

Modificación Superficial de Películas de Polí (ácido láctico) (PLA) Mediante el Injerto de Grupos

COOH/NH₂ y su Efecto en la Adhesión Celular

Abisai Enrique Canul Chan

Ingeniería Biomédica, Universidad Modelo Campus Mérida

Proyectos VII

Ing. Ismael Eliezer Pérez Ruiz

22 de noviembre de 2024

ÍNDICE TEMÁTICO

RESUMEN.....	1
CAPÍTULO 1. Introducción.....	2
1.1. Antecedentes	2
1.2. Planteamiento del problema.....	4
1.3. Objetivos	5
1.3.1. Objetivo general	5
1.3.2. Objetivos específicos	5
1.4. Justificación	5
1.5. Método.....	6
Investigación preliminar	6
Obtención y preparación del material.....	6
Caracterización físico-química	6
1.6. Esquema general.....	7
CAPÍTULO 2. Marco Teórico	9
Materiales poliméricos para aplicaciones biomédicas	9
PLA.....	10
Técnicas de modificación superficial	11
Adhesión celular	11
Caracterización físico-química	12
1. Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier, en modo reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)	12
2. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	12
3. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	12
4. Microscopía de fuerza atómica (AFM)	13
CAPÍTULO 3. Desarrollo.....	14
Preparación del material	14
Procedimiento experimental	14
Preparación de las películas de PLA	14
Injerto fotoinducido de benzofenona en las películas de PLA	15
Polimerización por foto inducida de ácido acrílico en la película de PLA	15
Caracterización físico-química	16

Espectroscopía ATR-FTIR	16
Goniometría de ángulo de contacto	16
Microscopía de fuerza atómica	16
Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	16
Método colorimétrico de azul de o-toludina (TBO) para la determinación de la concentración de grupos carboxilos	17
Caracterización biológica.....	17
CAPÍTULO 4. Resultados	18
CAPÍTULO 5. Conclusiones	19
REFERENCIAS	20

RESUMEN

El proyecto busca modificar la superficie de películas de poli(ácido láctico) (PLA) mediante injerto de grupos funcionales específicos, como carboxílicos (COOH) y aminas (NH₂), utilizando la técnica de foto-injerto con radiación ultravioleta (UV). Se emplean ácido acrílico y alilamina como monómeros para incorporar dichos grupos en la superficie del PLA. El injerto de ácido acrílico añade grupos carboxílicos, aumentando la hidrofilia de la superficie, mientras que la alilamina introduce grupos amino, que facilitan la interacción con biomoléculas y células. Estas modificaciones alteran la energía superficial del PLA, mejorando su compatibilidad biológica y su capacidad de interacción con líquidos y biomoléculas.

CAPÍTULO 1. Introducción.

En este capítulo presenta el contexto y la relevancia del proyecto, centrado en la mejora de las propiedades biológicas del poli(ácido láctico) (PLA) mediante la introducción de grupos funcionales carboxilo (COOH) y amino (NH₂) en su superficie a través de injertos fotoinducidos. Este proceso busca superar las limitaciones del PLA en términos de adhesión y migración celular, aspectos fundamentales en aplicaciones biomédicas como la ingeniería de tejidos y la regeneración celular. Se incluyen antecedentes que justifican el enfoque, los objetivos generales y específicos, la importancia del estudio y una descripción general del método, que abarca la caracterización fisicoquímica y biológica de las superficies modificadas

1.1. Antecedentes

El foto injerto es un método para la modificación de la superficie de biomateriales que se destaca por su limpieza, eficiencia y rentabilidad, además el fondo injerto puede mejorar muchas propiedades de los materiales biomédicos como el humo compatibilidad de su oficialidad la humectabilidad y la cito compatibilidad como entre otros mediante el injerto de una variedad de grupos funcionales en la superficie del material

Anteriormente, el PLA sea ha copolimerizado con el polietilenglicol (PEG) para preparar polímeros en bloques PLA-b-PEG con diferentes contenidos de PEG, resultando en la disminución del ángulo de contacto con el agua de 79.0° a 33.5° cuando el contenido de PEG aumentó. [1]

