



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

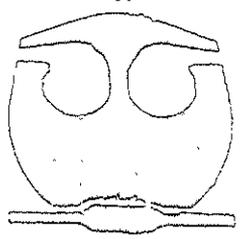
FACULTAD DE QUÍMICA

USOS MÉDICOS DEL PHB y PHA

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE: INGENIERA QUÍMICA

P R E S E N T A: CITLALI ALEJANDRA ATRIANO ALCÁNTARA



FACULTAD DE QUÍMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: Profesor Marco Antonio Uresti Maldonado

Vocal: Eduardo Marambio Dennett

Secretario: Maria del Socorro Alpizar Ramos

1er Suplente: Rodolfo Torres Barrera

2do Suplente: Minerva Estela Téllez Ortiz

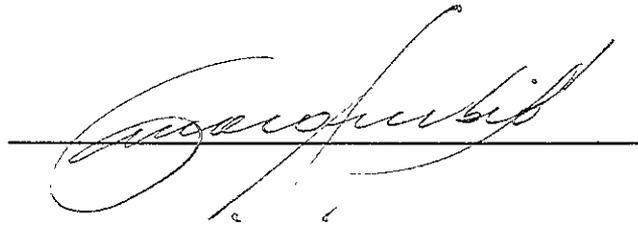
Sitio donde se desarrollo el tema:

U.N.A.M.

Facultad de Química

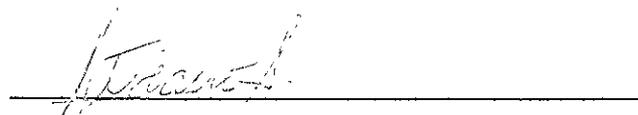
Nombre del asesor:

Eduardo Marambio Dennett



Nombre del Sustentante:

Citlali Alejandra Atriano Alcántara



En memoria de...

*Ing. Víctor Manuel Alcántara Magaña
Amadísimo abuelo*

Agradecimientos:

A Dios por darme vida, salud y mucho amor

A mi familia:

Mami, Kahu, Tebis

Ustedes son lo más importante en mi vida, gracias por sobrevivir a mí.

Mary, Magos, Chala, Lala, Rebe y Nel

*Los amo, sin su apoyo, su asilo político, las compus
y su gran cariño nunca lo hubiera logrado, gracias!!!!*

*Este trabajo lo termine con
una ayudadota de mis amigos:*

Dafne, Angy, Roberto, Lenin, Yanira y Cindy

*Por su apoyo durante la investigación; pero más que
nada por su amistad en todo momento, son geniales!!!!*

Ivonne

*Por ser mi sensey, y enseñarme que cuando un
ciclo se está cerrando, otro se abre al mismo tiempo*

Al club de la burbuja:

Christian, Miguel, Moy, Elías, Edgar y Paco

*Por ser mi familia durante el tiempo en la facultad sobre todo por saber ser
amigos, aceptándome y cueriéndome como soy.*

Ale

Índice

- ❖ Glosario
- ❖ Introducción
- ❖ Conceptos generales
 - ¿Qué son los PHA's?
 - ¿Qué es el PHB?
 - Estructura química
 - Formula química
 - Nomenclatura
 - Características físicas
 - Tablas y gráficas comparativas
- ❖ Capítulo 1 Obtención
 - Biosíntesis
 - Producción
- ❖ Capítulo 2 Interacción con organismos biológicos
 - Biocompatibilidad
 - Biodegradabilidad
- ❖ Capítulo 3 Usos generales
- ❖ Capítulo 4 Usos farmacéuticos
- ❖ Capítulo 5 Usos ortopédicos
- ❖ Capítulo 6 Usos dentales
- ❖ Capítulo 7 Ingeniería de tejidos
 - Reparación de nervios
 - Reparación de venas y arterias
 - Reparación de válvulas del corazón
- ❖ Conclusiones
- ❖ Bibliografía

Glosario

- ✦ **ABSORCIÓN:** Es el proceso de incorporar una sustancia o propiedad de un material dentro de otro material. Un sólido o un líquido pueden absorber un gas, así como un sólido puede absorber un líquido. La materia puede absorber la luz.
- ✦ **ÁCIDO:** Sustancia que libera iones hidrógeno (H^+) en agua. Compuesto químico cuya propiedad fundamental es la de reaccionar con las bases produciendo sales. Una solución es ácida si se concentran más iones hidrógenos (H^+) que iones hidroxilo (OH^-), que se expresa a través de un valor bajo en la escala del pH. Hay dos tipos de ácidos: los hidrácidos que no contienen oxígeno y se obtienen por la combinación de hidrógeno con un halógeno (F, Cl, Br I); y oxácidos que contienen oxígeno, hidrógeno y un no metal.
- ✦ **ÁCIDOS GRASOS,** , nombre común de un grupo de ácidos orgánicos, con un único grupo carboxilo ($COOH$), entre los que se encuentran los ácidos saturados (hidrogenados) de cadena lineal producidos por la hidrólisis de las grasas. El grupo incluye asimismo todos los demás ácidos saturados de cadena lineal e incluso ácidos con cadena ramificada o estructura cíclica. Los ácidos grasos pueden ser también no saturados o insaturados, es decir, pueden presentar dobles enlaces. El ácido metanoico (fórmico), $HCOOH$, y el ácido etanoico (acético), CH_3COOH , son los ácidos grasos más simples. Ambos tienen sabor amargo, irritan la piel y tienen un olor penetrante. Otros ácidos grasos saturados con estructura más complicada son el butanoico, el hexanoico y el octanoico, todos con un olor desagradable. Los ácidos esteárico y palmítico son materiales grasientos que tienen poco olor.
- ✦ **ADN (ácido desoxirribonucleico):** Sustancia perteneciente al núcleo que es portadora de la información genética de todos los organismos vivos.
- ✦ **ADSORCIÓN:** Proceso por el cual se concentran moléculas de una sustancia seleccionada sobre la superficie de un cuerpo sólido.
- ✦ **AEROBIO:** Ser vivo que necesita oxígeno para vivir. Generalmente aplicado a bacterias y protozoos.
- ✦ **ALCALINIZACIÓN:** Es cuando se agregan sustancias alcalinas para lograr elevar el pH de una solución acuosa.
- ✦ **ALCALINO:** Lo opuesto de un ácido. También llamado base. Se dice del suelo con pH mayor que 7,5.
- ✦ **ALCOHOL:** Grupo de compuestos orgánicos caracterizados por la presencia del grupo hidroxilo. Derivado de hidrocarburo en que se sustituyen uno o más hidrógenos por grupos oxidrilos. (metanol, alcohol etílico)
- ✦ **ANABOLISMO:** Etapa de proceso metabólico que utiliza la energía a partir de compuestos obtenidos por el alimento para crear compuestos complejos tales como proteínas, ácidos nucleicos e hidratos de carbono.
- ✦ **ANAEROBIO:** Ser vivo o proceso de vida que no necesita oxígeno.
- ✦ **ANTIBACTERIANO:** Sustancia que tiene la función de impedir el crecimiento de las bacterias, destruyéndolas.
- ✦ **AUTÓTROFO:** Dícese de los organismos que se nutren de por sí, sin la cooperación de otros. Es aquél ser vivo que produce su propia materia orgánica a través de procesos químicos o fóticos. (ej: plantas con clorofila).
- ✦ **BACTERIA:** Grupo unicelular o multicelular de microorganismos, no tiene un núcleo diferenciado. De la escala de seres vivos es lo más primitivo y lo más resistente a todos los hábitats, se multiplican muy rápidamente y viven a expensas del medio y del organismo al que han invadido. Puede ser aerobias o anaerobias. Son agentes de fermentación, putrefacción y transformación de las materias orgánicas en gas y sustancias inertes que

pueden volver al ciclo natural, fijan el gas atmosférico y fijan el nitrógeno en el suelo suministrándolo a los vegetales. Juegan un rol muy importante en el tratamiento biológico de las aguas residuales, así como en las plantas de compostaje y en la biodegradación de los materiales.

- ✦ **BARRERA:** Término utilizado en envases para definir aquellos polímeros o resinas que protegen al producto envasado durante su tiempo de vida de estantería y tienen una permeabilidad al oxígeno a 23°C menor que 100 cm³.mil/m².día.atm. El PVDC, EVOH, FVA, poliamida PET ,etc son polímeros de barrera y son buenas barreras a olores. Las poliolefinas son buenas barreras a vapor de agua pero no son buenas barreras al oxígeno.
- ✦ **BARRERA FUNCIONAL:** Es cualquier capa constitutiva de un envase plástico que bajo condiciones de uso normales o predecibles reduce toda posible transferencia de materia (migración y permeación) de cualquier capa del envase al alimento por debajo de las cantidades que podrían causar deterioro de sus características organolépticas o poner en peligro la salud humana (nivel toxicológicamente no significativo).
- ✦ **BIODEGRADABLE:** Material capaz de ser descompuesto en sustancias naturales como dióxido de carbono, agua y biomasa (humus) por procesos biológicos especialmente por acción de los microorganismos.
- ✦ **BIODEGRADACIÓN:** Es el consumo de sustancias por parte de microorganismos siguiendo vías metabólicas catalizadas por enzimas segregadas por aquéllos, y su velocidad depende de condiciones ambientales tales como: temperatura, humedad, oxígeno y flora microbiana (antagonismo, sinergismo, competición entre microorganismos).
- ✦ **BIODESINTEGRACIÓN (Biofragmentación):** Fenómeno por el cual un producto pierde su integridad a través de la acción de agentes biológicos sobre el mismo. Se denomina así al deterioro micro biológico de mezclas de polímeros como el polietileno con almidones, utilizados en la fabricación de bolsas, donde se observa la ruptura del objeto plástico en fragmentos más pequeños debido al ataque enzimático de la fracción amilacia del material.
- ✦ **BIODETERIORO:** Término utilizado para referirse al deterioro de los productos alimenticios causado por bacterias, hongos, levaduras, insectos y roedores. Para que se produzca la reacción microbiana se requiere en general la presencia de humedad y temperatura. El biodeterioro es también causado por el proceso normal de envejecimiento (senescencia) que ocurre en los organismos vivos como en la fruta y los vegetales.
- ✦ **BIOELECTRICIDAD** Estudia la actividad bioeléctrica, base fundamental del sistema nervioso y de la mayoría de los procesos vitales. El ingeniero bioeléctrico investiga estos procesos y utiliza las señales bioeléctricas para fines diagnósticos. Los desarrollos de esta especialidad han conducido a la invención del marcapasos, el desfibrilador y el electrocardiógrafo.
- ✦ **BIOMASA:** Se denomina de esta manera a la cantidad de materia viva en un área determinada. Es el conjunto de la materia biológicamente renovable (madera, celulosa, almidón, etc).
- ✦ **BIOMECAÁNICA** La biomecánica estudia el sistema osteoarticular y muscular como estructuras mecánicas sometidas a movimientos y fuerzas. Esto incluye el análisis del modo de andar humano y la investigación de las fuerzas deformantes que sufre el cuerpo en un accidente. La biomecánica también estudia otros sistemas y órganos corporales, como el comportamiento de la sangre como fluido en movimiento, la mecánica de la respiración, o el intercambio de energía en el cuerpo humano. Las aplicaciones de la biomecánica van, por tanto, desde el diseño de cinturones de seguridad para automóviles hasta el diseño y utilización de máquinas de circulación extracorpórea (utilizadas durante la cirugía cardíaca para sustituir las funciones cardíacas y pulmonares).
- ✦ **BIOMETANIZACIÓN:** Es el tratamiento anaeróbico de los residuos de envases que produce metano y residuos orgánicos estabilizados, pero excluyendo dicho proceso en el caso del relleno sanitario.

- ✦ **BIOPSIA**, obtención y examen microscópico de tejido de un sujeto vivo, con el objeto de diagnosticar una enfermedad. La principal aplicación de la biopsia es la detección precoz del cáncer. En los casos avanzados, la biopsia se emplea para determinar la naturaleza del tumor maligno y para conocer los efectos del tratamiento. La biopsia también se utiliza para establecer el diagnóstico de otras enfermedades, como *neuropatías* (trastornos nerviosos, como el envenenamiento por plomo) y *miopatías* (trastornos musculares como la distrofia muscular), así como para determinar la causa de las infecciones crónicas.¹
- ✦
- ✦ **BIOQUÍMICA**: Es la ciencia que estudia la composición química de los seres vivos y los fenómenos químicos que se dan en su desarrollo y comportamiento.
- ✦ **BIOTECNOLOGÍA**: Es cualquier aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos, organismos vivos o sus derivados para crear o modificar productos o procesos para un uso específico.
- ✦ **CARBOHIDRATOS (GLÚCIDOS)**: $C_x(H_2O)_y$ y Compuestos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno. Son el primer producto de la fotosíntesis y actúan como transportadores y almacenadores en animales, plantas y microorganismos. Son sustancias que componen los alimentos, proporcionando las calorías necesarias para el crecimiento y movimiento. Ej: glucosa, sacarosa y celulosa.
- ✦ **CATABOLISMO**: Es parte del proceso metabólico que tiene por finalidad la producción de energía. Consiste en la ruptura de los compuestos orgánicos complejos con la consiguiente producción de energía.
- ✦ **CATALIZADOR**: Una sustancia que acelera una reacción química, pero que no se consume en el proceso. En las reacciones de polimerización, se utilizan catalizadores especiales como los peróxidos que forman parte del polímero. La concentración de catalizador de polimerización utilizada tiene influencia en la dimensión del polímero y por ende en su peso molecular final.
- ✦ **CATION**: Ión de carga positiva.
- ✦ **CÉLULA**: Es el componente estructural básico de todas las formas vivientes.
- ✦ **CICLO DE VIDA DE UN PRODUCTO**: Comprende los procesos de fabricación, distribución, consumo y eliminación de un producto.
- ✦ **CICLO DEL CARBONO**: Se inicia en la reserva atmosférica pasando sucesivamente a los productores y consumidores y de ahí a los consumidores para retornar a la atmósfera, en la que la concentración media de dióxido de carbono es de 320 p.p.m. El carbono permanece en la atmósfera por su escasa reactividad durante unos 100 años a partir de su emisión. Los productores lo incorporan a la cadena alimentaria como dióxido de carbono, a través de la fotosíntesis, los consumidores lo reciben al alimentarse de los productores y los descomponedores al actuar sobre cadáveres y residuo orgánicos. Estos dos últimos los restituyen en forma de dióxido de carbono por medio de la respiración.
- ✦ **CLORURO DE VINILO**: Monómero gaseoso (VC: $CH_2=CHCl$) utilizado para la fabricación del PVC. (Policloruro de vinilo). La legislación del Mercosur y el CAA establecen un máximo permitido en el envase de 1 mg/kg y de 0,01 mg/kg de migración en el alimento.
- ✦ **COEXTRUSIÓN**: Extrusión simultánea de más de un polímero. Es el proceso de elaboración de una estructura multicapa (botella, film o lámina) por la extrusión simultánea de dos o más polímeros.
- ✦ **COGENERACIÓN**: Producción simultánea de dos tipos de energía con el mismo consumo de combustible. Los sistemas de cogeneración más comunes hoy en día utilizan procesos de combustión o de co-combustión para producir electricidad (mediante turbina) como producto principal y vapor y/o agua caliente como derivados. La electricidad generalmente se vende a empresas de servicio público o se utiliza para procesos industriales adyacentes, mientras que el vapor de agua y agua caliente se suministran a

compañías líderes para uso industrial o calefacción. Cuando se quemán combustibles en las calderas típicas, la cogeneración es significativamente más eficaz en cuanto a producción de energía que la sola generación de electricidad. En una instalación con cogeneración podemos extraer aproximadamente el 75% del valor energético del combustible, mientras que sólo obtenemos el 35% cuando producimos electricidad solamente. (Singer, Joseph G., "Energía de las Resinas en Combustión", cuarta edición. Ingeniería de la Combustión, Inc., Windsor, Conn., 1991; Lund, Hebert F., "Manual del Reciclado de Mc Graw-Hill", Mc Graw-Hill, Inc., Nueva York, 1993.)

