

Tesista: Nayla Jimena Lores

Título al que aspira: Doctora en Ciencia de Materiales, UNMDP

Tema: "Impresión 3D de estructuras porosas basadas en poliuretanos para aplicaciones en ingeniería de tejidos"

Director de tesis: Dr. Pablo C. Caracciolo

Co-director: Dr. Gustavo A. Abraham

Lugar de Trabajo: División Polímeros Biomédicos, INTEMA (UNMDP-CONICET)

Fecha de Defensa: 14 de abril de 2023

Jurados:

Dr. Juan Valerio Cauich Rodríguez (CONACYT, México)

Dra. Mirta Inés Aranguren (UNMDP-CONICET)

Dra. María Susana Cortizo (UNLP-CONICET)

Resumen

Desde hace más de tres décadas los biomateriales han jugado un rol clave en el campo de la medicina regenerativa e ingeniería de tejidos. En este contexto, el desarrollo de matrices extracelulares artificiales y dispositivos biomédicos implantables constituye un enorme desafío que abordan los principales grupos de investigación a nivel mundial. Si bien existe una amplia variedad de técnicas para obtener sistemas porosos, no todas resultan apropiadas para la fabricación de formas tridimensionales complejas. Hoy en día, la impresión 3D ofrece muchas ventajas en medicina, incluyendo la rápida fabricación, alta precisión, bajo costo y diseño a medida, pudiendo emplearse modelos y/o imágenes obtenidas directamente de tomografías computarizadas del paciente. Sin embargo, si bien actualmente existe un mercado creciente de filamentos con una amplia variedad de propiedades, la oferta de materiales para dispositivos biomédicos aún es escasa.

Los biomateriales para ingeniería de tejidos deben degradarse in vivo a productos no tóxicos, y reabsorberse o excretarse mediante rutas metabólicas, en sincronización con la formación de tejido nativo. A estas características se suma la necesidad de conformar una estructura con propiedades mecánicas adecuadas y elevada porosidad para favorecer la infiltración, proliferación y diferenciación celular, que conducen a la formación de un nuevo tejido. Desde este punto de vista, los polímeros sintéticos biorreabsorbibles resultan relevantes, y en aquellos casos en los que se requieren materiales con cierta elasticidad, tenacidad y comportamiento a la fatiga, los poliuretanos segmentados (SPU) representan una alternativa interesante. Los SPU son copolímeros en bloque que se utilizan ampliamente debido a su buena biocompatibilidad y a su versatilidad química y estructural. A partir de una selección adecuada de los monómeros y de la relación entre segmentos blandos y duros se pueden obtener materiales con una amplia variedad de propiedades.

Esta tesis doctoral aborda dos aspectos de fundamental importancia: el desarrollo de nuevos biomateriales y su procesamiento mediante una técnica de vanguardia como es la manufactura aditiva mediante modelado por deposición fundida (FDM). El estudio de los distintos sistemas diseñados se centró en la relación estructura-propiedades-procesamiento-aplicaciones.

En primer lugar, se presenta la síntesis de una serie de poli(éster uretanos) segmentados lineales biorreabsorbibles (SPEU) con alto contenido de segmentos duros (50, 60 y 70% p/p), denominados SPEU50, SPEU60 y SPEU70, respectivamente. Los materiales se sintetizaron mediante el método de polimerización en dos etapas o del prepolímero utilizando como reactivos: 1,6-hexametilendiisocianato (HDI), poli(ϵ -caprolactona) diol (PCL diol) y 1,4-butanodiol (BDO) como extendedor de cadena. Posteriormente, se realizó la caracterización fisicoquímica y térmica de los productos para evaluar su potencialidad para el procesamiento por extrusión y FDM. En base a los resultados obtenidos, se seleccionaron las formulaciones más promisorias y se escaló la reacción de polimerización en un reactor de manera de obtener cantidad suficiente de los materiales. Seguidamente, se fabricaron filamentos de SPEU50 y SPEU60 empleando una extrusora de doble tornillo paralelo. Para mejorar las propiedades mecánicas y la biocompatibilidad, se fabricaron filamentos compuestos de SPEU mediante la incorporación de poli(3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato) (PHBV, un poliéster alifático sintetizado por microorganismos) y de partículas cerámicas tales como vidrios bioactivos comerciales (Bioglass® 45S5) y vitrocerámicos (GC) con apatita y wollastonita como fases cristalinas. Los distintos sistemas obtenidos resultaron extruibles, sin necesidad de utilizar plastificantes ni aditivos. Se realizó una caracterización morfológica, fisicoquímica, térmica y mecánica completa de los distintos filamentos fabricados.

