

DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES POROSOS (ANDAMIOS) A BASE DE BIOPOLÍMEROS, PARA SER USADOS COMO SOPORTE PARA EL CRECIMIENTO DE TEJIDOS.

ANTECEDENTES

La ingeniería tisular (o de los tejidos) es un campo multidisciplinario que involucra la aplicación de los principios y métodos de la ingeniería, física y la ciencia de la vida, para el entendimiento de la interrelación función-estructura, en un tejido patológico y normal, así como el desarrollo de substitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función tisular” [Shalak y Fox, 1988].

La meta de la ingeniería tisular es superar las limitaciones de los tratamientos convencionales basados en el trasplante de órganos y la implantación de biomateriales [Langer y Vacanti, 1993]; para producir una fuente de órganos “artificiales” inmunológicamente tolerantes y, substitutos de tejidos que puedan crecer con el paciente. Dichos implantes deben permitir una reparación permanente de órganos y tejidos dañados, sin la necesidad de terapias suplementarias, las cuales hacen al tratamiento más caro a largo plazo [Patrick, 1998].

Por lo general, la ingeniería tisular esta orientada hacia el desarrollo de materiales capaces de facilitar la reparación, la regeneración o, el reemplazo de tejido dañado o enfermo. Cuando se repara y/o regenera un tejido, se debe mejorar el proceso de reparación natural, la cual constantemente produce cicatrices no funcionales o pobremente funcionales en lugar de un tejido normal. Con respecto a la reposición o el reemplazo, el tejido “base” puede ser creado *in vitro* y posteriormente implantado; para esto se utiliza un componente celular unido a una estructura de forma apropiada. Este es conocido como andamio (*scaffold* en inglés), que puede ser implantado directamente en el tejido deseado y, colonizado por células blanco.

Por todo esto, se ve la necesidad de plantear el diseño y construcción de estos andamios en función del tipo de tejido que se quiera hacer crecer en ellos. Para lograr esto, se tendrá la necesidad de trabajar en conjunto con investigadores que se dediquen al crecimiento de tejidos para poder conocer sus necesidades en relación a los andamios.

Muchos tejidos no solo presentan colecciones de células arregladas aleatoriamente, también poseen características de organización altamente detalladas, las cuales están relacionadas a una función tisular. El ingeniero tisular busca principalmente restaurar la arquitectura del tejido; y el uso de un andamio proporciona los medios para lograr este fin. Estos andamios deben ser construidos para diferentes tipos de tareas; por ejemplo, una microestructura porosa permitirá una colonización celular y el crecimiento en su interior. Al aumentar la microestructura se cambia la distribución de los espacios entre los poros, lo cual ayuda a orientar a las células; así como las variaciones en las propiedades superficiales del material, que facilitan la adhesión y/o migración celular selectiva. Normalmente, el andamio es construido con materiales biodegradables, para que pueda ser integrado en el tejido anfitrión y en un tiempo apropiado sea absorbido por el cuerpo del individuo. La biodegradabilidad permite el reemplazo gradual y ordenado del andamio por un tejido

funcional y, también previene el desarrollo de respuestas adversas (casi siempre crónicas) debido a la estructura artificial. Además, el andamio puede ser creado para liberar agentes biológicos activos al tejido blanco; por ejemplo, un factor de crecimiento o genes. El material también puede poseer actividad biológica intrínseca, que permita una reacción de migración o proliferación específica de poblaciones de células vecinas. A esta lista de características de interacción celular pueden agregarse otras propiedades físicas, tal y como se precisa a continuación: propiedades mecánicas tisulares, permeabilidad macromolecular, acercamiento o repulsión de proteínas, adhesión o lubricidad tisular y facilidad de procesamiento.

Cuando la restauración y la función de la arquitectura tisular es la última meta, el andamio es considerado como una estructura temporal. De esta manera la habilidad de armonizar la velocidad de degradación, de tal forma que se logren diferentes perfiles en los tiempos de degradación, puede ampliarse mucho la aplicación de un andamio.

Por la gran variedad de tejidos blancos, las posibles microestructuras de los andamios y las aproximaciones técnicas, hacen poco probable que un polímero simple pueda adecuarse a los requerimientos que exige cada sistema tisular. Es por esta idea, que existe una variedad de polímeros que continúan siendo evaluados para aplicaciones de la ingeniería tisular; así como aquellos materiales nuevos o modificados que están en constante desarrollo.