- ✦ **COHESIÓN:** El estado por el cual las partículas de una sustancia se mantienen unidas por fuerzas de unión químicas.
- ✦ **COLIFORME:** Es una bacteria común en el intestino de los vertebrados, entre ellos el hombre. Su presencia en las aguas, con índices altos, se toma como indicador de contaminación por excremento humano.
- ✦ **COLORANTES (ADITIVOS):** Comprende los pigmentos que forman una dispersión fina en los polímeros y las tinturas (dyestuffs) que forman una solución sólida con el material plástico. Ambos tipos de sustancias colorean la masa del plástico. Los pigmentos se clasifican en: 1-Inorgánicos: dióxido de titanio (blanco), sulfuros de Cd o sulfoseleniuros (amarillo, rojo, marrón), negro de humo (negro) 2-Orgánicometálicos: antraquinonas (azul, verde) Las tinturas son sustancias orgánicas, muy usadas también en la industrial textil. Las concentraciones usuales varían entre 10 y 1000 ppm.
- ✦ **COMPOSTA:** Son los residuos orgánicos estabilizados como humus que se obtienen por procesos biológicos a partir de los residuos orgánicos sólidos o líquidos domiciliarios.
- ✦ **COMPOSTAJE:** Tratamiento aerobio o anaerobio de las partes orgánicas de los residuos que produce residuos orgánicos estabilizados que se utilizan como fertilizantes y abonos para ciertos cultivos. Los residuos de envases para el compostaje deben ser biodegradables de manera que no dificulten la recolección por separado de los residuos.
- ✦ **COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (VOC):** Denominación de un grupo de compuestos orgánicos que se evaporan fácilmente y contribuyen a la polución del aire. Incluyen hidrocarburos y compuestos orgánicos complejos, que están involucrados en el daño a la capa de ozono.
- ✦ **COMPUESTOS ORGANOCOLORADOS:** Se forman por la unión de átomos de hidrógeno y carbono. Son componentes fundamentales de los seres vivos. Cuando se unen con otros compuestos químicos, especialmente los halógenos, (fluor, cloro, bromo, yodo) se denominan organocolorados. También se producen artificialmente en disolventes, pesticidas, clorofenos, clorobencenos y algunos plásticos. Hay dos tipos de compuestos organocolorados peligrosos: dioxinas (policlorodibenzodioxinas) y furanos, (policlorodibenzofuranos). Estos compuestos no pueden ser degradados biológicamente y son solubles en grasas, por lo que son bioacumulables.
- ✦ **COPOLÍMERO:** Polímero obtenido por reacción de, al menos dos tipos diferentes de monómeros.
- ✦ **CRISTALINIDAD:** Porcentaje de estructuras cristalinas en un material. La cristalinidad del HDPE (polietileno de alta densidad) es aproximadamente 80%.
- ✦ **CRISTALINIDAD:** Porcentaje de estructuras cristalinas en un material. La cristalinidad del HDPE (polietileno de alta densidad) es aproximadamente 80%.
- ✦ **DEMANDA BIOLÓGICA O BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO):** Indica la cantidad de oxígeno consumida por los procesos biológicos en condiciones estandarizadas (5 días a 20°C) para degradar por oxidación la materia orgánica biodegradable del agua. Se expresa en mg /l y es una medida del grado de contaminación del agua.
- ✦ **DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO(COD):** Indica la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar toda la materia orgánica e inorgánica presente en el agua o en aguas residuales. Se expresa como la cantidad de oxígeno consumida en la oxidación de la materia orgánica

(biodegradable y otras) e inorgánica. Así la demanda química de oxígeno de un efluente industrial es normalmente mayor que la DOB (Demanda biológica de Oxígeno). La relación entre ambas respectivamente es 1.5 a2 y se expresa en mg/l

- ✦ **DENITRIFICACIÓN:** Proceso de reducción de los nitratos del suelo a nitrógeno molecular por acción de determinadas bacterias.
- ✦ **DENSIDAD:** Masa por unidad de volumen de una sustancia, usualmente se expresa en g/cm³. La densidad indica el empaquetamiento molecular de una sustancia. Por ejemplo el agua en estado líquido tiene una densidad de 1 g/cm³ mientras que el mercurio líquido tiene una densidad de 13,59 g/cm³.
- ✦ **DESCOMPOSICIÓN:** Acción de reducir o transformar un compuesto en otro. Este término se utiliza para indicar la transformación de la materia orgánica en compuestos inorgánicos simples por la acción de los microorganismos.
- ✦ **DESECHOS:** Cualquier objeto o residuo del cual se desprende quien lo posee, o tenga obligación de desprenderse en virtud de las disposiciones nacionales en vigor (Directiva75/442/CEE del Consejo de la Comunidad Europea).
- ✦ **DESHIDRATACIÓN:** Es la pérdida de agua de un organismo. En petroquímica se entiende como la extracción del agua del petróleo bruto. Utilizando para ello agentes desecantes como la sal marina, bauxita o alúmina activada.
- ✦ **DESINFECCIÓN:** Mecanismo utilizado para matar microorganismos: Algunos métodos de desinfección incluyen el uso de radiación gama e ultravioleta.
- ✦ **DESINFECTANTE:** Preparación empleada para la destrucción de microorganismos patógenos.
- ✦ **DESPOLIMERIZACIÓN:** Proceso que reduce las cadenas largas de los polímeros a oligómeros de cadenas cortas o monómeros.
- ✦ **DIFUSIÓN:** Transporte de materia debido al movimiento al azar de las partículas, ocurre como resultado de un proceso natural que tiende a igualar las concentraciones de una especie dada de partículas en un medio ambiente determinado. El proceso de difusión de moléculas pequeñas a través, o bien del exterior a dentro o del interior hacia fuera, en los materiales plásticos aparece y es de gran importancia tanto en el procesado de dichos materiales como en el uso de los mismos. La disolución de un polímero en un disolvente implica la difusión del disolvente dentro del polímero. La formación de un plastigel a base PVC y un plastificante tiene lugar a través de la difusión del plastificante dentro del polímero. La facilidad con que un gas pasa a través de una película de un material plástico es de gran importancia en el sector de envases.
- ✦ **DIGESTIÓN:** Solubilización y asimilación de sustancias orgánicas por procesos enzimáticos o por acción de bacterias.
- ✦ **DIÓXIDO DE CARBONO (CO₂):** Gas incoloro que es producido por la respiración animal, fermentación y por quemado de hidrocarburos. Es tomado por las plantas durante el proceso de fotosíntesis y espirado por éstas en ausencia de luz. Compuesto gaseoso que se encuentra como componente normal en la atmósfera terrestre. No es tóxico y forma parte de la corteza terrestre en un 0,035%. Es el causante principal del efecto invernadero.
- ✦ **ENZIMA,** cualquiera de las numerosas sustancias orgánicas especializadas compuestas por polímeros de aminoácidos, que actúan como catalizadores en el metabolismo de los seres vivos. Con su acción, regulan la velocidad de muchas reacciones químicas implicadas en este proceso. Las enzimas se clasifican en varias categorías: hidrolíticas, oxidantes y reductoras, dependiendo del tipo de reacción que controlen. Las enzimas hidrolíticas aceleran las reacciones en las que una sustancia se rompe en componentes más simples por reacción con moléculas de agua. Las enzimas oxidativas, conocidas como oxidasas, aceleran las reacciones de oxidación, y las reductoras las reacciones de reducción en las que se libera oxígeno. Otras enzimas catalizan otros tipos de reacciones. Las enzimas se denominan añadiendo *ase* al nombre del sustrato con el cual reaccionan. La enzima que controla la

- descomposición de la urea recibe el nombre de ureasa; aquellas que controlan la hidrólisis de proteínas se denominan proteasas. Algunas enzimas como las proteasas tripsina y pepsina, conservan los nombres utilizados antes de que se adoptara esta nomenclatura
- ✦ GEN, unidad de herencia, partícula de material genético que determina la herencia de una característica determinada, o de un grupo de ellas. Los genes están localizados en los cromosomas en el núcleo celular y se disponen en línea a lo largo de cada uno de ellos. Cada gen ocupa en el cromosoma una posición, o locus. Por esta razón, el término *locus* se intercambia en muchas ocasiones con el de *gen*. El material genético es el ácido desoxirribonucleico, o ADN
 - ✦ INGENIERÍA BIOQUÍMICA. Estudia las interacciones químicas entre el organismo y los materiales artificiales. Éstos nunca son inertes, siempre provocan un cierto grado de reacción o rechazo. La especialidad más implicada en este fenómeno es la cirugía ortopédica: se trata de obtener prótesis articulares que generen el menor rechazo posible en el organismo y sean capaces de integrarse o adherirse de la manera más firme al hueso adyacente, consiguiendo duraciones superiores a las actuales. Se han desarrollado asimismo implantes para sustituir arterias fabricados en tejido acrílico que evita la formación de coágulos. Para proteger los implantes electrónicos se encapsulan en silicona, lo que facilita la integración tisular.
 - ✦ METABOLISMO: las células tienen también muchos otros tipos de moléculas. Estos compuestos desempeñan funciones muy diversas, como el transporte de energía desde una zona de la célula a otra, el aprovechamiento de la energía solar para conducir reacciones químicas, y como moléculas colaboradoras (cofactores) en las acciones enzimáticas. Todas éstas, y la misma célula, se hallan en un estado de variación constante. De hecho, una célula no puede mantenerse viva a menos que esté continuamente formando y rompiendo proteínas, hidratos de carbono y lípidos; reparando los ácidos nucleicos dañados y utilizando y almacenando energía. El conjunto de estos procesos activos y dependientes de la energía se denomina metabolismo. Uno de los objetivos principales de la bioquímica es conocer el metabolismo lo suficiente como para predecir y controlar los cambios celulares. Los estudios bioquímicos han permitido avances en el tratamiento de muchas enfermedades metabólicas, en el desarrollo de antibióticos para combatir las bacterias, y en métodos para incrementar la productividad industrial y agrícola. Estos logros han aumentado en los últimos años con el uso de técnicas de ingeniería genética.¹
 - ✦ POLIMERASA, REACCIÓN EN CADENA DE LA (RCP), técnica de biología molecular mediante la cual un pequeño fragmento de ácido desoxirribonucleico (ADN) se clona o duplica varias veces para obtener copias múltiples. La RCP puede utilizarse para identificar individuos a partir de cantidades mínimas de tejidos o sangre, para diagnosticar enfermedades genéticas y para investigar la evolución. La RCP opera en forma de ciclos. Cada ciclo duplica la cantidad de ADN, por lo que permite obtener hasta mil millones de copias de un solo fragmento en unas pocas horas. La técnica es sencilla y pueden utilizarla científicos sin demasiada formación en biología molecular. Los elementos necesarios para llevarla a cabo se comercializan en forma de juego, y se utilizan en medios muy variados, desde la investigación forense hasta el diagnóstico clínico.
 - ✦ POLÍMEROS: la materia está formada por moléculas que pueden ser de tamaño normal o moléculas gigantes llamadas polímeros. Los polímeros se producen por la unión de cientos de miles de moléculas pequeñas denominadas monómeros que forman enormes cadenas de las formas más diversas. Algunas parecen fideos, otras tienen ramificaciones, algunas más se asemejan a las escaleras de mano y otras son como redes tridimensionales. Existen polímeros naturales de gran significación comercial como el algodón, formado por fibras de celulosas. La celulosa se encuentra en la madera y en los tallos de muchas plantas, y se emplean para hacer telas y papel. La seda es otro polímero natural muy apreciado y es una poliamida semejante al nylon. La lana, proteína del pelo de las ovejas, es otro ejemplo. El

hule de los árboles de hevea y de los arbustos de Guayule, son también polímeros naturales importantes. Sin embargo, la mayor parte de los polímeros que usamos en nuestra vida diaria son materiales sintéticos con propiedades y aplicaciones variadas. Lo que distingue a los polímeros de los materiales constituidos por moléculas de tamaño normal son sus propiedades mecánicas. En general, los polímeros tienen una excelente resistencia mecánica debido a que las grandes cadenas poliméricas se atraen. Las fuerzas de atracción intermoleculares dependen de la composición química del polímero y pueden ser de varias clases

- ✦ **PROTEÍNAS:** las proteínas son moléculas grandes formadas por pequeñas subunidades denominadas aminoácidos. Utilizando sólo 20 aminoácidos distintos, la célula elabora miles de proteínas diferentes, cada una de las cuales desempeña una función altamente especializada. Las proteínas más interesantes para los bioquímicos son las enzimas, moléculas "trabajadoras" de las células. Estas enzimas actúan como promotores o catalizadores de las reacciones químicas.
- ✦ **PRÓTESIS,** dispositivos mecánicos diseñados para reproducir la forma y/o la función de un miembro (o parte de él) ausente. Hay dos grandes tipos: endoprótesis y exoprótesis. Las primeras se implantan mediante cirugía, se anclan al hueso y sirven para sustituir una articulación dañada por artrosis, artritis, traumatismo u otras enfermedades. Las exoprótesis sirven para sustituir un miembro amputado.
- ✦ **QUIMIOTERAPIA,** en sentido estricto, es el tratamiento de cualquier proceso mediante sustancias químicas; sin embargo, se utiliza para referirse al tratamiento del cáncer mediante fármacos específicos que retrasan la tasa de crecimiento de las células tumorales. Se espera que en el futuro la quimioterapia sea más específica hacia las células tumorales malignas, explotando alguna característica propia de éstas que no compartan las células normales. Hasta la fecha, sin embargo, tal propiedad no ha sido descubierta, y los fármacos utilizados en quimioterapia son en general citotóxicos (destruyen células) para todas las células en división, tanto malignas como normales
- ✦ **TRASPLANTE,** transferencia de tejidos u órganos de un individuo a otro. Se ha conseguido con éxito el trasplante de los siguientes órganos: corazón, hígado, riñón, médula ósea, córnea y páncreas. Se han realizado trasplantes de corazón y pulmones de manera conjunta, pero los órganos trasplantados funcionaron durante un corto periodo de tiempo. Los trasplantes de corazón e hígado se realizan cuando los órganos correspondientes del paciente han sufrido lesiones irreparables, como ocurre en los infartos de miocardio o la cirrosis hepática. Los trasplantes de córnea se emplean para curar la ceguera, por ejemplo cuando la córnea se ha vuelto opaca o cuando hay una infección tratable por medicación.

Introducción

El paso inicial del desarrollo de las nuevas disciplinas de la ciencia e ingeniería de materiales sucedió en la década del 50, con el uso de procedimientos empíricos para adaptar materiales convencionales a aplicaciones biomédicas. Esto fue generando respuestas a los desafíos planteados por la necesidad de producir dispositivos biomédicos de alto rendimiento.

La aplicación de biomateriales no metálicos comenzó también tempranamente. Durante la Edad Media fueron utilizados en ligaduras destinadas a detener hemorragias y en algunos de los procedimientos quirúrgicos. Su desarrollo se aceleró a principios del siglo XX con el descubrimiento de materiales para fabricar hilos de sutura capaces de ser degradados y absorbidos por el organismo. Sin embargo, la investigación sistemática y planificada de los materiales útiles para la fabricación de prótesis e implantes sólo surge después de la segunda Guerra Mundial como consecuencia del avance del conocimiento en la ciencia y la tecnología de materiales.

Un factor que impulsó fuertemente el desarrollo de materiales implantables durante este siglo, fué el enorme aumento de la demanda debido a la necesidad de rehabilitar a millones de inválidos de guerra. Este aumento corrió en paralelamente con avances en otros campos y se crearon condiciones favorables para obtener soluciones eficaces. Entre ellas cabe mencionar:

1. la investigación y desarrollo en general de nuevos materiales, en especial de los poliméricos,
2. la disminución del riesgo de infecciones causada por la aparición de los antibióticos eficaces
3. los adelantos en el conocimiento de los procesos biológicos desencadenados como consecuencia del contacto de la materia viva con el biomaterial.

Durante la década del 60 se publicaron los primeros estudios sobre las lesiones provocadas por la presencia de un implante, e hizo su aparición el término biocompatibilidad para definir el grado de tolerancia del material por parte de la materia viva. La determinación de la biocompatibilidad para cada aplicación específica y para cada sistema formado por material y el medio biológico con el que estará en contacto, requiere la realización de una serie de ensayos de acuerdo con protocolos preestablecidos y del posterior análisis estadístico de los resultados obtenidos.

A finales de los años 60, los ingenieros ingresaron en los laboratorios de clínica médica, quirúrgica y dental, y sus contribuciones comenzaron a aparecer en la literatura biomédica. 1969, marca el punto de partida de la necesaria integración de

las disciplinas complementarias a la ingeniería y a la medicina para el desarrollo de materiales biomédicos. La influencia del ingreso de la ingeniería al campo de los biomateriales se evidenció en la aplicación de técnicas para caracterizar la estructura y la superficie de los materiales, a los efectos de correlacionarlos con las respuestas biológicas observadas. También, con la incorporación de los materiales cerámicos para el reemplazo de partes óseas y con el desarrollo de materiales compuestos.

La comunidad científica que desarrollaba tareas en este campo se agrupó en diversas sociedades, tales como la Sociedad de Biomateriales (EE.UU.) fundada en 1974 y la Sociedad Europea de Biomateriales.

En 1978 se efectuó el primer Congreso Internacional sobre Biomateriales. Desde entonces se produjo un crecimiento notable en el número de trabajos presentados y en el número y nivel de los recursos humanos formados en el área.

La mayoría de los materiales utilizados actualmente, en dispositivos médicos constituyen materias primas (commodities) estándar que se usan no sólo en medicina sino en otras y muy variadas áreas de la producción industrial. De entre ellas es posible señalar unas veinte formulaciones básicas que se aplican en biomateriales, catorce de ellas son poliméricas, cuatro metálicas y dos cerámicas.

Los polímeros son materiales constituidos por grandes moléculas, macromoléculas, formadas por la unión entre sí de moléculas pequeñas llamadas monómeros. Es habitual designar a un polímero en particular anteponiendo "poli" al nombre del monómero que lo forma, de allí por ejemplo "polietileno", asociación de moléculas de etileno o "poli(cloruro de vinilo)", asociación de moléculas de cloruro de vinilo. La unión de los monómeros puede dar lugar a cadenas lineales, a cadenas ramificadas o a redes. Las distintas formas de asociación de los monómeros determinan las propiedades del polímero y, por lo tanto, en su utilidad para diversas aplicaciones.

