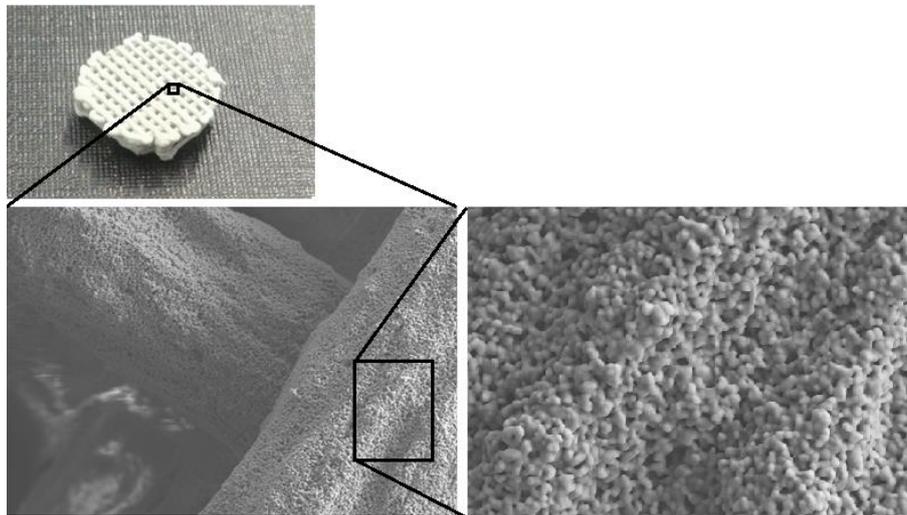


## **BIOIMPRESIÓN 3D:**

MANUFACTURA ADITIVA DE MATERIALES COMPUESTOS DE MATRIZ POLIMÉRICA CON ALTA CONCENTRACIÓN DE CARGA INORGÁNICA PARA EL PROCESAMIENTO DE IMPLANTES DE HIDROXIAPATITA MESOPOROSOS Y 100% INORGÁNICOS.



**Resumen del TFG del Grado en Ingeniería de Materiales presentado por:**

**Fco. Javier González López**

**Directores**

**Dra. Begoña Ferrari Fernández**

**Dr. Antonio Julio López Galisteo**

**Ana Ferrández Montero**

## 1. Introducción

El trabajo realizado durante este proyecto ha tenido como objetivo el estudio y desarrollo de técnicas y prototipos de manufactura aditiva para el procesamiento de materiales compuestos de matriz polimérica cargados con partículas inorgánicas de diferente composición y concentración, obteniendo mediante técnicas coloidales de procesamiento altos porcentajes de carga. Adicionalmente, gracias a estos altos porcentajes de carga, se logró procesar piezas 100% inorgánicas empleando tratamientos de sinterización adaptados para la total eliminación de la matriz orgánica.

Como material de partida para el desarrollo de estas técnicas se seleccionó un biomaterial compuesto, en concreto ácido poliláctico (PLA) cargado con partículas micrométricas de hidroxiapatita (HAp) para su uso como andamio o scaffold a medida en procesos de regeneración ósea. El PLA se trata de un polímero biorreabsorbible [1] y se emplea en este caso como estructurador, mientras que la HAp se trata de un biomaterial osteoinductor ampliamente estudiado en ingeniería de tejidos [2][3], compone el 70% del mineral del hueso y, a pesar de su potencial regenerativo, su procesamiento a medida combinando porosidades prediseñadas resultaba muy complejo empleando técnicas tradicionales. El motivo principal para seleccionar esta aplicación como inicial se trata de la problemática que sufren los pacientes pediátricos de osteosarcoma, puesto que, cuando se hace necesario extirpar los huesos afectados, un implante de titanio no es una solución viable debido al elevado ratio de crecimiento que presentan estos pacientes.[4] En general, los implantes permanentes no son una solución para pacientes pediátricos y en muchos casos esto deriva en amputaciones [5], evitables si se desarrollara un método para el procesamiento a medida de implantes capaces de regenerar mayores volúmenes de tejido óseo. El compuesto cuyo procesamiento se ha estudiado, pretende por tanto ser una alternativa que permita el empleo de una única cirugía regenerativa en este tipo de patologías y otras similares con pacientes en edad de crecimiento.