MARCO TEÓRICO

Las técnicas usadas en la manufactura de andamios (*scaffolds*) son dependientes de las propiedades del material y del tipo de aplicación final. Los andamios pueden ser fabricados mediante polímeros, metales, cerámicos o materiales compuestos. Es importante saber las propiedades del tejido que se vaya a remplazar, ya que dependiendo de sus propiedades será el tipo de material a usar para la fabricación del andamio. En el caso de andamios que intentan remplazar tejidos suaves como son la piel, tendones, ligamentos, senos, vasos sanguíneos y válvulas de corazón, principalmente son fabricados de polímeros naturales y sintéticos. La función primaria de un andamio, es la de permitir la unión de células dentro y fuera de ellos, así como la proliferación y la diferenciación de células. También debe proveer un ambiente en la cual las células puedan mantener su fenotipo y sintetizar moléculas y proteínas que requiera.

Unas de las características básicas que se le deben dar al material que formará el andamio es: tener una alta porosidad, un máxima área superficial, rigidez superficial, forma específica tridimensional y necesita ser biodegradable. La función del andamio es dirigir el crecimiento celular, ya sea de los tejidos adyacentes o de las células sembradas en él. Para ello, el material debe proveer una adecuada adhesión celular, y en ciertos casos debe favorecer la migración celular. La estructura porosa le provee al implante dos funciones críticas. Primero, los canales del poro proveen puertos de entrada para la migración de células, o por capilaridad succión de sangre. Segundo, una disponibilidad de una máxima área para la interacción de numerosas células específicas.

Hay muchos materiales biocompatibles que pueden ser utilizados, en general los más auspiciados son los polímeros y, dentro de estos, los polímeros biodegradables son los más

utilizados, ya que estos son degradados por el huésped en un periodo de tiempo adecuado. Los polímeros biodegradables proporcionan un sustento celular hasta que las células son capaces de secretar su propia matriz extracelular.

Las exigencias de obtener biomateriales compatibles con la sangre hacen del poliuretano-urea segmentado (PUUs) una excelente alternativa. *Lyman (1975)* obtuvo PUUs y examinaron el efecto del peso molecular del Polipropilenglicol (PPG) sobre la compatibilidad de la sangre, la absorción de la proteína de plasma y las características del crecimiento celular. Sugiere que la compatibilidad de la sangre esta relacionada con el tamaño de los dominios y grado de separación de la microfase del PUUs. *Atsushi Takahara (1985)* continuo investigando a las PUUs utilizando diferentes poliésteres, concluyendo que la compatibilidad con la sangre es función del balance hidrofóbico-hidrofílico sobre la superficie del material. *Spaans (1998)* logró obtener un nuevo PU biomedico y una PUU basado en policaprolactona y 1,4-butanediisocianato, los cuales se degradaban en productos no toxicos, y sus extensores de cadena la 1,4-Butanediamina y el 1,4-butanediol. Siendo que la 1,4-butanediamina o Putrescina un producto biocompatible.

Los Poliuretanos (PU), han sido ampliamente utilizados en varios productos por la diversidad de sus tecnologías de procesamiento y de sus propiedades. Las transiciones térmicas de algunos poliuretanos segmentados (PUs) son influenciados significativamente por la estructura del diisocianato; que aunado a la simetría y cristalinidad de los segmentos rígidos influyen en sus propiedades mecánicas *Da-Kong et al, 2000*. Los poliuretanos segmentados basados en poli-ε-caprolactonadiol (PCL), 1,4-butanodiisocianato (BDI) y un extensor de cadena como el butanodiol (BDO), aparecen como polímeros de fácil procesabilidad, con excelentes propiedades mecánicas y de buena solubilidad *Heijkants R. G et al, 2004*.

El ácido poli-L-láctico (PLLA), el ácido láctico-co-glicólico (PLGA) y el ácido glicólico (PGA), son un tipo de polímeros biocompatibles de degradación por simple hidrólisis y aprobados por la FDA (Food and Drugs Administration) para determinadas aplicaciones.