Los ácidos carboxílicos reaccionan con alcoholes para formar ésteres. Cuando reaccionan con un alcohol que presenta más de un -OH los productos resultantes son poliésteres.

Los biopolímeros son polímeros que son generados a partir de recursos renovables, son frecuentemente biodegradables y no tóxicos. Pueden ser producidos por sistemas biológicos, tales como microorganismos, plantas y animales, o sintetizados químicamente a partir de materiales de origen biológico como azúcares, almidones, aceites naturales o grasas.

Los biopolímeros son una alternativa a los tradicionales polímeros obtenidos a base de petróleo, (plásticos tradicionales). Los biopoliésteres tienen propiedades similares a los poliésteres tradicionales, como se mostrará en el este trabajo monográfico de actualización.

Los objetivos de este trabajo son:

1. Con base a las fuentes bibliográficas consultadas, explicar que son los polihidroxicanoatos y cuales son sus principales características y propiedades
2. Explicar cuales son sus usos en los campos de la medicina
3. Cuales son los beneficios que se obtienen en cada caso y porque es recomendable usar este tipo de materiales

Conceptos generales

¿Qué son los PHA's?

Los PHA's (polihidroxialcanoatos) son macromoléculas, sintetizadas por bacterias, son acumulados como gránulos a niveles tan altos como 90% en peso de la célula seca. Cuando los proveedores de nutrientes están en desequilibrio resulta benéfico para la bacteria, ya que intracelularmente almacena nutrientes en exceso, y su estado físico no se afecta, por intermediarios solubles de polimerización; la célula no experimenta alteraciones de su estado osmótico y la filtración de los PHA's fuera de la célula es impedida.

Una vez que los PHA's son extraídos de la célula bacterial, muestran propiedades similares al polipropileno. El origen bacterial de los PHA's los hace materiales naturales y muchos microorganismos han desarrollado la capacidad para degradar esas macromoléculas; además de biodegradables los PHA's son reciclables como cualquier poliéster termoplástico, pueden ser procesados, bien moldeados, en fibras o películas.

Investigaciones recientes de los gránulos de PHA's indican que es una fuente útil de compuestos estereo-regulares, los cuales pueden servir como precursores quirales para la síntesis química de compuestos ópticamente activos.

Es útil dividir los diferentes tipos de PHA's en dos amplias categorías basadas en la composición de sus monómeros. Los que tienen grupos de cadena corta (PHB por ejemplo), son altamente cristalinos, mientras que los de cadena larga como el PHO, tienden a ser elastómeros termoplásticos. Esas diversas propiedades proveen una gran versatilidad en aplicaciones.

¿Qué es el PHB?

El PHB es un polímero muy común y extensamente acumulado en muchos microorganismos, se ha descubierto que es un polímero básico, de la diversidad del grupo de polímeros polihidroxialcanoatos. El PHB es el mejor caracterizado de los PHA's, porque tiene el peso molecular más bajo (puede ser arriba de 2 millones es decir 20,000 monómeros por molécula de polímero) y es el más común en la naturaleza, se acumula como material de reserva en muchos microorganismos, estos son: *Alcaligenes azotobacter*, *bacillus nocardia*, *pseudomonas rhizobium*, etc.

El PHB tiene propiedades físicas comparables con el polipropileno (PP), la diferencia es que el PP muestra una degradación insignificante mientras que el PHB muestra una degradación completa. La extracción del PHB se lleva a cabo por solventes como hidrocarburos hidrogenados; el moldeo y la extrusión de las células secas es posible directamente cuando el contenido del polímero es alto.

cadena mediana también son sintetizados de carbohidratos, pero la composición de estos no se relaciona con la fuente de carbono. La gran mayoría de las bacterias sintetizan también PHA's de cadena corta conteniendo principalmente PHB, o de cadena mediana conteniendo PHO y PHD.

Formula química general

En las siguientes figuras se puede observar la estructura química general de los PHA's



Nomenclatura

En la siguiente tabla y con base a las figuras anteriores se tiene la nomenclatura de los PHA's más representativos

n = 1	R = Hidrógeno	PHP	Poli (hidroxi propionato)
	R = metil	PHB	Poli (hidroxibutirato)
	R = metil	3PHB	Poli (3-hidroxibutirato)
	R = etil	3PHV	Poli (3-hidroxivalerato)
	R = propil	3PHH	Poli (3-hidroxihexanoato)
	R = pentil	3PHO	Poli (3-hidroxioctanoato)
	R = nonil	3PHD	Poli (3-hidroxidodecanoato)
n = 2	R = hidrógeno	4PHB	Poli (4-hidroxibutyrate)
	R = metil	4PHV	Poli (4-hidroxivalerato)
n = 3	R = hidrógeno	5PHV	Poli (5-hidroxivalerato)
	R = metil	5PHH	Poli (5-hidroxihexanoato)
n = 4	R = hexil	6PHD	Poli (6-hidroxidodecanoato)

Características físicas

La masa molecular de los PHA's varía por tipo de productor, pero es generalmente en el orden de 50,000 a 1,000,000 unidades monoméricas. Aunque los poliésteres alifáticos han sido estudiados extensamente sus propiedades no fueron tomadas en cuenta y no se tenía un interés comercial en un principio, esto se debió

principalmente al uso de sustratos impuros los cuales limitaban la masa molecular de esos polímeros. La producción bacteriológica de los PHA's tiene una masa molecular lo suficiente alta como para tener características poliméricas similares a los plásticos convencionales como el polipropileno.

Los PHA's tienen puntos de fusión similares a los del polipropileno, mejores propiedades de barrera al oxígeno que el poli(etilentereftalato) (PET) y que el polipropileno (PP), propiedades mecánicas muy parecidas a las del poliestireno (PS) y polipropileno (PP), posee un radio de transmisión de vapor de agua mucho mas bajo que el PP, en adición a todas esas propiedades el PHB tiene una adecuada barrera contra los olores y las grasas, mejor resistencia a la luz ultravioleta que el PP, una resistencia al agua y al calor (170°C); e inherentemente biodegradables y biocompatibles.

El polímero dentro de la célula existe en un estado amorfo, sin embargo, después de la extracción a partir de la célula con disolventes orgánicos, el polímero llega a ser altamente cristalino y en este estado es un material rígido pero quebradizo, debido a su fragilidad no es muy resistente al esfuerzo. También su relativamente alto punto de fusión es cercano a la temperatura donde este polímero se descompone térmicamente, por consiguiente los límites para el proceso del polímero están definidos. los desarrollos biotecnológicos iniciales fueron encaminados a facilitar el proceso, así, surgió la idea de la incorporación del 3HV con el P(3HB) dando como resultado el poli(3hiroxibutarato-co-3hidroxivalerato), cuyo nombre comercial es Biopol, este copolímero es menos rígido y menos frágil y puede ser usado para preparar películas con excelentes propiedades de barrera para gases y agua, excelentes propiedades mecánicas y mucho mas elasticidad.

Tabla comparativa

Se muestra un estudio comparativo de propiedades de PP y PHB

PARAMETRO	POLIPROPILENO (PP)	PHB
Punto de fusión Tm [°C]	171-186	171-182
Cristalinidad [%]	65-70	65-80
Densidad [g cm ⁻³]	0.905 - 0.94	1.23 - 1.25
Peso molecular Mw (x10 ⁻⁵)	2.2 - 7	1 - 8
Modulo Flexible [GPa]	1.7	3.5 - 4
Esfuerzo tensil [MPa]	39	40
UV resistencia	pobre	buena
Resistencia a los solventes	buena	pobre
Permeabilidad al O ₂ [cm ³ m ⁻² atm ⁻¹ d ⁻¹]	1700	45
Biodegradabilidad	-	buena
Otras	Flota en el agua	No flota en agua

Capítulo 1

Obtención

Biosíntesis

Cada PHA es producido por una vía metabólica distinta. Estas vías pueden dividirse en dos etapas: La biosíntesis de los monómeros y la hidroxiacetil coenzima A, y la polimerización de los monómeros para formar la cadena del polímero. Esas cadenas pueden exceder las 10,000 unidades monoméricas de longitud.

La vía mejor caracterizada para el PHB es en la que están involucradas tres enzimas; la tiolasa, que cataliza una condensación de Claisen, de dos moléculas de acetil coenzima A (Ac-CoA) en un enlace carbono-carbono, dando paso a la acetil coenzima A, la cual es entonces reducida por el intermediario quiral R-3 hidroxibutiril coenzima A por la reductasa y subsecuentemente polimerizada por una enzima sintaza PHA. La sintaza PHA tiene un sustrato específico que le permite polimerizar, monómeros de unidades hidroxiaácidas de 3 a 5; es decir C₃, C₄, y C₅. Esta vía biosintética encontrada en bacterias como *Alcaligenes Eutrophus*, es la misma vía usada para producir PHBV (cuyo nombre comercial es Biopol®), a partir de los nutrientes de reserva como la glucosa y el ácido propiónico. Así la glucosa es metabolizada por la bacteria a Ac-CoA y el ácido propiónico provee la unidad C₃ (propionil coenzima A), por una condensación de Claisen con Ac-CoA. La enzima sintaza PHA, actúa como un catalizador y juega un papel importante en la unión de gránulos de PHA dentro de la célula.

Los grupos de cadena larga son producidos por *Pseudomonas*, una clase de bacteria que puede metabolizar muchos sustratos orgánicos.

Los estudios de fermentación y físicos indican que, la degradación de ácidos grasos por β -oxidación y vías de sintaza de ácidos grasos, están involucradas en la producción de monómeros. Esas unidades entonces son polimerizadas dentro de gránulos de PHA, por sintaza PHA con sustratos específicos que favorecen la cadena larga.

El primer gen de PHA fue aislado debido al interés en el mecanismo de formación del enlace carbono-carbono, catalizado por la enzima tiolasa, el gen responsable de la producción de ambas categorías de PHA's fue aislado por varios grupos de investigación. Se encontró que la sintaza, PHA, reductasa y tiolasa, las cuales producen PHA's de cadena corta en *A. eutrophus*, están constituidos por los genes *phaC₁* y *phaC₂*.

Características físicas

La masa molecular de los PHA's varía por tipo de productor, pero es generalmente en el orden de 50,000 a 1,000,000 unidades monómericas. Aunque los poliésteres alifáticos han sido estudiados extensamente sus propiedades no fueron tomadas en cuenta y no se tenía un interés comercial en un principio, esto se debió

principalmente al uso de sustratos impuros los cuales limitaban la masa molecular de esos polímeros. La producción bacteriológica de los PHA's tiene una masa molecular lo suficiente alta como para tener características poliméricas similares a los plásticos convencionales como el polipropileno.

Los PHA's tienen puntos de fusión similares a los del polipropileno, mejores propiedades de barrera al oxígeno que el poli(etilentereftalato) (PET) y que el polipropileno (PP), propiedades mecánicas muy parecidas a las del poliestireno (PS) y polipropileno (PP), posee un radio de transmisión de vapor de agua mucho mas bajo que el PP, en adición a todas esas propiedades el PHB tiene una adecuada barrera contra los olores y las grasas, mejor resistencia a la luz ultravioleta que el PP, una resistencia al agua y al calor (170°C); e inherentemente biodegradables y biocompatibles.

El polímero dentro de la célula existe en un estado amorfo, sin embargo, después de la extracción a partir de la célula con disolventes orgánicos, el polímero llega a ser altamente cristalino y en este estado es un material rígido pero quebradizo, debido a su fragilidad no es muy resistente al esfuerzo. También su relativamente alto punto de fusión es cercano a la temperatura donde este polímero se descompone térmicamente, por consiguiente los límites para el proceso del polímero están definidos. los desarrollos biotecnológicos iniciales fueron encaminados a facilitar el proceso, así, surgió la idea de la incorporación del 3HV con el P(3HB) dando como resultado el poli(3hioxibutarato-co-3hidroxivalerato), cuyo nombre comercial es Biopol, este copolímero es menos rígido y menos frágil y puede ser usado para preparar películas con excelentes propiedades de barrera para gases y agua, excelentes propiedades mecánicas y mucho mas elasticidad.

Tabla comparativa

Se muestra un estudio comparativo de propiedades de PP y PHB

PARAMETRO	POLIPROPILENO (PP)	PHB
Punto de fusión T_m [°C]	171-186	171-182
Cristalinidad [%]	65-70	65-80
Densidad [g cm ⁻³]	0.905 - 0.94	1.23 - 1.25
Peso molecular M_w ($\times 10^{-5}$)	2.2 - 7	1 - 8
Modulo Flexible [GPa]	1.7	3.5 - 4
Esfuerzo tensil [MPa]	39	40
UV resistencia	pobre	buena
Resistencia a los solventes	buena	pobre
Permeabilidad al O ₂ [cm ³ m ⁻² atm ⁻¹ d ⁻¹]	1700	45
Biodegradabilidad	-	buena
Otras	Flota en el agua	No flota en agua

Capítulo 1

Obtención

Biosíntesis

Cada PHA es producido por una vía metabólica distinta. Estas vías pueden dividirse en dos etapas: La biosíntesis de los monómeros y la hidroxiacetil coenzima A, y la polimerización de los monómeros para formar la cadena del polímero. Esas cadenas pueden exceder las 10,000 unidades monoméricas de longitud.

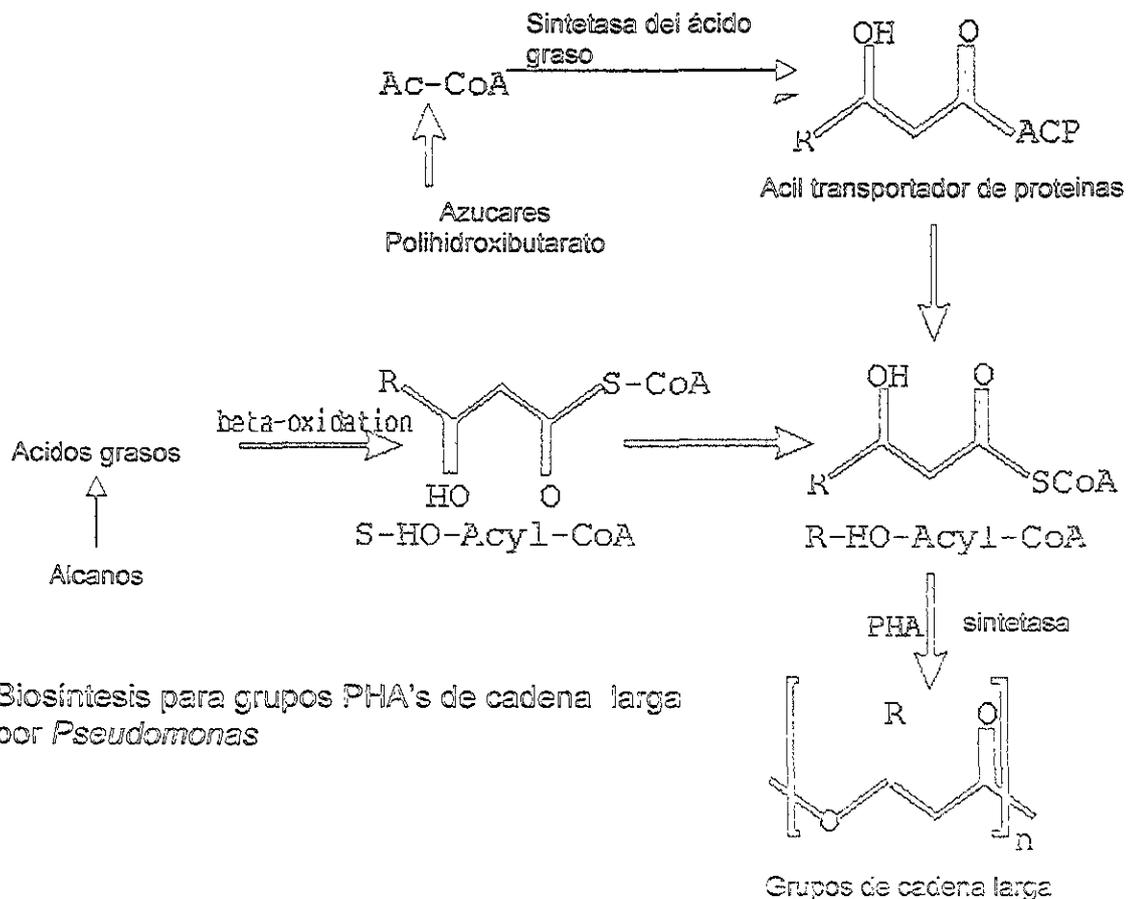
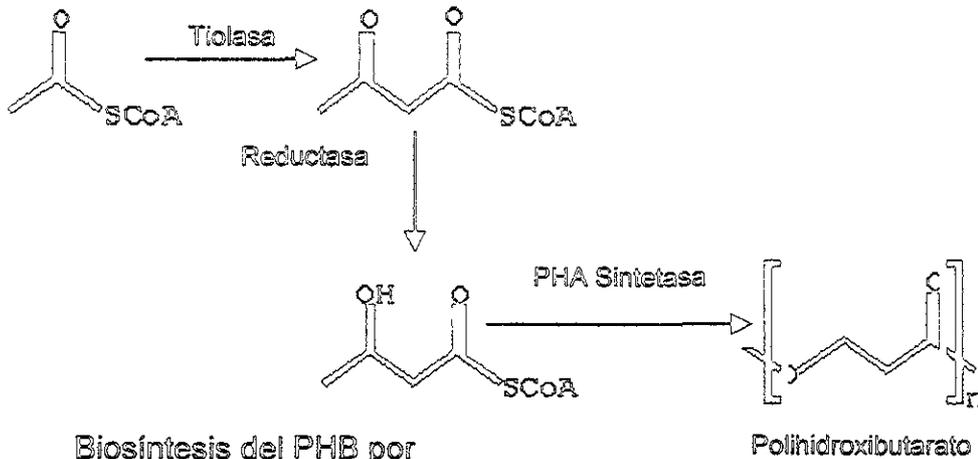
La vía mejor caracterizada para el PHB es en la que están involucradas tres enzimas; la tiolasa, que cataliza una condensación de Claisen, de dos moléculas de acetil coenzima A (Ac-CoA) en un enlace carbono-carbono, dando paso a la acetil coenzima A, la cual es entonces reducida por el intermediario quiral R-3 hidroxibutiril coenzima A por la reductasa y subsecuentemente polimerizada por una enzima sintaza PHA. La sintaza PHA tiene un sustrato específico que le permite polimerizar, monómeros de unidades hidroxilácidas de 3 a 5; es decir C₃, C₄, y C₅. Esta vía biosintética encontrada en bacterias como *Alcaligenes Eutrophus*, es la misma vía usada para producir PHBV (cuyo nombre comercial es Biopol®), a partir de los nutrientes de reserva como la glucosa y el ácido propiónico. Así la glucosa es metabolizada por la bacteria a Ac-CoA y el ácido propiónico provee la unidad C₃ (propionil coenzima A), por una condensación de Claisen con Ac-CoA. La enzima sintaza PHA, actúa como un catalizador y juega un papel importante en la unión de gránulos de PHA dentro de la célula.

