



# GRADO EN INGENIERÍA EN TECNOLOGÍAS INDUSTRIALES

## TRABAJO FIN DE GRADO

Estudio del comportamiento mecánico de una resina  
acrílica reforzada con grafeno para la fabricación de  
scaffolds para regeneración ósea impresas por  
estereolitografía.

Autor: Laura Guinarte Redondo

Director: Eva Paz Jiménez

Madrid

Julio de 2022



Declaro, bajo mi responsabilidad, que el Proyecto presentado con el título Estudio del comportamiento mecánico de una resina acrílica reforzada con grafeno para la fabricación de scaffolds para regeneración ósea impresas por esteolitografía

en la ETS de Ingeniería - ICAI de la Universidad Pontificia Comillas en el

curso académico 2021-2022 es de mi autoría, original e inédito y

no ha sido presentado con anterioridad a otros efectos. El Proyecto no es plagio de otro, ni total ni parcialmente y la información que ha sido tomada

de otros documentos está debidamente referenciada.

Fdo.: Laura Guinarte Redondo Fecha: 14/ 7/2022

A handwritten signature in black ink, consisting of several loops and a horizontal line at the bottom.

Autorizada la entrega del proyecto

EL DIRECTOR DEL PROYECTO

Fdo.: Eva Paz Jiménez Fecha: 14/ 7/2022

A handwritten signature in blue ink, featuring a stylized 'E' and 'P' followed by a period.





# GRADO EN INGENIERÍA EN TECNOLOGÍAS INDUSTRIALES

## TRABAJO FIN DE GRADO

Estudio del comportamiento mecánico de una resina  
acrílica reforzada con grafeno para la fabricación de  
scaffolds para regeneración ósea impresas por  
estereolitografía.

Autor: Laura Guinarte Redondo

Director: Eva Paz Jiménez

Madrid

Julio de 2022

# ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO MECÁNICO DE UNA RESINA ACRÍLICA REFORZADA CON GRAFENO PARA LA FABRICACIÓN DE SCAFFOLDS PARA REGENERACIÓN ÓSEA IMPRESAS POR ESTERELITOGRAFÍA.

**Autora: Guinarte Redondo, Laura.**

Directora: Paz Jiménez, Eva.

Entidad colaboradora: ICAI- Universidad pontificia de comillas.

## RESUMEN DEL PROYECTO

### Introducción

En la actualidad, el campo de la medicina y de la ingeniería trabajan en conjunto para cubrir muchas necesidades sanitarias de la sociedad. Uno de los campos de estudio es la traumatología, y con ello los injertos óseos.

Los injertos óseos son necesarios debido a muchos tipos de enfermedades y/o patologías, y cada vez más recurrentes debido a una esperanza de vida más larga que en el pasado y un envejecimiento de la población.

Los scaffolds, o andamios en inglés, son alternativas a los injertos óseos tradicionales. Los scaffolds son piezas que están diseñadas para ser introducidas en el cuerpo humano y solucionar problemas óseos como pueden ser fracturas, roturas totales o problemas de crecimiento.

Hoy en día, ya se han fabricado scaffolds de diferentes materiales y se han probado sus propiedades tanto mecánicas como biológicas, con resultados muy satisfactorios, pero sigue siendo todavía un gran campo de investigación en el que queda mucho por estudiar.

Para que un scaffold sea exitoso y promueva el crecimiento de tejido óseo es necesario que sea biológicamente compatible con el cuerpo humano, tenga resistencia a tracción y flexión para soportar tanto las fuerzas de crecimiento del hueso como las fuerzas que puede soportar el cuerpo, y que sea poroso para facilitar la proliferación celular, el paso de nutrientes, oxígeno y desechos; todos ellos necesarios y resultantes del crecimiento óseo.

Por otra parte, además de estudiarse diferentes materiales se han estudiado diferentes técnicas de fabricación.

En este proyecto se pretenden fabricar scaffolds de una resina biológicamente compatible con el cuerpo humano, que ofrezca las propiedades mecánicas necesarias. Además, a esta resina se le ha añadido óxido de grafeno, ya que es un material que, al ser añadido a polímeros, suele mejorar sus propiedades mecánicas formando así nanocomposites, con propiedades mejores a los dos materiales de partida. Estos materiales tienen que ser compatibles con la impresión 3D, ya que las probetas ensayadas en este proyecto van a ser impresas por estereolitografía, siendo esto una técnica de fabricación aditiva, la más antigua de impresión 3D y con resultados muy satisfactorios y concretos para piezas pequeñas y piezas sanitarias.

El principal estudio es la comparación de las probetas desde un punto de vista mecánico, que una parte serán fabricadas solo de resina, otra parte de resina y metilo metacrilato (MMA), y por último, otra parte de resina, metilo metacrilato y óxido de grafeno (GO).

Se añade MMA a la resina base, ya que el óxido de grafeno no se reparte homogéneamente por la resina, por lo que es necesaria la sonicación para que el GO esté repartido por toda la matriz de la resina y las propiedades mecánicas sean efectivas e iguales en toda la pieza. El MMA facilita la sonicación del GO, al reducir la viscosidad de la resina. Se hacen probetas de resina y MMA para ver si el MMA por sí solo tiene algún efecto en las propiedades mecánicas de la resina.

## Metodología

En primer lugar, se preparan las mezclas de los tres materiales. La resina no necesita ninguna preparación especial, sin embargo, la resina con MMA se mezclan por sonicación, al igual que la resina con MMA y GO.

Se imprimen por estereolitografía las probetas con los tres tipos de materiales mencionados anteriormente. Se imprimen 26 probetas biológicas, 10 probetas de tracción y 5 probetas de flexión.

De las 10 probetas de tracción, 5 de ellas se ensayan inmediatamente y las otras 5 se envejecen durante dos semanas en una cámara térmica a 37°C en una solución salina para simular el envejecimiento que tendrían en el cuerpo humano los scaffolds.

Se realizan los ensayos de tracción y flexión con sus respectivas probetas, y una vez rotas las probetas de tracción, también se realizan sobre ellas ensayos de dureza; tanto en las envejecidas como en las no envejecidas.

Se usan una probeta biológica de cada tipo para estudiar su superficie con un microscopio y valorar las capas de la impresión 3D y la rugosidad de las mismas.

## Resultados

En los ensayos de tracción de las probetas no envejecidas (Gráfico 1) se observa que el GO aumenta un poco la resistencia a tracción, con respecto a la resina con MMA. También se observa que el MMA aumenta ligeramente la resistencia a tracción con respecto a la resina, pero en menor medida que el GO. Sin embargo, el aumento en ambos casos es muy pequeño y las curvas de tensión-deformación son muy parecidas para los tres materiales.

En las probetas envejecidas (Gráfico 2) se observa el efecto contrario. Al haber añadido MMA y GO disminuye ligeramente su resistencia a tracción. También en los tres casos la diferencia es pequeña y las curvas tensión – deformación son muy parecidas.

Una diferencia más notable es la que hay entre probetas envejecidas y no envejecidas. En los tres casos baja notablemente la resistencia a la tracción y, de hecho, la diferencia es mayor en las probetas que contienen GO.

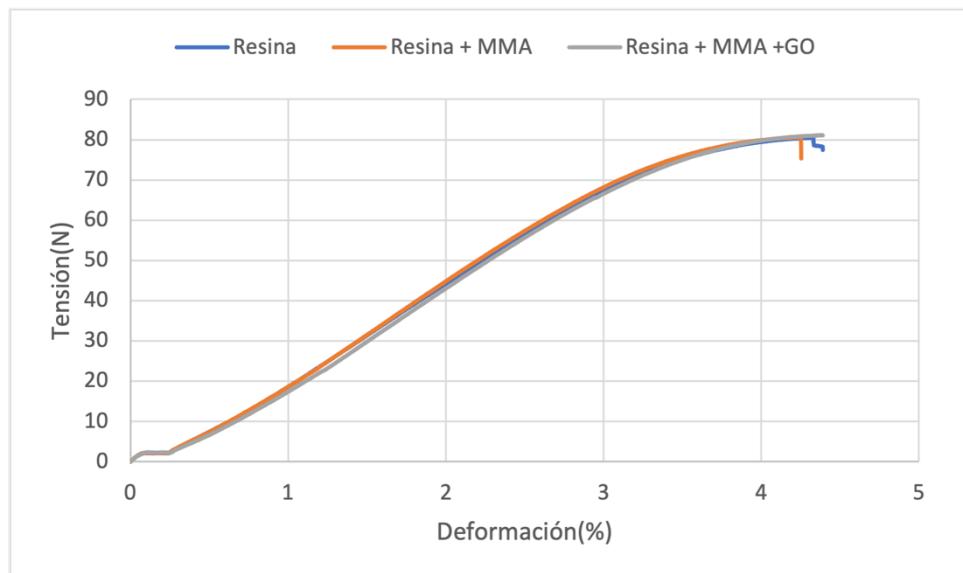


Gráfico 1: Curvas tensión-deformación de probetas no envejecidas ensayadas a tracción.



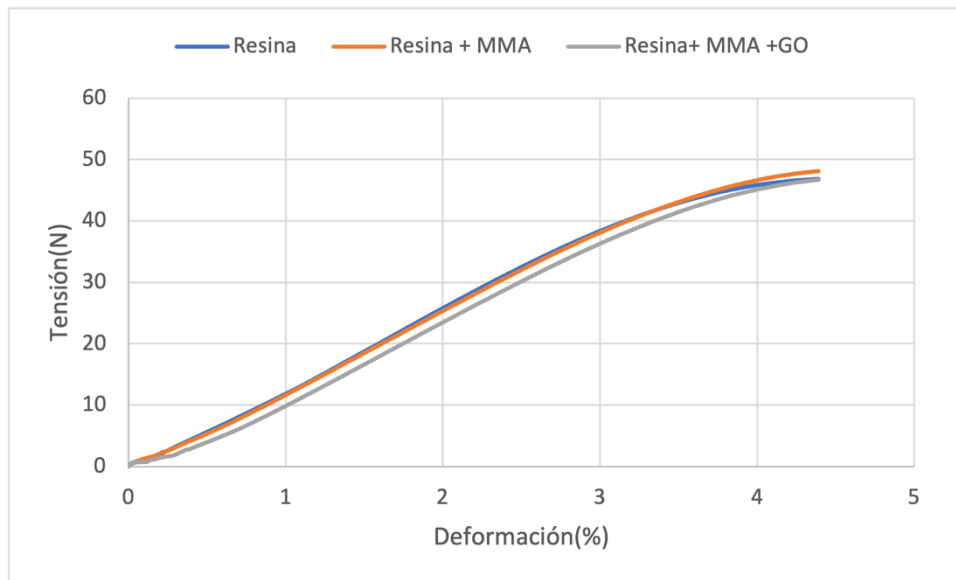


Gráfico 2: Curvas tensión-deformación de probetas envejecidas ensayadas a tracción

En los ensayos de flexión (Gráfico 3) se observa que la probeta de resina es la que tiene mayor resistencia a flexión, seguida de la probeta de resina con MMA y, por último, la probeta que contiene GO. La diferencia entre las tres es muy pequeña. Si hay un poco más de diferencia con respecto a la deformación, siendo un poco mayor en la probeta de resina que en las otras dos.

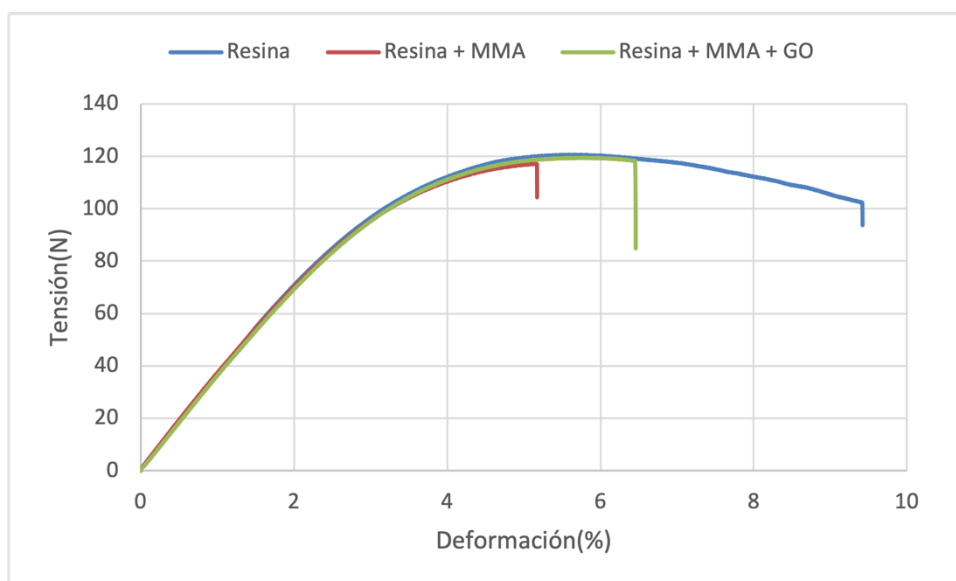


Gráfico 3: Curvas tensión-deformación de probetas ensayadas a flexión

En los ensayos de dureza, la dureza es mayor en las probetas de resina, seguidamente de las probetas de resina con MMA y por último, las probetas que tienen GO. La diferencia entre las tres es muy pequeña.

En las probetas envejecidas, sigue teniendo una dureza mayor la resina, y las otras dos probetas tienen una dureza prácticamente igual. Casi no disminuye la dureza con respecto a las no envejecidas.

## Conclusiones

Las diferencias entre los tres materiales en los ensayos mecánicos han sido muy pequeñas, puede ser por el bajo número de probetas, que no se han podido recoger los datos numéricos suficientes o porque verdaderamente el MMA y el GO no influyen realmente en la resina.

Las probetas de resina son las que han obtenido mejores resultados en los ensayos mecánicos, sabiendo que las propiedades mecánicas del GO son mejores que las de la resina, probablemente el proceso de sonicación influya en las propiedades mecánicas disminuyéndolas, o el GO en impresión 3D no es tan efectivo como en otras técnicas de fabricación, ya que puede afectar a la incidencia de la luz o al proceso de curado de la resina.

# STUDY OF THE MECHANICAL BEHAVIOR OF AN ACRYLIC RESIN REINFORCED WITH GRAPHENE FOR THE MANUFACTURE OF SCAFFOLDS FOR BONE REGENERATION PRINTED BY STERELITHOGRAPHY.

## Introduction

Currently the fields of medicine and engineering work together to cover many health needs of society. One of the fields of study is traumatology, and with it bone grafts.

Bone grafts are necessary for many types of diseases and/or pathologies and are increasingly recurrent due to a longer life expectancy than in the past and an aging population.

Scaffolds are alternatives to traditional bone grafts. Scaffolds are pieces that are designed to be inserted into the human body and solve bone problems such as fractures, total breakage or growth problems.

Today, scaffolds have already been manufactured from different materials and their mechanical and biological properties have been tested, with very satisfactory results, but it is still a large field of research in which much remains to be studied.

For a scaffold to be successful and promote bone tissue growth, it must be biologically compatible with the human body, have tensile and flexural strength to withstand both the forces of bone growth and the forces that the body can withstand, and that be porous to facilitate the passage of nutrients, oxygen and waste; all of them necessary and resulting from bone growth.

On the other hand, in addition to studying different materials, different manufacturing techniques have been studied.

This project aims to manufacture scaffolds from a resin biologically compatible with the human body, which meets the necessary mechanical properties. In addition, graphene oxide has been added to this resin, since it is a material that, when added to polymers, usually improves its mechanical properties, thus forming nanocomposites, with better properties than the two starting materials. These materials have to be compatible with 3D printing, since the test specimens tested in this project are going to be printed by stereolithography, this being an additive manufacturing technique, the oldest of 3D printing and with very satisfactory and specific results for small parts and sanitary parts.

The main study is the comparison of the specimens according to mechanical tests, that a part will be made only of resin, another part of resin and methyl methacrylate (MMA), and finally, another part of resin, methyl methacrylate and graphene oxide (GO).

Methyl methacrylate is added to the base resin, since graphene oxide is not distributed homogeneously throughout the resin, so sonication is necessary so that the GO is distributed

throughout the resin matrix and the mechanical properties are effective and efficient. the same throughout the piece. The MMA is a medium for the sonication of the GO. Resin and MMA specimens are made to see if MMA alone has any effect on the mechanical properties of the resin.

## Methodology

Mixtures of the three materials are prepared. The resin does not need any special preparation, however, the resin and MMA are mixed by sonication, just like the resin, MMA and GO.

Specimens are printed by stereolithography with the three types of materials mentioned above 26 biological specimens, 10 tensile specimens and 5 bending specimens, are printed.

Of the 10 tensile test pieces, 5 of them are tested immediately and the other 5 are aged for two weeks in a thermal chamber at 37° in a saline solution to simulate the aging that the scaffolds would have in the human body.

The tensile and bending tests are carried out with their respective specimens, and once the tensile specimens are broken, hardness tests are also carried out on them; both in the aged and in the non-aged.

