

1. Identificación del proyecto:

1.1.Código del proyecto: 7870
1.2.Nombre del proyecto: DESARROLLO DE UNA MATRIZ POLIMÉRICA OBTENIDA POR LA TÉCNICA DE ELECTROSPINNING PARA REGENERACIÓN ÓSEA
1.3.Nombre del investigador principal: José Herminsul Mina Hernández, Ph.D.
1.4.Nombre de los coinvestigadores: Héctor Fabio Zuluaga Corrales Ph.D, Carlos Humberto Valencia Llanos Ph.D (s)
1.5.Fecha de presentación del informe: 29 de agosto de 2016
Fecha de inicio: 13 de septiembre 2011
Fecha de terminación: 13 de junio 2014

1. Resumen:

Los accidentes de tránsito en Colombia presentan una gran prevalencia y las estadísticas del instituto colombiano de Medicina Legal muestran una tendencia a conservarse así. Una de las zonas anatómicas más afectadas en un accidente de tránsito es el complejo cráneo facial. Los huesos del cráneo y de la cara a menudo presentan problemas para regenerarse, siendo necesario recurrir a técnicas reconstructivas y en el caso del cráneo, a elementos como las mallas y láminas de titanio que aunque logran sellar la cavidad, son incapaces de estimular la regeneración ósea y elevan notablemente los costos del tratamiento. Los defectos óseos de gran tamaño se comportan como “críticos”, y son incapaces de cicatrizar espontáneamente, siendo necesario la utilización de injertos o sustitutos óseos para estimular la iniciación y desarrollo del proceso regenerativo.

También son considerados defectos de tamaño crítico las cavidades que permanecen como consecuencia de la extirpación quirúrgica de lesiones intraóseas como tumores, quistes, osteomielitis, etc., y las pérdidas fisiológicas de los rebordes alveolares en la cavidad oral. Los materiales de elección para injerto, son en primer lugar el hueso del propio paciente (autoinjerto), y como segunda opción los aloinjertos, provenientes de un banco de hueso, o los xenoinjertos, que tienen su origen en otras especies. El desarrollo científico, con la aparición de la Ingeniería de Tejidos, ha permitido una tercera opción que son los aloplásticos, materiales sintéticos capaces de servir como soporte al desarrollo tisular. De la gran variedad de materiales utilizados, los polímeros por sus propiedades físicas, químicas y biológicas, son los mejores candidatos para la elaboración de matrices, con las cuales se busca estimular el proceso regenerativo y reparar el tejido dañado mediante la incorporación de células del mismo organismo.

En particular en Colombia los pocos grupos de Ingeniería de tejidos disponibles no han logrado plasmar sus esfuerzos en una producción de dispositivos que puedan entrar a competir con la oferta internacional. En la Universidad del Valle se ha hecho un esfuerzo por integrar grupos de investigación en la obtención de diferentes biomateriales con uso potencial en regeneración ósea, aplicados principalmente a las áreas de odontología, ortopedia y traumatología.

Con el desarrollo de la presente propuesta se prepararon andamios (scaffolds) electrohilados utilizando ácido poliláctico solo y en mezclas con policaprolactona, para su posible uso como soporte en la regeneración de tejido óseo. Dentro de la etapa experimental asociada al proyecto, primero se efectuó la síntesis del ácido poliláctico siguiendo un proceso de polimerización por apertura de anillos a partir de un lacturo obtenido en el Laboratorio de Polímeros del Departamento de Química. Así mismo, se trabajó con una referencia comercial de ácido poliláctico para efectos de comparación y ajuste del proceso de electrohilado para la obtención de las membranas en las cuales también se incorporó policaprolactona, igualmente de referencia comercial. El proceso se llevó a cabo a partir del electrohilado de disoluciones poliméricas de PLA en cloroformo y PCL en acetona, efectuadas con ayuda de una bomba de infusión modelo NE-300 JUST INFUSION y un generador de alta tensión de 0 a 30 kV, para lo cual se empleó un diseño de experimentos de superficie de respuesta con el fin de optimizar los parámetros de proceso basados en la concentración, la distancia, el flujo y el voltaje. La capacidad de electrohilarse de las disoluciones, así como el diámetro y la morfología de las fibras se constituyeron en las variables de respuesta de esta etapa de la experimentación.