## 2. Resumen y objetivos

El proceso desarrollado se divide en tres etapas, y ha dado lugar a la tramitación de una patente[6]: Durante la primera etapa se producen por vía coloidal pellets de material compuesto, la segunda etapa consiste en la extrusión de estos pellets para la obtención de filamentos que posteriormente sean procesables mediante impresión 3D para la obtención de las piezas finales.

Sobre la base de lo anterior, los objetivos parciales y retos planteados en este trabajo de investigación se pueden resumir de la siguiente manera:

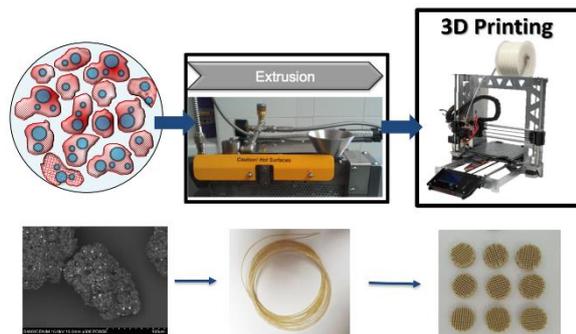


Figura 2.1 Esquema de procesamiento

**Diseño, fabricación y optimización de una extrusora a medida para la producción de filamentos de matriz polimérica con elevada carga inorgánica.** El reto consiste en lograr que durante el proceso de extrusión no se produzca degradación polimérica debido al incremento de temperatura y presión combinado con la presencia de partículas en la red polimérica que limitan el movimiento de cadenas, sobre todo a grados de empaquetamiento elevados.

**Fabricación de materia prima pre-procesada o *feedstock* en forma de pellets de material compuesto con matriz polimérica y elevada carga inorgánica,** optimizando la homogenización de la carga mediante métodos de procesamiento coloidal, empleando partículas modificadas superficialmente mediante la adsorción de estabilizantes que promueven la estabilidad de las partículas en suspensión y propician la distribución homogénea de las mismas en el material final, lo que permite incrementar significativamente el contenido en sólidos.

**Procesado del *feedstock* en forma de pellets para la obtención de filamentos de diámetro y composición homogénea** para su posterior procesamiento mediante impresión 3D, siendo el reto lograr la extrusión de filamentos de alta carga inorgánica, superando los volúmenes máximos de carga logrados mediante el uso de extrusoras industriales.

**Diseño, fabricación y optimización de un sistema de extrusión para impresión 3D de filamentos con elevada carga inorgánica,** siendo el reto alcanzar un sistema estable para la extrusión de filamentos con elevada carga inorgánica que, debido a su propia naturaleza, limitan el procesamiento al no presentar un comportamiento reológico adecuado.

**Procesado mediante técnicas de manufactura aditiva de *scaffolds* con distintos volúmenes de carga y composición** para su posterior ensayo mediante cultivos celulares, analizando su bioactividad y potencial de aplicación en comparación con *scaffolds* tradicionales gracias a colaboraciones realizadas con otros institutos de investigación.

**Obtención de piezas 100% inorgánicas** mediante tratamientos térmicos diseñados para eliminar la matriz polimérica, mediante degradación controlada, así como para sinterizar la carga inorgánica, para lo que el contenido en sólidos debe ser cercano al empaquetamiento máximo.

### 3. Resultados



Figura 3.1 Prototipo de extrusora

Durante la extrusión de pellets, se determinó que el uso de extrusoras industriales limita el contenido en sólidos, ya que se daba lugar a la degradación del polímero debido a los motivos ya expuestos anteriormente. Adicionalmente, la alta presión generada por los sistemas tradicionales impide el uso de partículas de alta dureza, ya que degradan rápidamente el utillaje debido a la fricción.