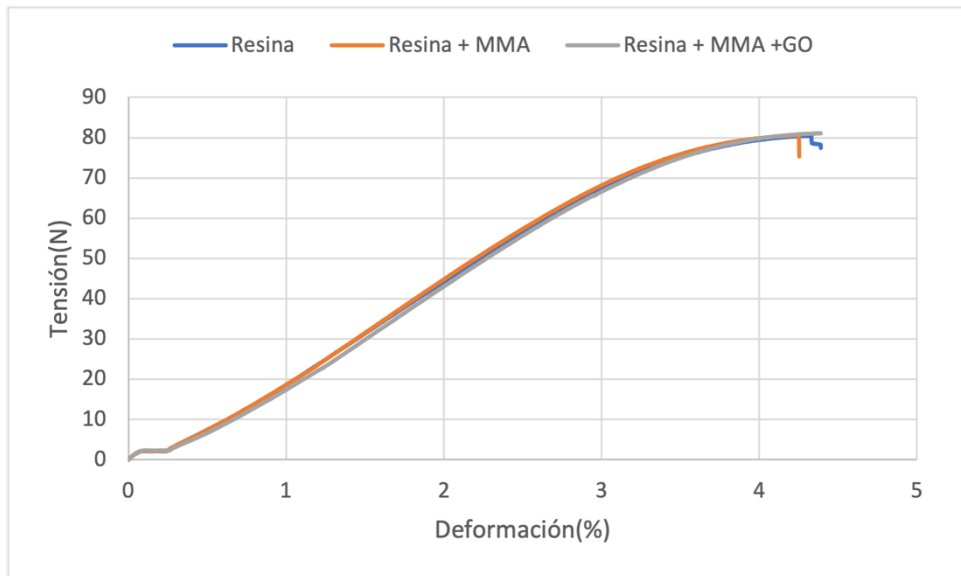
A biological probe of each type is used to study its surface under a microscope and assess the layers of the 3D print and their roughness.

## Results

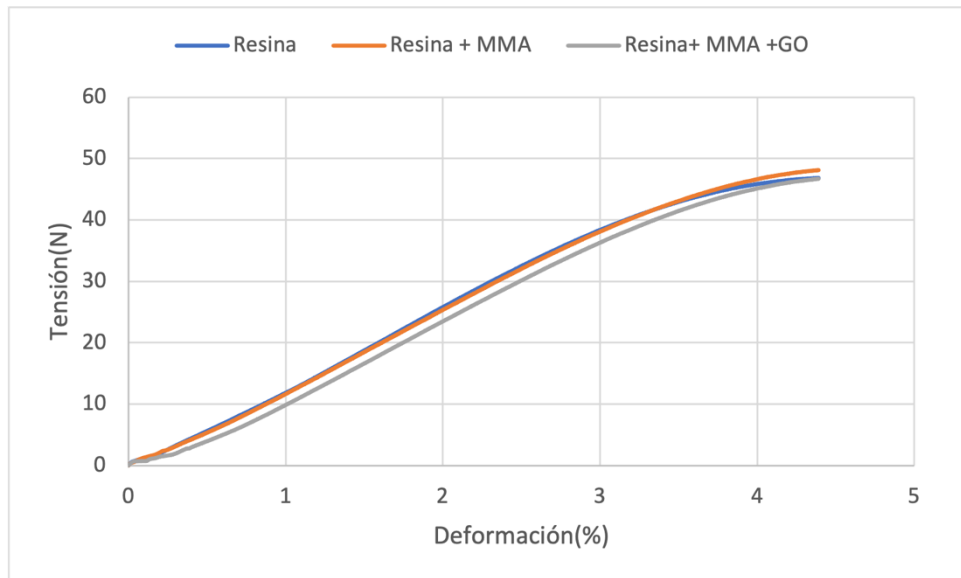
In the tensile tests of the non-aged specimens, it is observed that the GO slightly increases the tensile strength, with respect to the resin and the MMA. It is also observed that the MMA slightly increases the tensile strength with respect to the resin, but to a lesser extent than the GO. Although the increase in both cases is very small and the stress-strain curves are very similar for the three materials.

However, in aged specimens the opposite occurs. Having added MMA and GO slightly decreases its tensile strength. Also in the three cases the difference is small and the stress-strain curves are very similar.

A more notable difference is between aged and unaged specimens. In all three cases, the tensile strength drops significantly, and in fact, the difference is greater in the specimens containing GO.

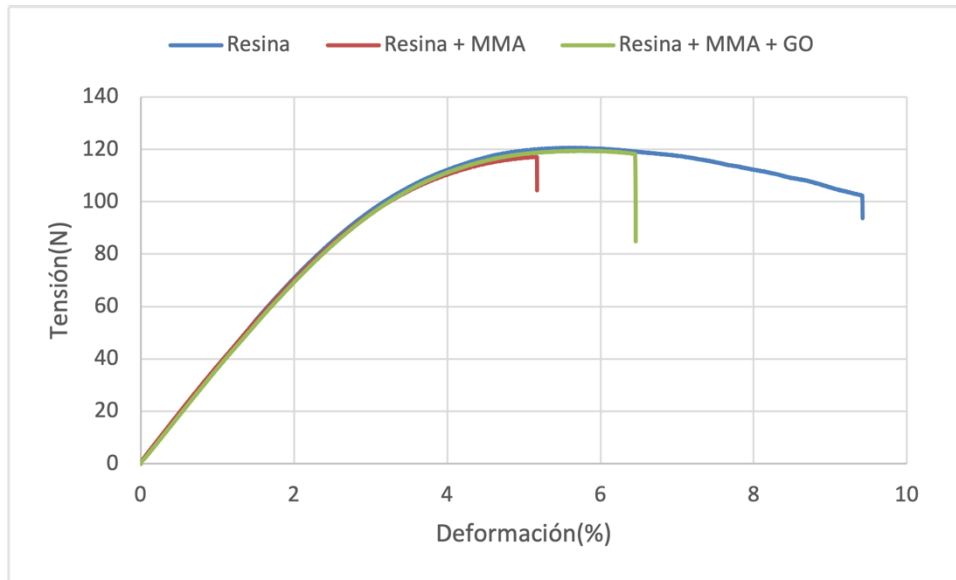


Graphic 1: Non-aged tensile test



Graphic 2: Aged tensile test

In the bending tests, it is observed that the resin specimen is the one with the highest flexural strength, followed by the resin and MMA specimen, and lastly, the graphene-containing specimen. The difference between the three is very small. If there is a little more difference with respect to the deformation, being a little higher in the resin specimen than in the other two.



Graphic 3: Bending test

In the hardness tests, the hardness is higher in the resin specimens, followed by the resin and MMA specimens and finally, the specimens that have GO. The difference between the three is very small.

In the aged specimens, the resin continues to have a greater hardness, and the other two specimens have practically the same hardness. Almost no decrease in hardness compared to non-aged ones.

## Conclusions

The differences between the three materials in the mechanical tests have been very small, it may be due to the low number of specimens that it has not been possible to collect sufficient numerical data or because the MMA and the GO do not really influence the resin.

The resin specimens are the ones that have obtained the best results in the mechanical tests, knowing that the mechanical properties of the GO are better than those of the resin, probably the sonication process influences the mechanical properties by reducing them, or the GO in 3D printing does not it is as effective as in other manufacturing techniques.



## Índice

|                                                                            |           |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. Introducción</b>                                                     | <b>19</b> |
| <b>2. Objetivos y motivación</b>                                           | <b>20</b> |
| Alineación con los objetivos de desarrollo sostenible                      | 20        |
| <b>3. Estado del arte</b>                                                  | <b>21</b> |
| <b>3.1 Scaffolds y regeneración ósea</b>                                   | <b>21</b> |
| 3.1.1 La estructura ósea humana                                            | 21        |
| 3.1.2 Injertos óseos y scaffolds                                           | 24        |
| 3.1.3 Usos de los scaffolds                                                | 29        |
| <b>3.2 Fabricación aditiva y estereolitografía</b>                         | <b>30</b> |
| 3.2.1 Impresión 3D como técnica de fabricación aditiva                     | 30        |
| 3.2.2 Estereolitografía (SLA)                                              | 32        |
| 3.2.3 Fabricación aditiva en scaffolds                                     | 34        |
| <b>3.3 Resinas acrílicas biológicamente compatibles y óxido de grafeno</b> | <b>35</b> |
| 3.3.1 Óxido de grafeno                                                     | 35        |
| 3.3.2 Resinas acrílicas y óxido de grafeno                                 | 37        |
| <b>4. Materiales y recursos empleados</b>                                  | <b>38</b> |
| <b>5. Proceso de fabricación</b>                                           | <b>43</b> |
| <b>6. Ensayos realizados</b>                                               | <b>50</b> |
| 6.1 Ensayo de tracción                                                     | 50        |
| 6.2 Ensayo de flexión                                                      | 53        |
| 6.3 Ensayo de dureza                                                       | 55        |
| 6.4 Fotografías tomadas en el microscopio                                  | 58        |
| <b>7. Comparación y conclusiones</b>                                       | <b>63</b> |
| <b>8. Referencias</b>                                                      | <b>66</b> |



## Índice de tablas

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Tabla 1: Datos medios de las probetas de tracción no envejecidas</i>   | 51 |
| <i>Tabla 2: Datos medios de las probetas de tracción envejecidas</i>      | 51 |
| <i>Tabla 3: Datos medios de las probetas de flexión</i>                   | 53 |
| <i>Tabla 4: Datos de dureza de las probetas no envejecidas</i>            | 55 |
| <i>Tabla 5: Datos de dureza de las probetas envejecidas</i>               | 56 |
| <i>Tabla 6: Distancia entre las capas de probeta de resina</i>            | 61 |
| <i>Tabla 7: Datos de superficie de probeta de resina</i>                  | 61 |
| <i>Tabla 8: Distancia entre las capas de probeta de resina + MMA</i>      | 61 |
| <i>Tabla 9: Datos superficie de probeta de resina + MMA</i>               | 61 |
| <i>Tabla 10: Distancia entre las capas de probeta de resina + MMA +GO</i> | 62 |
| <i>Tabla 11: Datos superficie de probeta de resina + MMA + GO</i>         | 62 |

## Índice de gráficos

|                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Gráfico 1: Curvas tensión-deformación de probetas no envejecidas ensayadas a tracción.</i> | 8  |
| <i>Gráfico 2: Curvas tensión-deformación de probetas envejecidas ensayadas a tracción</i>     | 9  |
| <i>Gráfico 3: Curvas tensión-deformación de probetas ensayadas a flexión</i>                  | 9  |
| <i>Gráfico 4: Curvas tensión-deformación de probetas no envejecidas ensayadas a tracción</i>  | 51 |
| <i>Gráfico 5: Curvas tensión-deformación de probetas envejecidas ensayadas a tracción.</i>    | 52 |
| <i>Gráfico 6: Curvas tracción- deformación de probetas ensayadas a flexión</i>                | 54 |
| <i>Gráfico 7: Ensayo de dureza en probetas no envejecidas</i>                                 | 55 |
| <i>Gráfico 8: Ensayo de dureza en probetas envejecidas</i>                                    | 56 |

## Índice de imágenes

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Imagen 1: Tipos de células en los huesos []</i>                                        | 22 |
| <i>Imagen 2: Actividad de remodelado óseo []</i>                                          | 23 |
| <i>Imagen 3: Injerto óseo []</i>                                                          | 25 |
| <i>Imagen 4: Características de los materiales []</i>                                     | 28 |
| <i>Imagen 5: Prototipo de la impresora SLA 1 de 3D Systems []</i>                         | 30 |
| <i>Imagen 6: Funcionamiento de una impresora 3D por SLA []</i>                            | 32 |
| <i>Imagen 7: Impresora Form2 de Formlabs</i>                                              | 38 |
| <i>Imagen 8: FormWash de Formlabs</i>                                                     | 39 |
| <i>Imagen 9: FormCure de Formlabs</i>                                                     | 39 |
| <i>Imagen 10: Sonicador digital Branson</i>                                               | 40 |
| <i>Imagen 11: Sonicador digital Branson con punta gruesa</i>                              | 40 |
| <i>Imagen 12: Máquina de tracción de Ibertest</i>                                         | 41 |
| <i>Imagen 13: Medidor de dureza</i>                                                       | 41 |
| <i>Imagen 14: Pie de rey digital</i>                                                      | 42 |
| <i>Imagen 15: Probetas de resina sobre la plataforma de la impresora</i>                  | 43 |
| <i>Imagen 16: Probetas de resina en la FormWash</i>                                       | 44 |
| <i>Imagen 17: Probetas de resina después de ser curadas en la FormCure</i>                | 44 |
| <i>Imagen 18: Mezcla de resina y MMA en el sonicador con punta fina</i>                   | 45 |
| <i>Imagen 19: Mezcla de resina, MMA y GO en la cámara de vacío</i>                        | 46 |
| <i>Imagen 20: Probetas de resina, MMA y GO en la plataforma de la impresora</i>           | 47 |
| <i>Imagen 21: Probetas de tracción de los tres materiales</i>                             | 47 |
| <i>Imagen 22: Probetas de flexión de los tres materiales</i>                              | 48 |
| <i>Imagen 23: Probetas de tracción de resina una vez envejecidas</i>                      | 48 |
| <i>Imagen 24: Probetas de tracción de resina y MMA una vez envejecidas</i>                | 49 |
| <i>Imagen 25: Probetas de tracción de resina, MMA y GO una vez envejecidas</i>            | 49 |
| <i>Imagen 26: Ampliación x300 probeta de resina</i>                                       | 58 |
| <i>Imagen 27: Ampliación x300 probeta de resina + MMA</i>                                 | 58 |
| <i>Imagen 28: Ampliación x300 probeta de resina + MMA + GO</i>                            | 59 |
| <i>Imagen 29: Representación en 3D de la rugosidad de la probeta de resina</i>            | 59 |
| <i>Imagen 30: Representación en 3D de la rugosidad de la probeta de resina + MMA</i>      | 60 |
| <i>Imagen 31: Representación en 3D de la rugosidad de la probeta de resina + MMA + GO</i> | 60 |

# 1. Introducción

Este TFG forma parte de un proyecto, cuyo objetivo es el desarrollo de scaffolds mediante impresión 3D para regeneración ósea, con diferentes resinas de impresión por estereolitografía. Los scaffolds son estructuras artificiales formadas con materiales que causan interacciones celulares para contribuir a la formación de nuevos tejidos funcionales para propósitos médicos, por ejemplo, apoyar el crecimiento óseo.

El objetivo del TFG es, por tanto, crear estos scaffolds mezclando estas resinas con grafeno para mejorar sus propiedades mecánicas, pero conservando las propiedades biológicas de la resina, y que a la vez siga siendo posible imprimir los scaffolds mediante estereolitografía.

Por lo tanto, como se verá a lo largo del proyecto, primeramente, se estudia tanto la situación de los injertos óseos en el ámbito médico actual, como la situación de la impresión 3D en el ámbito tecnológico. A continuación, la relación entre scaffolds e impresión 3D y, por último, los materiales que se van a usar.

En la práctica, se han impreso tres tipos de probetas. En total, 25 probetas biológicas, que se van a usar para ensayos biológicos que quedan fuera del alcance de este TFG; 5 probetas de flexión y 10 probetas de tracción. Estos dos últimos tipos son los que se van a ensayar para este trabajo. De cada tipo existen tres materiales diferentes, que se han fabricado en el laboratorio. El primer material sería la resina biológica base, el segundo material es una mezcla de resina y metilo metacrilato (MMA), y el tercero una mezcla de resina, MMA y óxido de grafeno (GO).

El proyecto consiste en imprimir estos tipos de probeta para ensayarlas en el laboratorio y mediante técnicas experimentales poder comparar los tres materiales. Las comparaciones se harán en base al objeto final de estudio, es decir, los scaffolds. Se buscarán características y propiedades en estos materiales que sean óptimas para la fabricación futura de scaffolds por impresión 3D.

## 2. Objetivos y motivación

El objetivo principal es fabricar un nanocomposite de matriz acrílica de curado ultravioleta reforzado con óxido de grafeno para su impresión 3D por estereolitografía, que pueda ser utilizado para la fabricación de scaffolds para regeneración ósea.

El objetivo secundario es caracterizar el comportamiento mecánico del nanocomposite, con el fin de asegurar la estabilidad mecánica de los scaffolds, y la topografía superficial de probetas impresas, con el fin de caracterizar la superficie, que tendrá una gran importancia para la adherencia de las células.

### Alineación con los objetivos de desarrollo sostenible

El proyecto busca mejorar la calidad de vida de los pacientes con necesidad de pequeños injertos óseos a través de la creación de nuevos materiales compuestos. Además, se emplean nuevas técnicas de fabricación, como puede ser la fabricación aditiva, para mejorar o reemplazar técnicas ya existentes. Por ello, el TFG está alineado con los siguientes ODS:

- *ODS 3 Salud y bienestar: Garantizar una vida sana y promover el bienestar en todas las edades es esencial para el desarrollo sostenible.*
- *ODS 9: Industria, innovación e infraestructuras.*

## 3. Estado del arte

### 3.1 Scaffolds y regeneración ósea

La pérdida de hueso está relacionada con la pérdida de calidad de vida. Esta pérdida ósea puede ser debida a diferentes causas, como pueden ser accidentes, o enfermedades, como la osteoporosis. Por ello, los tratamientos médicos óseos están aumentando, a la vez que su costo.