Los grupos de cadena larga son producidos por *Pseudomonas*, una clase de bacteria que puede metabolizar muchos sustratos orgánicos.

Los estudios de fermentación y físicos indican que, la degradación de ácidos grasos por β -oxidación y vías de sintaza de ácidos grasos, están involucradas en la producción de monómeros. Esas unidades entonces son polimerizadas dentro de gránulos de PHA, por sintaza PHA con sustratos específicos que favorecen la cadena larga.

El primer gen de PHA fue aislado debido al interés en el mecanismo de formación del enlace carbono-carbono, catalizado por la enzima tiolasa, el gen responsable de la producción de ambas categorías de PHA's fue aislado por varios grupos de investigación. Se encontró que la sintaza, PHA, reductasa y tiolasa, las cuales producen PHA's de cadena corta en *A. eutrophus*, están constituidos por los genes *phaC₁* y *phaC₂*.

Reacciones bioquímicas de obtención



Avances transgénicos

Los conceptos claves del rol de la ingeniería recombinante para la producción de PHA's permite la transferencia de la información genética a través de la barrera de la especie.

Por aislamiento y caracterización de los genes responsables de la producción de PHA's es posible nuevos sistemas de producción de PHA's.

En estos sistemas, la PHA sintetasa y otras enzimas pueden ser seleccionadas en las bases del sustrato específicamente para producir el producto polimérico PHA deseado. Debido a la variedad de monómeros de PHA, aplicando las técnicas combinatorias para su obtención pueden proveer abundantes tipos de polímeros de PHA's.

Los sistemas transgénicos pueden producir varios materiales polihidroxicanoicos, y pueden ser ajustados para afinar bien las propiedades del polímero para las necesidades de uso final.

Fermentación

La importancia de la fermentación transgénica radica en la expectativa de proveer precios competitivos comparados con los petroquímicos.

La fermentación transgénica precederá a la producción de cultivos de PHA's y tendrá un costo más bajo. Usando las técnicas de ingeniería genética han podido transferir adecuados casettes genéticos requeridos para la producción de PHA's dentro de la bacteria *E.coli* K12. Las materias primas usadas para la fermentación transgénica están ampliamente disponibles en los azúcares.

En comparación con la obtención de PHA por medios no transgénicos, hay muchos más beneficios utilizando sistemas transgénicos nuevos, y el más significativo es desde el punto de vista económico, ya que *E. coli* es un organismo de rápido crecimiento, los sistemas de producción de esta bacteria pueden reducir significativamente los tiempos de fermentación. En el mejor de los casos el tiempo de fermentación puede ser reducido a 3 días en un sistema no transgénico y a 1 día en sistemas transgénicos.

En adición a esto la habilidad para seleccionar el "anfitrión" puede ser importante si el contacto con el alimento es anticipado o si se desea obtener algunas formas específicas de PHA. La selección del anfitrión afecta la recuperación del residuo.

Producción

Una importante tarea para la producción de PHA es la disponibilidad de un sistema con una alta productividad volumétrica, este parámetro define el tamaño del sistema de producción necesitado para satisfacer la demanda de un mercado potencial.

En un cultivo químicoestático, la productividad volumétrica es el resultado de la dosificación de PHA y la velocidad de la disolución y la altísima productividad son alcanzados cuando ambos y velocidad de dilución son altas. Sin embargo la capacidad de la *Pseudomonas oleovorans* para acumular PHA, la específica velocidad de acumulación de micro esferas de PHA depende fuertemente de la velocidad de crecimiento de la masa.

Para llevar acabo una alta dosificación de PHA, el tiempo de acumulación y condiciones adecuadas son importantes. Los requerimientos de *P. Oleovorans* para biomasa y formación de PHA's son demandantes y por consiguiente de amplio intervalo.

Para la eficiente producción de mcl-PHA, un proceso de cultivo, consistente de dos compartimientos es altamente atractivo, debido a que ofrece la posibilidad de poner en funcionamiento las condiciones de cultivo en cada compartimiento en una forma tal que la productividad volumétrica sobre ambos compartimientos es tan alta como puede ser llevada a cabo en un compartimiento.

Los sistemas de cultivo de dos etapas han sido descritos para la producción de PHB. Las bacterias *Pseudomonas cepacia* crecen en glucosa con un exceso de nitrógeno, acumulando PHB por encima del 56% en peso de la célula seca.

La bacteria *Ralstonia eutrophus*, primero tiene una etapa de pre-crecimiento en fructosa y luego e incubada bajo limitación de oxígeno en una fuente de carbón libre del medio mineral, produciendo más del 82% PHB:

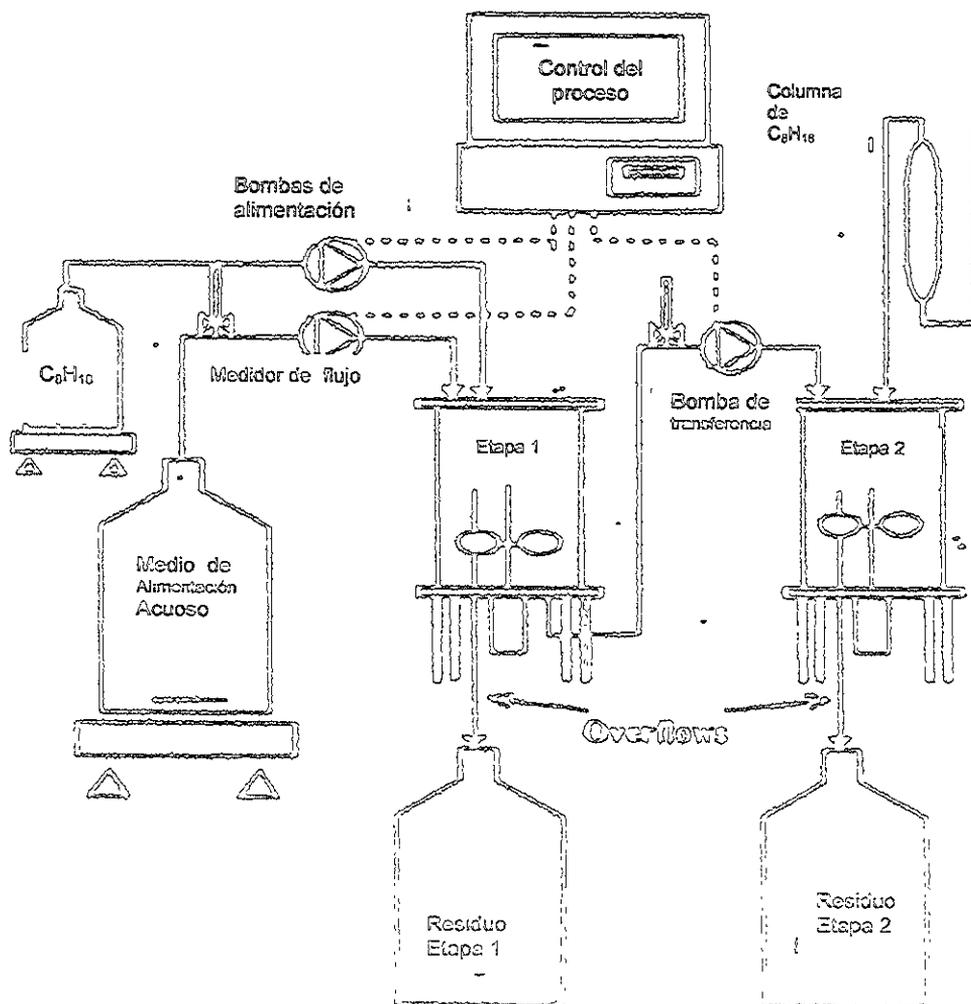
Sin embargo los sistemas anteriores no operaron continuamente. Después del crecimiento en el lote la biomasa fue recolectada, resuspendida y subsecuentemente incubada para la acumulación de PHB, lo cual requiere de una gran inversión de tiempo y de un proceso muy complejo. Una alternativa interesante es la continua transferencia de células de crecimiento a partir de vasos de cultivo a vasos de producción de PHA así el intermediario recolectado y la resuspensión de las células puede ser omitido.

Considerando que están en estado estático los cultivos quimioestáticos permiten su fácil reproducción experimental con una alta presión para estudios físicos, los cultivos de estado transitorio han demostrado ser recomendables para una primera determinación y mas adelante para la optimización de los parámetros del proceso de fermentación.

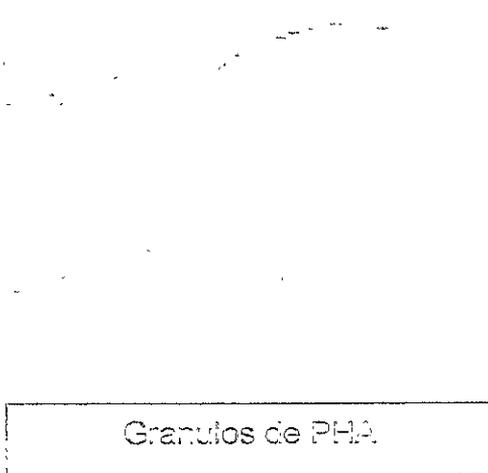
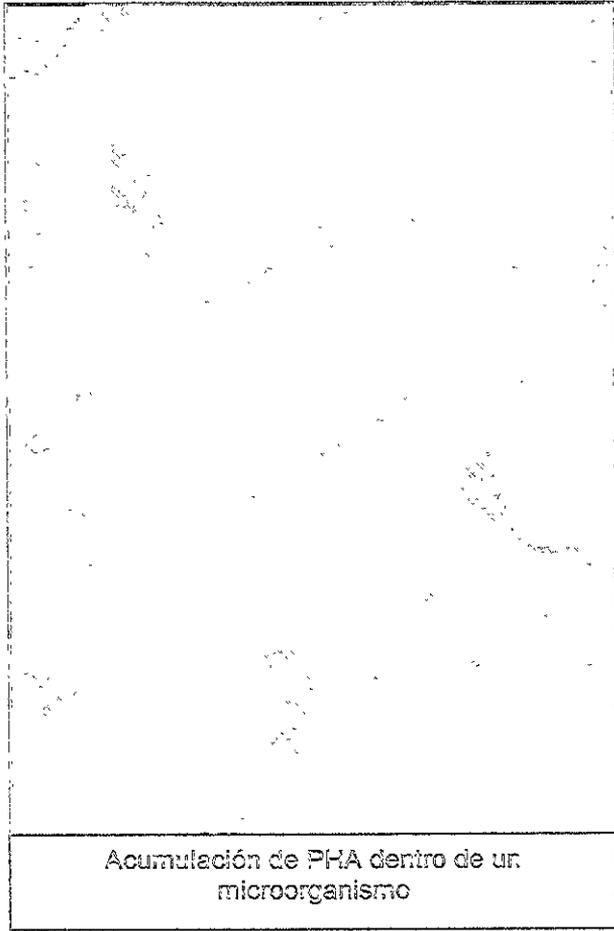
Un proceso experimental consiste de dos bioreactores conectados en serie, el fermentador opera a 30°C y el pH se mantiene en 7 usando NaOH 4N.

La concentración de O_2 (oxígeno) disuelta es monitoreada, ya que es necesario garantizar un exceso de carbono en los tanques fermentadores. Pero las variables fundamentales son las limitaciones de los nutrientes.

Diagrama de flujo del proceso de fermentación







Capítulo 2

Interacción con organismos biológicos

Consideraciones biológicas

Los diversos monómeros que pueden ser incorporados dentro de los PHA's combinados con un sistema de polimerización biológica que genere materiales de alto peso molecular, ha dado como resultado que un gran número de polímeros este disponible. El advenimiento de la ingeniería genética combinada con la microbiología molecular moderna ahora provee de un marco excepcional para el estudio de las propiedades de los plásticos como en función de los procesos metabólicos y genéticos.

Biocompatibilidad

El término biocompatible se entiende como "armonía con la vida, sin efectos tóxicos o dañinos sobre las funciones biológicas". Los requisitos para biocompatibilidad de los materiales incluyen los siguientes aspectos:

- ❖ No deben ser peligrosos para la pulpa y los tejidos blandos.
- ❖ No deben contener sustancias tóxicas que puedan ser liberadas y absorbidas por el sistema circulatorio y causar una respuesta generalizada.
- ❖ Deben estar libres de sensibilizantes potenciales que puedan causar respuestas alérgicas.
- ❖ No deben tener potencial carcinógeno (que produzcan cáncer).

El propósito de las pruebas de biocompatibilidad es eliminar cualquier producto o componente que pueda causar daño. Idealmente, los procesos de las pruebas biológicas deben seguir normas precisas y exactas. Sin embargo esto no es una tarea fácil debido a la gran variedad de nuevos productos y las condiciones bajo las cuales son usadas.

A continuación se describen algunas pruebas de biocompatibilidad.

Pruebas de biocompatibilidad

-Toxicidad sistemática aguda

Consiste en una serie de inyecciones del extracto del polímero, al sujeto de pruebas, para observar la reacción sistemática general que tiene en este. El inyectado es intravenoso y es observada por 72 horas la reacción sistemática.

- Mutagenicidad

Determina si el extracto es mutagenico o no, es decir si cambia su estructura química o propiedades físicas y químicas, especialmente para verificar si ese cambio da lugar a una sustancia toxica o no.

- Toxicidad crónica

Determina los efectos dañinos a partir de múltiples exposiciones del material de prueba.

-Citotoxicidad

Mide la respuesta celular con la interacción directa del material

-Sensitización dérmica

Determina las alergias dérmicas o la reacción de sensitización al material

-Hemólisis

Determina la reacción con la sangre.

-Implantes

Determina el impacto en tejidos.

-Inyección intra cutánea

Determina si causa irritación local en los tejidos dérmicos.

-Pirógena

Evalúa el riesgo de una elevación en la temperatura del cuerpo como una reacción adversa al material.

-Toxicidad subcrónica

Para este examen es necesario realizar una necropsia y una prueba hematológica al conejillo.

Las pruebas de biocompatibilidad se clasifican en tres niveles, la más rápida y económica es en el primer nivel. Un producto con atributos prometedores es sometido a pruebas secundarias más costosas y , por último, a pruebas (uso) preclínicas costosas en animales o en el hombre.

Por otra parte a continuación se revisan los conceptos de Biodegradabilidad y biodegradación.

Biodegradable

Material capaz de ser descompuesto en sustancias naturales como dióxido de carbono, agua y biomasa (humus) por procesos biológicos especialmente por acción de los microorganismos. Mientras que muchos polímeros naturales tales como las proteínas, los polisacaridos, etc, son fácilmente biodegradados por los microorganismos, estos carecen de enzimas capaces de romper las uniones de las cadenas macromoleculares de los polímeros sintéticos tradicionales, es decir los plásticos mas usados en envases (polietileno, polipropileno, PVC, poliamidas, polietileno terftalato, etc). El término biodegradable sólo se aplica a aquellos materiales que son degradados por microorganismos o por las enzimas generadas por las bacterias y hongos. Existen polímeros sintéticos biodegradables como por ejemplo el alcohol polivinílico, la policaprolactona y otros obtenidos por biotecnología como los polihidroxialcanoatos PHA's.