Se diseñó esta extrusora para procesar pellets de material compuesto con elevado contenido en sólidos, incluyendo cargas de elevada dureza, reduciendo no solo la presión, cizalla y temperatura necesarias durante el procesado, sino también el tiempo durante el que se somete el material a dichas condiciones, esto permitió, empleando el mismo tipo de feedstock, incrementar el contenido en sólidos significativamente, alcanzando para algunas composiciones filamentos con concentraciones de carga del 72% en volumen.

Para incrementar al máximo la concentración de HAP fue necesario emplear pellets pre-homogenizados mediante procesamiento coloidal. El uso del procesamiento coloidal permite incrementar al máximo la concentración en

sólidos, manteniendo una reología óptima para su procesado mediante extrusión, mientras que otros métodos de homogenización presentan límites de contenido en sólidos muy inferiores.

Para homogenizar coloidalmente las partículas de HAP se realizaron medidas de potencial zeta en función del pH, determinando que los valores óptimos se dan para valores de pH superiores a 8, con valores en torno a -30 mV, como se puede observar en la figura 3.2. Sin embargo, prácticamente en todo el rango de pH se produce la lixiviación de HAP [2] [3], por lo que se hace necesario el uso de dispersantes adsorbidos en superficie para garantizar la estabilidad química de las partículas en suspensión. Se seleccionó como dispersante polietilenimina (PEI) y, para optimizar el empaquetamiento, se realizó una curva de adsorción, fig. 3.3, en la que se representa el potencial zeta en función del porcentaje de PEI en peso. Podemos observar como el potencial se estabiliza para valores superiores a 1% en PEI, debido a la saturación superficial de las partículas, que no pueden adsorber mayor concentración. Se determinó como concentración óptima este 1%, ya que además, el potencial zeta se sitúa muy próximo al punto isoeléctrico para esta concentración de dispersante, por lo que la conformación adquirida por las cadenas poliméricas da lugar a una conformación tipo “train”, que implica un aumento del radio hidrodinámico mínimo y, por lo tanto, a grados de empaquetamiento mayores.

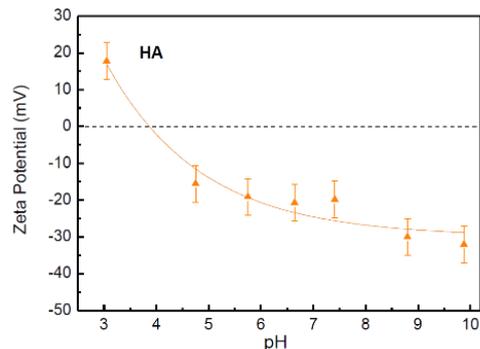


Figura 3.2 Potencial zeta vs pH

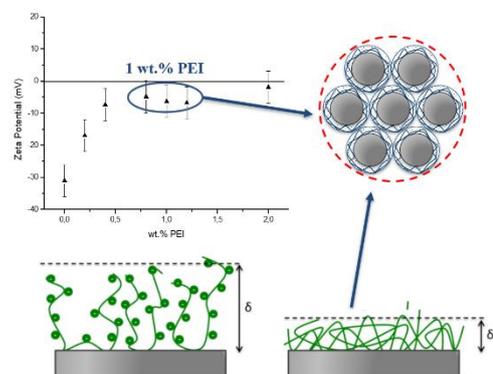


Figura 3.3 Potencial zeta vs %PEI en peso y comparativa entre conformación tipo “tail” (izq.) y conformación tipo “train” (dcha.)

Una vez determinado el contenido óptimo de PEI, se procedió a analizar reológicamente suspensiones de HAp con contenidos en sólidos entre el 25 y el 45% para emplear el modelo de Krieger Dougherty y determinar el volumen de contenido en sólidos óptimo para el procesado del material de partida, garantizando un empaquetamiento máximo. Los resultados obtenidos, fig. 3.4, determinan que una concentración en sólidos del 30% en volumen para las suspensiones de partida garantiza los mayores grados de empaquetamientos para las piezas finales.