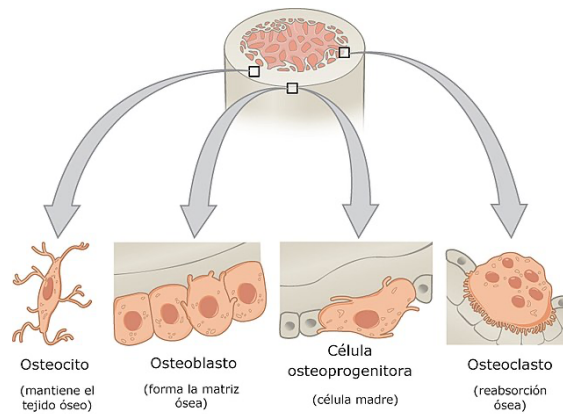
#### 3.1.1 La estructura ósea humana

El sistema esquelético es uno de los mayores órganos del cuerpo humano y es una de las marcas diferenciales que distinguen a los vertebrados de los invertebrados. Es el depósito del 98-99% de los entre 1 y 2 kilogramos de calcio que contiene el organismo humano, además de ser un almacén de magnesio, fósforo, sodio y otros iones necesarios para las funciones de homeostasis. La estructura del hueso es compacta y esponjosa y le proporcionan la resistencia y la densidad adecuadas para una buena movilidad. El esqueleto está muy vascularizado y recibe alrededor del 10% del gasto cardíaco.

Debido a su estructura compleja y jerárquica, el tejido de los huesos puede ser definido como un nanocomposite. Los huesos son tejidos conjuntivos mineralizados donde el colágeno tipo I forma una red de fibras flexibles. La mineralización de esta red, o matriz, con sales de calcio es requerida para producir la rigidez del esqueleto. Las proteínas se juntan para formar una nanoestructura de una matriz extracelular.

En el tejido óseo, o matriz, se encuentran incluidas células. La matriz ósea está formada por dos tipos de componentes <sup>[1]</sup>:

- Componente orgánico u osteoide, que constituye el 30% de la masa ósea. Está fundamentalmente formado por colágeno de tipo I y, en menor proporción, por otras proteínas.
- Componentes inorgánicos, que son el 70% de la masa ósea, formados por sales fosfocálcicas que se depositan en el osteoide.



*Imagen 1: Tipos de células en los huesos [2]*

Existen tres tipos de células que constituyen el hueso: osteoblastos, osteocitos y osteoclastos (Imagen 1). El tejido óseo se encuentra en constante remodelado, en el cual participan los osteoblastos y los osteoclastos. El remodelado óseo se produce de modo continuo y los procesos de formación y resorción ósea están acoplados formando un ciclo que dura aproximadamente 4 meses. Este ciclo sirve para:

- Reparar microlesiones y adaptar la microarquitectura según los cambios de fuerzas biomecánicas, proporcionando elasticidad al hueso.
- Mantener la homeostasia del calcio, del fosfato y del magnesio.

Los términos osteogénesis y osificación son usados normalmente como sinónimos para indicar el proceso de formación del hueso. El remodelado óseo se produce en determinadas localizaciones del hueso denominadas 'unidades de remodelado óseo' de un tamaño de 1-2mm x 0,2-0,4 mm y consta de 4 fases (Imagen 2):

- Resorción: comienza con la activación previa y el reclutamiento de precursores osteoclásticos en las unidades de remodelado óseo, donde se diferencian a osteoclastos al unirse varias células y generarse una grande y multinucleada. Estas células tienen una membrana en cepillo adyacente a la matriz ósea en donde va a crear las brechas de resorción.
- Formación: está precedida por un período de tiempo reposo de 1 o 2 semanas y, tras este período, existe una importante activación osteoblástica y se generan células de revestimiento en la superficie ósea y osteocitos dentro de la matriz.
- Mineralización del osteoide: los osteoblastos liberan fosfatasa alcalina que rompe los ésteres de fosfato y favorece el depósito de hidroxapatita.
- Reposo.

Cada año se inician 3-4 millones de unidades y funcionan simultáneamente 1 millón, pues reemplazan anualmente el 25% del hueso trabecular (parte interior de los huesos) y el 3% del hueso cortical (parte exterior de los huesos). En condiciones normales, los procesos de resorción y formación están sincronizados y no se modifica la integridad anatómica y estructural del hueso [3].

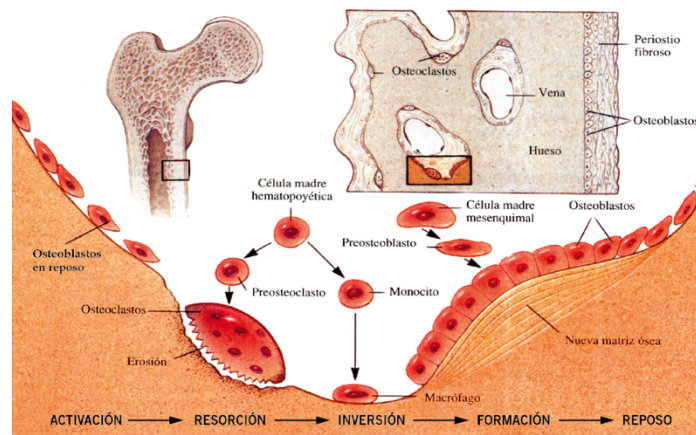


Imagen 2: Actividad de remodelado óseo [4]

Pese a este proceso de remodelado natural que tiene el esqueleto humano la respuesta del hueso a las fracturas, infecciones, interrupción de la irrigación y lesiones expansivas es relativamente limitada, ya que la respuesta a estos accidentes es única y se explica a continuación. El hueso muerto se reabsorbe y se forma hueso nuevo, lo que es simultáneo a la formación de vasos sanguíneos nuevos en el área dañada. En las lesiones que desorganizan el tejido como una fractura donde la aposición de fragmentos es deficiente o cuando existe movimiento en el sitio de la fractura, las células predecesoras del estroma reanudan la osificación y forman cartílago que es sustituido por hueso y, de manera variable, tejido fibroso. Cuando la aposición es correcta por medio de fijación y el movimiento en el sitio de la fractura es mínimo, la reparación se lleva a cabo principalmente por osteogénesis sin necesidad de otros tejidos intermediarios.

Sin embargo, defectos más grandes, de tamaño mayor que el conocido como tamaño crítico, pueden retrasar la cicatrización o pararla totalmente, por lo tanto, necesitarían un tratamiento adicional previo antes de regenerarse. Además, muchas enfermedades y medicaciones tienen efectos adversos sobre la remodelación natural de los huesos, dando pie a pérdida ósea.

### 3.1.2 Injertos óseos y scaffolds

Los injertos óseos se usan prácticamente en todos los aspectos de la cirugía ortopédica reconstructiva y abarcan desde el tratamiento de fracturas hasta complejas técnicas de salvamento de extremidades. Los injertos óseos tienen una doble función: mecánica y biológica. Dependiendo del resultado clínico que se busque, una de las funciones puede ser más importante que la otra. En la interfase injerto óseo-huésped existe una compleja relación donde múltiples factores pueden intervenir en la correcta incorporación del injerto; dentro de ellos destacan la zona de implantación, vascularización del injerto, interfase hueso-huésped, inmunogenética entre donante y huésped, técnicas de conservación y las propiedades mecánicas. Los injertos tienen diferentes propiedades<sup>[5]</sup>:

- Osteogénesis: síntesis de hueso nuevo a partir de células derivadas del injerto o del huésped. Requiere células capaces de generar hueso.
- Osteoinducción: proceso por el que las células madre son reclutadas en la zona receptora y a su alrededor para diferenciarse en condroblastos (células que forman cartílago) y osteoblastos (células que forman hueso).
- Osteoconducción: proceso en el que tiene lugar un crecimiento tridimensional de capilares, tejido perivascular y células madre, desde la zona receptora del huésped hasta el injerto. Este andamiaje permite la formación del hueso nuevo mediante un patrón previsible, determinado por la biología del injerto y el entorno mecánico de la interfase.

De manera ideal un injerto óseo debe tener estas tres propiedades, además de ser biocompatible y proporcionar estabilidad biomecánica.

Los injertos óseos se clasifican conforme a su origen:

- Autoinjerto óseo o injerto autólogo: trasplante de hueso llevado de una zona anatómica a otra del mismo individuo (Imagen 3). Representa el estándar de injertos óseos desde hace más de 100 años. Puede ser de hueso esponjoso, corticales no vascularizados o corticales vascularizados, y los diferentes tipos de injertos pueden tener distintas propiedades. Hay histocompatibilidad total y no hay riesgo de transmisión de enfermedades. El injerto óseo autólogo ofrece, además, soporte estructural a implantes colocados y termina convirtiéndose en estructuras mecánicas eficientes capaces de soportar cargas debido a la sustitución progresiva por hueso. Sin embargo, existen problemas con el uso de autoinjertos óseos, como la insuficiente cantidad de injerto, riesgo de morbilidad posquirúrgica significativa en la zona donadora de hasta un 30%: infección, dolor, hemorragia, debilidad muscular y lesión neurológica. También implica mayor tiempo quirúrgico, pérdida sanguínea y un costo adicional.





Imagen 3: Injerto óseo [6]

- Aloinjerto óseo: hueso transferido entre dos individuos genéticamente diferentes, pero de la misma especie. Los aloinjertos se emplean fundamentalmente para soportar cargas mecánicas y resistir fallos en las zonas donde hace falta soporte estructural. Tienen las ventajas de estar disponibles en cantidades importantes y en diferentes formas y tamaños, no se sacrifican estructuras del huésped y no hay morbilidad del sitio donador. La mayor preocupación cuando se utilizan aloinjertos es la posibilidad de transmitir algunos virus.
- Xenoinjerto óseo: tejido transferido entre dos individuos de diferentes especies.

Dadas las complicaciones de los autoinjertos y aloinjertos óseos, actualmente existen estrategias para tratar de aumentar las tasas de consolidación ósea en presencia de injerto óseo o para tratar de reemplazar la necesidad de su utilización. A los materiales con potencial generador del hueso se les clasifica como [7]:

- Extensor óseo: material que permite la utilización de una menor cantidad de injerto óseo con el mismo resultado final o de la misma cantidad de injerto, pero cubriendo mayor área de superficie para obtener la misma tasa de fusión final.
- Potenciador óseo: sistema que en conjunto con el injerto óseo aumenta las tasas de fusión utilizando la misma o una menor cantidad de injerto.
- Sustituto óseo: material que se puede emplear en lugar del injerto y que obtiene tasas de fusión iguales o mejores que el injerto óseo autólogo.

En la actualidad, la comunidad científica ha desarrollado el diseño de materiales y materiales compuestos con células para mejorar o asistir la reconstrucción quirúrgica de los tejidos dañados; las características de los diseños intentan replicar los procesos biológicos básicos de los diferentes tejidos. Estos conceptos se conocen como biomimética y la aplicación de los mismos para la restauración, reparación, reemplazo, montaje o generación de la función se conoce como ingeniería de tejidos.

El hueso formado por ingeniería de tejidos debe contener una matriz extracelular biomimética, células capaces de diferenciarse en osteoblastos y factores de crecimiento que envíen señales que promuevan el reclutamiento celular, la mitogénesis, la diferenciación y la renovación celular.

La ingeniería de tejidos, ha llegado a desarrollar en la actualidad lo que llamamos scaffolds, o andamios, que es el principal producto de estudio en este proyecto.

Los scaffolds óseos están normalmente hechos de materiales degradables y porosos que proveen el apoyo mecánico durante la reparación y la regeneración del hueso dañado o enfermo.

Las propiedades que idealmente debería tener un scaffold son:

- **Biocompatibilidad:** es la habilidad del scaffold para apoyar la actividad celular normal incluyendo sistemas de señales moleculares sin ningún efecto tóxico local o sistemático para el tejido. Un scaffold debería ser osteoconductor donde el scaffold permite a las células óseas adherirse, proliferar y formar matrices extracelulares en la superficie y en los poros. El scaffold también debería ser capaz de inducir nueva formación ósea a través de señales biomoleculares y reclutando células madre, como se ha explicado antes, lo que es la osteoinducción. Además, un scaffold necesita que permita que se formen vasos sanguíneos dentro y alrededor del implante dentro de las primeras semanas de implantación para apoyar la recepción de nutrientes, oxígeno y la retirada de desechos.
- **Propiedades mecánicas:** deberían ser parecidas a las propiedades mecánicas que tienen los huesos y también tener la capacidad de soportar carga. Las propiedades mecánicas de los huesos varían mucho dependiendo si son huesos trabeculares o corticales. El módulo de Young de los huesos corticales oscila entre los 15 a los 20 GPa, y el de los huesos trabeculares oscila entre los 0.1 y 2 GPa. La tensión de compresión oscila entre 100 y 200 MPa para huesos corticales, y entre 2 y 20 MPa para huesos trabeculares. La gran diferencia en las propiedades mecánicas y geométricas hace muy difícil diseñar un scaffold ideal.
- **Porosidad:** una propiedad fundamental para los scaffolds es la porosidad interconectada donde el tamaño de poro debe ser al menos 100  $\mu\text{m}$  de diámetro para la difusión de nutrientes y oxígeno para la supervivencia de las células. Sin embargo, el tamaño de poro entre 200 y 350  $\mu\text{m}$  son también óptimos para el crecimiento óseo. Estudios recientes han revelado que poros de diferentes tamaños en el mismo scaffold, incluyendo micro y macro porosidades, pueden tener resultados mejores que los scaffolds con solo macro porosidades. Desgraciadamente, las porosidades reducen las propiedades mecánicas como la tensión de compresión, e incrementa la complejidad de la producción de scaffolds. La dureza de materiales biocerámicos densos se parece mucho a la de los huesos corticales, y la de diferentes polímeros a la de huesos trabeculares, sin embargo, los materiales compuestos de cerámicos y polímeros son normalmente más frágiles que los huesos. Los scaffolds metálicos y porosos cumplen las propiedades mecánicas del hueso, pero no pueden proveer la integración implante-tejido.
- **Biorreabsorción:** un scaffold no solo debería tener propiedades mecánicas similares a las del hueso, sino que también debería ser capaz de degradarse con el tiempo, preferiblemente con una velocidad de reabsorción controlada y creando espacio para que el nuevo tejido óseo pueda crecer. El comportamiento de degradación debería variar dependiendo de la aplicación, desde 9 meses o más

para scaffolds en la fusión espinal, hasta 3 a 6 meses para scaffolds en aplicaciones cráneo-maxilofaciales.

Actualmente, ya se han diseñado y probado scaffolds de diferentes materiales<sup>[8]</sup>:

- Scaffolds cerámicos de fosfato de calcio: el fosfato de calcio es uno de los componentes más importantes en los huesos, por eso este material ha sido muy estudiado para la fabricación de scaffolds. Los scaffolds cerámicos de fosfato de calcio tienen un 70% de porosidad interconectada, y se ha observado la formación de hueso nuevo en ratones macho inmunodeficientes exitosamente. Estos scaffolds, que pueden ser impresos en 3D y posteriormente curados, que tienen más de un 60% de porosidad han facilitado la actividad de los osteoblastos y ha ayudado la formación de hueso nuevo en los poros. Además, tienen una gran tensión de compresión, aproximadamente 11 MPa, considerando la alta porosidad que tienen. Resultados recientes de este tipo de scaffolds, indican que se podría controlar una velocidad de degradación, tiene buena propiedades mecánicas y biocompatibilidad.
- Scaffolds biorreabsorbible de vidrio bioactivo: desde el desarrollo del Bioglass, que es un vidrio (fosfosilicato de calcio y sodio) bioactivo reabsorbible, diferentes aplicaciones se han explorado a lo largo de los años. Testando un scaffold con un 70% de porosidad con el tamaño de poro entre 300 y 400  $\mu\text{m}$ , se ha observado actividad osteoblástica.
- Scaffolds poliméricos: los polímeros pueden ser bioactivos y biodegradables. Algunos polímeros naturales comúnmente usados para la ingeniería de tejidos son el colágeno, fibrina, alginato, seda, ácido hialurónico, etc. Los polímeros tienen ventajas como flexibilidad en la fabricación, algunos ofrecen buena tensión de compresión y otros un control sobre la velocidad de degradación. Sin embargo, los polímeros muestran una disminución rápida de la tensión soportada, lo que puede crear respuestas adversas en los tejidos.
- Scaffolds de materiales compuestos: los composites son aquellos que están formados por dos o más materiales diferentes, como cerámicos y polímeros. Por ejemplo, un scaffold formado por fosfato de calcio y un polímero, puede aprovecharse de las ventajas de ambos materiales, para llegar a cumplir las propiedades mecánicas y biológicas que el tejido óseo necesita.
- Scaffolds metálicos: los metales tienen gran resistencia a compresión y gran resistencia a fatiga. Los scaffolds metálicos y porosos, principalmente de titanio y tántalo, han sido estudiados para reemplazamientos óseos. El titanio con un volumen de porosidad entre el 17% y 58% con un tamaño de poro de 800  $\mu\text{m}$  permitían a los osteoblastos la unión y proliferación de células. Sin embargo, biomoléculas no pueden ser integradas en estos scaffolds y por lo tanto no son biodegradables.