Los poliésteres alifáticos tales como el ácido poliláctico, etc. Los envases biodegradables son aquellos que están constituidos por un material que permite mantener completamente su integridad durante su manufactura, su estancia en anaquel y uso por parte del consumidor, y que, tan pronto como se desecha luego del uso, comienza a cambiar por influencia de agentes biológicos, fundamentalmente microorganismos que lo transforman en componentes menores que eventualmente se diluyen y cuya disposición final es el compostaje.

Biodegradación

Es el consumo de sustancias por parte de microorganismos siguiendo vías metabólicas catalizadas por enzimas segregadas por aquéllos, y su velocidad depende de condiciones ambientales tales como: temperatura, humedad, oxígeno y flora microbiana (antagonismo, sinergismo, competición entre microorganismos). Las bacterias y los hongos son las principales participantes en el proceso de biodegradación en el mundo natural. La descomposición de los materiales los provee como precursores de componentes celulares y energía para procesos que la requieren. La biodegradación es por consiguiente catabolismo, los materiales que son biodegradables son además compuestos de carbono. La mayoría de las composiciones químicas son resistentes al ataque enzimático, pero eso no es el caso de la PHA's.

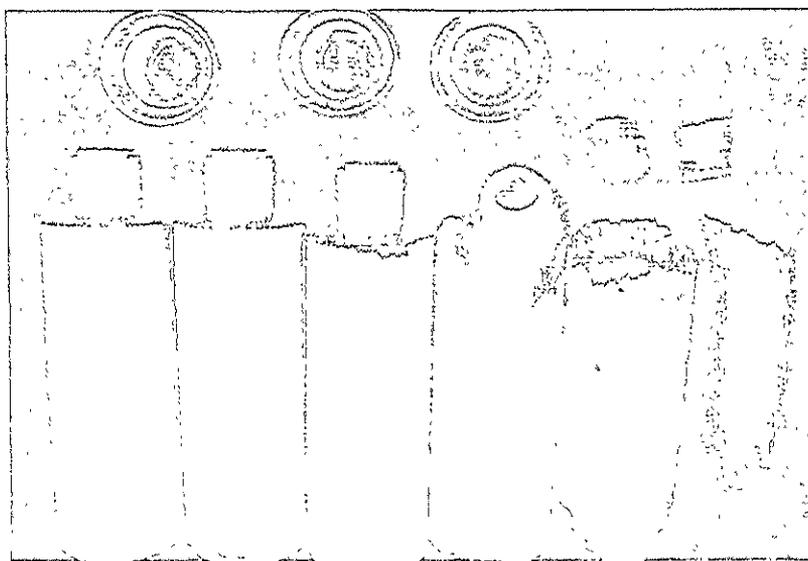
Además de las típicas propiedades poliméricas descritas, una característica importante de los PHA's es su biodegradabilidad. En la naturaleza un enorme grupo de microorganismos pueden degradar PHA's por uso de secreciones de hidrolasas y polimerasas de PHA. Las actividades de esas enzimas pueden variar

y dependen de la composición del polímero y su forma física (amorfa o cristalina), las dimensiones de la muestra y las condiciones del medio ambiente, estas últimas son determinantes. La velocidad de degradación del PHB es de unos cuantos meses en aguas residuales y años en agua de mar.

Los PHA's son degradados en exposición de bacterias u hongos en tierra, composta o sedimentos marinos. La degradación depende de varios factores incluyendo la actividad microbial del medio ambiente y el área superficial del artículo. La temperatura, el pH, el peso molecular y la cristalinidad son factores importantes. La biodegradación ocurre cuando los microorganismos empiezan a crear en la superficie del plástico y secretan enzimas que desbaratan el polímero en unidades monoméricas de hidroxiacidos. En medios aeróbicos los polímeros son degradados a dióxido de carbono y agua en medios anaeróbicos los productos de degradación son dióxido de carbono y metano.

El PHBV (polihidroxi butarato-co-polihidroxi valerato), Biopol® es compatible a diversas condiciones. La máxima velocidad de degradación fue observada a niveles de humedad de 55% y temperaturas de 60°C, se encontró que se degrada en menos de 7 semanas y los recubrimientos de PHA's al incorporarse a la composta se degradan aun más rápido.

La biodegradación de los PHA's ha ido probada en varios medios acuáticos. En un estudio realizado en el lago Lugano en Suiza, varios artículos fueron colocados a diferentes profundidades del lago y en la superficie de sedimentos. Se calcula una vida de anaquel de 3 a 10 años fue calculada, sin embargo películas de PHA fueron completamente degradadas en 254 días y las temperaturas no excedieron los 6°C.



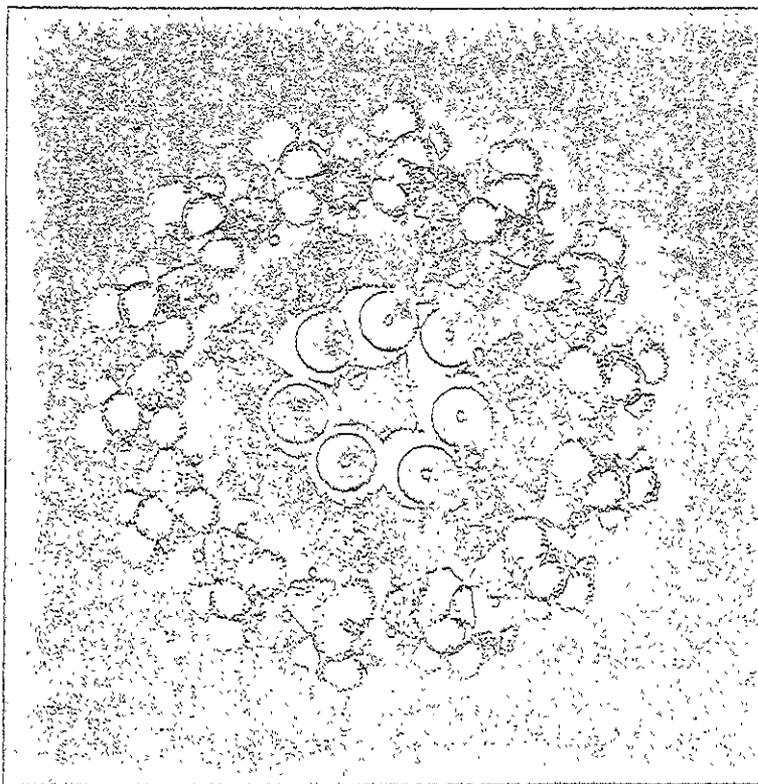
Degradación de una botella de PHA

Capítulo 3

Usos generales

Rol potencial de los PHA's en la naturaleza

Ha sido encontrado que el PHB es una parte de los canales de calcio de la bacteria y es una abundante fuente de proteínas y lípidos en sistemas eucarionticos. Recientemente fue encontrado que el PHB en conjunto con los polifosfatos pueden formar un complejo en la bacteria *E. Coli* que transporta iones calcio, como se ve en la siguiente representación gráfica de la molécula de PHB.



Los primeros usos

Los PHA's son termoplásticos naturales, por lo tanto se consideraba que la mayoría de sus aplicaciones estaban encaminadas a reemplazar a los polímeros petroquímicos, en usos comunes como empaque y recubrimientos. El extenso intervalo de propiedades físicas de los polímeros de PHA y el buen desempeño de sus mezclas como el PHBV (Biopol), hacen que los PHA's tengan variadas

aplicaciones, no solo en los usos médicos, como actualmente lo tienen, por ejemplo; los esfuerzos iniciales se enfocaron en aplicaciones de moldeados en el caso particular de los consumidores de materiales para empaque en artículos tales como botellas, contenedores de productos cosméticos, plumas y pelotas de golf. Otro de los primeros usos experimentales, se enfocó en darle un buen uso a sus propiedades de biodegradación, es por eso que, las partículas de PHVB (Biopol) fueron usadas en el soporte de la parte trasera de los pañales. Esas películas fueron también usadas para artículos de higiene personal femenino. También se obtuvieron procesadas dentro de fibras para obtener materiales que pudieran ser similares a la lana. Pueden ser usados como latex para instancias de recubrimientos de papel de crema o liberadores de sabor en alimentos.

Las grandes aplicaciones de PHA's probablemente sean en cosas que se usan una sola vez, es decir en mercados desechables, en esos tipos de aplicaciones finales, los plásticos normales llegan a contaminarse durante su uso, haciéndolos difíciles de reciclar.

En la industria de la comida los envases plásticos y la mercancía de servicio de comidas rápidas en las corrientes de desperdicio existen cantidades significativas de comida, lo cual representa una garantía de presencia bacteriana que podrá resultar muy benéfica en el caso de que el material usado fuese PHA. La única desventaja de estos materiales radica en su precio, ya que al competir con derivados del petróleo el precio es considerablemente mayor.

Capítulo 4

Usos farmacéuticos

El interés en la liberación de drogas a través de portadores se ha incrementado considerablemente durante los últimos años. Las razones son obvias, si el portador tiene el potencial para dirigir la droga a su sitio de acción, un efecto farmacológico óptimo podría obtenerse y al mismo tiempo, los efectos adversos de la droga podrían disminuir.

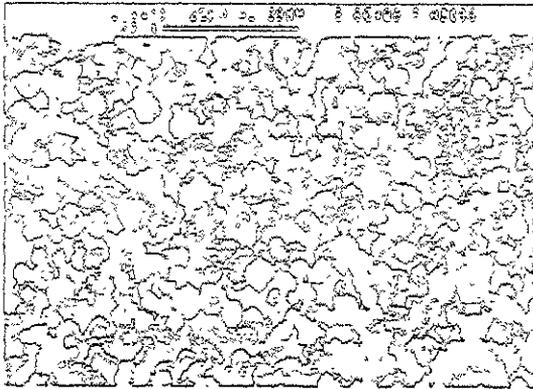
Es un hecho conocido que la distribución del fármaco una vez administrado al organismo puede provocar efectos secundarios en otras zonas de éste. Se debe establecer por tanto, un adecuado balance entre los efectos beneficiosos producidos por el medicamento y las reacciones adversas que pueden desencadenarse en diferentes órganos.

La ciencia farmacológica actual encamina sus estudios hacia la búsqueda de un vehículo capaz de transportar el fármaco hasta su lugar de acción (tejido diana), a fin de evitar, en lo posible, sus efectos adversos. De acuerdo con este criterio, se han desarrollado últimamente nuevos sistemas de administración de fármacos, como los liposomas, nanopartículas y micropartículas, entre otros, siendo portadores coloidales particulares que se usan como sistemas de liberación de drogas.

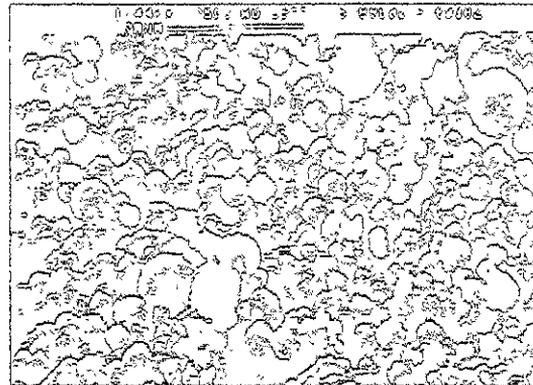
Los sistemas de transporte a base de materiales sólidos poliméricos en forma de nanopartículas y micropartículas presentan mayores ventajas que los liposomas en cuanto a estabilidad y reproducibilidad, en un intento de favorecer la penetración de los fármacos en zonas corporales de difícil acceso (barreras hísticas, neoplasias, etc.). Por un lado deben evitarse concentraciones excesivas que provoquen mayor frecuencia y gravedad de efectos colaterales y por otro, concentraciones insuficientes que pueden originar la pérdida del efecto terapéutico.

Los sistemas de liberación de fármacos consistentes de polímeros biodegradables permiten controlar la liberación de fármacos efectivamente dentro del intervalo terapéutico deseado, evitando las consecuencias de un exceso o un déficit, que podrían comprometer su eficacia antes de la administración de la siguiente dosis.

Ellos consisten de una matriz polimérica o un dispositivo adecuado que contiene el principio activo y pueden administrarse fácilmente por la vía parenteral.



Micro esferas de PHBV



Micro esferas de PHB

Ventajas

- Ventajas para el paciente, pues con una sola dosificación se logra un efecto terapéutico prolongado.
- El sistema proporciona el grado de control necesario para lograr un orden de liberación del principio activo cercano a cero.
- La velocidad y duración de la liberación del principio activo *in vivo* pueden ser determinadas mediante la selección del tamaño de las partículas.
- Las partículas son lo suficientemente pequeñas para ser administradas por medio de una inyección y se biodegradan en el organismo sin causar ningún efecto indeseable en el sitio de inyección o implantación.
- Se evita el efecto del primer paso.
- Estabilidad física, química y microbiológica.
- Se reducen las concentraciones sistémicas de la droga y se promueve la concentración local en el órgano blanco (Diana), de manera que se obtiene la máxima actividad farmacológica con mínimos efectos adversos sistémicos.
- Protección del principio activo frente a posibles inactivadores en el medio biológico antes de alcanzar el lugar de acción.
- Fácil fabricación con buena reproducibilidad.

Desventajas

- En el caso que ocurra alguna reacción adversa o complicación no se podrá retirar el sistema implantado; solamente se recuperará el estado inicial cuando el sistema se haya degradado totalmente y se libere y elimine completamente el principio activo.

La necesidad de biodegradabilidad en un sistema inyectable o implantable es evidente. Los poliésteres son particularmente atractivos para sistemas poliméricos inyectables de liberación controlada por su disponibilidad, biodegradabilidad, no toxicidad, biocompatibilidad y por ser fácilmente combinables con una amplia variedad de principios activos. Entre éstos, el PHB y el PHB-co-PHV.

Otro poliéster, el poli-ε-caprolactona, presenta una mayor vida media biológica en el cuerpo y mayor permeabilidad que el ácido poli-láctico(PLA), y se ha usado en el diseño de sistemas biodegradables para encapsular esteroides contraceptivos y ciclosporina A.²⁷

Muchas combinaciones de drogas y materiales control/soporte se han desarrollado. En la tabla se muestran diversos ejemplos de principios activos y polímeros empleados para la preparación de micro esferas biodegradables.

Ejemplos de principios activos y polímeros empleados para la preparación de micro esferas biodegradables

PRINCIPIO ACTIVO	POLÍMEROS	REFERENCIA
Doxorrubicina	L-PLA	(8),(10),(34-37)
Cisplatino	DL-PLA	(17),(21),(38-40)
5-fluorouracilo	L-PLA	(41)
	PLGA	(42)
Lomustina	DL-PLA	(14)
Carmustina	PLGA	(24)

Metotrexato	PLGA	(29)
Cefazolina	PLGA	(43)
sódica		
Ciprofloxacina	L-PLA	(44)
Indometacina	DL-PLA	(13)
	PLGA	(18)
Piroxicamo	DL-PLA	(12),(13)
Morfina	DL-PLA	(11)
	PLGA	(11)
Progesterona	DL-PLA	(14),(45)
Levonogestrel	PLGCLA	(16)
Nafarelin acetato	PLGA	(46),(47)
Noretisterona	PLGA	(48)
Prednisolona	PGA	(48)
acetato		
Bupivacaína	DL-PLA	(50)
	PLGA	(50)
Ciclosporina A	PCL	(27)
	DL-PLA	(51)
	PLGA	(27),(51),(52)
Testosterona	PLGA	(53)
Albúmina	DL-PLA	(6)
	PLGA	(9),(13),(23)
Lidocaína	L-PLA	(25)

	PLGA	(25)
Insulina	DL-PLA	(53)
Metadona	DL-PLA	(23)
Calcitonina	PLGA	(54)
Acetazolamida	PLGA	(55)
Timolol maleato	PLGA	(19)

Abreviaciones: L-PLA: ácido poli-L-láctico; DL-PLA: ácido poli-DL-láctico; PLGA: ácido poli-DL-co-glicólico; PGA: ácido poli-glicólico; PCL: poli-ε-aprolactona; PLGCLA: ácido poli-DL-láctico-co-glicólico-co-ε-caprolactona.

Los principios activos antes mencionados abarcan diferentes categorías farmacológicas, entre las que se encuentran: citostáticos, inmunosupresores, antiinflamatorios no esteroideos, antibióticos, analgésicos narcóticos, anticonceptivos, anestésicos, antagonistas narcóticos, proteínas y péptidos.

Mecanismos de liberación del principio activo desde las microesferas

La liberación de principios activos convencionales desde micro esferas de PHB generalmente ocurre por difusión a través de la matriz del polímero, así como a través de los poros de la estructura del polímero. Sin embargo, la biodegradación de la matriz del polímero y disolución del polímero degradado continuamente cambia la geometría de la micro esfera y la textura de la matriz del polímero. Como resultado, el modelo de liberación de principios activos es una combinación de difusión y degradación.