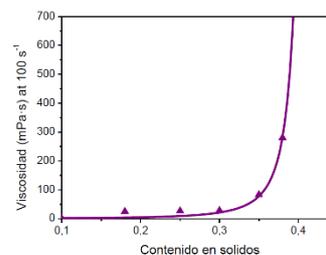


Figura 3.4 Viscosidad en función del contenido en sólidos.

Una vez determinadas las condiciones óptimas de procesado, se procedió a producir los pellets de material compuesto. Para ello, se prepara una suspensión de HAp 30% vol. aditivada con un 1% de PEI a pH 8 y se somete a molienda durante 2 horas en un molino de bolas, para así garantizar la ausencia de aglomerados y la correcta adsorción del dispersante. Paralelamente, se prepara una suspensión de 80 g/L de PLA en THF bajo agitación magnética a 50 °C. Posteriormente, se adiciona la suspensión sobre la disolución bajo fuerte agitación mecánica combinada con el uso de ultrasonidos de alta intensidad durante 30 segundos. Una vez homogenizada la mezcla, se procede a su secado mediante el uso de un rotavapor, evaporando el disolvente a baja presión y sometido a agitación constante para provocar la pelletización del material, fig. 3.5.

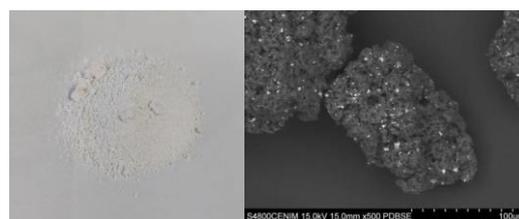


Figura 3.5 Gránulos de PLA tras el proceso de evaporación del disolvente, se aprecian las partículas de HAp dispersas en la matriz.

Finalmente, se procedió a determinar la temperatura óptima para la extrusión de estos pellets mediante análisis DSC y TG de pellets con distintas concentraciones de HAp, determinándose que la ventana de procesabilidad del material se sitúa entre los 150°C, temperatura de fusión de la matriz, y los 220°C, temperatura a partir de la cual comienza la degradación polimérica.

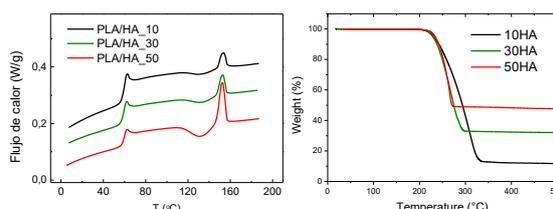


Figura 3.6 Análisis DSC (izq.) y TG (dcha.) para granulos con distintas concentraciones de HAp.

Una vez determinados los parámetros óptimos, se procedió a la extrusión de filamentos con distinta concentración en sólidos, lográndose aumentar la concentración hasta un 50% en peso, produciéndose la degradación polimérica para concentraciones superiores. Con el objetivo de aumentar la concentración en sólidos, se adicionó polietilenglicol (PEG) como plastificante en una concentración del 5% en peso con respecto a la matriz, logrando de esta forma aumentar el contenido en sólidos hasta un 65%, como se puede apreciar en la tabla 3.1. Los filamentos obtenidos se procesaron mediante impresión 3D, para lo cual fue necesario modificar una impresora tipo FDM y adaptarla para la impresión de materiales compuestos, de forma similar a la extrusora de filamento. Mediante este prototipo se pudieron obtener scaffolds con distintas concentraciones en sólidos, como se puede apreciar en la fig. 3.7. Ambos tipos de scaffold potencian la neovascularización del tejido, gracias a los canales diseñados mediante modelado 3D. Los scaffolds con baja concentración en sólidos presentan una baja rugosidad de pared, por lo que no se consideran óptimos para potenciar la anidación de osteocitos. Sin embargo, los scaffolds con alta concentración en sólidos presentan una elevada rugosidad de pared, por lo que se consideran los candidatos óptimos para regenerar mayores volúmenes de tejido, como se pudo comprobar más adelante.