Por otra parte, tratándose del injerto de grupos funcionales a la superficie a las poliméricas, Janorkat et al. [2] estudiaron la introducción de grupos amina en la superficie de una película de PLA a mediante injertos foto inducido, utilizando la cuatro 4,4'-diaminobenzofenona, para crear arquitecturas ramificadas que contengan grupos amino en las capas injertadas. Estas arquitecturas fueron creadas mediante reacciones posteriores mediadas por carbodilmida con ácido succínico y trisamina. Se midió la adhesión y la viabilidad de fibroblastos MC3T3 y se observó que ambos parámetros mejoraron con el injerto de grupos amino.

Edlun et al. [3] utilizaron foto injerto para unir covalentemente polímera lamida, poli anhídrido maleico o poli N-vinil pirrolidona a superficies de películas de poli (ácido láctico). En cada caso, la película de PLA se puso en la mezcla de monómero a injertar y benzofenona, en fase de vapor, con irradiación a 50 °C. El grado de injerto y la humectabilidad de cada película aumentaron con el tiempo de irradiación UV. Los valores del ángulo de contacto cambiaron de 80° a 50° para el injerto de poli (anhídrido maléico), hasta 3° para el injerto de poliacrilamida y a 25° para el injerto de poli (N-vinil pirrolidona) con 30 minutos de radio irradiación.

Por otra parte Zhu et al. [4] estudiaron un complejo de gelatina (gel) con acil quitosano N-maleico (NMCS) mediante interacción hidrófoba y posteriormente foto injertaron este complejo (gel/NMCS) sobre superficie del PLA para mejorar su biocompatibilidad con células endoteliales. El PLA modificado con gel/NMCS mostró un ángulo de contacto de $52 \pm 1.2^\circ$ y mejoró la propagación y aplanamiento de células endoteliales obtenidas de vena umbilical humana promoviendo la expresión de la CD31 (molécula de adhesión de células endoteliales de plaquetas) y el Vwf (factor de Von Willebrand: glucoproteína de la sangre que interviene en el momento inicial de la hemostasia), de manera más estructurada que en superficies de PLA y

modificar. Al mismo tiempo como la retención celular fue 1.6 veces mayor en la superficie del PLA-gel/NMCS, comparado con el PLA sin modificar lo que demostró una mejor hemo compatibilidad.

Como se puede apreciar de la revisión previa, aunque la modificación superficial del PLA con injerto de diversos grupos funcionales se ha estudiado, los parámetros de reacción del PLA con injertos COOH/NH₂ no han sido ampliamente abordados, por lo que ha encontrado en esto un nicho de oportunidad interesante.

1.2. Planteamiento del problema

La modificación superficial de polímeros para mejorar su interacción con células y tejidos es crucial en aplicaciones biomédicas, como la ingeniería de tejidos y la regeneración celular. El Poli (ácido láctico) (PLA) es un biomaterial ampliamente utilizado en estos campos debido a su biocompatibilidad y biodegradabilidad. Sin embargo, una de las limitaciones del PLA es su capacidad limitada para promover la adhesión y migración celular, lo que puede restringir su eficacia en aplicaciones de andamios para la regeneración de tejidos.

La adhesión celular y la migración son procesos fundamentales en la regeneración de tejidos y en la integración de implantes biomédicos. Los grupos funcionales en la superficie del material pueden influir significativamente en estas propiedades. Entre los grupos funcionales que se estudian para mejorar la adhesión celular se encuentran los grupos carboxilo (COOH) y amino (NH₂). Estos grupos pueden ser introducidos en el PLA mediante técnicas de injerto químico, que permiten modificar las propiedades superficiales del material para mejorar su compatibilidad biológica.

1.3. Objetivos

1.3.1. *Objetivo general*

Evaluando cómo afectan los distintos grupos funcionales (COOH/NH2) en las propiedades superficiales y de adhesión celular de películas de PLA con una posible aplicación en andamios que favorezca la migración celular y regeneración de tejidos.