Debido a que la biodegradación del polímero generalmente involucra la erosión de la masa, la micro esfera toma agua antes de comenzar la degradación de la matriz y disolución. Después que la hidratación de la matriz del polímero ha ocurrido, la molécula de principio activo encapsulado comienza a disolverse en el medio acuoso y difunde fuera de la matriz del polímero, por lo tanto, el mecanismo de liberación de principios activos puede verse en 3 etapas ó fases:

1. Una liberación inicial del principio activo enlazado a la superficie o embebida en la región superficial de la micro esfera.
2. Liberación difusional del principio activo a través de la matriz del polímero y a través de los poros durante la degradación de la matriz.
3. Liberación erosional del principio activo por la desintegración de la matriz del polímero y disolución después que la matriz pierde su integridad y las cadenas del polímero son degradadas a un tamaño lo suficientemente pequeñas como para ser solubilizadas.

Todas estas etapas pueden desempeñar una parte importante en el proceso de liberación, lo que depende de la naturaleza del principio activo encapsulado, las propiedades fisicoquímicas del polímero y la estructura de la micro esfera.

El perfil de liberación de un principio activo desde la micro esfera depende en gran parte, de la distribución del principio activo. Si el principio activo está heterogéneamente distribuido en la matriz del polímero, la curva de liberación puede poseer un modelo trifásico. Si el principio activo está homogéneamente distribuido en la matriz del polímero la curva de liberación puede poseer un modelo bifásico, es decir, la primera fase no ocurre porque no existe principio activo enlazado a la superficie de la micro esferas.

En el caso de proteínas y péptidos no hay difusión a través de la matriz del polímero sólido porque los principios activos no son solubles en el polímero, solamente ocurre difusión a través de los poros o canales acuosos. Estos canales acuosos facilitan la liberación de principios activos solubles en agua. Luego de este primer mecanismo ocurre la liberación por degradación del polímero que está asociado con la generación de porosidad, debido a la toma de agua y final desintegración de la matriz del polímero.

Existen varios factores que afectan la liberación del principio activo desde estos sistemas. Entre ellos se encuentran la composición y masa molecular del polímero, el contenido de principio activo y el tamaño y porosidad de la microesfera.

Capítulo 5

Usos dentales

La regeneración ósea guiada (ROG) es un procedimiento quirúrgico reconstructivo que se ha desarrollado a partir de la regeneración tisular guiada (RTG). Hace unos años los términos ROG y RTG eran intercambiables. Actualmente la RTG es utilizada para describir el tratamiento de defectos óseos asociados con los dientes naturales y la ROG se usa específicamente para referirse a la reconstrucción de defectos óseo alveolares previos o en asociación con la colocación de implantes dentales. Se utiliza una barrera para aislar y crear un espacio protegido para la generación de un coágulo sanguíneo y prevenir el colapso causado por la presión del colgajo mucoperióstico. Esto permite la migración de células progenitoras óseas en un espacio resultando en formación de nuevo hueso.

En los lugares experimentales, donde la barrera creaba un espacio, un nuevo hueso rellenó los defectos, sin una barrera, el tejido conectivo fibroso era capaz de proliferar en el defecto. Otros estudios animales han indicado que la técnica de RTG puede aplicarse a defectos asociados con la colocación de implantes dentales.

De estos estudios se pueden extraer las siguientes conclusiones, con respecto a la ROG:

- El procedimiento ROG es capaz de promover nueva formación ósea.
- Los defectos óseos, como dehiscencias y fenestraciones alrededor de los implantes dentales, pueden ser corregidos por el procedimiento de la ROG.
- Se pueden corregir defectos circunferenciales similares a los causados por la extracción dentaria.
- Es posible el aumento vertical del reborde alveolar
- Los injertos óseos pueden mejorar la formación de nuevo hueso.
- El hueso neoformado estará en contacto con superficies de implantes de titanio o implantes revestidos de hidroxiapatita.
- La exposición precoz de la barrera o la membrana complica la curación de la herida y limita la formación de nuevo hueso.
- La carga prematura de los implantes puede empeorar la calidad del hueso formado por el procedimiento de ROG.

La estabilización de la membrana es crítica porque micromovimientos de la barrera sobre el coágulo sanguíneo durante la curación inicial de la herida influye en la diferenciación celular. Además de la creación de espacio y estabilización de la membrana otros factores parecen influir en la predictibilidad de la ROG:

• Un material de barrera de suficiente rigidez para asegurar el volumen deseado del compartimento.

• Un lecho óseo bien vascularizado.

• La retención de la barrera en su posición "sumergida".

• Un apropiado periodo de curación, usualmente un mínimo de tres meses en la mandíbula y seis meses en el maxilar superior.

Implantes colocados en lugares de extracción dentaria

La ventaja radica en que la colocación de implantes combina el período de curación postextracción con la fase de integración y minimiza el tiempo que el paciente lleva una prótesis dentaria provisional. Las limitaciones de la colocación inmediata son las dificultades ocasionales con la inserción del implante en el defecto, la falta de suficiente hueso en la porción distal del defecto para anclar el implante y la incapacidad para cubrir completamente la barrera con tejido blando. La revisión de la literatura sugiere las siguientes conclusiones:

- Los implantes pueden colocarse con éxito en lugares de extracción cuando se aplica el tratamiento por ROG.
- Puede, dependiendo del volumen del defecto, aplicarse únicamente una barrera o acompañarse de un injerto
- La exposición de la barrera se asocia con menor relleno ósea.
- La colocación de implantes inmediatos no siempre permite el cierre completo del defecto del tejido blando sobre la barrera.
- Puede emplearse un procedimiento diferido (espera treinta o cuarenta días para permitir la queratinización sobre el lugar de la extracción) para la colocación del implante. Este método puede permitir el cierre completo de la herida.

En el caso del PHB como barrera biodegradable, los procesos de su biodegradación dieron como resultado una reacción inflamatoria la cual parecía incrementarse. Las aberturas del tejido blando resultaron en un incremento de la reacción inflamatoria en la mucosa adyacente a los implantes y parecía acelerar el proceso de biodegradación.

La biodegradación provocó una granulomatosis como reacción de un cuerpo extraño y frecuentemente la membrana de PHB fue encapsulada en tejidos fibrosos. En concordancia con otros estudios histológicos es posible obtener un contacto directo hueso-implante por colocación de un implante intermedio.

El problema mayor parece ser la obtención y mantenimiento de una apropiada pasta de hueso de la cuenca de extracción alrededor del implante. El uso de membranas de barrera sobre los implantes debe de impedir la concesión de células de tejido a partir de la mucosa desde la entrada de la cuenca de extracción y proteger el coagulo de sangre, la cual teóricamente deberá brindar una pasta de hueso total de la cuenca de extracción alrededor del implante.

El uso de una membrana siempre trae consigo grandes riesgos de complicaciones, pero sin embargo no se deben de perder de vista los potenciales beneficios. El tiempo de degradación del PHB ha reportado estar entre los 24 y 30 meses, en la cavidad bucal. La velocidad de degradación puede ser controlada por un número de variables del material tales como : composición, forma física, peso molecular, tamaño y porosidad; desafortunadamente las condiciones en vivo no pueden ser controladas de la misma manera, los cambios en el pH y la presencia de ciertas bacterias pueden incrementar la degradación y la inflamación.

Un gran problema con las membranas usadas como barrera es la rigidez , la cual hace la adaptación de las membranas sobre los defectos difícil, además la mayoría de los tipos de membrana son frágiles. El PHB debido a sus propiedades físicas características de un poliéster termoplástico no enfrenta este problema, además al copolimerizarse con el PHV incrementa sus propiedades.

En estas figuras se puede observar la técnica de regeneración ósea guiada y las barreras de PHB, utilizadas en cada caso

Capítulo 6

Usos Ortopédicos

Los materiales poliméricos son ampliamente utilizados en cirugía ortopédica. Esos polímeros desencadenan reacciones cuando son implantadas dentro del lugar del hueso. El grado y el tipo de estas respuestas dependen, entre otras cosas, si el implante es degradado. La primera categoría de la reacción del tejido, es iniciada por la lesión quirúrgica por si mismo.

Inicialmente las células polimorfo nucleares invaden el lugar del implante, entonces las células mononucleares y los macrófagos las reemplazan.

La segunda categoría de reacción es para el polímero. Una cápsula fibrosa rodea al implante a pesar del tipo de polímero (ya que puede ser no biodegradable), por lo tanto resulta muy útil que sea biodegradable. La situación es mas compleja cuando hay una infección en el sitio del implante esto implica el uso de antibióticos y la mejor opción es el uso de un vehículo de liberación controlada.

La infección provoca una mayor reacción en el tejido del hueso que esta presente como :inflamación, calentamiento local, drenado y formación de abscesos. En la radiografía se puede ver elevación periosteal, deformación estructural, ensanchamiento del radio del hueso, formación de nuevo hueso y deformación del tejido blando.

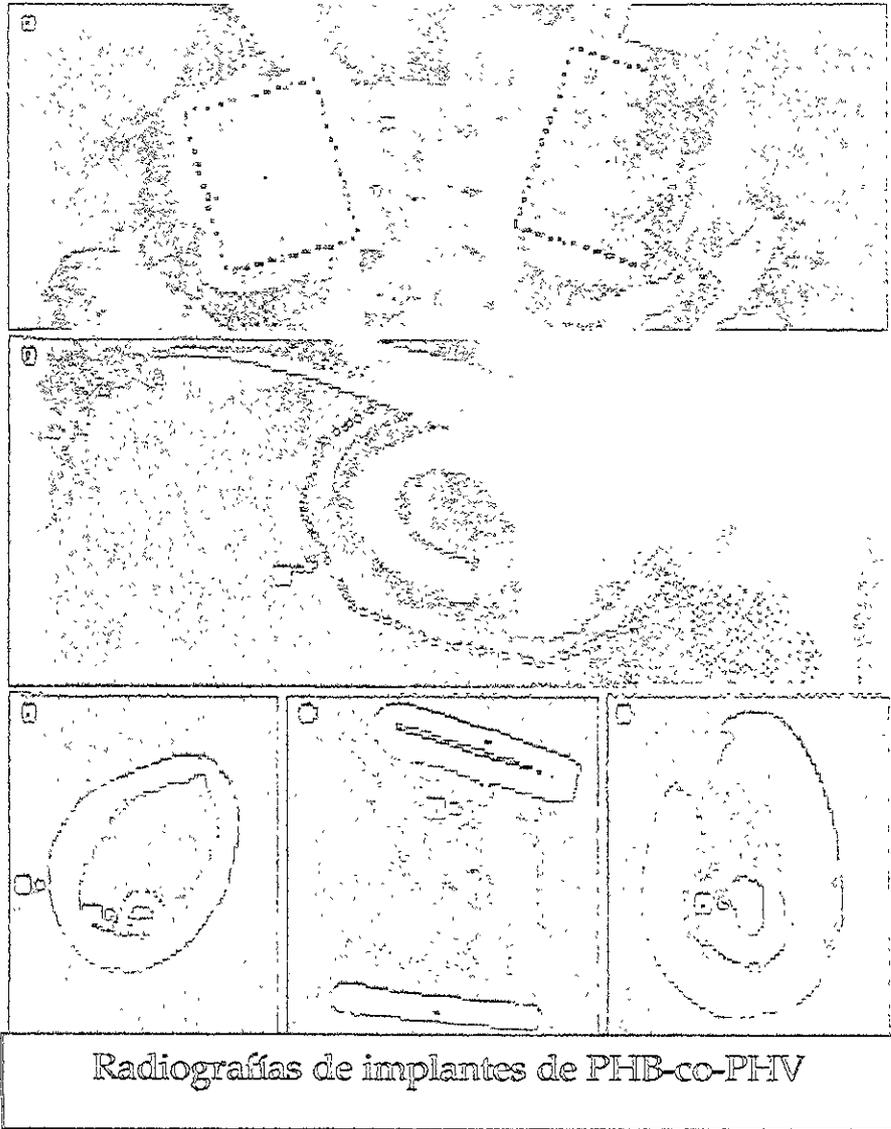
La curación del tejido y la infección, junto con la degradación del polímero y la reacción del huésped a los compuestos liberados por el implante, presentan un cuadro histológico complejo.

Sin embargo, gracias a los nuevos materiales como el P(3HB-CO-4HB), experimentalmente se comprobó que al utilizar antibióticos como el Duocid y Sulperazone encapsulados en P (3HB-CO-4 HB) y con un implante en forma de barra, la deformación del tejido y el ensanchamiento del rayo del hueso, mejoraron significativamente.

Así como la recuperación estructural fue claramente influenciada por el tratamiento.

En este caso en particular se observo una capa de fibroblastos alrededor de las células patógenas encapsulándolas todas en la primera semana. Las células de tejido ordinarios principalmente fibroblastos formaron una capa fibrosa reemplazando a esta composición celular. La capa fibrosa formada fue muy delgada permitiendo la interacción entre el implante y el tejido del hueso. El proceso de regeneración del hueso no fue alterada por la implantación de.

polímero. La degradación del polímero fue llevada a cabo por los elementos de la medula del hueso. El hueso y su medula regresaron a su apariencia normal sin inflamación y sin reducción a las 6 semanas.





Crecimiento del hueso, en el caso de una falange

Capítulo 7

Ingeniería de tejidos

Conceptos generales

Se conoce como ingeniería de tejidos al área científica interdisciplinaria cuyo fundamento esencial es el uso de células vivas, manipulación del entorno extracelular, creación de sustitutos biológicos y su consecuente implantación en el cuerpo. Es la intención de esta ciencia reparar, reemplazar, mantener o mejorar la función particular de un órgano o tejido.

La pérdida parcial o total de tejido así como también la pérdida de la función de un órgano es uno de los más graves y costosos problemas de salud de un ser humano. Actualmente la cirugía reconstructiva y de transplantes es el arma fundamental para la atención de estos pacientes. La utilización de órganos para trasplante usualmente se ve limitada por la baja cantidad de donantes. Anualmente un gran número de pacientes muere en listas de espera y muchos otros no llegan si quiera a integrarlas. Esta creciente necesidad de órganos, llevo a los investigadores a utilizar células vivientes autólogas para la reconstrucción de órganos y tejidos. La ventaja de esta nueva tecnología es la de evitar la terapéutica inmunosupresora (que no los deseché el cuerpo), tratar la pérdida de función de los tejidos y órganos ha sido preocupación continua de los investigadores, habiéndose intentado a través de los cuatro procesos básicos: transplantes, injertos autólogos, prótesis, y regeneración de tejidos.

Introducción

El termino tissue engineering (ingeniería de tejidos) fue adjudicado a esta disciplina en la primavera de 1987, la idea de la ingeniería de tejidos se forjó con la unión de la experiencia ganada en diversos campos, como la biología celular, la bioquímica y la biología molecular y su posterior aplicación a la ingeniería de nuevos tejidos. El rol de la ingeniería química y biológica fue fundamental para la aplicación racional de los sistemas vivientes. Otro pilar de la ingeniería de tejidos son las acciones de los médicos y cirujanos para reconstruir de una manera natural los tejidos.

Hoy científicos de diversas áreas (molecular, celular, biológica) colaboran activamente con ingenieros biomecánicos para desarrollar tejidos análogos que permiten a los médicos mejorar, mantener y restaurar la función de un órgano.

Matriz extracelular

Por muchos años se creyó que la matriz extracelular era solo una superficie de soporte para los tejidos. Hoy sabemos que es un sistema dinámico integrado por diversas moléculas y su organización varía con los diferentes tejidos.

Esta compuesta por diversas moléculas como colágeno, glucoproteínas, elastina, y fibrina, además de otras tales como factores de crecimiento y diversas enzimas. La dinámica de interacción entre las células y la matriz extracelular contribuye a la migración celular, proliferación, diferenciación, forma, metabolismo y la consecuente muerte celular.

Los tres pilares básicos sobre los cuales se sustenta la ingeniería de tejidos para desarrollar reemplazos son:

1. Prevenir una respuesta inmunológica, ya sea inflamación, rechazo o ambas. Idealmente si se pudieran manipular células pluripotenciales, una vez diferenciadas estas en el medio disminuirían la respuesta inmunológica
2. Será necesario crear el sustrato ideal para la sobrevivencia y desarrollo y diferenciación celular. La utilización de implantes biocompatibles compuestos por moléculas integrantes de la matriz extracelular sembradas por células autólogas será una estrategia a considerar. El agregado de factores de crecimiento y diferenciación celular incrementará potencialmente la calidad del tejido a reemplazar.
3. Proveer un adecuado ambiente para el desarrollo celular y del tejido es crucial para mantener la función celular y el desarrollo del tejido neo formado.

Transportadores celulares \Rightarrow polímeros

En la biología normal de los tejidos vivos, las células se mantienen en un continuo remodelamiento; de acuerdo a su información genética y su entorno forman estructuras e intercambian con el medio sustancias para su nutrición, intercambio gaseoso y eliminación de sustancias que no necesitan.

Mediante la utilización de sistemas de trasplante celular, las células se ponen en contacto directo con el segmento del organismo receptor. En esta situación muchas células no podrán ser incorporadas al receptor debido a múltiples factores locales. Aquí entonces surge la necesidad de utilizar diversas sustancias para el transporte celular, que permitan a las células subsistir hasta su incorporación con el huésped. Estos materiales son los polímeros.