Imagen 4: Características de los materiales [9]

Diversos estudios han demostrado excelente biocompatibilidad y nueva formación ósea a partir de una gran variedad de scaffolds, sin embargo, hay algunos puntos clave que no se han conseguido resolver: biocompatibilidad y resistencia biomecánica en scaffolds poliméricos, bioactividad y biodegradación limitadas en los scaffolds metálicos y dureza y fabricación en scaffolds cerámicos. Además, el control de la velocidad de degradación para que sea compatible con la regeneración natural del tejido necesita un desarrollo futuro mucho mayor.

La investigación en la ingeniería de tejidos en las últimas décadas ha creado e innovado en nuevos materiales, técnicas de fabricación, evaluación del rendimiento y aplicaciones. Se ha logrado un progreso significativo en materiales para los scaffolds con soporte estructural con las capacidades deseadas para promover la osteogénesis y angiogénesis. Uno de los inconvenientes de los scaffolds porosos es que, independientemente de su composición, son mecánicamente débiles. La porosidad en la mayoría de estos scaffolds se distribuye uniformemente. Sin embargo, es posible que no sea necesaria esta uniformidad. El hueso natural no tiene una distribución uniforme de la porosidad: tiene una mayor porosidad en el núcleo con una capa exterior fuerte y densa. Se puede lograr una distribución distinta de la porosidad desde el centro hasta la periferia del scaffolds mediante un diseño y una fabricación complejos que garantizarán la integridad mecánica y la interconectividad del andamio.

También es necesario desarrollar nuevos materiales compuestos que sean resistentes pero que puedan tener una biorreabsorción controlada. Normalmente, los scaffolds compuestos de polímeros y cerámica se diseñan y fabrican para dar solución a estos problemas. Sin embargo, los materiales poliméricos se degradan más rápido que la mayoría de los materiales cerámicos, lo que hace que la degradación del scaffold sea desigual, lo que también puede crear problemas como la osteólisis. Para lograr una reabsorción uniforme de los scaffolds, la degradación de los materiales poliméricos y cerámicos debe coincidir.

### 3.1.3 Usos de los scaffolds

Se podría clasificar en tres grupos las enfermedades o patologías en las que podría ser útil y estar indicado el uso de scaffolds como ayuda al tratamiento médico.

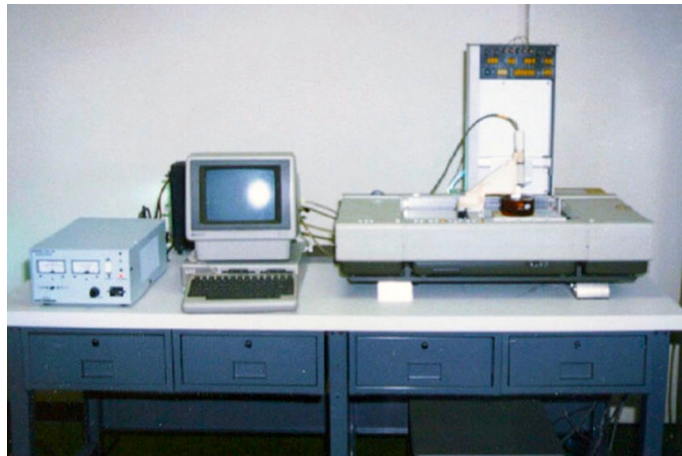
- Traumatismos, fracturas y lesiones de todo tipo que causan rotura o destrucción de masa ósea y que requieren, por tanto, la utilización de prótesis o implantes para la propia reconstrucción del hueso y también del mantenimiento de su funcionalidad anatómica. Quizá este grupo de enfermedades o patologías sea el más frecuente en las sociedades industrializadas debido al gran número de accidentes.
- Patología médica propia del hueso o de otros órganos que puede afectar al hueso como, por ejemplo, tumores óseos, cánceres, enfermedades inflamatorias y degenerativas que requieren muchas veces la extirpación de parte de los huesos y, por tanto, su reconstrucción. Este grupo de enfermedades también está aumentando debido, fundamentalmente, a que cada vez un mayor número de personas alcanza edades avanzadas en las cuales son más frecuentes este tipo de patologías.
- Graves retrasos del crecimiento, son realmente poco frecuentes o raros en las sociedades actuales pero que causan gran impacto debido a que afectan a niños y personas jóvenes que ven su perspectiva de integración social muy afectada. Por ejemplo, raquitismos graves o enfermedades metabólicas en las que es necesario una intervención, quizás traumática, que consiste en la elongación de los huesos largos para así tratar de alcanzar un mínimo de estatura.

## 3.2 Fabricación aditiva y estereolitografía

### 3.2.1 Impresión 3D como técnica de fabricación aditiva

La fabricación aditiva es un concepto que abarca muchas tecnologías, incluida la impresión 3D, el prototipado rápido, la fabricación digital directa, la fabricación en capas y la fabricación de aditivos.

La impresión 3D es una técnica de fabricación aditiva para obtener una amplia gama de estructuras y geometrías complejas a partir de datos de modelos tridimensionales. El proceso consiste en imprimir sucesivas capas de materiales que se van formando una encima de otra. Esta tecnología (Imagen 5) fue desarrollada por Charles Hull, cofundador de 3D Systems Inc, líder en la industria de la impresión 3D, en 1986 en un proceso conocido como estereolitografía, al que siguieron desarrollos posteriores como la fusión por lecho de polvo, el modelado por deposición fundida, la impresión por inyección de tinta y el contour crafting. Entonces, las impresoras usadas en vez de imprimir solo en el eje  $x$  e  $y$ , lo empezaron a hacer también en el eje  $z$ . En vez de tinta, se depositaba otro material en el punto deseado sobre una tabla, y no sobre una hoja de papel.



*Imagen 5: Prototipo de la impresora SLA 1 de 3D Systems [10]*

Estos métodos han mejorado a lo largo de los años, pero el proceso sigue siendo muy similar al inicial, donde existe una base de la impresora en la que se extiende el material elegido en una posición deseada y previamente diseñada en CAD. Una vez se solidifica esta capa, la plataforma se mueve en el eje  $z$  para empezar a imprimir la siguiente capa. Este proceso se repite hasta que la estructura esté finalmente acabada. Por esto, podemos decir que generalmente los procesos de impresión en 3D tienen tres etapas: primero el diseño en tres dimensiones del modelo a producir por ordenador con un software CAD, después este modelo es 'cortado' o dividido en capas, dando lugar al archivo. stl y, por último, la impresión del modelo capa a capa<sup>[11]</sup>.

La impresión 3D, que involucra varios métodos, materiales y equipos, ha evolucionado a lo largo de los años y tiene la capacidad de transformar los procesos de fabricación y logística. La fabricación aditiva se ha

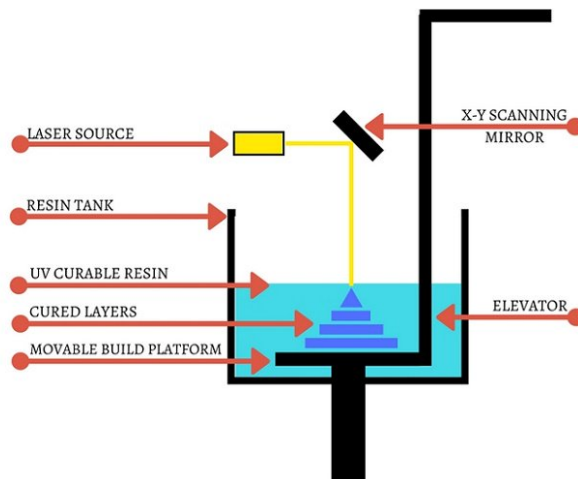
aplicado ampliamente en diferentes industrias, incluida la construcción, la creación de prototipos y la biomecánica.

Están surgiendo y se están desarrollando continuamente tanto nuevas aplicaciones como nuevos materiales para fabricación aditiva. Uno de los principales impulsores para que esta tecnología se vuelva más accesible se atribuye a la expiración de patentes anteriores, lo que ha brindado a los fabricantes la capacidad de desarrollar nuevos dispositivos de impresión 3D. Los recientes desarrollos han reducido el costo de las impresoras 3D, extendiendo así sus aplicaciones en el ámbito académico, ámbito doméstico, bibliotecas y laboratorios. Inicialmente, la impresión 3D ha sido ampliamente utilizada por arquitectos y diseñadores para producir prototipos estéticos y funcionales debido a su capacidad de creación rápida y rentable. El uso de la impresión 3D ha minimizado los gastos adicionales que se incurren en el proceso de desarrollo de un producto. Sin embargo, solo en los últimos años, la impresión 3D se ha utilizado por completo en varias industrias, desde prototipos hasta productos. La personalización de productos ha sido un desafío para los fabricantes debido a los altos costos de producir productos personalizados para los usuarios finales. Por otro lado, la fabricación aditiva puede imprimir en 3D pequeñas cantidades productos personalizados con costos relativamente bajos. Esto es especialmente útil en el campo biomédico, en el que normalmente se requieren productos únicos personalizados para cada paciente. Los productos funcionales personalizados se están convirtiendo actualmente en la tendencia en la impresión 3D, tal como predijo Wohlers Associates, quien imaginó que alrededor del 50 % de la impresión 3D girará en torno a la fabricación de productos comerciales en 2020. Esta tecnología ha llamado la atención del campo de la medicina, debido a su capacidad para producir una amplia variedad de implantes médicos a partir de réplicas de tejido que se obtienen a partir de imágenes.

### 3.2.2 Estereolitografía (SLA)

Como se ha mencionado anteriormente la estereolitografía (SLA) fue el primer método de impresión 3D que existió. Al ser el primer método, actualmente una parte muy importante de la impresión 3D por fotopolimerización se basa principalmente en la estereolitografía. Este método se basa en foto curar con luz ultravioleta los polímeros que se usan para la impresión. Este tipo de impresión 3D tiene muchas ventajas como la alta precisión, una superficie lisa de acabado de producto final, etc. Gracias a la alta precisión y a la rápida polimerización en esta técnica, los modelos pueden ser impresos de una forma bastante rápida.

Comúnmente, las longitudes de onda de la luz en las impresoras por SLA es un láser de 365 nm, 385 nm o 405nm, el láser está sobre el tanque de resina y la dirección de exposición es desde la parte superior, la resina líquida se solidifica cuando se escanea con un láser (Imagen 6). Se baja una plataforma hasta la resina; por lo tanto, la superficie de la plataforma tiene un espesor de capa por debajo de la superficie de la resina. Luego, el rayo láser traza los límites de una sección transversal bidimensional del modelo, después de curar una capa de resina, la plataforma desciende una distancia con una capa, la solidificación se repite capa por capa hasta que se produce un objeto 3D sólido. La formación del patrón de cada capa está controlada por el movimiento del láser. En teoría, el láser podría moverse sobre un espacio grande. Por lo tanto, la técnica de impresión SLA podría imprimir modelos de gran tamaño.



*Imagen 6: Funcionamiento de una impresora 3D por SLA [12]*

Los materiales utilizados en este tipo de impresión 3D son resinas fotosensibles. El mecanismo de fotocurado se elige dependiendo de la longitud de onda de la lámpara y la tecnología de impresión. Generalmente, la resina fotosensible que se utiliza en la técnica SLA se basa en el mecanismo de fotopolimerización catiónica o fotopolimerización híbrida. Hay tres razones por las que se usa este mecanismo: primeramente, la longitud de onda del láser es de 355 nm. En esta longitud se pueden llevar a cabo la fotopolimerización catiónica como la radical. Por otra parte, la disminución de volumen es la principal desventaja de la fotopolimerización, y



puede conducir a esfuerzos internos que pueden causar deformación del material llegando a romperlo. Además, una disminución del volumen haría que los resultados de impresión no fueran lo esperado. Sin embargo, la fotopolimerización catiónica tiene bajo o ningún riesgo de disminución de volumen. Por último, las resinas para la fotopolimerización catiónica son pocas y el precio es alto, por otro lado, el período de inducción de la fotopolimerización es largo, por lo que a menudo se adoptan resinas fotosensibles híbridas, lo que significa una mezcla de resinas fotosensibles radicales y catiónicas. Las resinas híbridas podrían ajustar el rendimiento, la tasa de impresión y el precio de los modelos de impresión [13].

Ventajas y desventajas de la estereolitografía:

Hasta ahora, SLA es la única técnica de impresión 3D de fotopolimerización que puede imprimir modelos de gran tamaño. Pero SLA tiene una tasa de impresión baja debido a que la tasa de curado depende del movimiento del láser. Cuanto mayor sea el tamaño de los modelos, menor será la velocidad de impresión. Además, las resinas disponibles para la fotopolimerización catiónica son limitadas. La resolución de impresión depende del tamaño del láser, por lo que, en comparación con otras técnicas de fotopolimerización, SLA tiene una resolución baja, pero siendo más alta que las de las impresoras de filamento (FDM). Aun así, la precisión de la técnica SLA es lo suficientemente buena para imprimir objetos con estructura compleja y tamaño fino. Hasta ahora, SLA sigue siendo una técnica de impresión importante y se usa en muchos campos [14].

### 3.2.3 Fabricación aditiva en scaffolds

Los métodos tradicionales de fabricación de scaffolds incluyen la unión de fibras, la fundición con solventes y la lixiviación de partículas, la laminación de membranas, el moldeo por fusión y la formación de espuma con gas. Sin embargo, los inconvenientes de estas técnicas incluyen el uso extensivo de solventes orgánicos altamente tóxicos, largos períodos de fabricación, procesos intensivos en mano de obra, eliminación incompleta de partículas residuales en la matriz polimérica, mala repetibilidad, poros de forma irregular, interconectividad insuficiente de poros y estructuras delgadas. Además, la mayoría de estos métodos tienen restricciones en el control de la forma. Por ejemplo, la fundición depende de la forma del molde y no de poder controlar fácil e independientemente la porosidad y el tamaño de los poros de los scaffolds. [15]

Dado que el diseño de scaffolds se basa en modelos de software es fácil adaptarlo a procesos de fabricación aditiva, como es la impresión 3D y más concretamente la estereolitografía.

Ya se ha podido, en la actualidad, imprimir scaffolds mediante estereolitografía con resinas biológicas. Con componentes que fueron empleados para fabricar scaffolds osteocondrales biomiméticos con alta porosidad e interconectividad, y que sirvieron para apoyar la viabilidad del crecimiento de las células del hueso. La impresora fue capaz de crear scaffolds con porcentajes de alta interconectividad como 40%, 60% u 80%, y tamaños de poro máximos de 1250  $\mu\text{m}$ , 790  $\mu\text{m}$ , and 500  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Se demostró que el scaffold con el 60% tenía el mayor número de células adheridas por scaffold. Además, los scaffolds que contenían factores morfogenéticos promovían un mejor acoplamiento de las células, proliferación y deposición de calcio comparados con aquellos scaffolds que no los tenían. Este estudio también demostró que los scaffolds fabricados por impresión 3D podrían ser más eficaces al generar hueso o cartílago gracias a la incorporación de factores de crecimiento[16].

La impresión 3D por SLA también se usó en combinación con electrospinning para fabricar scaffolds neuronales alineados. Esta técnica se utilizó para superar las limitaciones de los scaffolds de alta resolución sin comprometer las propiedades mecánicas.

La tecnología SLA ha creado la oportunidad de imprimir scaffolds complejos y definidos, donde las complejidades en la morfología del scaffold pueden afectar la diferenciación celular y la alineación. Uno de los mayores avances en SLA es la creación de una impresora 3D de dos fotones, que pudo imprimir scaffolds con poros de 3  $\mu\text{m}$  de diámetro y que fue capaz de generar injertos de células a partir de células madre inducidas por humanos. Estudios pudieron demostrar la viabilidad del uso de células madre para restaurar visión a pacientes con enfermedad degenerativa de la retina. Con los avances en estereolitografía, como la impresión 3D de dos fotones, la impresión 3D pueden ser aplicable a gran cantidad de enfermedades.

### 3.3 Resinas acrílicas biológicamente compatibles y óxido de grafeno

#### 3.3.1 Óxido de grafeno

Los nanomateriales, es decir, los materiales estructurados a escala nanométrica ( $10^{-9}$  m), pueden ser obtenidos a partir de diferentes elementos o compuestos químicos. Entre todos estos, el carbono ha focalizado en mayor grado la atención científica y tecnológica debido principalmente a las propiedades que presentan dos de sus estructuras nanométricas: los nanotubos de carbono y (la más reciente incorporación a esta gama) el grafeno. Éste último se presenta como una sola capa atómica de carbono (monocapa atómica), o con un número reducido de capas (por lo general, menor a diez). La existencia de este nanomaterial se conocía desde hace mucho tiempo, aunque no fue sino hasta el año 2004 que producido e identificado por Andre K. Geim y Konstantin S. Novoselov de la Universidad de Manchester en Inglaterra. Dicho logro se dio a través del aislamiento de las primeras hojuelas de espesor atómico de carbono.