La policaprolactona (PCL) es un poliéster biodegradable usado comúnmente para la fabricación de andamios, el cual puede ser utilizado en una amplia gama de aplicaciones médicas. Por otro lado, la policaprolactona ha sido utilizada junto con el almidón para la fabricación de materiales compuestos con aplicaciones biomédicas. El desarrollo y propiedades biodegradables de mezclas de almidón/PCL (SPCL) han sido bien documentados en la literatura. Por un lado, el almidón le baja el costo al producto final y por el otro lado, le da ciertas propiedades biodegradables a la PCL. Recientemente, materiales compuestos de SCPL han sido propuestos para aplicaciones biomédicas, incluyendo andamios en ingeniería de tejidos. Entre otros trabajos que se han hecho a base de policaprolactona, tenemos:

- Ingeniería tisular usando andamios de policaprolactona fabricado vía sinterización selectiva por láser.
- Diseño, síntesis y propiedades de andamios de poliuretano y policaprolactona para la regeneración de meniscos.

La introducción del nanotecnología en la ciencia de los biomateriales ha dado la oportunidad de realzar las características de los andamios, mejorando las interacciones biológicas. Pero para aprovecharse las ventajas potenciales de los nanobiomateriales, hay que superar muchos desafíos. Los andamios de polímeros biodegradables se han fabricado como nanofibras o se han mezclado con nanomateriales para obtener muchas características deseadas. La Poly(ϵ -caprolactone) ha sido electroespumada para obtener los andamios con un alto cociente del área-volumen de la porosidad y de la superficie así como semejanzas morfológicas a la matriz extracelular natural *Biomaterials* 2005; 26(25):5221-30 (ISSN: 0142-9612). Los nanotubos de carbón (SWNTs) han sido propuestos como la carga ideal para la siguiente generación de nanomateriales, debido a sus características mecánicas excelentes *Biomaterials* 2005; 26(25):5221-30 (ISSN: 0142-9612).

La adición de nanotubos a la PCL y PLLA deberá de dar un mejor control de las propiedades generales de los andamios, por tal motivo se hará un estudio de la adición de nanotubos de carbón al PCL y al PLLA.

OBJETIVOS Y MÉTAS

El objetivo general de este proyecto es lograr poder producir andamios a base de biopolímeros. Es importante el poder controlando dos aspectos fundamentales, el diámetro y ordenamiento de las oquedades y, las propiedades tanto mecánicas como térmicas. Ya que dependiendo del uso que se le vaya a dar al andamio, éste deberá cumplir con determinadas propiedades físicas. Este control de las propiedades físicas se puede logra por caminos diferentes:

- a) El poliuretano para uso médico ha sido aceptado desde hace unos años, teniendo cuidado en el tipo de extensor de cadena que se utiliza para que sea biodegradable y biocompatible. Se hace una polimerización de ...
- b) El primer camino es realizar una síntesis de poliuretano con caprolactona. Cuando se lleva a cabo la síntesis del poliuretano se puede controlar la estequiometría, de tal forma que es posible obtener diferentes grados de entrecruzamiento, que da diferentes propiedades mecánicas y térmicas. La síntesis se lleva a cabo dentro de un sinterizado de perlas de polimetilmetacrilato.
- c) El segundo camino es hacer materiales compuestos a partir de policaprolactona y ácido poliláctico, utilizando nanopartículas para poder controlar las propiedades mecánicas y térmicas. Una vez obtenida la composición adecuada para unas determinadas propiedades físicas, se inyecta el material compuesto en estado fundido dentro de un sinterizado de perlas de polimetilmetacrilato.

METAS:

- 1 Estudio bibliográfico sobre andamios, síntesis de poliuretanos con extensores biodegradables y nanocompositos a base de ácido poliláctico y policaprolactona.
- 2 Estudio de la Síntesis de poliuretano que formará la base para el andamio y las composiciones adecuadas de los reactivos para poder controlar el grado de entrecruzamiento.
- 3 Estudio de las composiciones adecuadas de la policaprolactona y ácido poliláctico con las nanopartículas de tubos de carbón, para obtener un

- nanocomposito, al cual se le puede controlar sus propiedades mecánicas variando la composición de las nanopartículas.
- 4 Sinterización de perlas de polimetilacrilato (PMMA), que servirá como negativo para la obtención de los andamios.
 - 5 Inyección de prepolímero de uretano, los nanocompositos de policaprolactona y ácido poliláctico a las obleas sinterizadas de las perlas de PMMA.
 - 6 Extracción de las perlas de PMMA (usando un disolvente para el PMMA que a su vez sea un mal disolvente para la policaprolactona y ácido poliláctico, para el poliuretano no importa, pues se encuentra entrecruzado).
 - 7 Obtención de los diferentes andamios.
 - 8 Caracterización mecánica, reológica y térmica de los andamios.
 - 9 Tratamiento superficial de los andamios para hacerlos compatibles con los nutrientes que necesitarán los tejidos para crecer.
 - 10 Productos.