Las características básicas que un debe tener para ser utilizado en este campo son:

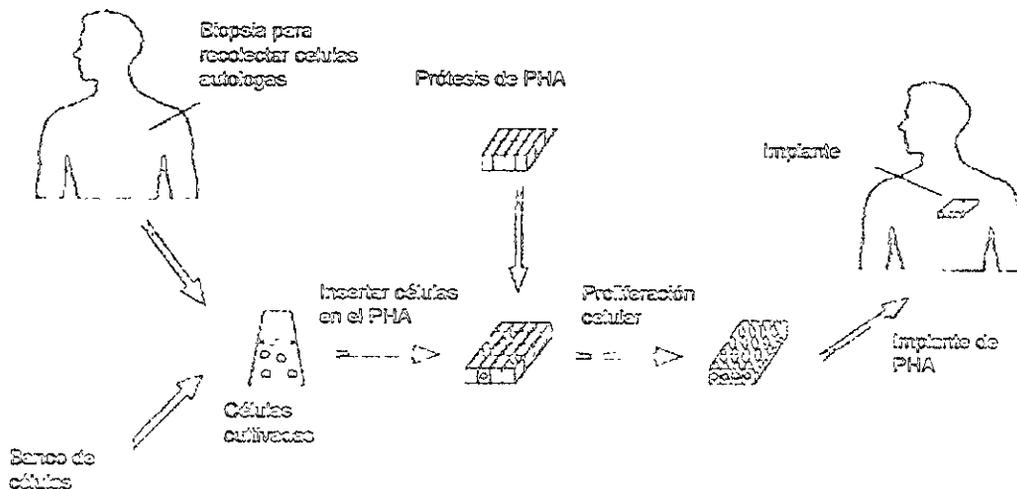
1. Alta porosidad
2. Gran superficie de contacto celular
3. estructura constante
4. Forma tridimensional
5. Biocompatible

La función de un polímero es dirigir el crecimiento celular de los tejidos adyacentes o de las células sembradas en él. Para esto, el polímero debe proveer:

- ❖ Adecuada adhesión celular
- ❖ Favorecer la proliferación y diferenciación celular
- ❖ En ciertos casos favorecer la migración celular

Hay muchos materiales biocompatibles que pueden ser utilizados, sin embargo los biodegradables son preferidos debido a que el rol del polímero usualmente es temporal. Los polímeros biodegradables proporcionan un sustento celular hasta que las células son capaces de secretar su propia matriz extracelular.

El PHB, el PHO y el PHEV, son una línea de polímeros biocompatibles de degradación por simples procesos, que son ampliamente utilizados en la ingeniería de tejidos.



Reparación de nervios

A pesar de la reparación con microcirugía los daños a los nervios son usualmente seguidos de alguna pérdida funcional especialmente las concernientes a la de la sensación, esto frecuentemente deja al paciente con una considerable discapacidad.¹²⁵⁻¹²⁶

Una alternativa para reparar este daño es hacer un puente usando injertos de tejido autólogo nervioso, lo cual resulta en una patología del sitio donador. Actualmente es posible en algunas ocasiones recolectar suficiente tejido autólogo proveniente del paciente lesionado, especialmente cuando el trauma es caracterizado por extensos defectos involucrando nervios largos.

Desde que el paciente puede perder la sensación y hay un riesgo de desarrollar neuronas en el sitio del injerto, varios materiales diferentes han sido probados como sustitutos de injertos para nervios.

Estos incluyen tubos de silicón, injertos de venas y polímeros biodegradables. La idea de reparar por intubulación se basa en la teoría de los factores promotores del crecimiento. Acumulando entre la cavidad y la terminación del nervio, apoyando la regeneración.

El PHB en el cuerpo es degradado lentamente en el cuerpo por hidrólisis e influencia enzimática y continuará allí por lo menos 6 meses dependiendo del área de superficie del polímero en contacto con el tejido, el tipo de tejido y las especies en las cuales es implantado. El producto de degradación es ácido hidroxibutírico, un común y no tóxico metabolito.

El conducto de PHB se hace esterilizando hojas de PHB fibra de orientación unidireccional.

La idea de usar algún tipo de prótesis ha sido una solución muy requerida especialmente en defectos nerviosos, en orden de evitar consecuencias negativas de la recolección de injerto nervioso. Un conducto nervioso con una fibra longitudinal de orientación unidireccional tiene la ventaja de proteger y conducir mecánicamente a las neuritas (terminales sensitivas de un nervio) hacia el muñón distal incluso cuando la terminación nerviosa este lacerada. El fluido formado en su interior contiene actividad neurotrópica derivada principalmente de la degeneración del tejido nervioso. Esto gradualmente se convierte en una matriz que contiene fibronectina laminina y células inflamatorias, todas ellas apoyando el proceso de regeneración.

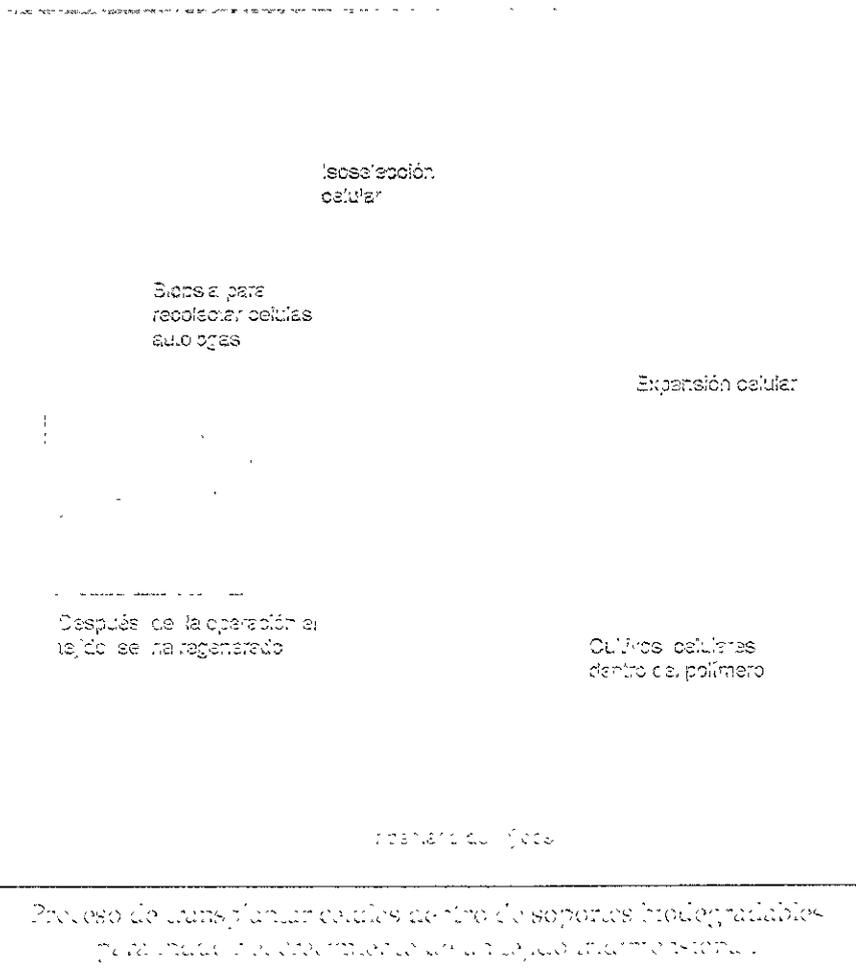
Un material bioabsorbible no aumentara la condición crónica de irritación o compresión. Por lo tanto remover los conductos no es requerido como en los casos de silicón.

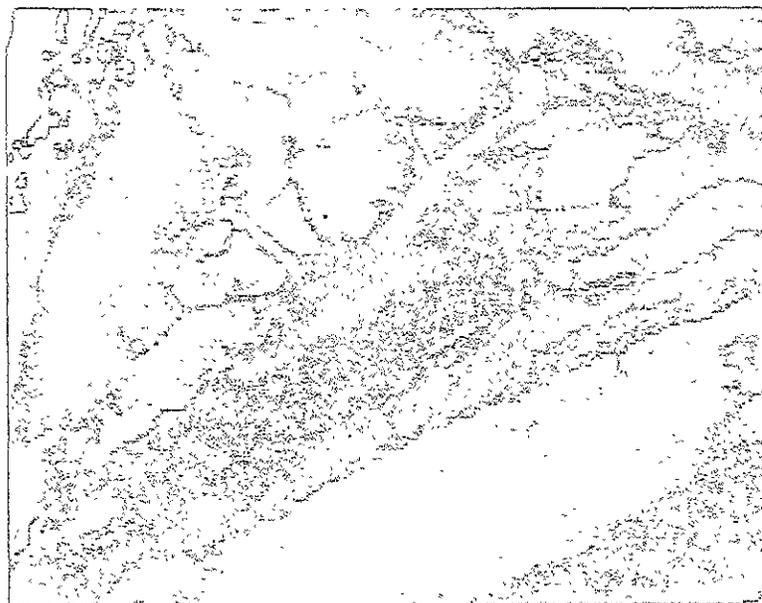
El PHB tiene la ventaja de ser lentamente reabsorbible en vivo, de ese modo apoya al nervio durante un periodo lo suficientemente largo para su regeneración. El largo tiempo de degradación también tiene el beneficio de no dar grandes cantidades de ácido como producto de su degradación. El PHB es bien tolerado sin embargo da un aumento leve en la reacción del cuerpo a un ente extraño implicando células inflamatorias principalmente macrófagos que disminuye a los 6 meses en cápsulas fibrosas, esto es importante ya que se cree que los macrófagos contribuyen a los factores promotores de la regeneración.

Se ha demostrado que el uso del conducto en el lugar de la lesión mejora la regeneración periférica.¹²⁵⁻¹²⁶

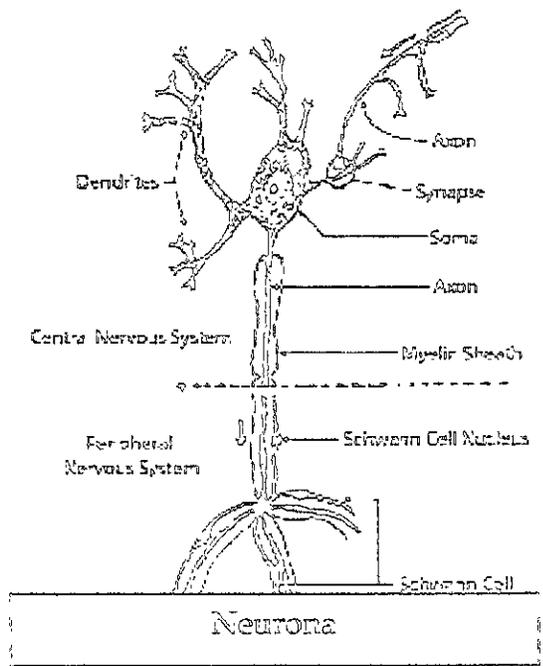
Encerrando las terminaciones nerviosas en un conducto aumentando las concentraciones locales de factores de crecimiento como las neurotrofinas que son hormonas que estimulan a las neuronas.

El PHB ofrece muchas ventajas, no es necesario que se retire después del implante, no presiona al nervio por sus propiedades elásticas, lo cual lo hace una alternativa ideal para injertos nerviosos en las pérdidas extensas de tejido nervioso.





Nervio dentro de un conducto de PHB



Válvulas tricúspides del corazón

Recientemente en el campo de la ingeniería de tejidos, se ha creado la meta de transplantar células dentro de soportes biodegradables y biocompatibles que proporcionen el esfuerzo mecánico adecuado para inducir el crecimiento de un tejido tridimensional.

La ingeniería de tejidos de válvulas del corazón están en un nuevo enfoque experimental para fabricar válvulas del corazón, viables y funcionales a partir de células autólogas. La idea básica es transplantar células autólogas dentro de un soporte biodegradable y biocompatible que tenga la forma de una válvula del corazón. Una vez que las células se han sujetado al soporte, estas formaran su propia matriz extracelular donde el material polimérico del soporte comienza a degradarse.

Un experimento para probar la eficacia de esta técnica fue llevado a cabo utilizando PHO, para reemplazar completamente una válvula tricúspide del corazón en la posición supraavicular de la arteria pulmonar.

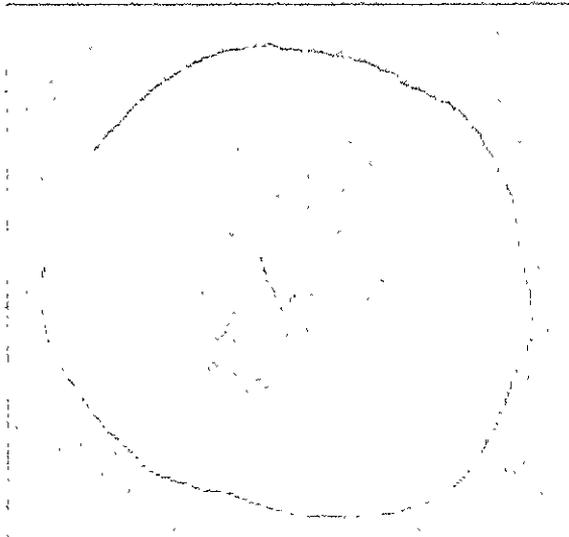
Para que se tenga un buen desempeño en el funcionamiento de esta técnica es necesario que el PHO sea poroso. Debido a su buena biocompatibilidad y excelente degradación resulta ser un material altamente recomendable para esta técnica.

Se observó que las células dentro del PHO migraron a la arteria original adyacente encima de las estructuras expuestas al flujo y contribuyendo a la formación de nuevo tejido.

Así la regeneración total de la válvula tomo 17 semanas, siendo de un total de éxito debido a su lenta degradación en el organismo.

Parches en arterias pulmonares

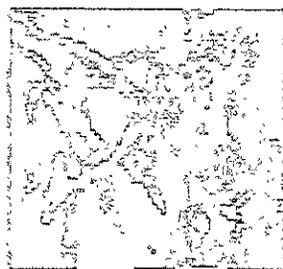
En el caso de los parches el material utilizado es P-4HB, las dimensiones del parche son 10 x 25 mm con un ancho de 1.6 mm, se requiere que sea altamente poroso debido a que el mismo proceso de crecimiento celular, que ocurre en el caso de las válvulas del corazón, los parches se esterilizan con oxido de etileno. Durante la implantación del parche no hay ninguna hemorragia debido a la tolerancia y elasticidad del polímero, después de 26 semanas el parche no se podía distinguir de la arteria.



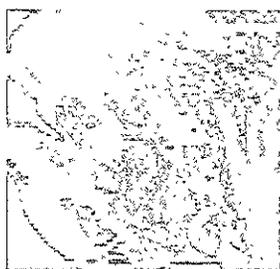
Válvula tricúspide de PFO

Degradación de la válvula a las 6(A) y a las veinte semanas

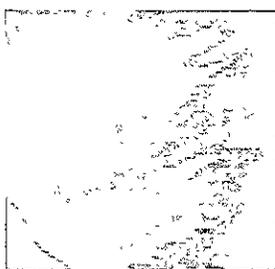
Ultrasonido del conducto



5 semanas

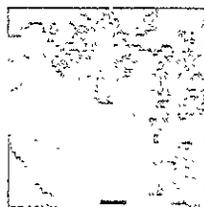


17 semanas



Arteria pulmonar
regenerada

Válvula del corazón (lado ventricular)



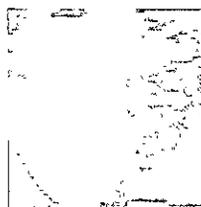
5 semanas



7 semanas



9 semanas



17 semanas

Conclusiones

1. En base a la información bibliográfica encontrada se estableció que los PHA's son polímeros biodegradables y biocompatibles
2. De igual manera se encontró en la literatura que; debido a sus excelentes propiedades características de un poliéster termoplástico, los PHA's tienen una amplia gama de aplicaciones, principalmente en el campo de la regeneración de tejidos
3. Al interactuar con medios biológicos, su biodegradabilidad lenta y su excelente biocompatibilidad son las claves de su éxito en cualquier uso médico requerido, como los mencionados en este trabajo.