El carbono tiene varias formas alotrópicas. Alotropía, en Química, significa la existencia en estado sólido de dos o más formas estructurales moleculares o cristalinas de un elemento. Los alótropos del carbono pueden ser:

- Tridimensionales: grafito es el alótropo más abundante, fue usado por culturas neolíticas y se encontró un depósito enorme en Inglaterra en los años 1500. El otro alótropo es el diamante.
- Bidimensionales: grafeno.
- Monodimensionales: nanotubos.
- Cero dimensionales: fullerenos.

Por lo tanto, el grafeno es un material nanométrico bidimensional, consistente en una sola capa de átomos de carbono fuertemente cohesionados, con una estructura similar a la de un panal de abejas por su configuración atómica hexagonal.

Es el material más resistente que se conoce en la naturaleza, más fuerte que el acero estructural con su mismo espesor y más duro que el diamante, siendo su grosor entre 1 y 10 átomos de carbono. Es elástico y flexible, y está dotado de una gran conductividad térmica y eléctrica, lo que le permite disipar el calor y soportar intensas corrientes eléctricas sin calentarse.

Es hidrófugo y muy denso, y presenta alta movilidad en sus electrones. Es biocompatible, no es tóxico para las células biológicas, y es bactericida, las bacterias no crecen en él, pero permite el crecimiento de las células.

Por todas estas propiedades y su capacidad de transferirlas a los plásticos, se ha desarrollado mucho la investigación de nanocomposites poliméricos.

Por otra parte, el grafeno puede obtenerse a partir de precursores de bajo costo, el más común de estos es el grafito natural, ya que es una estructura tridimensional de láminas de grafeno superpuestas. Las ventajas de precio del precursor y rendimiento del grafeno han retado a los nanotubos de carbono en la fabricación de nanocompuestos aplicados en recubrimientos, sensores, dispositivos de almacenamiento y aplicaciones en la producción de energía eléctrica.

#### 3.3.1.1 Métodos de obtención del óxido de grafeno [17]

Actualmente la conversión química de grafito en óxido de grafeno es considerada una ruta viable para la producción de hojas de grafeno en cantidades considerables, con lo que es el método más prometedor. El grafeno es más frecuentemente producido a partir de óxido de grafito, el cuál fue descubierto desde el siglo XIX, mucho antes que el grafeno. El óxido de grafeno puede prepararse principalmente por tres métodos: el método de Brodie, el método de Staudenmaier, y el método de Hummers. Los tres métodos implican el tratamiento de grafito con ácidos fuertes y diversos agentes oxidantes como el ácido sulfúrico concentrado, ácido nítrico y permanganato de potasio.

Para producir el grafeno monocapa a partir del óxido de grafeno o del óxido de grafito con pocas capas, estos deben ser reducidos eliminando el oxígeno que contiene y restaurar el sistema de enlaces  $C = C$ . Este paso implica generalmente, el uso de reductores fuertes o de calor, lo que asegura la destrucción térmica de los grupos de oxígeno.

Para reducir óxido de grafeno, se hace uso de agentes reductores fuertes capaces de eliminar el oxígeno que contienen los grupos funcionales. Los estudios experimentales demuestran que el óxido de grafito no puede ser totalmente reducido a grafeno. En particular, los productos de reducción del óxido de grafeno contienen una cantidad significativa de oxígeno y, posiblemente, defectos.

### 3.3.2 Resinas acrílicas y óxido de grafeno

Una resina acrílica es un termoestable, sustancia que deriva normalmente de ácido acrílico, ácido metacrílico y monómeros de acrilato. Los acrílicos designan un grupo de resinas acrílicas que contienen un alto peso molecular y una alta temperatura de transición vítrea [18].

Los nanotubos de carbono son uno de los materiales más estudiados en las dos últimas décadas. Recientemente, actúan como refuerzo para modificar composites poliméricos con grandes resultados.

Con los avances en el desarrollo de los materiales de carbono, el interés científico se ha inclinado hacia el grafeno debido a sus propiedades mecánicas, térmicas y eléctricas.

El grafeno, como se ha mencionado anteriormente, al ser un nuevo nanomaterial, se puede usar para modificar polímeros. Resultados de varios estudios revelan que el añadir óxido de grafeno mejora varias propiedades de las resinas acrílicas. En la actualidad, todavía es necesario investigar más sobre la actuación del grafeno en nanocomposites basados en polímeros. Hasta la fecha, componentes del grafeno se han usado en una variedad de matrices poliméricas, y los nanocomposites modificados por el grafeno han mostrado un enorme potencial en la mejora de propiedades para una alta variedad de aplicaciones del mundo actual.

Estudios han caracterizado el grafeno con diferentes polímeros, y la mayoría de propiedades de los nanocomposites eran superiores a los que tenía la matriz polimérica base. Por lo tanto, añadir grafeno a polímeros es una manera muy factible de mejorar enormemente muchas propiedades de los polímeros, especialmente térmicas y mecánicas.

La fuerza superficial de las nanopartículas puede llevar, inevitablemente, a su aglomeración, la cual dará lugar a una reducción en las propiedades mecánicas, por actuar los aglomerados como defectos que producen la iniciación de grietas. Por lo tanto, una dispersión homogénea y el medio para rellenar la matriz son dos factores muy importantes a la hora de preparar nanocomposites, que van a determinar las propiedades finales de estos.

Las resinas acrílicas son un material muy usado en industria por sus buenas propiedades, como la retención de brillos, la retención de color, resistencia al calor y resistencia a la corrosión. Se utiliza mucho como revestimientos de automóvil y revestimientos en arquitectura, también se utiliza para recubrir tanto piezas de museos como monumentos. Sin embargo, la durabilidad y la estabilidad química de las resinas acrílicas no son muy deseables. Dos factores pueden ser las razones principales que llevan a la deficiencia de recubrimientos acrílicos: adhesión pobre a sustratos porosos y la incapacidad de drenaje de agua desde la superficie.

## 4. Materiales y recursos empleados

Las probetas usadas para los ensayos, que se explican posteriormente, se han impreso en una impresora 3D por estereolitografía de la marca Formlabs, llamada Form2 (Imagen 7), especialmente diseñada para producir piezas biocompatibles de uso sanitario. En este caso, la impresora funciona igual que la explicada en el apartado 3.2.2, excepto que la luz UV está por debajo del tanque de resina. Además, esta impresora tiene una longitud de onda de 405 nm y la resina polimeriza por radicales libres. <sup>[19]</sup>



*Imagen 7: Impresora Form2 de Formlabs*

La resina empleada para la impresión es del mismo fabricante, Formlabs, siendo la resina BioMed Amber Resin, la cual es una resina fotopolimerizable biocompatible especialmente diseñada para la impresora mencionada anteriormente. Se usa en total un litro de resina, para los tres procesos de fabricación que se explican en el apartado siguiente.

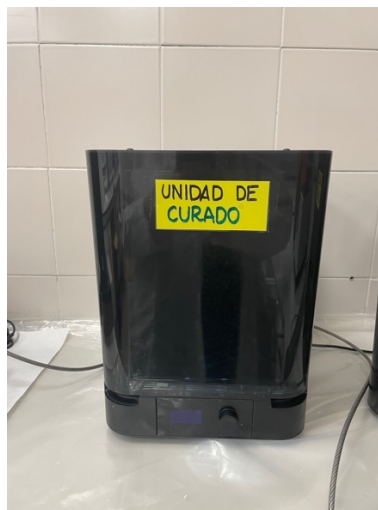
Posteriormente, como se explicará en el proceso de fabricación, se mezcla la resina con metacrilato de metilo (MMA). Éste es un compuesto químico de fórmula  $C_5H_8O_2$ . A temperatura ambiente se presenta como un líquido incoloro de aspecto similar al agua, tóxico e inflamable. Su uso principal es la producción de metacrilato <sup>[20]</sup>.

El último material usado, para la impresión de las probetas es el óxido de grafeno, suministrado por NanoInnova Technologies (Toledo).

Para terminar el proceso de fabricación se usa una unidad de limpieza llamada FormWash (Imagen 8), donde se lavan las piezas impresas con alcohol isopropílico durante 3 minutos con aplicación de ultrasonidos para mejorar el proceso de limpieza. Para el curado de las piezas se ha usado la FormCure (Imagen 9), en este caso programando la temperatura (80°C) y el tiempo (90 minutos) de curado, especialmente diseñada para optimizar las propiedades de los materiales. En la unidad de postcurado las probetas son sometidas a temperatura y a luz UV de forma simultánea. Estos dos últimos recursos también son de la marca FormLabs.



*Imagen 8: FormWash de Formlabs*



*Imagen 9: FormCure de Formlabs*

Para la mezcla de la resina, tanto con el MMA como con el óxido de grafeno, se ha usado un sonicador digital de la marca Branson del laboratorio de química de ICAI (Imagen 10 y 11), primero con punta fina y también con punta gruesa, dependiendo del tamaño del bote a sonicar. La sonicación es el acto de aplicación de la energía del sonido (generalmente ultrasonidos) para agitar las partículas de una muestra. Una corriente eléctrica transmite su energía a un sistema mecánico que la convertirá en vibraciones de alta intensidad que generan ondas de ultrasonido. Los ultrasonidos generan, a su vez, vibraciones en el material objetivo. Si contiene líquidos, se generarán millones de burbujas microscópicas, las cuales sufren rapidísimos procesos

de expansión y colapso que pueden transmitir su energía a otros materiales [21]. De esta forma, se logra una adecuada dispersión del GO en el seno de la resina.



*Imagen 10: Sonicador digital Branson*

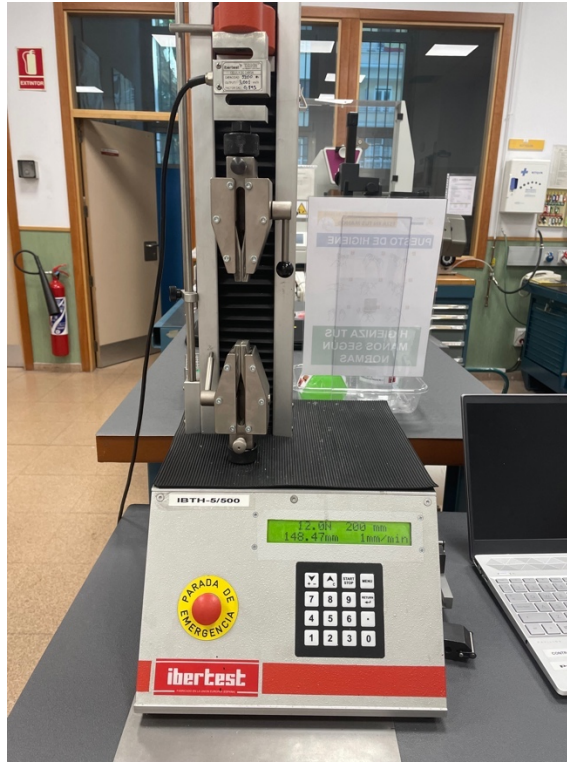


*Imagen 11: Sonicador digital Branson con punta gruesa*

Para intentar reducir las burbujas de oxígeno presentes en la mezcla de resina, MMA y óxido de grafeno se usa una cámara de vacío.

Por otra parte, para los ensayos tanto de tracción como de flexión se ha usado una máquina de la marca Ibertest (Imagen 12), con una célula de carga de la misma marca con capacidad de 5200 N. Pero con diferentes cabezales, cada uno para su ensayo correspondiente.





*Imagen 12: Máquina de tracción de Ibertest*

Para el ensayo de dureza se ha usado una máquina para medir la dureza shore D que sigue la norma DIN 53 505 (Imagen 13).



*Imagen 13: Medidor de dureza*

Para medir las probetas, antes del ensayo se ha usado el pie de rey digital Tesa cal ip67 con varilla de profundidad redonda de 150mm (Imagen 14).

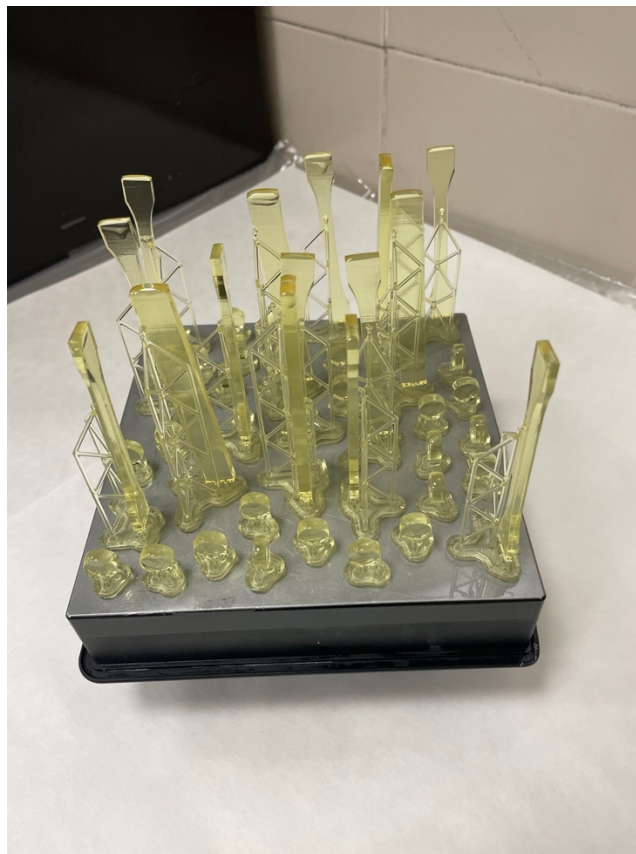


*Imagen 14: Pie de rey digital*

## 5. Proceso de fabricación

Hay tres procesos de fabricación diferentes de probetas, ya que el objetivo del proyecto es estudiar la diferencia entre tres tipos de probetas. Primero, probetas solo de la resina, después probetas de resina con MMA y por último; probetas de resina, MMA y óxido de grafeno (GO). Se ha empleado 1 litro de resina, usando para cada uno de los procesos aproximadamente 300 mililitros.

Para fabricar las probetas de resina, se usa directamente la resina BioMed Amber proporcionada por Formlabs, en el cartucho de impresión donde se dejan solamente los 300 mililitros necesarios y se envían las probetas a imprimir. En todos los casos se va a imprimir el mismo archivo en la impresora 3D, que consta de diez probetas para los ensayos de tracción, cinco probetas para los ensayos de flexión y veintiséis probetas circulares para ensayos biológicos. También en todos los casos, la impresión de todas estas probetas tardó entre ocho y nueve horas.



*Imagen 15: Probetas de resina sobre la plataforma de la impresora*

Una vez impresas las probetas de resina se llevaron a la unidad de limpieza FormWash donde se lavaron con isopropanol durante tres minutos (Imagen 16). Posteriormente, se llevaron a la unidad de curado FormCure donde se curaron durante 90 minutos a 80°C (Imagen 17). Una vez curadas, se retiraron de la unidad de curado, se les cortaron los soportes y se almacenaron en bolsas de plástico por separado hasta que fueron ensayadas.



*Imagen 16: Probetas de resina en la FormWash*



*Imagen 17: Probetas de resina después de ser curadas en la FormCure*

Después, se fabricaron las probetas de resina y MMA, estas probetas se han fabricado y ensayado únicamente para ver el efecto que tiene el sonicador y el MMA en la resina, ya que las probetas que interesan realmente son las que llevan el GO. Se fabricaron estas sin GO para estudiar si el MMA o el sonicador por sí solos tenían algún efecto sobre las propiedades mecánicas o biológicas de las probetas. Por esto, para mezcla el MMA con la resina se quiso simular el proceso que también había que hacer con el grafeno. Es decir, se dividieron los 300 mililitros de resina en dos partes, para no mezclar toda la resina a la vez, y se mezcló cada parte de resina con cinco mililitros de MMA. Entonces, se introdujo un bote con 150

mililitros de resina y cinco mililitros de MMA en el sonicador. Se programó el sonicador, para sonicar durante diez minutos, en intervalos de treinta segundos de sonicación y en diez segundos de parada. Se repitió el proceso con el otro bote con 150 mililitros de resina con 5 mililitros de MMA.



*Imagen 18: Mezcla de resina y MMA en el sonicador con punta fina*

Una vez estuvieron las dos partes sonicadas (Imagen 18) y mezcladas, se introdujeron en el cartucho de impresión. Se imprimieron también en un proceso de entre ocho y nueve horas. Posteriormente se limpiaron durante tres minutos con isopropanol y se curaron a 80 grados centígrados durante noventa minutos. Se retiraron de la FormCure, se les retiraron los soportes y se almacenaron en bolsas de plástico hasta que fueron ensayadas.

Por último, el tercer proceso de fabricación consistía ya en mezclar la resina con 0,05% de GO. Para que el GO se extienda uniformemente por toda la resina se necesita el MMA, por esto se hicieron las probetas mencionadas anteriormente.

El GO, como ya se ha explicado, sirve para reforzar las propiedades mecánicas de la resina. Es decir, cuando las láminas de óxido de grafeno están uniformemente repartidas por la matriz de la resina pueden parar avances de grietas. Por esto mismo, es importante que el óxido de grafeno esté repartido por toda la matriz, para que las propiedades mecánicas mejoren, en este caso, en toda la probeta.

Para que el grafeno se extienda uniformemente por todo el producto de resina, es necesario sonificarlo mezclándolo con el MMA, sino el grafeno se quedaría en ciertas partes de la matriz.