Los mejores andamios de Ácido Poliláctico fueron sometidos a pruebas in vitro en las cuales se evaluó la citotoxicidad del material empleando el kit LDH Roche®, después de incubar con CO₂ por 48 horas a 37°C las placas con las células, las muestras a analizar y los controles; por otra parte, se estableció la capacidad de albergar y posibilitar el crecimiento de células empleando cultivos de osteoblastos provenientes de huesos craneales de rata Wistar de 5 días. En el estudio realizado participaron tres investigadores vinculados a los grupos: Materiales Compuestos (GMC) de la Escuela de Ingeniería de Materiales, Síntesis y Mecanismos de Reacción en Química Orgánica (SIMERQO) del Departamento de Química y Biomateriales en Odontología de la Escuela de Odontología, todos de la Universidad del Valle.

Los resultados indicaron que fue posible fabricar las membranas electrohiladas después de optimizar las condiciones relacionadas con la concentración, el flujo, el voltaje y la distancia de la aguja al colector. Estas membranas no presentaron evidencias de citotoxicidad y permitieron el crecimiento de células en su interior, por lo cual algunas de

las membranas desarrolladas son susceptibles de ser empleadas para promover la regeneración de tejido óseo. Adicionalmente, con la ejecución del proyecto se realizaron dos trabajos de grado de pregrado en Ingeniería de Materiales, una Tesis de Maestría en Ciencias Químicas, se formaron dos estudiantes en el semillero de investigación, se formó un Joven Investigador, se presentaron dos trabajos en congresos internacionales, se elaboraron dos propuestas de investigación y se publicaron dos artículos de investigación en revistas indexadas.

2. Informe de resultados:

Con la ejecución del proyecto “Desarrollo de una matriz polimérica obtenida por la técnica de electrospinning para regeneración ósea” fue posible desarrollar membranas electrohiladas de PLA y PCL que fueron susceptibles de ser empleadas como andamios para dar soporte al proceso de regeneración de tejido óseo. Este comportamiento fue verificado a partir de la realización de pruebas *in vitro* basadas en la evaluación de la citotoxicidad y la viabilidad del crecimiento celular en los andamios estudiados.

Los resultados de la investigación se obtuvieron a partir del desarrollo de dos tesis de pregrado en Ingeniería de Materiales y una tesis de Maestría en Ciencias Químicas, además del trabajo de un Joven Investigador. A continuación, se describen los productos obtenidos para el momento de finalización de la ejecución del proyecto. Sin embargo, vale la pena resaltar que para la fecha de entrega de este informe final, se están escribiendo artículos de investigación enfocados principalmente en los resultados de los estudios *in vitro* adelantados en el proyecto.

2.1. Tesis realizadas (ver Anexo 5.1.)

2.1.1. Tesis 1

Tipo de producto:	Trabajo de Grado (Ingeniería de Materiales)
Nombre General:	Andamios de PCL-PLA obtenidos por la técnica de <i>electrospinning</i> para aplicaciones en regeneración ósea
Nombre Particular:	Andamios de PCL-PLA obtenidos por la técnica de <i>electrospinning</i> para aplicaciones en regeneración ósea
Ciudad y fechas:	Santiago de Cali, 21 de Febrero de 2013, sustentación publica efectuada en el salón de posgrado del edificio 349 primer piso-Escuela de Ingeniería de Materiales.
Participantes:	Lina Marcela Lozano Valencia (estudiante) Jose Herminsul Mina Hernández (director).
Sitio de información:	Biblioteca Central, Archivo Escuela de Ingeniería de Materiales.