1.3.2. *Objetivos específicos*

- I. Realizar la foto injerto de ácido acrílico (AA) y alilamina sobre películas de PLA en distintas proporciones (1:3, 1:1, 3:1) utilizando benzofenona como iniciador.
- II. Cuantificar la densidad de grupos COOH y NH2 injertados en los sustratos mediante ensayos de azul de toluidina O y ninhidrina, respectivamente.
- III. Caracterizar las propiedades superficiales de los sustratos mediante FTIR-ATR, SEM, AFM, XPS, ángulo de contacto.
- IV. Comparar la adhesión de osteoblastos y fibroblastos sobre los sustratos.
- V. Correlacionar la densidad de grupos funcionales y las propiedades superficiales de los sustratos con la adhesión celular.

1.4. Justificación

En el presente trabajo se pretende realizar el injerto de ácido acrílico (AA) sobre la superficie de películas de PLA utilizando un proceso de fotopolimerización inducida por luz ultravioleta (UV), variando los tiempos de reacción para optimizar el proceso.

Una vez realizado el injerto, se procederá a caracterizar las películas resultantes tanto desde un punto de vista fisicoquímico como biológico. La investigación busca entender cómo el control de las propiedades superficiales puede influir en la interacción del material con su entorno.

biológico, lo que podría tener aplicaciones relevantes en campos como la medicina y la ingeniería de tejidos.

1.5. Método

La realización de este proyecto se ha dividido en varias etapas, las cuales se mencionan a continuación:

Investigación preliminar

Se revisarán estudios previos y literatura relevante sobre la modificación superficial de polímeros, técnicas de foto-injerto, y sus aplicaciones en ingeniería de tejidos. Esto permitirá establecer un marco teórico sólido y identificar lagunas en el conocimiento que el proyecto podría abordar. De igual manera se evaluarán diferentes métodos de modificación superficial y técnicas de caracterización para seleccionar las más adecuadas para el proyecto y finalmente se desarrollará un plan detallado para los experimentos, incluyendo la preparación de materiales, la configuración de las condiciones experimentales y la estrategia de análisis de datos.

Obtención y preparación del material

Debido a que el proyecto se realizará en un Centro de Investigación, es necesario pedir los reactivos y materiales necesarios para la realización del proyecto, posteriormente se elaborarán las películas de PLA para poder realizar el foto injerto por benzofenona y por ácido acrílico.

Caracterización físico-química

Se aplicarán técnicas avanzadas para caracterizar las modificaciones en superficies poliméricas. Se empleará espectroscopía ATR-FTIR para monitorear reacciones de injerto a través de mediciones de estiramientos C=O. La goniometría de ángulo de contacto permitirá evaluar la hidrofobicidad mediante el método de gota sésil, promediando diez mediciones para

obtener resultados confiables. También se obtendrán imágenes topográficas con microscopía de fuerza atómica, y la calorimetría diferencial de barrido (DSC). Además, se determinará la concentración de grupos carboxílicos mediante un método colorimétrico con azul de toluidina-O, ajustando el pH para favorecer la formación de complejos iónicos con los grupos COOH injertados en las superficies tratadas. Por último, se evaluará la interacción biológica de fibroblastos y osteoblastos con las superficies, modificadas o no.

1.6. Esquema general

El capítulo 1, introducción, se presenta el contexto y la relevancia del proyecto, centrado en la mejora de las propiedades biológicas del poli(ácido láctico) (PLA) mediante la introducción de grupos funcionales carboxilo (COOH) y amino (NH₂) en su superficie a través de injertos fotoinducidos. Este proceso busca superar las limitaciones del PLA en términos de adhesión y migración celular, aspectos fundamentales en aplicaciones biomédicas como la ingeniería de tejidos y la regeneración celular. Se incluyen antecedentes que justifican el enfoque, los objetivos generales y específicos, la importancia del estudio y una descripción general del método, que abarca la caracterización fisicoquímica y biológica de las superficies modificadas.