METODOLOGÍA

Un número de tecnologías de fabricación han sido aplicadas para procesar materiales biodegradables y bioresorbibles de andamios de alta porosidad y área superficial. Las técnicas convencionales para fabricar andamios incluyen tecnologías textiles, moldeo por solvente, lixiviadas de partículas, laminación de membrana y moldeo por fundido. Desde un punto de vista funcional y diseño de los andamios cada metodología de procesamiento tiene sus pros y contras.

Textiles. Un gran número de tecnologías textiles tienen el potencial de ser aplicados en el diseño y fabricación de andamios altamente porosos. Las fibras proporcionan una área superficial grande en relación al volumen y, por lo tanto, son deseables como matriz en los andamios. Los textiles carecen de la estabilidad estructural para soportar la carga biomecánica. Para los tejidos finos tales como hueso y cartílago, el desafío de un tejido-célula construido, es tener características mecánicas similares a las del tejido original.

Unión de cadena. Esta técnica consiste en alinear fibras en la forma deseada del andamio, embebidas en una disolución polimérica. Después de la evaporación del solvente, el material compuesto es calentado alrededor de su temperatura de fusión de ambos polímeros. Posteriormente, la matriz es removida por disolución selectiva, dejando a las fibras físicamente unidas en sus puntos de contacto. Obviamente esta técnica no es muy apropiada para el control de la porosidad.

Fase de separación. El polímero es disuelto en un disolvente a baja temperatura. La fase líquido-líquido o sólido-líquido es inducida bajando la temperatura de la disolución. Subsecuentemente, se remueve la fase sólida rica en solvente por sublimación, dejando un andamio polimérico poroso. Una ventaja es que se puede incorporar moléculas bioactivas dentro de la matriz sin decrecer la actividad de la molécula, por efecto de severos ambientes químicos y térmicos.

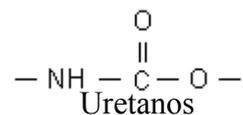
Moldeo por fusión. Una mezcla de polímero en forma de polvos finos y microesferas de gelatina son cargados en un molde de teflón, y calentados a la temperatura de transición

vítrea del polímero. Subsecuentemente la disolución de la gelatina resulta un material poroso de matriz polimérica. El tamaño de poro es controlado directamente por el diámetro de las microesferas, y la porosidad general cambia con la razón polímero-gelatina. Puede construirse andamios polimérico de formas diferentes, simplemente cambiando la geometría del molde.

Existen otros métodos que involucran altas presiones de CO₂ en discos sólidos de un polímero y mezclas de polímeros con cerámicos y fibras. El primero tiene la ventaja de no utilizar disolventes y la desventaja de que la saturación de CO₂ genera poros cerrados, lo cual puede provocar problemas de crecimiento celular. El segundo método, basado en la formación de materiales compuestos permite que los andamios tengan una resistencia compresiva superior a los materiales no reforzados, conteniendo la misma porosidad.

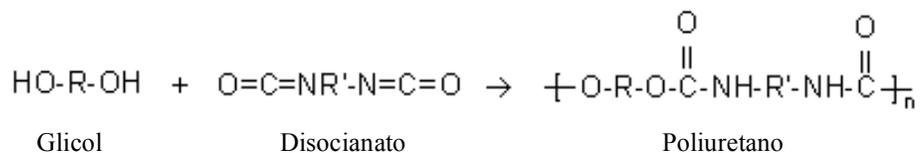
Poliuretanos

Los poliuretanos son conocidos como uretanos o polímeros de isocianatos y están caracterizados por el enlace:



También en la molécula del polímero pueden presentarse otros grupos, tales como los éter, éster, amidas y otros.