Formas organizativas:	Grupo de Materiales Compuestos-Escuela de Ingeniería de Materiales
-----------------------	--

2.1.2. Tesis 2

Tipo de producto:	Trabajo de Grado (Ingeniería de Materiales)
Nombre General:	Desarrollo de apósitos de quitosano para su posible aplicación en la regeneración de tejido epitelial
Nombre Particular:	Desarrollo de apósitos de quitosano para su posible aplicación en la regeneración de tejido epitelial
Ciudad y fechas:	Santiago de Cali, 30 de Enero de 2014, sustentación publica efectuada en el salón de posgrado del edificio 349 primer piso-Escuela de Ingeniería de Materiales.
Participantes:	Luisa Fernanda Suarez Hernández (estudiante) Javier Tulande Prado (estudiante) Jose Herminsul Mina Hernández (director).
Sitio de información:	Biblioteca Central, Archivo Escuela de Ingeniería de Materiales.
Formas organizativas:	Grupo de Materiales Compuestos-Escuela de Ingeniería de Materiales

2.1.3. Tesis 3

Tipo de producto:	Trabajo de Investigación (Maestría en Ciencias Químicas)
Nombre General:	Síntesis de ácido poli (L-láctico) de alto peso molecular, aplicación en electrohilado y fabricación de matrices usadas en crecimiento celular de fibroblastos
Nombre Particular:	Síntesis de ácido poli (L-láctico) de alto peso molecular, aplicación en electrohilado y fabricación de matrices usadas en crecimiento celular de fibroblastos
Ciudad y fechas:	Santiago de Cali, 19 de Septiembre de 2013, sustentación publica efectuada en el salón de posgrado del edificio 320 Facultad de Ciencias
Participantes:	José Peñaranda Armbrrecht (estudiante) Héctor Fabio Zuluaga Corrales (director)

Sitio de información:	Biblioteca Central, Archivo Departamento de Química
Formas organizativas:	Grupo de Síntesis y Mecanismos de Reacción en Química Orgánica (SIMERQO)

2.2. Ponencias en Congresos y Seminarios (ver Anexo 5.2)

2.2.1. Ponencia 1

Tipo de producto:	Ponencia en Congreso Internacional (con memorias)
Nombre General:	XI Simposio Latinoamericano de Polímeros. XI Congreso Iberoamericano de Polímeros. V Conferencia Andina "PVC y Sustentabilidad" (SLAP 2012).
Nombre Particular:	Ácido Poli L-Láctico (PLLA) modificado: una perspectiva a nuevas aplicaciones en medicina
Ciudad y fechas:	Bogotá D.C., Colombia – Septiembre 23 al 26 de 2012.
Participantes:	Jhony Betancourt Juan Pablo Correa Héctor Fabio Zuluaga Carlos Valencia.
Sitio de información:	Memorias XI Simposio Latinoamericano de Polímeros. XI Congreso Iberoamericano de Polímeros. V Conferencia Andina "PVC y Sustentabilidad" (SLAP 2012)
Formas organizativas:	Grupo de Síntesis y Mecanismos de Reacción en Química Orgánica (SIMERQO) Grupo de Biomateriales Dentales.

2.2.2. Ponencia 2

Tipo de producto:	Ponencia en Congreso Internacional (con memorias)	
Nombre General:	VII Congreso Internacional de Materiales (CIM-2013).	
Nombre Particular:	Desarrollo de apósitos de quitosano para su posible aplicación en la regeneración de tejido epitelial. Primera Parte: Caracterización mecánica.	
Ciudad y fechas:	Medellín - Colombia. 29 de Octubre - 01 de Noviembre 2013.	

Participantes:	Luisa Suarez Javier Tulande José Mlna José Peñaranda	
Sitio de información:	Memorias XI Simposio Latinoamericano de Polímeros. XI Congreso Iberoamericano de Polímeros. V Conferencia Andina "PVC y Sustentabilidad" (SLAP 2012)	
Formas organizativas:	Grupo de Síntesis y Mecanismos de Reacción en Química Orgánica (SIMERQO) Grupo de Biomateriales Dentales.	