En el capítulo 2, marco teórico, se enfoca en proporcionar el trasfondo científico y técnico del proyecto. Se abordan los conceptos clave y las tecnologías utilizadas, como los materiales poliméricos para aplicaciones biomédicas, destacando las ventajas del poli (ácido láctico) (PLA) en este campo. Se describen las propiedades, aplicaciones y mecanismos de degradación del PLA, junto con su relevancia como material base en ingeniería de tejidos.

En el capítulo 3, desarrollo, se describe la metodología utilizada para preparar y modificar películas de poli(ácido láctico) (PLA) mediante injerto superficial. Incluye los procedimientos para obtener las películas, realizar la funcionalización química con benzofenona

y ácido acrílico utilizando irradiación UV, y los pasos para su caracterización fisicoquímica (espectroscopía, microscopía, calorimetría y análisis químico). Además, aborda la evaluación biológica de las películas para determinar su interacción con células.

CAPÍTULO 2. Marco Teórico

En este capítulo se enfoca en proporcionar el trasfondo científico y técnico del proyecto.

Se abordan los conceptos clave y las tecnologías utilizadas, como los materiales poliméricos para aplicaciones biomédicas, destacando las ventajas del poli (ácido láctico) (PLA) en este campo.

Se describen las propiedades, aplicaciones y mecanismos de degradación del PLA, junto con su relevancia como material base en ingeniería de tejidos. Asimismo, se explican las técnicas de caracterización fisicoquímicas empleadas para analizar las modificaciones estructurales y superficiales del material.

Materiales poliméricos para aplicaciones biomédicas

Un biomaterial puede definirse como cualquier material empleado para fabricar dispositivos que sustituyan una parte o una función del cuerpo de una manera segura, confiable y fisiológicamente aceptable. Hay cuatro tipos de biomateriales: metálicos, cerámicos, polímeros y compuestos. Los metálicos son empleados para el reemplazo de articulaciones, implantes de raíces dentales. Los cerámicos, normalmente usados en el ámbito dental y ortopédico. Los polímeros, empleados en prótesis, reemplazo de tejidos y, por último, los materiales compuestos, usados para fabricar resina dental y cemento óseo. [14]

Los materiales poliméricos actualmente representan una alternativa para la fabricación de dispositivos médicos y tratamientos de diversas enfermedades óseas. Tienen una amplia gama de aplicaciones biomédicas, incluidas las que el polímero permanece en contacto con los tejidos y las células durante períodos largos de tiempo. La principal ventaja de los polímeros en el campo de la medicina es su estructura orgánica, basada en carbono, de similitud con los sistemas biológicos mayor que los compuestos inorgánicos. [14]

Esta particularidad es de gran interés al buscar una interacción específica del polímero con el cuerpo. Sin embargo, puede también conllevar una serie de problemas asociados a la presencia de restos de monómeros, procesos degradativos indeseados o aditivos con respuesta bioquímica. Los diferentes polímeros de mayor utilización en la industria son las poliolefinas, poliamidas, poliésteres, acrílicos, polímeros fluorados, vinílicos, poliuretanos y siliconas.

[14,15]

PLA

El poli (ácido láctico) es un termoplástico perteneciente a la familia de los poliésteres alifáticos, se caracteriza por ser biodegradable y es producto de fuentes renovables. Además, el PLA es considerado un material versátil debido a que pueden obtenerse una gran variedad de productos con diferentes propiedades específicas para el campo de la medicina o empaque de alimentos.

El PLA a se obtiene a partir de ácido láctico, el cual puede encontrarse como una mezcla de isómeros D(-) y D(+) y tiene propiedades físicas similares al Polipropileno (PP) y poliestireno (PS) como lo que lo hace útil para diversas aplicaciones que incluyen la fabricación de fibras películas y materiales de empaques para alimentos, con el atractivo de hacerlo en equipos utilizados para la transformación de otros termoplásticos. [4]

El PLA puede degradarse fácilmente mediante hidrólisis enzimática o hidrólisis alcalina en composta, cuando es implantando en organismos vivos, incluyendo el cuerpo humano, éste se hidroliza hasta alfa-hidroxiácidos ácido, el cual es eliminado entonces por mecanismos metabólicos. La velocidad degradación depende del tamaño y forma del artículo, temperatura del medio y cristalinidad del material, pudiendo alcanzar meses o años para el PLA cristalino mientras que el PLA amorfico se puede degradar en semanas. [5,6]

