani, R., & Mohammad, A. W. *Enhancing morphology and separation performance of polyamide 6, 6 membranes by minimal incorporation of silver decorated graphene oxide nanoparticles*. **Scientific Reports**, 9(1), 1216. 2019.
- [102] Grandi, C., Di Liddo, R., Paganin, P., Lora, S., Dalzoppo, D., Feltrin, G., ... & Parnigotto, P. P. *Porous alginate/poly (ϵ -caprolactone) scaffolds: preparation, characterization and in vitro biological activity*. **International Journal of Molecular Medicine**, 27(3), 455-467. 2011.
- [103] Kokubo, T., & Takadama, H. *How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?* **Biomaterials**, 27(15), 2907-2915. 2006.
- [104] Hench, L. L., Splinter, R. J., Allen, W. C., & Greenlee, T. K. *Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials*. **Journal of Biomedical Materials Research**, 5(6), 117-141, 1971.
- [105] Heydari, Z., Mohebbi-Kalhari, D., & Afarani, M. S. *Engineered electrospun polycaprolactone (PCL)/octacalcium phosphate (OCP) scaffold for bone tissue engineering*. **Materials Science and Engineering: C**, 81, 127-132. 2017.
- [106] Yuan, B., Wang, Z., Zhao, Y., Tang, Y., Zhou, S., Sun, Y., & Chen, X. *In vitro and in vivo study of a novel nanoscale demineralized bone matrix coated PCL/ β -TCP scaffold for bone regeneration*. **Macromolecular Bioscience**, 21(3), 2000336. 2021.
- [107] Eshraghi, S. and Das, S. *Mechanical and microstructural properties of polycaprolactone scaffolds with orthogonally oriented one-dimensional, two-dimensional and three-dimensional porous architectures produced by selective laser sintering*. **Acta Biomaterialia**, 6(7), 2467, 2010.
- [108] Mina Hernández, J. H., Anderson Otero, S., Bolaños Arbelaez, C. A., & Toro Perea, E. F. *Preparación y caracterización físico-química y térmica de mezclas binarias de resina Mopa-Mopa (*elaegia pastoensis* Mora) y policaprolactona (PCL)*. **Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales**, 32(2), 176-184. 2012.
- [109] ASTM D695-23, *Método de prueba estándar para propiedades de compresión de plásticos rígidos*, **ASTM International**.

- [110] Hong, Z., Reis, R. L., & Mano, J. F. *Preparation and in vitro characterization of scaffolds of poly (L-lactic acid) containing bioactive glass ceramic nanoparticles.* **Acta Biomaterialia**, 4(5), 1297-1306. 2008.
- [111] Shao, J., Chen, C., Wang, Y., Chen, X., & Du, C. *Early stage evolution of structure and nanoscale property of nanofibers in thermally induced phase separation process.* **Reactive and Functional Polymers**, 72(10), 765-772. 2012.
- [112] Hou, Y., Wang, W., & Bartolo, P. *Investigation of polycaprolactone for bone tissue engineering scaffolds: In vitro degradation and biological studies.* **Materials & Design**, 216, 110582. 2022.
- [113] Conoscenti, G., La Carrubba, V., & Brucato, V. *A versatile technique to produce porous polymeric scaffolds: The thermally induced phase separation (TIPS) method.* **Archives in Chemical Research**, 1(02), 10. 2017.
- [114] Q. Fu, “Chapter 15 - Bioactive Glass Scaffolds for Bone Tissue Engineering”, en *Woodhead Publishing Series in Biomaterials*, G. B. T.-B. Kaur *Therapeutic and Clinical Applications of Bioactive Glasses*, Ed. **Woodhead Publishing**, 2019, pp. 417-442.
- [115] Hou, Y., Wang, W., & Bartolo, P. *Investigation of polycaprolactone for bone tissue engineering scaffolds: In vitro degradation and biological studies.* **Materials & Design**, 216, 110582. 2022.
- [116] Akbarzadeh, R., & Yousefi, A. M. *Effects of processing parameters in thermally induced phase separation technique on porous architecture of scaffolds for bone tissue engineering.* **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, 102(6), 1304-1315, 2014.

Alma Itzel Mendoza Martínez

FABRICACIÓN DE ANDAMIOS COMPUESTOS DE
POLICAPROLACTONA (PCL)FOSFATO TRICÁLCICO (☐ -TCP) PO...

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:558994629

Fecha de entrega

20 feb 2026, 11:21 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

20 feb 2026, 11:31 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

FABRICACIÓN DE ANDAMIOS COMPUESTOS DE POLICAPROLACTONA (PCL)FOSFATO TRICÁLCICO (...pdf

Tamaño del archivo

2.6 MB

88 páginas

19.726 palabras

118.766 caracteres

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	MAESTRÍA EN METALURGIA Y CIENCIA DE LOS MATERIALES	
Título del trabajo	FABRICACIÓN DE ANDAMIOS COMPUESTOS DE POLICAPROLACTONA (PCL)/FOSFATO TRICÁLCICO (β -TCP) POR SEPARACIÓN DE FASES INDUCIDA TÉRMICAMENTE Y POR NO SOLVENTE (NTIPS) PARA IMPLANTES ÓSEOS	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	ALMA ITZEL MENDOZA MARTINEZ	1724368e@umich.mx
Director	DRA. ENA ATHENEA AGUILAR REYES	ena.aguilar@umich.mx
Codirector		
Coordinador del programa	DR. ARIOSTO MEDINA FLORES	ariosto.medina@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	Sí	

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	No	
Traducción a otra lengua	No	
Revisión y corrección de estilo	No	
Análisis de datos	No	
Búsqueda y organización de información	Si	
Formateo de las referencias bibliográficas	No	
Generación de contenido multimedia	No	
Otro		

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Alma Itzel Mendoza Martínez 
Lugar y fecha	18/Febrero/2026