Asimismo, los filamentos obtenidos se procesaron mediante la técnica de FDM para la preparación de las distintas matrices porosas. La optimización de los parámetros de procesamiento, así como el trabajo con distintos programas de diseño CAD y propios del funcionamiento de la impresora permitieron fabricar estructuras 3D reproducibles con micro y macroestructuras controladas. Se diseñaron piezas pequeñas con porosidad abierta e interconectada minimizando los defectos de impresión.

Posteriormente, se realizó un estudio térmico, fisicoquímico, morfológico y mecánico de las estructuras obtenidas. Además, se llevaron a cabo ensayos de estabilidad hidrolítica en PBS y de caracterización *in vitro* que incluyeron: estudios de bioactividad, de viabilidad, proliferación y adhesión celular, permitiendo inferir el comportamiento biológico de las matrices 3D fabricadas en esta tesis para aplicaciones en ingeniería de tejidos.

Abstract

For more than three decades, biomaterials have played a key role in the fields of regenerative medicine and tissue engineering. In this context, the development of artificial extracellular matrices and implantable biomedical devices constitutes a huge challenge addressed worldwide by the main research groups. Although there is a wide variety of techniques to obtain porous systems, not all of them are appropriate for the manufacture of complex three-dimensional shapes. Today, 3D printing offers many advantages in medicine, including rapid manufacturing, high precision, low cost, and custom design, using models and/or images obtained directly from patient CT scans. However, while there is currently a growing market for filaments with a wide variety of properties, the availability of biomedical materials is still scarce.

Biomaterials for tissue engineering should degrade *in vivo* to non-toxic products, and be reabsorbed or excreted via metabolic pathways, in synchronization with the formation of native tissues. In addition to these characteristics, structures with adequate mechanical properties and high porosity to promote infiltration, potency, and cell differentiation, which lead to the formation of new tissues, are needed. From this point of view, bioresorbable synthetic polymers are relevant, and in those cases where materials with a

certain elasticity, toughness, and fatigue behavior are required, segmented polyurethanes (SPU) represent an interesting alternative. SPUs are block copolymers that are widely used due to their good biocompatibility and their chemical and structural versatility. From an adequate selection of the monomers and the relationship between soft and hard segments, materials with a wide variety of properties can be obtained.

This doctoral thesis addresses two aspects of fundamental importance: the development of new biomaterials and their processing using a cutting-edge technology such as additive manufacturing by fused deposition modeling (FDM). The study of the different systems focused on the structure-properties-processing-applications relationships.

First, the synthesis of a series of bioresorbable linear segmented poly(ester urethanes) (SPEU) with a high content of hard segments (50, 60, and 70% w/w), named SPEU50, SPEU60 and SPEU70, respectively, is presented. The materials were synthesized by the two-stage or prepolymer polymerization method using as reagents: 1,6-hexamethylene diisocyanate (HDI), poly(ϵ -caprolactone) diol (PCL diol) and 1,4-butanediol (BDO) as chain extender. Subsequently, the physicochemical and thermal characterization of the products was carried out to evaluate their potential for processing by extrusion and 3D printing by FDM technique. Based on the obtained results, the most promising formulations were selected, and the polymerization reaction was scaled up in a reactor, to obtain a sufficient mass of materials.

Next, SPEU50 and SPEU60 filaments were prepared using a parallel twin screw extruder. To improve mechanical properties and biocompatibility, composite SPEU filaments were fabricated by incorporating poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV, an aliphatic polyester synthesized by microorganisms) and fabricating ceramic particles such as commercial bioactive glasses (Bioglass®45S5) and glass ceramics (GC) with apatite and wollastonite as crystalline layers. The different systems were extrudable, without the need to use plasticizers or additives. A complete morphological, physicochemical, thermal, and mechanical characterization of the different fabricated filaments was carried out.

Likewise, the filaments obtained were processed by FDM technique for the preparation of the different porous matrices. The optimization of the processing parameters, as well as the work with different CAD design programs and those specific to the operation of the printer, made it possible to manufacture reproducible 3D structures with controlled micro and macrostructures. Small pieces were designed with open porosity and interconnected minimizing printing defects.

Subsequently, a thermal, physicochemical, morphological, and mechanical analysis of the studied structures obtained was carried out. In addition, hydrolytic stability tests in PBS and in vitro characterization tests were carried out, which included: bioactivity, viability, proliferation, and cell adhesion studies, allowing inferring the biological behavior of the 3D matrices manufactured in this thesis for applications in tissue engineering.