2.3. Artículos de Investigación (ver Anexos 5.3)

2.3.1. Artículo 1

Tipo de producto:	Artículo
Nombre General:	Revista Rev. Acad. Colomb. Cienc. 37 (142): 125-142, 2013. ISSN 0370-3908
Nombre Particular:	Artículo Algunas aplicaciones del ácido poli-L-láctico
Ciudad y fechas:	Bogotá D.C., 2013.
Participantes:	Héctor Fabio Zuluaga
Sitio de información:	Rev. Acad. Colomb. Cienc.
Formas organizativas:	Grupo de Síntesis y Mecanismos de Reacción en Química Orgánica (SIMERQO).

2.3.2 Artículo 2

Tipo de producto:	Artículo
Nombre General:	Revista International Journal of Polymer Science. Volume 2014 (2014), Article ID 365310, 7 pages
Nombre Particular:	Artículo Lactic Acid Yield Using Different Bacterial Strains, Its Purification, and Polymerization through Ring-Opening Reactions

Ciudad y fechas:	
Participantes:	Fatima Gimena Orozco Alex Valádez González Jorge Dominguez Héctor Fabio Zuluaga Luis Figueroa Liliana Alzate
Sitio de información:	http://www.hindawi.com/journals/ijps/2014/365310/abs/
Formas organizativas:	Grupo de Síntesis y Mecanismos de Reacción en Química Orgánica (SIMERQO).

2.4. Semilleros de Investigación (ver Anexo 5.4)

Tipo de producto:	Estudiantes vinculados al programa de Semilleros de Investigación
Nombre General:	Estudiantes en Semilleros de Investigación
Nombre Particular:	Estudiantes en Semilleros de Investigación
Ciudad y fechas:	Ciudad y fecha de publicación o presentación del resultado.
Participantes:	Katherine Caicedo Mejía – Código: 200827966 (estudiante) Claudia Alejandra Meneses Jacobo – Código: 200824962 (estudiante) Jose Herminul Mina (tutor).
Sitio de información:	Grupo de Materiales Compuestos.
Formas organizativas:	Grupo de Materiales Compuestos.

2.5. Jóvenes Investigadores (ver Anexo 5.5)

Tipo de producto:	Preparación de <i>scaffolds</i> por medio de <i>electrospinning</i> para aplicación en la regeneración de tejido óseo
-------------------	---

Nombre General:	Joven Investigador
Nombre Particular:	Joven Investigador
Ciudad y fechas:	Santiago de Cali Marzo 2012.
Participantes:	Harry Alexander Maturana Peña (Joven Investigador) José Herminsul Mina (Tutor)
Sitio de información:	Vicerrectoría de Investigaciones – Univalle, COLCIENCIAS.
Formas organizativas:	Grupo de Materiales Compuestos-Escuela de Ingeniería de Materiales - Univalle

2.6. Propuestas de investigación presentadas (ver Anexo 5.6)

2.6.1. Propuesta 1

Tipo de producto:	Desarrollo de nanocompuestos de quitosano/óxido de grafeno como potenciales andamios para Ingeniería de Tejidos
Nombre General:	Propuesta de Investigación
Nombre Particular:	Propuesta de Investigación
Ciudad y fechas:	Santiago de Cali, Mayo 2014.
Participantes:	José Herminsul Mina Carlos David Grande Marisol Gordillo Liliana Salazar Carolina Pustovth Fabio Zuluaga Mario Alejandro Ortiz Carlos H. Valencia.
Sitio de información:	Vicerrectoría de Investigaciones – Univalle, COLCIENCIAS.



Formas organizativas:	Grupo de Materiales Compuestos-Escuela de Ingeniería de Materiales - Univalle Grupo de Síntesis y Mecanismos de Reacción en Química Orgánica (SIMERQO)-Departamento de Química-Univalle Grupo de Investigación en Tejidos Blandos y Mineralizados-Escuela de Ciencias Básicas-Univalle Grupo Biotecnología-Facultad de Ingeniería- Universidad De San Buenaventura Grupo de Investigación en Modelación y Simulación-Facultad de Ciencias Básicas-Universidad Autónoma de Occidente
-----------------------	---

2.6.2. Propuesta 2

Tipo de producto:	Investigación y producción de tejidos, órganos y biodispositivos para uso en medicina regenerativa
Nombre General:	Propuesta de Investigación
Nombre Particular:	Propuesta de Investigación
Ciudad y fechas:	Santiago de Cali Octubre 2014.
Participantes:	José Herminsul Mina Liliana Fernández Trujillo Oscar Gutiérrez Luz Fernanda Sua Villegas Rubén Jesús Camargo Amado Paola Neuta Jaime Muñoz Liliana Salazar Carolina Pustovth Fabio Zuluaga Mario Alejandro Ortiz Carlos H. Valencia.
Sitio de información:	Vicerrectoría de Investigaciones – Univalle, COLCIENCIAS.