El método más usado para obtener poliuretanos consiste en la reacción de componentes hidroxílicos polifuncionales, con isocianatos polifuncionales. Cuando los reactantes utilizados son difuncionales se producen los poliuretanos lineales, como se muestra a continuación:



Si la funcionalidad de los componentes hidroxilos o isocianatos se incrementa a 3 o más, se forman los polímeros ramificados o entrecruzados.

Los métodos para producir poliuretanos se diferencian de acuerdo al medio de preparación (masa, solución y agua) y la secuencia en la adición de los reactantes (proceso por un paso y por prepolímero). En algunos casos, los catalizadores son agregados para acelerar la reacción de adición.

La polimerización en masa, ya sea por un paso o por dos, ha sido el principal proceso industrial para la producción de poliuretanos, por su amigable síntesis libre de solvente. Y

por el otro lado, la polimerización en solución ha sido extensamente utilizada para la síntesis a nivel laboratorio o experimental de los poliuretanos. Normalmente, la composición del producto final es controlada por la velocidad de difusión de los reactantes de una fase a la otra, así también como por la velocidad de reacción ente los diferentes grupos funcionales. Sin embargo, en el proceso por solución, el problema de heterogeneidad puede ser corregido mediante la selección correcta del disolvente que permita disolver los entonces reactantes incompatibles, hasta obtener una fase homogénea entre ellos. Los disolventes mas comúnmente usados en la síntesis de uretanos son apróticos bipolares incluyendo N,N'-dimetilacetamida (DMAc) y dimetilformamida (DMF).

La polimerización por solución también puede ser por el proceso de un solo paso o dos pasos. En la síntesis de un paso, la reacción puede ser llevada a cabo por mezcla simultanea del polioliol, un diisocianato, y un extensor de cadena en reacción en el disolvente y calentando la solución cerca de los 80 °C. En algunos casos los catalizadores se aplican para acelerar la reacción. Otro método para obtener los poliuretanos es vía síntesis de dos pasos, o mejor conocido como síntesis por extensión de cadena. El primer paso es reaccionar al polioliol con un exceso del diisocianato, formando un prepolímero de bajo peso molecular y de consistencia viscosa; posteriormente se hará reaccionar el prepolímero con el polioliol o una diamina, para producir el poliuretano de alto peso molecular. El proceso se ilustra en la Figura 1, que pertenece a la reacción para obtener poliuretano y poliuretano urea.

Las propiedades de varios tipos de polímeros uretanos dependen principalmente del peso molecular, el grado de entrecruzamiento, las fuerzas intermoleculares efectivas, rigidez de los segmentos de cadena y la cristalinidad. Donde la extensión del grado de entrecruzamiento en poliuretanos depende de la combinación de la cantidad de monómeros polifuncionales presentes y, a la extensión de los biuret, de los alofanatos y de las reacciones de trimerización de los grupos isocianatos. Las reacciones anteriores son controladas por las varias estequiometrías y por un catalizador específico. El stannous y otros carboxilatos metálicos así como las aminas terciarias son catalizadores para varias reacciones. La temperatura también afecta las extensiones de las diferentes reacciones. Las temperaturas de polimerización son moderadas, bastante cercanas al ambiente y usualmente menores a los 100-120 °C.

Las amplias variaciones posibles en la síntesis aumentan el intervalo de productos de poliuretano, incluyendo espumas rígidas y flexibles, así como elastómeros sólidos, extrusiones, recubrimientos y adhesivos. Los poliuretanos poseen buena resistencia a la abrasión, rasgado y al impacto, aunado con una resistencia a las grasas y aceites.

Nanocompositos de Policaprolactona y Ácido Poliláctico usando nanopartículas de tubos de carbón.

Inicialmente nos basarnos en dos polímeros que son ejemplos de una amplia gama de materiales biodegradables: Ácido Poliláctico PLLA y la policaprolactona, PCL. El escoger estos dos polímeros, además de ser biodegradables, uno es amorfo y otro cristalino. Esto se vuelve importante a la hora de hacer los materiales noanocompuestos.