Este proceso de fabricación es más lento y tedioso que el anterior. Primeramente, se quiere añadir un 0,05% de óxido de grafeno a la resina, es decir, un 0,05% de 300 gramos de resina.

El GO se ha dividido en dos botes, a los que a cada uno se le añaden 5 mililitros de MMA (para tener la misma cantidad de MMA que en el ensayo anterior). Se sonica el primer bote con aproximadamente durante 10 minutos, 30 segundos sonicando y 10 segundos de parada, con la punta pequeña del sonicador, ya que todavía hay una cantidad muy pequeña de producto. Después, de esto se añaden 5 mililitros de resina a la mezcla de MMA y GO y se vuelve a sonicar. Se repite este proceso, añadiendo cada vez el doble de resina que la vez anterior y sonicando entremedias. Es decir, se añaden 10 mililitros, 20 mililitros, etc



hasta terminar con la primera parte de la resina, que son 150 mililitros. A partir de los 20 mililitros, se pasa la mezcla a un bote grande y se usa la punta grande del sonicador. Durante todo el proceso, el bote en el interior del sonicador está refrigerado con un bote con agua muy fría, ya que el proceso de sonicación hace que la mezcla llegue a temperaturas muy altas.

Después, se repitió el proceso con el otro bote de GO con MMA y la otra parte de la resina.

Una vez estaba toda la resina sonicada y mezclada con el MMA y el GO se lleva a una cámara de vacío durante aproximadamente 15 minutos para eliminar las posibles burbujas que se han creado durante los procesos de sonicación (Imagen 19).



*Imagen 19: Mezcla de resina, MMA y GO en la cámara de vacío*

Después se vierte la mezcla en el cartucho de impresión y se empieza a imprimir, también en un proceso que dura entre ocho y nueve horas. Se limpian las probetas durante 3 minutos con isopropanol, y posteriormente se curan durante noventa minutos a 80 grados centígrados.

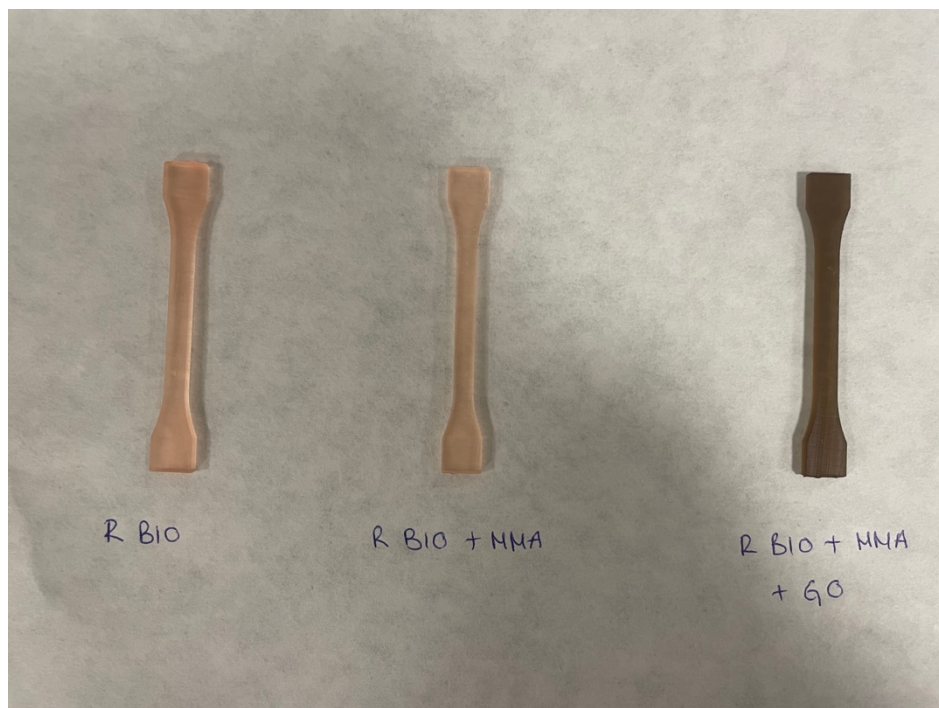


*Imagen 20: Probetas de resina, MMA y GO en la plataforma de la impresora*

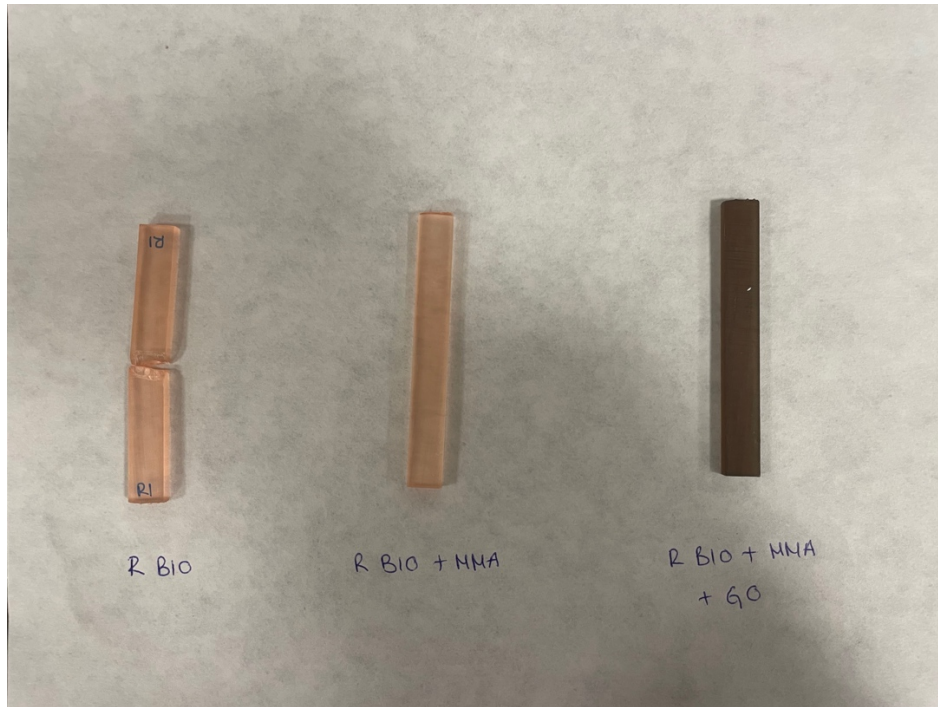
Después del curado, se cortan los soportes y se guardan en bolsas de plástico hasta ser ensayadas.

Una vez están los tres tipos de probetas en sus bolsas ya se ha terminado el proceso de fabricación y se pueden empezar los ensayos mecánicos.

De las 10 probetas de tracción (Imagen 21) que se han fabricado de los tres tipos de materiales, 5 de ellas se ensayan inmediatamente, y las otras 5 se meten en una cámara en una solución salina a 37°C para simular el envejecimiento que tendrían los scaffolds en el cuerpo humano.



*Imagen 21: Probetas de tracción de los tres materiales*

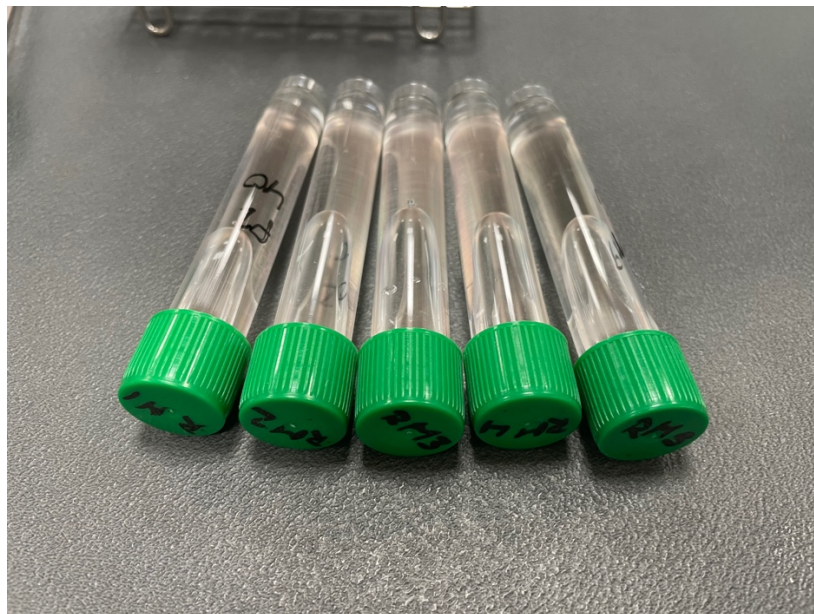


*Imagen 22: Probetas de flexión de los tres materiales*



*Imagen 23: Probetas de tracción de resina una vez envejecidas*





*Imagen 24: Probetas de tracción de resina y MMA una vez envejecidas*



*Imagen 25: Probetas de tracción de resina, MMA y GO una vez envejecidas*

Como se puede observar, en las fotografías tomadas de las probetas envejecidas (Imagen 23, 24 y 25), en los tres casos se han decolorado con respecto a las probetas no envejecidas que se ven en las imágenes anteriores. En los siguientes apartados, se observa si sólo se han decolorado o también han cambiado las propiedades mecánicas de los materiales.

## 6. Ensayos realizados

### 6.1 Ensayo de tracción

Se han realizado los ensayos de tracción tanto a las 15 probetas envejecidas como a las 15 probetas no envejecidas. Se realizan en la máquina mencionada en el apartado 4, donde un ordenador recoge los datos de fuerza soportada en kN y la carrera en mm, ambas con relación al tiempo en segundos.

Se acomoda la probeta en los cabezales de tracción, siendo que las pinzas de los cabezales sujeten las probetas por la parte superior e inferior más anchas. Una vez acomodadas las probetas, se inicia el ensayo mediante el ordenador conectado a la máquina de tracción, y las pinzas donde está colocada la probeta empiezan a separarse, mientras el ordenador dibuja una gráfica de lo que está sucediendo y recogiendo los datos, hasta la rotura de la probeta.

Se recogen estos datos en Excel y a partir de ellos se calcula la tensión en MPa y la deformación (adimensional), para cada probeta.

Se hace una gráfica tensión deformación para cada probeta y a partir de ésta se calcula el módulo de Young como la pendiente de la zona elástica (lineal).

Se recoge la fuerza máxima en N, la tensión máxima y la deformación máxima para cada probeta.

La tensión, para cada fuerza aplicada y para cada probeta se calcula como:

$$\sigma = \frac{F}{A} = \frac{F}{b * h}$$

Siendo  $\sigma$  la tensión, F la fuerza y A el área, es decir el espesor multiplicado por el ancho.

La deformación, para cada carrera se calcula como:

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{L_0}$$

Siendo  $\varepsilon$  la deformación,  $\Delta l$  la carrera y  $L_0$  la longitud inicial de la probeta, que en este caso eran 100 mm.

A continuación, se muestran las medidas de las 5 probetas de resina, las 5 probetas de resina y MMA y las 5 probetas de resina, MMA y GO, no envejecidas (Tabla 1):

|                        | Resina  | Resina + MMA | Resina + MMA + GO |
|------------------------|---------|--------------|-------------------|
| Fuerza máxima (N)      | 1081,88 | 1146,86      | 1153,63           |
| Tensión máxima (MPa)   | 72,45   | 77,24        | 77,47             |
| Deformación máxima (%) | 5,4     | 4,6          | 4,6               |
| Módulo de Young        | 1794,87 | 1700,16      | 1673,47           |

Tabla 1: Datos medios de las probetas de tracción no envejecidas

A continuación, se muestra un gráfico (Gráfico 4) con un ensayo representativo de cada tipo de material, se han seleccionado los datos de la probeta 5 de resina, la probeta 3 de resina + MMA y la probeta 4 de resina + MMA +GO.

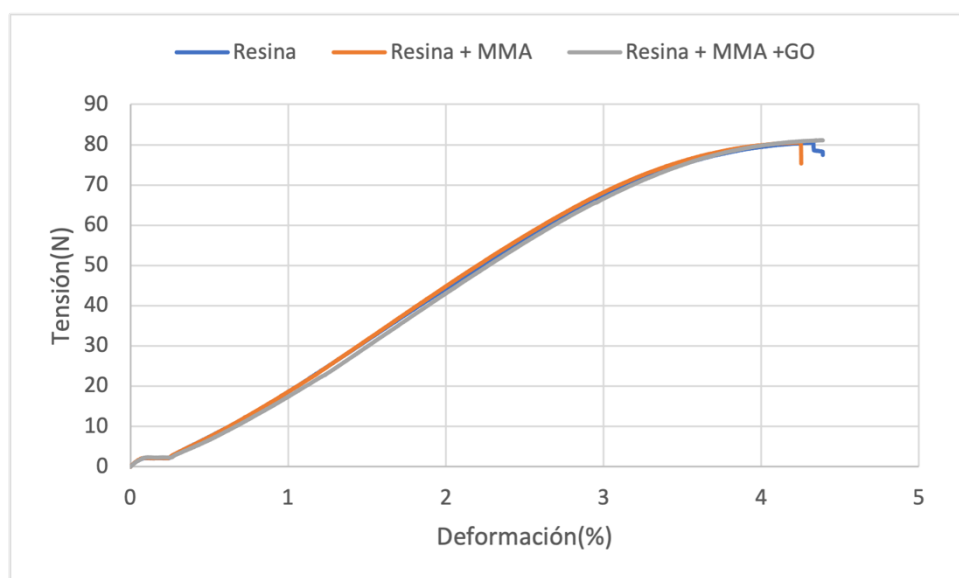


Gráfico 4: Curvas tensión-deformación de probetas no envejecidas ensayadas a tracción

Como se puede observar, los datos para los tres tipos de materiales son prácticamente iguales, tanto la deformación total, la tensión soportada y la forma de la curva tensión-deformación.

El módulo de Young disminuye en las probetas que contiene GO considerablemente, respecto a las otras dos. La probeta con mayor módulo de Young es la de resina.

En la siguiente tabla (Tabla 2) se muestran las medias de las 5 probetas de resina, las 5 probetas de resina y MMA, y las 5 probetas de resina, MMA y GO, envejecidas:

|                        | Resina  | Resina + MMA | Resina + MMA + GO |
|------------------------|---------|--------------|-------------------|
| Fuerza máxima (N)      | 722,77  | 728,61       | 685,39            |
| Tensión máxima (MPa)   | 47,08   | 47,98        | 44,81             |
| Deformación máxima (%) | 4       | 4            | 4                 |
| Módulo de Young        | 1232,87 | 1297,45      | 1212,48           |

Tabla 2: Datos medios de las probetas de tracción envejecidas

Se muestra un gráfico (Gráfico 5) de una probeta envejecida para cada tipo de material, como se ha hecho con las no envejecidas. En este caso, se selecciona la probeta de resina número 4, la probeta 1 de resina + MMA y la probeta 5 de resina, MMA y GO.

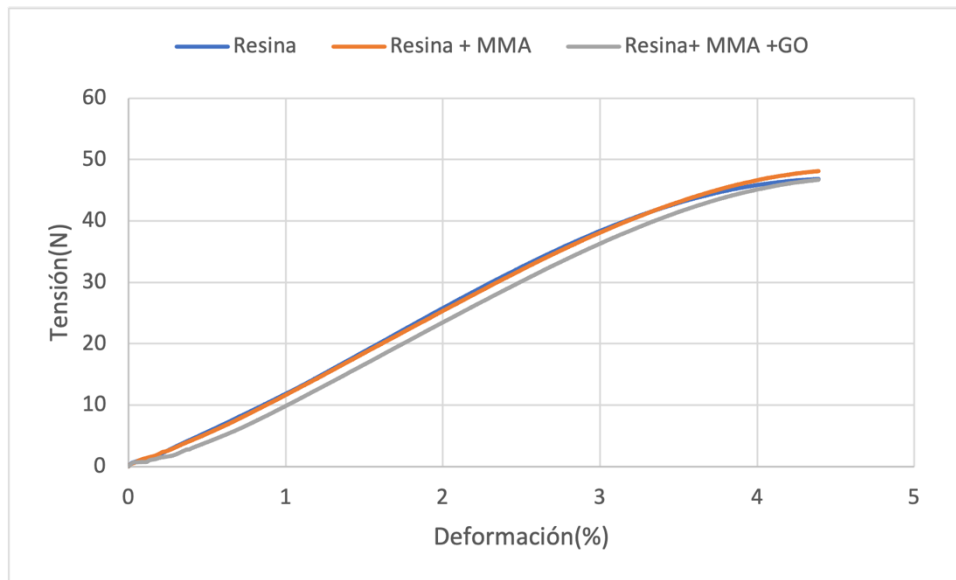


Gráfico 5: Curvas tensión-deformación de probetas envejecidas ensayadas a tracción.

Como se puede observar, las tres probetas envejecidas pierden resistencia a tracción con respecto a las no envejecidas.

El módulo de Young también disminuye en la probeta que contiene GO, pero en menor medida que en las probetas no envejecidas. La probeta con mayor módulo es la probeta de resina y MMA.