El PLA es un biopolímero sintético con variadas aplicaciones debido a su biodegradabilidad, compatibilidad, propiedades termo-mecánicas y su facilidad de procesamiento. Entre sus aplicaciones en el campo y biomédico se encuentran: las suturas bioabsorbibles, sustitutos de materiales óseos, almohadillas desechables y sistemas de liberación de fármacos. [6]

Técnicas de modificación superficial

La modificación superficial de materiales es una estrategia empleada frecuentemente para la adaptación de un material para una aplicación específica. Este proceso también se denomina funcionalización superficial y puede llevarse a cabo mediante una gran diversidad de métodos como procesos térmicos, fotoquímicos, mecánicos, tecnologías de plasma, etcétera. En consecuencia, la elección del método de funcionalización está condicionada por naturaleza en el material de partida, limitando la aplicación de ciertos tipos de técnicas. El proceso de funcionalización superficial de polímeros se lleva a cabo mediante la transformación de las especies químicas presentes en la superficie por reacciones de oxidación/reducción. [7]

Adhesión celular

La adhesión celular es esencial en la comunicación y regulación celular, y es de importancia fundamental en el desarrollo y mantenimiento de los tejidos. Las interacciones mecánicas entre una célula y su matriz extracelular (MEC) pueden influir y controlar el comportamiento y la función celular. La función esencial de la adhesión celular ha creado un enorme interés en el desarrollo de métodos para medir y estudiar las propiedades de adhesión celular. El estudio de la adhesión celular podría clasificarse en eventos de adhesión celular, unión y desapego. [8]

Caracterización físico-química

1. Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier, en modo reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)

La espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier proporciona información referente a los grupos funcionales de las moléculas constitutivas del material analizado, permitiendo su identificación.

El espectrómetro de infrarrojo tiene un rango para longitudes de onda que van de 4000 - 600 cm⁻¹. La técnica de muestreo es por medio de un cristal ATR (Reflectancia total atenuada), que permite realizar determinaciones con poca o nula preparación de muestras en estado sólido, semisólido y líquido. [9, 10]

2. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido es una técnica analítica utilizada para medir la cantidad de calor liberado o absorbido por una muestra durante el calentamiento o enfriamiento en un rango de temperatura. Además de utilizarse para caracterizar las propiedades térmicas de un material, un calorímetro diferencial de barrido se utiliza para determinar la temperatura a la que se producen transiciones de fase concretas, incluida la temperatura de transición vítrea, los eventos de fusión y cristalización. [11]

3. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microscopía electrónica se fundamenta en la emisión de un barrido de haz de electrones sobre la muestra, los cuales interaccionan con la misma produciendo diferentes tipos de señales que son recogidas por detectores. Finalmente, la información obtenida en los detectores es transformada para dar lugar a una imagen de alta definición, con una resolución de

0,4 a 20 nanómetros. Como conclusión, se obtiene una imagen de alta resolución de la topografía de la superficie de la muestra. [12]

4. *Microscopía de fuerza atómica (AFM)*

La microscopía de fuerza atómica (AFM) es una técnica de investigación que utiliza un microscopio mecano-óptico para analizar y visualizar la topografía de una muestra con una sonda de punta afilada. La AFM es ampliamente utilizada en la caracterización de materiales a nivel nanométrico y ha sido fundamental en el desarrollo de la nanotecnología. Permite obtener imágenes de alta resolución y analizar las propiedades superficiales de diversos materiales, desde orgánicos hasta inorgánicos. Es una herramienta valiosa en la investigación científica para comprender las propiedades de los materiales a escala atómica y molecular. [13]

CAPÍTULO 3. Desarrollo

En este capítulo se describe la metodología utilizada para preparar y modificar películas de poli (ácido láctico) (PLA) mediante injerto superficial. Incluye los procedimientos para obtener las películas, realizar la funcionalización química con benzofenona y ácido acrílico utilizando irradiación UV, y los pasos para su caracterización fisicoquímica (espectroscopía, microscopía, calorimetría y análisis químico).