Composición	Temperatura de extrusión	Temperatura de impresión
100PLA	190°C	200°C
70PLA30HA	165°C	145-155°C
50PLA50HA	185°C	155-165°C
35PLA65HA	No procesable	No procesable
35PLA65HA + 5%PEG	185°C	160-165°C

Tabla 3.1 Temperaturas de extrusión e impresión para diferentes composiciones de partida.

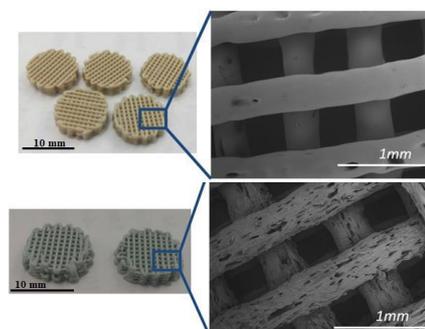


Figura 3.7 Scaffolds con 30% HAp (Imagen superior) y 65% HAp (Imagen inferior) junto a sus respectivas micrografías.

Finalmente, se procedió a la sinterización de los scaffolds con mayor contenido en sólidos mediante un tratamiento térmico a 300°C (60 min.), para eliminar la matriz polimérica, seguido de una sinterización parcial a 1250°C (90 min.) [4], con el objetivo de mantener la porosidad abierta. Si observamos la fig. 3.8 podemos apreciar como los scaffolds obtenidos, además de conservar los canales que facilitan la neovascularización, presentan una rugosidad de pared óptima y una porosidad interna abierta que se espera que facilite la anidación de osteocitos en el interior del implante, aumentando la velocidad y el volumen máximo de regeneración ósea.

#### 4. Conclusiones

-Las modificaciones aplicadas sobre los prototipos aumentan de forma indirecta el contenido máximo en sólidos procesable.

-Para altas concentraciones de contenido en sólidos, los materiales pueden no resultar procesables a pesar de encontrarse a una temperatura adecuada según la ventana de procesamiento definida por caracterización térmica. El desplazamiento de cadenas está limitado por la presencia de partículas dispersas en la red polimérica, lo que, en combinación con la elevada presión que se produce durante el proceso de extrusión, provoca la degradación prematura de la matriz.

-La adición de polielectrolitos como el PEI garantiza la estabilidad de las partículas en suspensión, tanto desde el punto de vista químico como de dispersión.

-La homogenización de las partículas embebidas en la matriz polimérica es mejor gracias al uso de métodos de procesamiento coloidal y modificación superficial mediante adsorción de polielectrolitos como dispersante, lo que a su vez aumenta la procesabilidad del material y nos permite procesar materiales con una concentración de partículas mayor, pasando de un 15% a un 50% en peso.

-La adición de PEG como aditivo plastificante reduce la temperatura de procesamiento y aumenta la fluidez de la mezcla, aumentando, por lo tanto, la procesabilidad e incrementando el contenido máximo en sólidos hasta un 65% en peso, frente al 50% sin aditivo.

-La sinterización de materiales 100% inorgánicos es posible para las muestras con alto contenido en sólidos, 65%, logrando la completa eliminación de la matriz orgánica manteniendo la morfología de la pieza.

-Las técnicas y prototipos desarrollados se han podido contrastar adicionalmente con otros tipos de partículas, como son: titania, Mg, acero inoxidable, alumina u óxido de zinc, obteniendo igualmente resultados prometedores que validan el proceso y alcanzando concentraciones de hasta el 72% de carga en algunos casos.

-En colaboración con la Universidad de Teheran, se han procesado scaffolds con nanotubos de halosita cargados de ranelato de estroncio (liberación controlada de fármacos), con el objetivo de inhibir la acción de las células destructoras de tejido óseo.

-En colaboración con la Universidad de Erlangen-Nuremberg, se han realizado cultivos celulares sobre los scaffolds producidos durante este proyecto, obteniendo resultados prometedores aún pendientes de publicación.