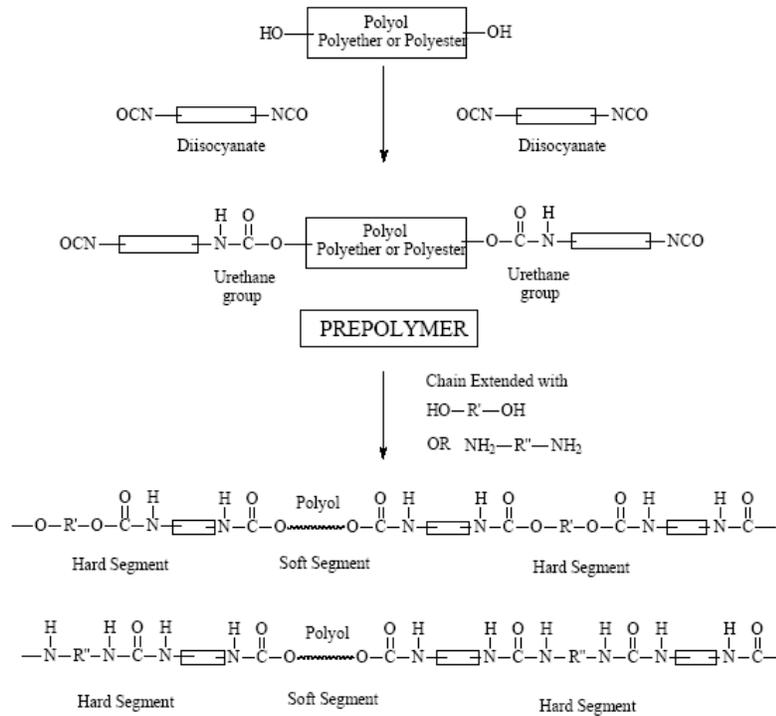


Figura 1. Esquema de síntesis dos-pasos para obtener poliuretano y poliuretanoúrea.

Se podría avanzar paso a paso resolviendo distintos problemas experimentales y obteniendo resultados parciales de los que pudieran obtenerse conclusiones:

1.- Dispersión de nanopartículas en una disolución del polímero en el disolvente adecuado y posterior formación de una placa de nanocomposite. Estudio de las propiedades en función del contenido y tipo de nanotubos de carbón.

- Procedimiento experimental: Se disuelve el polímero en dioxano con una concentración relativamente alta. Debe formarse una disolución poco viscosa para que permita la dispersión de las nanopartículas con facilidad pero, con el suficiente polímero para luego formar una placa de espesor apreciable. Hay que determinar cuál es la concentración idónea de polímero.
- Se dispersan las partículas en la disolución. Un método puede ser por aplicación de ultrasonidos de muy alta potencia.
- Inmediatamente después se congela disolución, por ejemplo por inmersión en nitrógeno líquido. Tiene que congelar rápidamente para que las partículas no sedimenten. La temperatura de cristalización del dioxano es alta, del orden de 12 °C. A continuación se introduce la disolución congelada en un baño de etanol a -20°C con lo que se disuelve el dioxano (en el caso del PEMA hay que cambiar el etanol por metanol o etilenglicol). El resultado es una placa muy porosa con poro muy pequeño. El polímero queda sólido y puede llevarse a temperatura ambiente siempre

que se haya eliminado completamente el dioxano para lo que hay que cambiar varias veces el etanol, siempre a -20°C.

2.- Es interesante estudiar las propiedades de esta placa porosa cambiando el tamaño de poro y la cantidad y tipo de los nanotubos de carbón, lo que se consigue variando la concentración inicial de la disolución del polímero en dioxano y de nanotubos de carbón. Después de unas primeras pruebas habría que hacer un diseño de las composiciones a preparar.

3.- También es interesante estudiar el material en bloque, no poroso. Para eso una vez preparada la placa porosa, se prensa a alta temperatura (fundiendo el PLLA a 190°C, o muy por encima de la transición vítrea del PMMA que es amorfo, a 160°C por ejemplo) y aplicando alta presión para sacar el aire de los poros. De esta forma se obtienen películas del nanocomposite no poroso y podemos estudiar sus propiedades mecánicas.

4.- Se añade a la disolución de polímero en dioxano una pequeña cantidad de un no-solvente (agua por ejemplo) y luego las nanopartículas, todo ello a una temperatura alta. Al enfriar se separan dos fases líquidas, una de polímero disuelto en dioxano y otra de dioxano disuelto en agua y luego al congelar y extraer con etanol queda una estructura mucho más porosa que puede utilizarse como membrana o como scaffold. Por último puede incluso añadirse partículas esféricas de polímero o sales como porógeno y aumentar aún más la porosidad obteniendo scaffolds.