Además, entre ellas la que tiene menos resistencia a tracción es la probeta de resina, MMA y GO; habiendo sido el caso contrario en las probetas no envejecidas. Aun así, los valores medios de las tres probetas son muy similares y su curva tensión-deformación también. Siendo la curva de la resina y la resina + MMA prácticamente idénticas, y la curva de la resina + MMA + GO con valores un poco inferiores. Por lo tanto, se puede concluir que la adición de GO favorece el proceso de envejecimiento de la resina.

## 6.2 Ensayo de flexión

Se realiza el ensayo de flexión en la máquina de Ibertest también usada para los ensayos de tracción. Se cambian los cabezales. Todos los ensayos se hacen con una distancia en el apoyo inferior de 64 milímetros.

Se coloca la probeta de flexión en el apoyo mencionado anteriormente y se inicia el ensayo mediante el ordenador conectado a la máquina. El cabezal superior desciende sobre la probeta hasta rotura. El ordenador registra la fuerza en kN y la carrera en mm, ambas con respecto al tiempo en segundos.

Se exportan los datos a Excel y con la fuerza y la carrera se calcula la tensión en MPa y la deformación (adimensional).

Se hace una gráfica tensión-deformación para cada probeta y con la parte lineal de ésta se calcula el módulo de flexión.

Se recogen los datos de fuerza máxima en N, tensión máxima en MPa y deformación máxima para cada probeta.

La tensión para cada fuerza aplicada y cada probeta se calcula como:

$$\sigma = \frac{3 * F * L}{2 * w * h^2}$$

Siendo  $\sigma$  la resistencia a la flexión, F la fuerza en Newtons, L la distancia entre los soportes del cabezal de la máquina en milímetros, w el ancho de la probeta en milímetros y h el espesor de la probeta en milímetros al cuadrado.

La deformación para cada carrera se calcula como:

$$\varepsilon = \frac{6 * C * h}{L^2}$$

Siendo  $\varepsilon$  la deformación, C la carrera en milímetros, h el espesor de la probeta en milímetros y L la distancia entre los soportes del cabezal de la máquina en milímetros.

No se pudo realizar el ensayo de flexión en la probeta tres de resina + MMA ya que la impresión no salió bien y se imprimió inacabada, haciendo que fuese mucho más corta que las otras probetas.

A continuación, se muestran (Tabla 3) las medias de las 5 probetas de resina, las 4 probetas de resina + MMA y las 5 probetas de resina + MMA + GO:

|                        | Resina | Resina + MMA | Resina + MMA + GO |
|------------------------|--------|--------------|-------------------|
| Fuerza máxima (N)      | 199,25 | 195,5        | 186,32            |
| Tensión máxima (MPa)   | 117,87 | 110,74       | 113               |
| Deformación máxima     | 11%    | 6,4%         | 7,2%              |
| Módulo a flexión (MPa) | 2903,9 | 2723,9       | 2937              |

Tabla 3: Datos medios de las probetas de flexión

Se muestra (Gráfico 6) un ensayo representativo de cada tipo de probeta, en este caso se escoge la probeta 4 de las probetas de resina, la probeta 2 de las probetas de resina y MMA la probeta 2 de las probetas de resina, MMA y GO.

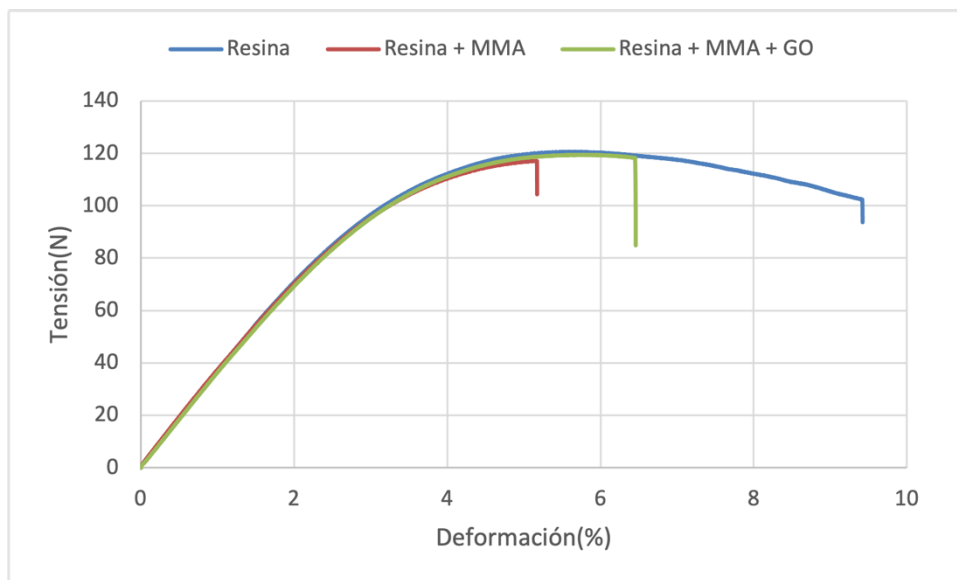


Gráfico 6: Curvas tracción-deformación de probetas ensayadas a flexión

## 6.3 Ensayo de dureza

Se han hecho ensayos de dureza en las probetas de tracción, tanto en las 15 probetas no envejecidas, como en las 15 probetas envejecidas. Se toman tres medidas de dureza en cada probeta una vez se han realizado los ensayos de tracción.

A continuación, se muestran (Tabla 4) las medidas tomadas en las probetas no envejecidas:

| Resina        | Medida 1 | Medida 2 | Medida 3 |
|---------------|----------|----------|----------|
| Probeta 1     | 69       | 71       | 71       |
| Probeta 2     | 72       | 71       | 65       |
| Probeta 3     | 69       | 70       | 70       |
| Probeta 4     | 69       | 69       | 68       |
| Probeta 5     | 72       | 71       | 71       |
| Resina +MMA   |          |          |          |
| Probeta 1     | 68       | 68       | 70       |
| Probeta 2     | 70       | 68       | 66       |
| Probeta 3     | 69       | 68       | 69       |
| Probeta 4     | 71       | 74       | 69       |
| Probeta 5     | 69       | 70       | 75       |
| Resina+MMA+GO |          |          |          |
| Probeta 1     | 67       | 65       | 68       |
| Probeta 2     | 71       | 72       | 72       |
| Probeta 3     | 69       | 69       | 68       |
| Probeta 4     | 69       | 68       | 70       |
| Probeta 5     | 69       | 69       | 69       |

Tabla 4: Datos de dureza de las probetas no envejecidas

Haciendo una media de la dureza de cada probeta y una media de las cinco probetas de cada tipo, se muestra un gráfico (Gráfico 7) con la dureza media para cada material:

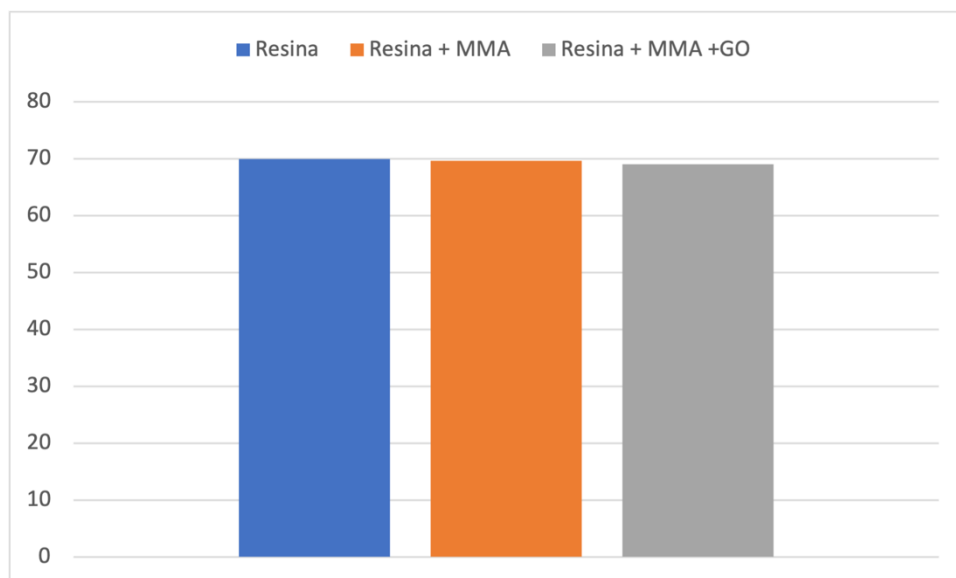


Gráfico 7: Ensayo de dureza en probetas no envejecidas

Siendo el 1 la media de las probetas de resina, 2 la media de las probetas de resina y MMA, y 3 la media de las probetas de resina, MMA y GO.

Como se puede observar no hay una gran diferencia de unas probetas a otras, pero si, al añadir estos materiales a la resina desciende levemente su dureza, siendo la diferencia poco significativa.

A continuación, se muestran (Tabla 5) las medidas tomadas en las probetas envejecidas:

| Resina           | Medida 1 | Medida 2 | Medida 3 |
|------------------|----------|----------|----------|
| Probeta 1        | 68       | 70       | 68       |
| Probeta 2        | 67       | 70       | 68       |
| Probeta 3        | 66       | 70       | 69       |
| Probeta 4        | 68       | 70       | 74       |
| Probeta 5        | 69       | 68       | 70       |
| Resina +MMA      |          |          |          |
| Probeta 1        | 74       | 65       | 62       |
| Probeta 2        | 62       | 63       | 70       |
| Probeta 3        | 68       | 67       | 67       |
| Probeta 4        | 70       | 69       | 70       |
| Probeta 5        | 69       | 68       | 69       |
| Resina + MMA+ GO |          |          |          |
| Probeta 1        | 65       | 69       | 69       |
| Probeta 2        | 69       | 68       | 66       |
| Probeta 3        | 69       | 65       | 69       |
| Probeta 4        | 67       | 68       | 68       |
| Probeta 5        | 67       | 66       | 68       |

Tabla 5: Datos de dureza de las probetas envejecidas

Haciendo una media de la dureza de cada probeta y una media de las cinco probetas de cada tipo, se muestra un gráfico (Gráfico 8) con la dureza media para cada material:

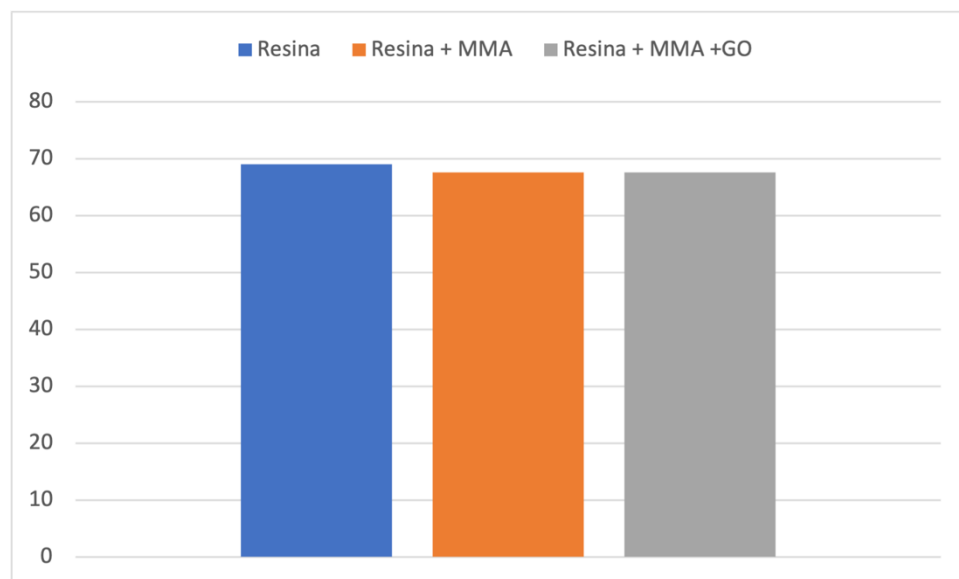


Gráfico 8: Ensayo de dureza en probetas envejecidas

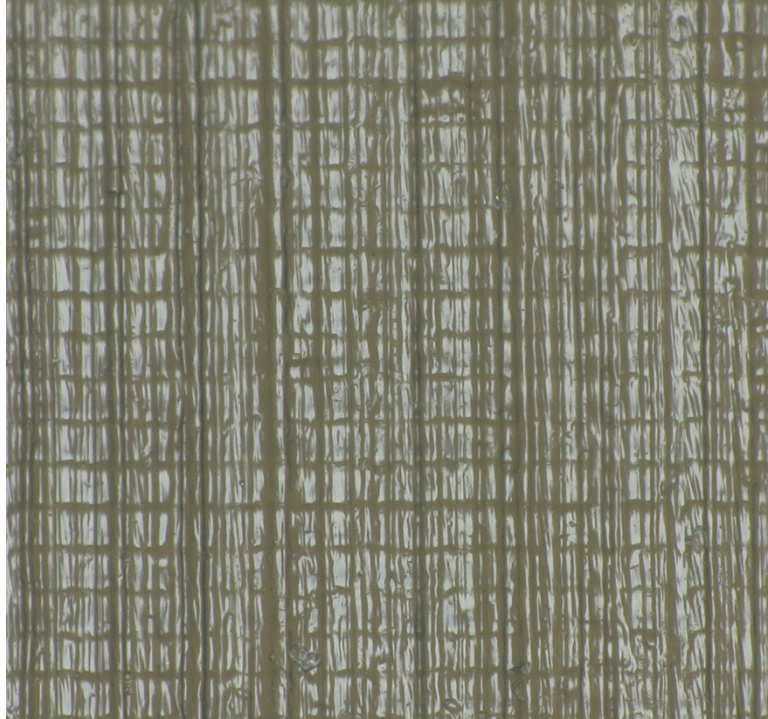


Siendo el 1 la media de las probetas de resina, 2 la media de las probetas de resina y MMA, y 3 la media de las probetas de resina, MMA y GO.

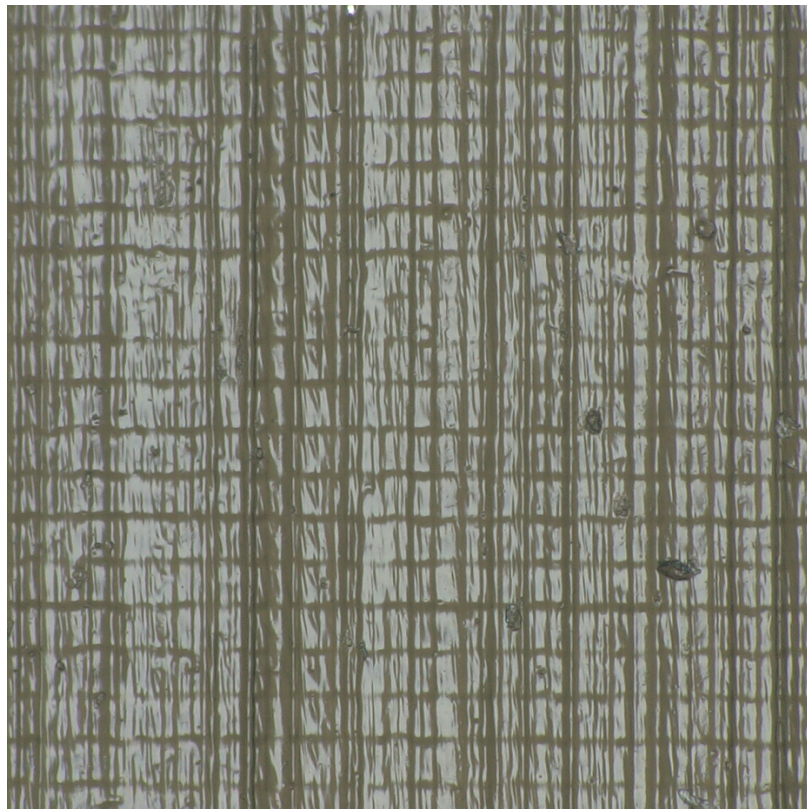
En el caso de las probetas envejecidas, se observa que en todos los casos la dureza baja con respecto a las no envejecidas. En el caso de las probetas de resina la bajada no es muy significativa, sin embargo, en las probetas con MMA y con MMA y GO la bajada es mayor. Como en el caso de las no envejecidas, las probetas con mezcla de materiales tienen una dureza menor que las probetas solo de resina. Con estos ensayos, se puede observar, al igual que en los ensayos de tracción, que la adición de GO favorece el proceso de envejecimiento de la resina.