La metodología del proyecto para utilizar será la siguiente:

Preparación del material

Para el proyecto se planea utilizar poli (ácido láctico) PLA en forma de pellets, para la obtención de las películas. Para las reacciones de la foto injerto se utilizará benzofenona al 99% como activador y ácido acrílico al 99% como monómero. Los disolventes para utilizar será etanol grado reactivo con una pureza de 99.5% y diclorometano al 99.8%. Para la obtención de las películas de PLA se utilizarán cajas de Petri, y se disolverá 0.5g de PLA en 10ml de diclorometano durante 2 horas, cuidando que el ambiente sea cerrado ya que el diclorometano es volátil. Una vez pasado el tiempo, se verterán en la caja Petri.

Procedimiento experimental

Preparación de las películas de PLA

La elaboración de las películas de PLA será mediante la técnica de fundición en un plato de Petri de vidrio. Se disolverán aproximadamente 0.5 g de pellets de PLA en 10ml de diclorometano, y la solución se verterá en el plato de Petri limpio.

Inseto fotoinducido de benzofenona en las películas de PLA

La modificación superficial de la película de PLA será mediante la polimerización inducida por fotones de benzofenona. Se tomará una muestra de película de PLA (aproximadamente 1 cm × 1 cm) y se recubrirá por inmersión en una solución al 5% p/p de benzofenona en etanol. La muestra se dejará reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos para asegurar la evaporación del etanol. Después se irradiará con led ultravioleta a una longitud de onda de aproximadamente 400-500 nm. Tras la irradiación, se someterá a un tratamiento de sonicación en etanol durante 5 minutos para eliminar cualquier benzofenona no reaccionada, y luego se secará a temperatura ambiente. Se preparará una película de control siguiendo el mismo procedimiento, pero sin añadir benzofenona.

Polimerización por foto inducida de ácido acrílico en la película de PLA

Se planificará la exposición de la película de PLA con benzofenona al proceso de injerto mediante fotopolimerización. La película de PLA con benzofenona se colocará en un tubo de ensayo de Pyrex que contenga una solución al 10% v/v de ácido acrílico (o acrilamida) en etanol. Tras la irradiación, el sustrato se someterá a sonicación en etanol durante 5 minutos para eliminar cualquier ácido acrílico (o acrilamida) no reaccionado y luego se secará a temperatura ambiente durante 24 horas. Se preparará una película de control siguiendo el mismo procedimiento, pero sin ácido acrílico (o acrilamida).

Las muestras se mantendrán en estas condiciones durante 24 horas, bajo agitación constante y a temperatura ambiente. Una vez hecho el injerto y la polimerización, se procederá a hacer varias técnicas de analíticas las cuales se mencionan a continuación:

Caracterización físico-química

Espectroscopía ATR-FTIR

Se utilizará la espectroscopía ATR-FTIR para monitorear las reacciones de injerto en la superficie de la película. ATR empleará un campo evanescente que penetrará en la película a una profundidad aproximada de 0.4 μm , dependiendo de la longitud de onda, el ángulo de incidencia y los índices de refracción de la muestra y del cristal. Se empleará un espectrómetro Nicolet Avatar 360 con un accesorio ATR horizontal multibounce para realizar los experimentos. Se caracterizarán picos en 1720 cm^{-1} (estiramientos C=O en el ácido carboxílico de PAA), 1661 cm^{-1} (estiramientos C=O en la amida de PAAm) y 1756 cm^{-1} (estiramientos C=O en PLA). Los resultados se informarán como la relación de áreas de picos (PAR), como el área del pico en 1720 cm^{-1} dividida por el área del pico en 1756 cm^{-1} . Se utilizará software gráfico (ORIGIN) para deconvolucionar los picos y se reportarán los valores de PAR promedios con intervalos de confianza del 95%

Goniometría de ángulo de contacto

Las mediciones del ángulo de contacto se realizarán con un aparato Kruss G10 estático. Los ángulos de contacto con agua se calcularán usando el método de gota sesil y los valores reportados serán el promedio de 10 lecturas con intervalos de confianza del 95%.