Formas organizativas:	Grupo de Materiales Compuestos-Escuela de Ingeniería de Materiales - Univalle Grupo de Síntesis y Mecanismos de Reacción en Química Orgánica (SIMERQO)-Departamento de Química-Univalle Grupo de Investigación en Tejidos Blandos y Mineralizados-Escuela de Ciencias Básicas-Univalle Grupo de Investigación Biomateriales en Odontología-Escuela de Ciencias Básicas-Univalle Grupo de Investigación en Farmacología-Escuela de Ciencias Básicas-Univalle Grupo Recubrimientos Duros y Aplicaciones Industriales- Escuela de Ingeniería de Materiales – Univalle Grupo Físicoquímica de Bio y Nanomateriales - Escuela de Ingeniería Química – Univalle Grupo G-Bio – Universidad Autónoma de Occidente Grupo de Investigación Clínica- Fundación Valle del Lili
-----------------------	---

3. Equipos adquiridos en el proyecto

3.1 Cabina extractora de gases AIRCO

La cabina extractora se empleó para la preparación de disoluciones y como medio para aislar reacciones químicas en las que se generaban productos volátiles y debían ser canalizados para la seguridad del personal de laboratorio. Posterior a la realización del proyecto, este equipo ha continuado en el Laboratorio de Polímeros del grupo SIMERQO en el Departamento de Química, donde sigue sirviendo de apoyo para el manejo de reactivos volátiles en los Trabajos de Grado, prácticas de laboratorio, proyectos de investigación, etc.

3.2 Estativo C para microscopio

Este aditamento se adquirió con el fin de ayudar en el ajuste de placas para la visualización de muestras en el microscopio confocal. Después de la realización del proyecto dicho accesorio quedó ubicado en el Laboratorio de Microscopia Confocal de la Escuela de Ciencias Básicas.

3.3 Bomba peristáltica NE-300

Con el fin de poder llevar a cabo el proceso de electrohilado de las muestras de ácido poliláctico y policaprolactona, se adquirió una bomba peristáltica para el manejo del flujo de las disoluciones poliméricas necesarias para el conformado de los andamios. una vez finalizado el proyecto, este equipo ha venido siendo utilizado en el Laboratorio de Materiales Poliméricos de la Escuela de Ingeniería de Materiales para apoyar Trabajos de Grado y prácticas de laboratorio.

3.4 Horno Gravity Conc. 3CU FT Oven 115V Lab Quincy (Referencia EF16950D)

Con la realización del proyecto “Desarrollo de una matriz polimérica obtenida por la técnica de electrospinning para regeneración ósea”, se adquirió un horno con circulación de aire, marca Gravity (Conc. 3CU FT Oven 115V Lab Quincy), el cual se empleó para efectuar procesos de secado en los materiales plásticos involucrados en la experimentación (ácido poliláctico y policaprolactona), una vez finalizado el proyecto este equipo ha venido siendo utilizado en el Laboratorio de Materiales Poliméricos de la Escuela de Ingeniería de Materiales para apoyar Trabajos de Grado y prácticas de laboratorio relacionados con acondicionamientos de materiales, determinación de absorción de agua y preparación de materiales sobretodo siguiendo el proceso de moldeado por evaporación lenta de disolvente.

3.5 Nevera Whirlpool 460 LT (Referencia LWT6507A)

Con el fin de almacenar adecuadamente los reactivos utilizados en el proyecto y que por su naturaleza debían estar refrigerados, se compró una Nevera Whirlpool 460 LT. Una vez finalizado el proyecto, esta nevera se constituyó en el lugar de almacenaje de reactivos del Laboratorio de Polímeros de la Escuela de Ingeniería de Materiales.