## 6.4 Fotografías tomadas en el microscopio

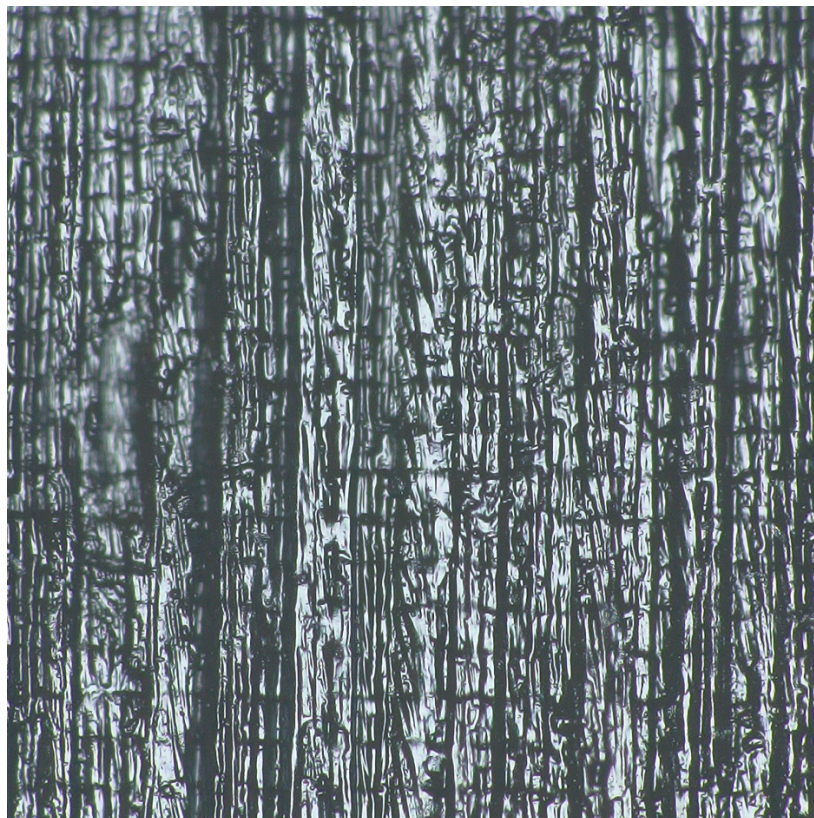
Primero se muestran imágenes de una de las probetas biológicas en el microscopio con una ampliación x300:



*Imagen 26: Ampliación x300 probeta de resina*

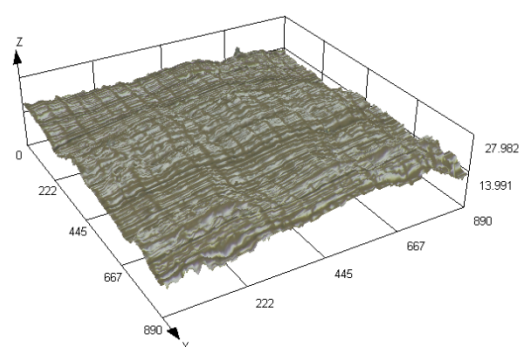


*Imagen 27: Ampliación x300 probeta de resina + MMA*

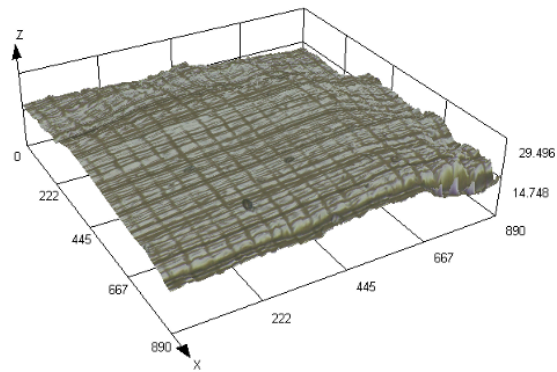


*Imagen 28: Ampliación x300 probeta de resina + MMA + GO*

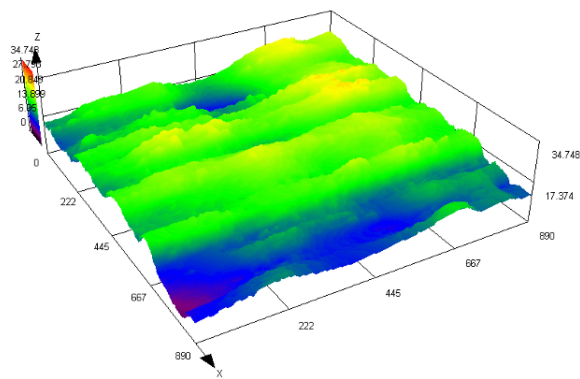
A continuación, se muestran imágenes en tres dimensiones generadas por el microscopio, de la superficie de cada probeta:



*Imagen 29: Representación en 3D de la rugosidad de la probeta de resina*



*Imagen 30: Representación en 3D de la rugosidad de la probeta de resina + MMA*



*Imagen 31: Representación en 3D de la rugosidad de la probeta de resina + MMA + GO*

Se ha medido en la ampliación del microscopio la distancia entre capas de impresión.



En primer lugar, la distancia medida entre nueve capas de la probeta de resina es:

| Capa | Distancia ( $\mu\text{m}$ ) |
|------|-----------------------------|
| 1    | 55.585                      |
| 2    | 44.805                      |
| 3    | 51.879                      |
| 4    | 55.416                      |
| 5    | 48.342                      |
| 6    | 56.595                      |
| 7    | 54.250                      |
| 8    | 49.521                      |
| 9    | 49.521                      |

Tabla 6: Distancia entre las capas de probeta de resina

|                                                |        |
|------------------------------------------------|--------|
| Distancia media entre capas ( $\mu\text{m}$ )  | 51.768 |
| Distancia máxima entre capas( $\mu\text{m}$ )  | 56.595 |
| Distancia mínima entre capas ( $\mu\text{m}$ ) | 44.805 |
| Sa (altura media aritmética) ( $\mu\text{m}$ ) | 1.081  |

Tabla 7: Datos de superficie de probeta de resina

Donde Sa es una medida de rugosidad, altura media aritmética, que es la diferencia media en altura desde el plano medio.

La distancia medida entre nueve capas de la probeta de resina y MMA es:

| Capa | Distancia ( $\mu\text{m}$ ) |
|------|-----------------------------|
| 1    | 45.984                      |
| 2    | 53.058                      |
| 3    | 49.521                      |
| 4    | 50.7                        |
| 5    | 54.237                      |
| 6    | 57.774                      |
| 7    | 54.237                      |
| 8    | 49.521                      |
| 9    | 50.7                        |

Tabla 8: Distancia entre las capas de probeta de resina + MMA

|                                                 |        |
|-------------------------------------------------|--------|
| Distancia media entre capas ( $\mu\text{m}$ )   | 51.748 |
| Distancia máxima entre capas( $\mu\text{m}$ )   | 57.774 |
| Distancia mínima entre capas ( $\mu\text{m}$ )  | 45.984 |
| Sa (altura media aritméticos) ( $\mu\text{m}$ ) | 1.668  |

Tabla 9: Datos superficie de probeta de resina + MMA

La distancia medida entre nueve capas de la probeta de resina, MMA y GO es:

| Capa | Distancia ( $\mu\text{m}$ ) |
|------|-----------------------------|
| 1    | 56.595                      |
| 2    | 57.774                      |
| 3    | 49.535                      |
| 4    | 54.250                      |
| 5    | 54.250                      |
| 6    | 58.953                      |
| 7    | 57.786                      |
| 8    | 58.965                      |
| 9    | 55.416                      |

*Tabla 10: Distancia entre las capas de probeta de resina + MMA +GO*

|                                                |        |
|------------------------------------------------|--------|
| Distancia media entre capas ( $\mu\text{m}$ )  | 55.947 |
| Distancia máxima entre capas ( $\mu\text{m}$ ) | 58.965 |
| Distancia mínima entre capas ( $\mu\text{m}$ ) | 49.535 |
| Sa (altura media aritmética) ( $\mu\text{m}$ ) | 0.607  |

*Tabla 11: Datos superficie de probeta de resina + MMA + GO*

Como se puede observar, la distancia media entre las capas es un poco mayor en la probeta de resina + MMA + GO, que en las otras dos probetas. La distancia mínima que se ha medido en esta probeta es significativamente mayor que en las otras dos.

Por otra parte, la altura media aritmética en la probeta de resina + MMA + GO es mucho menor que en las otras dos, por lo que se puede afirmar que en la impresión 3D con grafeno los materiales impresos tienen una superficie menos rugosa que los productos impresos sin el óxido de grafeno. Esto puede ser una ventaja para varias aplicaciones, pero una desventaja para otras.

## 7. Comparación y conclusiones

Primeramente, se van a comparar estos scaffolds con injertos óseos tradicionales u otros scaffolds.

Producir scaffolds por impresión 3D es un método más barato de fabricación que otros más tradicionales.

Por otra parte, las ventajas a subrayar de estos scaffolds frente a tratamientos convencionales u otros scaffolds de diferentes materiales, que consisten en la colocación de placas y tornillos para la fijación e inmovilización de los extremos de una fractura, es que estos scaffolds sirven tanto como para fijar al mismo tiempo que guían la formación del hueso y no son necesarias intervenciones quirúrgicas posteriores para su retirada, aparte de otros problemas de incompatibilidad, rechazo, inflamación, etc.

Es decir, el objetivo es que los scaffolds en un futuro sean capaces de promover el crecimiento óseo y que posteriormente de degraden a medida que el hueso real va creciendo.

Con respecto a los ensayos llevados a cabo para este proyecto, no se ha visto claramente la influencia de un material u otro ya que en general en todos los ensayos los resultados han sido muy parecidos para todos los materiales. Esto puede deberse a que la cantidad de probetas, y por lo tanto, de ensayos, era muy pequeña y puede ser poco representativa. Sin embargo, al no haberse producido reducciones en las propiedades mecánicas de la resina al añadir el GO, se puede concluir que el método de dispersión ha sido adecuado.

Con respecto a los ensayos de tracción de las probetas no envejecidas, las probetas con MMA tienen las dos una resistencia a tracción muy similar, y ligeramente mayor a la probeta de solo resina. Podría ser por efecto del MMA mezclado con la resina, o en el caso de la probeta con GO por efecto del mismo. Aparte del MMA, estas dos probetas tienen en común que para su proceso de fabricación se ha incluido la sonicación, puede ser que haber sonicado la resina le confiera una resistencia a la tracción mayor que a la no sonicada.

Habría que hacer estudios con muchas más muestras para sacar una conclusión clara, pero parece que el MMA y/o la sonicación hacen que las propiedades mecánicas de tracción mejoren ligeramente.

Las probetas envejecidas, también tienen valores muy parecidos entre ellas. Sin embargo, en este caso son las probetas de resina y resina + MMA las que tienen valores muy similares, y la probeta que tiene GO tiene una resistencia a tracción ligeramente menor, lo cual indica que la adición de GO puede favorecer el proceso de envejecimiento de las probetas.

Lo que se ve claramente, es un gran descenso de la resistencia a tracción en las probetas envejecidas con respecto a las no envejecidas. Por lo tanto, se puede afirmar que si estos materiales van a usarse para la fabricación de scaffolds las propiedades de tracción in vitro van a presentar valores menores que las probetas en seco. En el caso que más desciende es en la probeta con GO, ya que la probeta de resina y resina + MMA se quedan con unos valores ligeramente superiores.

En los ensayos de flexión también nos encontramos valores similares para la resistencia a flexión, aun así, la probeta que presenta mayor resistencia a flexión es la de resina y a continuación la de GO. Podría decirse que el MMA tiene un impacto negativo para este ensayo y el GO lo mejora, o como se ha dicho para los ensayos de tracción, puede que sea la acción de sonicar la que empeore estas condiciones.

En este ensayo hay una notable diferencia en la deformación, siendo la probeta de resina la más elástica con una deformación de un 11% lo que podría suponer una gran ventaja al adaptarse a nuevos tejidos óseos en pleno crecimiento el scaffold.

En los ensayos de dureza se han encontrado diferencias muy pequeñas entre los tres tipos de probeta. Siendo la probeta de resina no envejecida la que tiene una dureza mayor. Las probetas envejecidas tienen una dureza un poco menor, pero es una diferencia muy pequeña. También entre las probetas envejecidas, la de resina es la de dureza más alta.

Por último, en los ensayos superficiales, se ha observado que la distancia media entre capas de la probeta de resina y la probeta de resina + MMA son muy parecidas, y la de la probeta con GO es ligeramente mayor, esto puede ser porque la resina está especialmente fabricada para la impresora 3D, pero el añadir el GO puede suponer para la impresora menos exactitud o precisión a la hora de imprimir.

Sin embargo, la rugosidad en la probeta de GO es mucho menor que en las otras dos, por lo tanto, en este sentido se imprimió mejor y una menor rugosidad puede ser beneficiosa para piezas que se necesiten imprimir con mucha exactitud.

En conclusión, el GO no ha mejorado considerablemente las propiedades mecánicas, pero tampoco ha mostrado un descenso significativo en las mismas. Puede ser por la insuficiencia de datos, por la influencia del MMA en algunos casos o, sobre todo, por el proceso de sonicación que puede influir en las propiedades de los materiales.

Además, la resina está preparada especialmente para la impresión 3D y el MMA y GO no, por lo que podrían influir negativamente en la impresión, o la forma de imprimir puede influir en sus propiedades mecánicas.





## 8. Referencias

- 
- <sup>1</sup> González Hernández, A. (2020) Principios de bioquímica clínica y patología molecular. Elsevier.
- <sup>2</sup> <https://www.lifeder.com/matriz-osea/>
- <sup>3</sup> González Hernández, A. (2020) Principios de bioquímica clínica y patología molecular. Elsevier.
- <sup>4</sup> <https://www.pediatrintegral.es/>
- <sup>5</sup> Tortolini, P. y Rubio, S. (2012) Diferentes alternativas de rellenos óseos.  
[https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1699-65852012000300003](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852012000300003)
- <sup>6</sup> <https://m.facebook.com/drGuerreroTraumatologia>
- <sup>7</sup> Zárate-Kalfópulos, B. y Reyes-Sánchez, A. (2006) Injertos óseos en cirugía ortopédica. Órgano de difusión científica de la academia mexicana de cirugía.  
<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=x9DS3rbb16gC&oi=fnd&pg=PA217&dq=injertos+%C3%B3seos&ots=f36jT5fe7A&sig=yLSbx4Q0hzls1PfO5DgLVwPIDE#v=onepage&q=injertos%20%C3%B3seos&f=false>
- <sup>8</sup> Bose, S., Roy, M. y Bandyopadhyay, A. (2012). Recent advances in bone tissue engineering scaffolds.  
[https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167779912001151?casa\\_token=OOqdJ\\_634kEAAAAA:8dRIs3AWfCCjLdqqHuFcdwdachfMscFlvZs2aGARuJ9fq8WJ9dHojqAhIQHp4kH-FF6x0AGb](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167779912001151?casa_token=OOqdJ_634kEAAAAA:8dRIs3AWfCCjLdqqHuFcdwdachfMscFlvZs2aGARuJ9fq8WJ9dHojqAhIQHp4kH-FF6x0AGb)
- <sup>9</sup> [https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/19678/GonzalezRodriguez\\_Laura\\_TFM\\_2017.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/19678/GonzalezRodriguez_Laura_TFM_2017.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- <sup>10</sup> <https://hipertextual.com/2019/04/primera-impresora-3d>
- <sup>11</sup> Quan, H., Zhang, T., Xu, H., Luo, S., Nie, J., & Zhu, X. (2020). *Photo-curing 3D printing technique and its challenges*.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452199X19300714>
- <sup>12</sup> [https://sbags.es/wp-content/uploads/2020/09/SLA\\_I3D.1.jpg](https://sbags.es/wp-content/uploads/2020/09/SLA_I3D.1.jpg)
- <sup>13</sup> Quan, H., Zhang, T., Xu, H., Luo, S., Nie, J., & Zhu, X. (2020). *Photo-curing 3D printing technique and its challenges*.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452199X19300714>
- <sup>14</sup> Quan, H., Zhang, T., Xu, H., Luo, S., Nie, J., & Zhu, X. (2020). *Photo-curing 3D printing technique and its challenges*.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452199X19300714>
- <sup>15</sup> Lam, C.X.F, Mo, X.M , Teoh, S.H y Hutmacher, D.W. (2002) Scaffold development using 3D printing with starch-based polymer. Materials today. [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493102000127?casa\\_token=fpFFJwJOGYAAAAA:C-ZK6JduRpYyo4-we8YoTXc5smF72UI-kj22I4m8sRegmrUL1E4ZxvbynMiTg8xD6y0bncp2](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493102000127?casa_token=fpFFJwJOGYAAAAA:C-ZK6JduRpYyo4-we8YoTXc5smF72UI-kj22I4m8sRegmrUL1E4ZxvbynMiTg8xD6y0bncp2)
- <sup>16</sup> Do, A. (2018). *Functional 3D Tissue Engineering Scaffolds*.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081009796000094>
- <sup>17</sup> Labra López, L.I (2012) Métodos de preparación de grafeno y derivados a partir de grafito y su incursión en la obtención de nanocompuestos polímero/grafeno.  
<https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/460/1/Lorena%20Idaly%20Labra%20Lopez.pdf>

---

<sup>18</sup> [https://en.wikipedia.org/wiki/Acrylic\\_resin](https://en.wikipedia.org/wiki/Acrylic_resin)

<sup>19</sup> <https://formlabs.com/es/>

<sup>20</sup> [https://es.wikipedia.org/wiki/Metacrilato\\_de\\_metilo](https://es.wikipedia.org/wiki/Metacrilato_de_metilo)

<sup>21</sup> [https://www.equiposylaboratorio.com/portal/articulo-ampliado/proceso-de-sonicacion-\(principio-de-funcionamiento-baNo-de-ultrasonido\)](https://www.equiposylaboratorio.com/portal/articulo-ampliado/proceso-de-sonicacion-(principio-de-funcionamiento-baNo-de-ultrasonido))