Microscopía de fuerza atómica

Las imágenes de microscopía de fuerza atómica se obtendrán utilizando un Nanoscope IIIa.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El estudio se llevará a cabo en un DSC-7 de la marca Perkin Elmer, en un intervalo de temperatura de 50 a 200°C.

Método colorimétrico de azul de o-toluidina (TBO) para la determinación de la concentración de grupos carboxilos

Se evaluará la concentración de los grupos carboxílicos presentes en las películas previamente tratadas. Para ello, se añadirán 8 mililitros de una solución acuosa de azul de toluidina-O (TBO) a cada muestra. El pH de la solución se ajustará a 10 mediante soluciones de NaOH con concentraciones de 0.01 M y 2 M. Este ajuste de pH es esencial para facilitar la formación de complejos iónicos entre el TBO y los grupos COOH en las cadenas de polímero injertadas en la superficie de las películas.

Caracterización biológica

La interacción entre los fibroblastos y osteoblastos y los sustratos, con y sin modificación, se realizará mediante un ensayo de hemólisis de acuerdo con la norma ISO 10993-4.

CAPÍTULO 4. Resultados

CAPÍTULO 5. Conclusiones

REFERENCIAS

- [1] Z. Yue et al. Molecular structure matter: PEG-B-PLA nanoparticles with hydrophilicity and deformability demonstrated their advantages for high-performance delivery of anti-cancer drugs. *J. Mater. Chem B* 3239-3247,2013.
- [2] A.V. Janorkar et al. Grafting amineterminated branched architectures from poly(L-lactide) film surfaces for improved cell attachment. *J Biomed Mater Res Part B: Apply Biomater*, 8 1B, 142-152-2007.
- [3] U. Edlun et al. Single-step Covalent Functionalization of Polylactide Surfaces. *Journal of the American Chemical Society*, 127:8865-8871,2005.
- [4] A. Agrawl. Constrained nonlinear optimization for solubility parameter of poly(lactic acid) and pol7(glycolic acid)-validation and comparison. *Polymer*, 45.
- [5] Ohkita, T. Thermal Degradation and Biodegradability of Poly(lactic acid)/Com Starch Biocompositives. *Journal of Applied Polymer Science*, 100: 3009-3017. 2016.
- [6] Ho; Pometto. Effects of Temperature and Relative Humidity on Polylactic Acid Plastic Degradation. *Journal of Polymers and the Environmet*, 7:88-92, 1999.
- [7] Yeo, S. Improvements of hydrophilicity of polylactic acid (PLA) fabrics by means of a proteolytic enzyme from *Bacillus lincheniformis*. *Biomaterials*. 30, 5897-5009.
- [8] Ahmad, K; Ridzuan, M. A review of Cell Adhesion Studies for Biomedical and Biological Applications. National Library of Medicine. 10.3390/ijms160818149, 2016.
- [9] Snaguino, A. Foto-injerto sobre películas y sus propiedades hemocomtables. *Centro de Investigación Científica de Yucatán*. 2022
- [10] CUCEI. Espectrometría de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR). *Instituto Transdisciplinar de Investigación y Servicios – ITRANS*, 2022.

- [11] Slough. Calorimetría Diferencial de Barrido. *TA Instruments*, 2022.
- [12] Atria. Microscopía electrónica de barrido. 2024.
- [13] Tapia. Microscopio de Fuerza Atómica (AFM). *Centro de conjunto de investigación en química sustentable, UAEM-UNAM*. 2024.
- [14] Fernández Nicolás, Beatriz. Materiales poliméricos en aplicaciones biomédicas. Universidad Politécnica de Cartagena, 2023
- [1] Osorio et al. (2017). Aplicaciones biomédicas de biomateriales poliméricos. *DYNA*, 84(201), 241–252. <https://doi.org/10.15446/dyna.v84n201.60466>