3.6 Balanza de Precisión Adam Cap. Máxima 2000 g (Referencia PGL2002)

Con el fin de realizar la dosificación de las disoluciones destinadas al electrohilado de las microfibras de ácido poliláctico y policaprolactona, se adquirió una balanza de precisión marca Adam con una capacidad máxima de 2000 g. Este equipo al finalizar la investigación realizada, se dejó en el Laboratorio de Polímeros de la Escuela de Ingeniería de Materiales para apoyar Trabajos de Grado y prácticas de laboratorio asociados a los estudiantes de pregrado y posgrado de la Escuela

4. Impactos del proyecto

4.1. Impactos actuales

4.1.1. Impacto alcanzado

Formación de la capacidad científica nacional (formación de estudiantes de pregrado y maestría)

Indicador (es) Verificable (s)

Realización de dos Trabajos de Grado de pregrado en Ingeniería de Materiales y una Tesis de Maestría en Ciencias Químicas.

Formación de dos estudiantes en semilleros de investigación

Formación de un Joven Investigador – Programa de Jóvenes Investigadores e Innovadores 2012 - Convocatoria Colciencias 566/2012 - Modalidad Tradicional Colciencias-2012

4.1.2. Impacto alcanzado

Formación de la capacidad científica nacional (Relaciones interinstitucionales)

Indicador (es) Verificable (s)

Propuesta “Desarrollo de nanocompuestos de quitosano/óxido de grafeno como potenciales andamios para ingeniería de tejidos”, enviada a la Convocatoria 658 para Proyectos de Investigación en Ciencias Básicas-2014 de Colciencias, en conjunto con la Universidad Autónoma de Occidente y la Universidad De San Buenaventura. El proyecto presentado no fue aprobado en la convocatoria comentada. Sin embargo, se reajustó nuevamente y se presentó en Mayo de 2016 a la convocatoria interna IV-2016 consiguiendo una financiación de cien millones de pesos.

Propuesta “Investigación y producción de tejidos, órganos y biodispositivos para uso en medicina regenerativa”, enviada al Fondo de Ciencia, Tecnología e Innovación del SGR, en conjunto con la Universidad Autónoma de Occidente, Hospital Universitario del Valle, Gobernación del Valle del Cauca y Secretaria Municipal de Salud. La propuesta fue aprobada y a la fecha de presentación del presente informe, se encuentra en ejecución.

4.1.3. Impacto alcanzado

Generación de conocimiento

Indicador (es) Verificable (s)

Dos artículos publicados en revistas indexadas por COLCIENCIAS con clasificación A2

Dos ponencias en congresos internacionales

4.2 Impactos potenciales de la investigación

4.2.1. Impacto esperado

Económico

Plazo

Mediano plazo (5-9 años)

Indicador (es) Verificable (s)

Desarrollo de patente

Supuesto

Investigación adicional para optimizar la formulación y caracterización de los andamios y escalar el uso del material en humanos

4.2.2. Impacto esperado

Económico

Plazo

Largo plazo (10 o más años)

Indicador (es) Verificable (s)

Comercialización del andamio desarrollado

Supuesto

Inversión en investigación y apoyo económico para el desarrollo del producto

4.2.3. Impacto esperado

Social

Plazo

Largo plazo (10 o más años)

Indicador (es) Verificable (s)

Aumento de la calidad de vida en pacientes que requieran de la regeneración de tejido

Supuesto

Inversión en investigación para llegar a la evaluación del producto en humanos

5. Anexos

5.1. Actas de sustentación de Trabajos de grado de pregrado y constancia de Tesis de Maestría

5.2. Constancias de ponencias en congresos internacionales

5.3. Artículos de investigación

5.4. Constancia estudiantes participantes en semilleros de investigación

5.5. Constancia participación de un Joven Investigador

5.7. Constancias propuestas de investigación presentadas

ⁱ Perdomo, M. E. Lesiones en accidente de tránsito. Colombia, 2010. Forensis, 254-294. 2010.