Las propiedades para analizar, son las mecánicas, porosimetría, estructura y tamaño de poros y gargantas de interconexión, difusión o permeabilidad de líquidos a través de la membrana porosa y otras, también propiedades térmicas, cinéticas de cristalización del polímero semicristalino con las nanopartículas dentro o la transición vítrea del polímero amorfo.

Con esto se pretende obtener un andamio al cual se le puedan controlar sus propiedades físicas simplemente controlando la composición matriz nanopartícula.

BIBLIOGRAFÍA.

Poliuretanos:

- Da-Kong L, Hong-Bing T, Properties of segmented polyurethanes Derived from Different Diisocyanates, *journal of applied Polymer Science*, **75**, 167-174 (200).
- Dietmar W. Hutmacher, Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissue- state of the art and future perspectives, *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, **12**, No. 1, 107-124 (2001).
- Heijkants R. G., Van Calk R., De Groot J., Pennings A., Design, synthesis and properties of a degradable polyurethanes scaffold for meniscus regeneration, *Journal of Materials Science: Materiales in Medicine*, **15**, 423-427 (2004)
- Barry J. J., Gidda HS, Scochford CA, Howdle SM, Porous methacrylate scaffolds: spercritical fluid fabrication and in vitro chondocyte responses, *Biomaterials*, **25**, 3559-3568 (2004).
- Langer R. Vacanti JP, *Tissue Engineering, Science*, **260**, 920-926 (1993).

- Patrick Cw, Mikos AG, McIntire LV, Prospects of tissue engineering. In: *Frontiers in Tissue Engineering*, Eds. Elsevier Science Ltd, Oxford, pp. 3-11 (1998).
- Shalak R, Fox CF, *Tissue Engineering*, Preface, Eds. R. Liss, New York, pp.26-29 (1988).
- Thompson RC, Yaszemski MJ, Powers JM, Mikos AG, Fabrication of biodegradable polymer scaffolds to engineering trabecular bone, *J. Biomaterials Sci-Polymer Ed*, **7**, 23-38 (1995).
- William L. Murphy, Robert G. Dennis, Joel L. Kileny y David J. Mooney, Salt Fusion: An approach to improve poro Interconnectivity within Tissue Engineering Scaffolds, *Tissue Enginnering*, **8**, No. 1, 43-52 (2002).
- Whang K, Thomas CH, Healy KE, A novel method to fabricate bioabsorbable Scaffolds, *Polymer*, **36**, No. 4, 837-842 (1995).

Materialles Nanocompuestos:

- Modeling Of Polymer/Clay Nanocomposite Formation, Younghoon Kim, James L. White *Journal of Applied Polymer Science* Vol. 101, 1657-1663 (2006)
- Properties And Particles Dispersion Of Biodegradable Resin/Clay Nanocomposites, Kenji Okada, Takashi Mitsunaga and Youichi Nagase, *Korea-Australia Rheology Journal*; Vol. 15, No 1, March 2003 pp. 43-50
- Thermal And Thermomechanical Behaviour Of Polycaprolactone And Starch/Polycaprolactone Blends For Biomedical Applications, Yaming Wang, Miguel A. Rodríguez-Pérez, Rui L. Reis, João F. Mano, *Macromol. Mater. Eng*; 290, 792-801, (2005)
- Properties And Particles Dispersion Of Biodegradable Resin/Clay Nanocomposites, Kenji Okada, Takashi Mitsunaga and Youichi Nagase *Korea-Australia Rheology Journal*; Vol. 15 No 1, March 2003
- Polypropylene/Sio2 Nanocomposites Uit Improved Mechanical Properties, M. García, G. van Vliet, S. Jain, B. A. G. Schrauwen, A. Sarkissov, W. E. Van Zyl and B. Boukamp; *Rev. Adv. Mater. Sci.* ; 6, 169-175 (2004)
- Comparison Of Mechanical Properties And Effects In Micro-And Nanocomposites Uit Carbon Fillers (Carbon Microfibers, Graphite Microwhiskers, And Carbon Nanotubes), I.A. Guz and Ya. Ya. Rushchitskii, *Mechanics of Composite Materials*, Vol. 40, No 3, (2004)