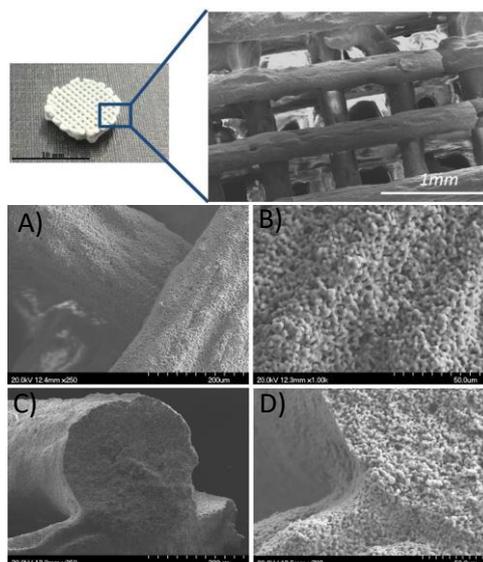


Figura 3.8 Scaffold 65% HAp. En las figuras A y B se aprecia la rugosidad de pared, mientras que en C y D se aprecia la porosidad interna en el corte transversal de la muestra.

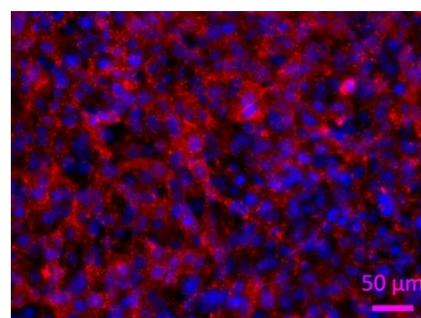


Figura 3.9 Cultivo celular realizado sobre uno de los scaffold 65% HAp, se puede apreciar una elevada actividad celular.

## Referencias

- [1] Natacha Rodrigues, Matthew Benning, Ana M. Ferreira, Luke Dixon, Kenny Dalgarno; “Manufacture and Characterisation of Porous PLA Scaffolds” *Procedia CIRP* (2016) Vol. 49 33-38
- [2] Jie-Lin Wang, Qian Chen, Bei-Bei Du, Lu Cao, Hong Lin, Zhong-Yong Fan, Jian Dong; “Enhanced bone regeneration composite scaffolds of PLLA/ $\beta$ -TCP matrix grafted with gelatin and HAp” *Materials Science and Engineering: C*, Volume 87, (2018) 60-69
- [3] O. Carvalho, F. Sousa, S. Madeira, F.S. Silva, G. Miranda; “HAp-functionalized zirconia surfaces via hybrid laser process for dental applications” *Optics & Laser Technology*, Volume 106 (2018) 157-167
- [4] Steven T. Rosen, Norman Jaffe, Oyvind S. Bruland, Stefan Bielack; “Pediatric and Adolescent Osteosarcoma” *Cancer Treatment and Research (CTAR)* Vol. 152
- [5] M. Hudson, M. R. Jaffe, N. Jaffe, A. Ayala, A. K. Raymond, H. Carrasco, S. Wallace, J. Murray, R. Robertson; “Pediatric osteosarcoma: therapeutic strategies, results, and prognostic factors derived from a 10-year experience.” University of Texas MD Anderson Cancer Center, Department of Pediatrics, Houston 77030.
- [6] A. Ferrandez-Montero, B. Ferrari, A.J. Sánchez-Herencia, Z. Gonzalez, F.J. González-López, J. Yus, J.L. Gonzalez-Carrasco, M. Lieblich; “Procedimiento de obtención de una pieza por modelado por deposición de hilo fundido” , Patente número P201830503, 24/05/2018
- [7] K. Tadashi, *Bioceramics and their clinical applications*. Japon: CRC Press, 2008.
- [8] P. N. De Aza, A. H. De Aza, and S. De Aza, “Crystalline Bioceramic Materials,” *Bol. La Soc. Española Ceram. Y Vidr.*, 2005.
- [9] P. Parente, B. Savoini, B. Ferrari, M.A. Monge, R. Pareja, A.J. Sanchez-Herencia; “Effect of highly dispersed yttria addition on thermal stability of hydroxyapatite”; *Materials Science and Engineering C* 33 (2013) 864–869