Referencias Bibliográficas

1. New York:Pergamon Press;1985:23. Edman P. Solid microspheres as drug delivery systems. En: Sartorelli AC, ed. Methods of drug delivery
2. Valero J, Egea MA, Alsina MA, García ML. Sistemas poliméricos de administración de fármacos. 1985; (sept-oct):93-100.
3. Alonso MJ, Blanco J, Vila Jato LL. Las nanopartículas como sistemas de liberación de medicamentos. A. E. H. IX 1985(4):205-18.
4. Benoit JP, Couvreur P, Devissaguet JP, Fessi H, Puisieux F, Roblot-Treup L. Les formes vectorisées ou a distribution modulée, nouveaux systèmes d'administration médicaments. J Pharm Belg 1986;41(5):319-29.
5. Beck LR, Pope VZ. Controlled-release delivery systems for hormones. A review of their properties and current therapeutic. Drugs 1984;(27):528.
6. Tice TR, Gilley RM. Preparation of injectable controlled release microcapsules by a solvent evaporation process. En: Advances in Drug Delivery Systems. New York: Ed Elsevier Science Publishers BV; 1986:343.
7. Rivera R, Alvarado G, Aldaba S, Flores C, Hernández A. Esteroides microencapsulados como una alternativa en anticoncepción de acción prolongada. En: Pérez Palacios G, ed. Avances recientes en la regulación de la fertilidad. México, DF: Piensa;1987:149-70.
8. Ike O, Shimizu Y, Ikada Y. Degradation and antitumor effect of adriamycin containing poly (L lactic acid) microspheres. Biomaterials 1991;(12):757-62.
9. Blanco Prieto MJ, Fattal E, Delie F, Daugé V, Roques SP, Couvreur P. Encapsulation of a peptide derived from Cholecystikinin in PLGA microspheres designed for intracranial administration 14 th Pharmaceutical Technology Conference, Barcelona, Proceedings, 1995;vol 1:469-76.
10. Wada R, Hyon S-H, Ike O, Watanabe S, Shimazu Y, Ikada Y. Preparation of lactic acid oligomer microspheres containing anticancer drug by o/o type solvent evaporation process. Polymeric Mater Sci Eng 1988;(59):303-6.
11. Polard E, Le Corre P, Chevanne F, Le Verge R. Morphine-loaded polylactide and poly-lactide-co-glycolide microspheres: *in vitro* and *in vivo* evaluation. 14 th Pharmaceutical Technology Conference. Barcelona: Proceedings, 1995;vol 1:32-42.
12. Armstrong DJ, Elliott PNC, Ford JL, Guiziou B, Mc. Carthy GP, Rostron C. Investigation of *in vitro* release of NSAID'S from PLA microspheres. 14 th Pharmaceutical Technology Conference. Barcelona: Proceedings, 1995;vol 1:43-51.
13. Armstrong DJ, Elliott PNC, Ford JL, et al. Preparation and characterization of PLA-NSAID microspheres using variations of a solvent evaporation Technique. 14 th Pharmaceutical Technology Conference. Barcelona: Proceedings 1995;vol 1:477-81.
14. Benita S, Benoit JP, Puisieux F, Thies C. Characterization of drug-loaded poly (DL lactide) microspheres. J Pharm Sci 1984;73(12):1721-28.
15. Soriano I, Delgado A, Díaz RV, Evora C. Use of surfactans in polylactic acid protein microspheres. Drug Dev Ind Pharm 1995;(21):549-58.
16. Gu Z-W, Ye W, Yang J. Biodegradable block copolymer matrices for long acting contraceptive with constant release. J Controlled Release 1992;(22)(1):3-14.
17. Ike O, Shimizu Y, Wada R, Hyon S-H, Ikada Y. Controlled cisplatin delivery system using poly (DL lactic acid). Biomaterial 1992;(13):220-4.
18. Conti B, Genta I, Modena T, Pavanetto F. Investigation on process parameters involved in poly lactide-co-glycolide microspheres preparation. Drug Dev Ind Pharm 1995;(21):613-22.

19. Sturesson C, Carlfors J, Edsman K, Andersson M. Preparation of biodegradable poly (lactic-co-glycolic) acid microspheres and their *in vitro* release of timolol maleate. *Int J Pharm* 1993;(89):235-44.
20. Julianne MC, Alonso Ma J, Gómez JL, Benoit JP. Preparation of poly (DL lactide/glycolide) nanoparticles of controlled particle size distribution: application of experimental designs. *Drug Dev Ind Pharm* 1992;(18):1063.
21. Sukukara Ch, Takahashi T, Hagiwara A. Controlled release of cisplatin from lactic acid oligomer microspheres incorporating cisplatin: *in vitro* studies. *J Controlled Release* 1992;(22):69-73.
22. Spanlehaber G, Vert M, Benoit JP, Chabot F, Veillard M. Biodegradable cisplatin microspheres prepared by the solvent evaporation method: morphology and release characteristic. *J Controlled Release* 1988;(7):217-29.
23. Delgado A, Evora CM, Llabrés M. Degradación de microesferas de DL-PLA-Metadona base. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España: Proceedings, 1995:61.
24. Ruz V, Cel ME, Bernabeu JA, Camacho MA, Torres AI. Oil-in-water and non-aqueous systems for the preparation of BCNU loaded microspheres by the solvent evaporation technique. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:57.
25. De las Rivas B, Molina C, Terreros A, López E. Estudio de micropartículas de polímeros de los ácidos láctico y glicólico preparadas por el método de evaporación del solvente. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:59.
26. Berges L, Chacón M, Malpereres J. Encapsulation efficiency of cyclosporin A in poly DL-lactide-co-glycolide colloidal drug carriers. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:52.
27. García F, Guzmán M, Malpereres J, Aberturas R, Chacón M, Berges L. *In vitro* and *in vivo* studies of cyclosporin A loaded microspheres. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:53.
28. Blanco MD, Alonso MJ. Factors affecting protein encapsulation and release from PLGA nanospheres. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:54.
29. Karunakar S, Wahi SP. Preparation and *in vitro* characterization of metotrexate loaded poly (DL-lactide-co-glycolide) microspheres. *International Federation of Pharmacy (IFP)*, Sweden, 1995:138.
30. Gammisans F, Lacoulonche F, Chauvet A, Espina M, García ML, Egea MA. Flurbiprofen-loaded nanospheres: analysis of the matrix structure by thermal methods. *Int J Pharm* 1999;179(1):37-48.
31. Quintanar-Gerrero D, Allemann E, Fessi H, Doelker E. Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. *Drug Dev Ind Pharm* 1998;24(12):1113-23.
32. Kawashina Y, Yamamoto H, Takeuchi H, Hirno T, Niwa T. Properties of a peptide containing DL lactide/glycolide copolymer nanospheres prepared by novel emulsion solvent diffusion methods. *Eur J Pharm Biopharm* 1993;45(1):41-3.
33. Leroueil-Le Verger M, Fückiger L, Kim YI, Hoffman M, Maicent P. Preparation and characterization of nanoparticles containing an antihypertensive agent. *Eur J Pharm Biopharm* 1993;56(1-3):197-203.
34. Ike O, Watanabe S, Nakamura T. Release and degradation characteristic and antitumor effect of adriamycin-containing poly-L-lactic acid microspheres: implant

- materialies in biofunction. En: Putter C, Langer GL, Graot K, Lee AJC, eds. *Advance in biomaterials*. Amsterdam: The Netherlands: Elsevier. 1988;vol 8:257-62.
35. Ike O, Hitomi S, Wada R. Clinical studies of adriamycin containing poly (L-lactic acid) microspheres into the pleural cavity of patients with pleuritis carcinomatosa. *Advance in Biomaterials* 1991;(9):627-32.
 36. Ike O, Shimizu Y, Hitomi S, Wada R, Ykada Y. Treatment of malignant pleural effusions with doxorubicin hydrochloride-containing poly (L-lactic acid) microspheres. *Chest* 1991;(99):911-5.
 37. Ike O, Hitomi S, Wada R, Watanabe S. Administration of the adriamycin containing poly (L-lactic acid) microspheres into the pleural cavity of patients with malignant pleural effusions. *Drug Delivery Systems* 1990;5:23-7.
 38. Ike O, Wada R, Kusanoi Y. Cisdiaminedichloro-platinum delivery systems using poly (lactic acid). *Drug Delivery Systems* 1990;(5):29-32.
 39. Spanlehaer G, Veillard M, Benoit JP. Formation and characterization of poly (DL-lactide) microspheres for cemoembolization. *J Pharm Sci* 1986;(75):750-5.
 40. Verrijck R, Smolders IJH, Bosnie N, Begg AC. Reduction of systemic exposure and toxicity of cisplatin by encapsulation in poly-lactide-co-glycolide. *Cancer Res* 1992;(52):6653-6.
 41. Hirano M. Studies on the new anticancer preparation, a fluorouracil polyglycolic acid-composite and its therapeutic evaluation. *J Jap Surg Soc* 1984;(85):1503-17.
 42. Niwa T, Takeuchi H, Hino T, Kunou N, Kamashima Y. Preparation of biodegradable nanospheres of water soluble and insoluble drugs DL-lactide/ glycolide copolymer by a novel spontaneous emulsification solvent diffusion method and the drug release behaviour. *J Controlled Release* 1993;(25):89-93.
 43. Jacob E, Cierny G, Fallon MT, Neill JFMc, Siderys GS. Evaluation of biodegradable cefazolin sodium microspheres for the prevention of infection in rabbits with experimental open tibial fractures stabilized with internal fixation. *J Orthop Res* 1993;(11):404-11.
 44. Teupe C, Meffert R, Winckler S, Ritzerfeld W, Tormala P, Brug E. Ciprofloxacin impregnated poly L lactic acid drug carrier: new aspects of a resorbable drug delivery systems in local antimicrobial treatment of some infections. *Arch Orthop Trauma Surg* 1992;(112):33-5.
 45. Benoit JP, Courteille F, Thies C. A physicochemical study of the morphology of progesterone-loaded pol (DL-lactide) microspheres. *Int J Pharm* 1986;(26):95-102.
 46. Sanders LM, Kell BA, Rae GIMc, Whitehead GW. Prolonged controlled release of nafarelin, a luteinizing hormone releasing hormone analogue from biodegradable polymeric implant: influence of composition and molecular weight of polymer. *J Pharm Sci* 1986;(75):356-60.
 47. Sanders LM, Rae GIM, Vitale MK, Kell BA. Controlled delivery of an LHRH analogue from biodegradable injectable microspheres. En: Anderson JM, ed. *Advances in drug delivery systems*. Amsterdam: Elsevier. 1986;187-95.
 48. Beck LR, Pope VZ, Flowers CE, et al. Poly (DL-lactide-co-glycolide) norethisterone microcapsules. *Biol Reprod* 1983;28:186-95.
 49. Redmon MP, Hickey AJ, Luca PP de. Prednisolone-21-acetate poly (glycolic acid) microspheres: influence of matrix characteristic on release. *J Controlled Release* 1989;9:99-9.
 50. Le Corre P, Le Guevello P, Gajan V, Chevanne F, Le Verge R. Preparation and characterization of bupivacain-loaded poly-lactide and poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres. *Int J Pharm* 1994;(107):41-9.

51. Harris E, Ramtoola Z, Kelly JG. Preparation and *in vitro* characterization of biodegradable cyclosporin-loaded micro- and nanoparticles 14th Pharmaceutical Technology Conference. Barcelona. Proceedings 1995;vol 1:301-2.
52. Lamas MJ, Sánchez A, Villa Jato JL. Nanoparticles for the intravitreal administration of cyclosporin A: a tolerance study. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, 1995:104.
53. Soriano Torres I, Evora CM, Llabrés M. Liberación de insulina desde microesferas de DL-PLA. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:60.
54. Díaz RV, Llabrés M, Evora CM. Microesferas de PLGA/calcitonina. Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada, Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:79.
55. Pérez MJ, Coriat LA, Díaz F, Rabasco AM. Influencia de la fase orgánica y el tiempo de agitación en la elaboración de nanopartículas de PLGA cargadas con acetazolamida. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:103.
56. Morlock M, Koll H, Winter G, Kissel T. Microencapsulation of rh erythropoietin, using biodegradable poly (DL-lactide-co-glycolide): protein stability and the effects of stabilizing excipients. Eur J Pharm and Biopharm 1997;(43):29-36.
57. García L, Abu-Izza K, Lu DR. Biodegradable cisplatin microsphere for direct brain injection, preparation, characterization. Pharm Dev Technology 1997;(2):53-65.
58. Salmore MID, Hernández PJ, Cerezo A. Encapsulation study of 6 methylprednisolone in lipid microsphere. Drug Dev Ind Pharm 1997;(27):133-6.
59. Raffler G, Johann M. Controlled release systems of biodegradable polymer. Part 5. Microparticle preparation by a salting out process. Pharm Ind Germany 1997;(59):620-4.
60. Shauh D, Shan Y, Prudhan R. Development and evaluation of controlled-release diltiazem HCL microparticles using cross-linked poly (vinylalcohol). Drug Dev Ind Pharm 1997;(27):567-74.
61. Shen Wu X. Preparation, characterization, and drug delivery applications of microspheres based on biodegradable lactic/ glycolic acid polymers. En: Wise LM, Trantolo DJ, Altobelli DE, Yaszemski MJ, Gresser JD, Schwartz, eds. Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering. New York: Marcel Dekker;1995:1151-200.
62. Diana Ramos Picos, Mariña Gómez Carril, Dianelis Fernández Mena y Leopoldo Núñez de la Fuente Microesferas biodegradables de liberación controlada para administración parenteral Rev Cubana Farm 2000;34(1):70-7
63. Michelle B., Keller Hals, Birgit Kessler, Bernard Witholt Closed- Loop control of bacterial high-cell density feed- batch cultures: production of mcl-PHA's by *Pseudomonas putida* KT2442 under single- substrate and cofeeding conditions Biotechnology and Bioengineering vol 65 No 3 November 5 1999
64. BL Seal, TC Othero, A Panitch Review; Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration Material Science and Engineering R 34 (2001) 147-230
65. Hiroshi Shimizu, Yoichi Kozaki, Hironobu Kodama Maximum production strategy for Biodegradable Copolymer P(HB-co-HV) in feed batch culture of *Alcaligenes eutrophus* Biotech and Bioeng, vol 62 no 5 March 5 1999
66. Fischelli Tim A; Polymer coatings for stents: Can we judge a stent by its cover? Circulation Vol 94(7), 1 oct 96 pp 1494-1495

67. Ga-er Yu, Frederick G Morin, Geoffre A.R. Communication to the editor. Degree of acetylation of chitin and extent of grafting PHB on Chitosan determined by solid state NMR *Macromol* 1999 32 518-520
68. Gerhart Brauneegg, Klaus-Genser, Rodolfo Bona, Gudrun Hage. Production of PHA's from agricultural waste material. *Macromolecules Symposium* 144 375-383 (1999)
69. Michelle B Kallerhals, Brigit Kessler, Bernard Witholt. Development of a closed-loop control system for production of medium-chain-length Poly(3-hydroxyalkanoates) (mcl-PHA's) from bacteria. *Macromolecules Symposium* 144 385-389 (1999)
70. Tomas Lüpke, Hans-Joachim Radusch, Klaus Metzner. Solid state processing of PHB-powders. *Macromolecules symposium* 144 227-240 (1998)
71. T. Fukui Y. Doi. Efficient production of polyhydroxyalkanoates from plants oils by *Alcaniges eutrophus* and its recombinant strain. *Appl Microbiol Biotechnol* (1998) 49: 333-336
72. H.H. Wong, S.Y. Lee. Poly(3-hydroxybutyrate) production from whey by high-density cultivation of recombinant *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* (1998) 50: 30-33
73. Woo Suk Ahn, Si Jae Park, Sang Yup Lee. Production of poly(3-hydroxybutyrate) by feed-batch culture of recombinant *Escherichia coli* with a highly concentrated whey solution. *Applied and Environmental Microbiology* Aug 2000 3624-3627
74. Hoerstrup SP; Sodian R; Daebritz S; Wang J; Bacha EA; Martin DP; Moran AM; Guleserian KJ; Sperling JS; Kaushal S; Vacanti JP; Schoen FJ; Mayer JE Jr. Functional living trileaflet heart valves grown *In vitro*. *Circulation* 2000 Nov 7;102(19 Suppl 3):III44-9
75. Sodian R; Hoerstrup SP; Sperling JS; Daebritz S; Martin DP; Moran AM; Kim BS; Schoen FJ; Vacanti JP; Mayer JE Jr. Early *In vivo* experience with tissue-engineered trileaflet heart valves. *Circulation* 2000 Nov 7;102(19 Suppl 3):III22-9
76. Stock U; Sakamoto T; Hatsuoka S; Martin DP; Nagashima M; Moran AM; Moses MA; Khalil PN; Schoen FJ; Vacanti JP; Mayer JE Jr. Patch augmentation of the pulmonary artery with bioabsorbable polymers and autologous cell seeding. *J Thorac. Cardiovascular Surg.* 2000; 120:1158-63..
77. Sodian R; Sperling JS; Martin DP; Egozy A; Stock U; Mayer JE Jr; Vacanti JP. Fabrication of a trileaflet heart valve scaffold from apolyhydroxyalkanoate biopolyester for use in tissue engineering. *TissueEng.* 2000; 6(2):183-8.
78. Sodian R; Hoerstrup SP; Sperling JS; Daebritz SH; Martin DP; Schoen FJ; Vacanti JP; Mayer JE Jr. Tissue engineering of heart valves: *in vitro* experiences. *Ann. Thorac. Surg.* 2000; 70(1):140-4.
79. Stock UA; Nagashima M; Khalil PN; Nollert GD; Herden T; Sperling JS; Moran A; Lien J; Martin DP; Schoen FJ; Vacanti JP; Mayer JE Jr. Tissue-engineered valved conduits in the pulmonary circulation. *J Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2000; 119(4 Pt 1): 732-40.
80. Sodian R; Hoerstrup SP; Sperling JS; Martin DP; Daebritz S; Mayer JE Jr; Vacanti JP. Evaluation of biodegradable, three-dimensional matrices for tissue engineering of heart valves. *ASAIO J.* 2000; 46(1); 107-10.
81. Williams SF, Martin DP, Horowitz DM, Peoples. PHA applications: addressing the price performance issue: I. Tissue engineering. *Int J Biol Macromol.* 1999; 25(1-3):111-121. OP
82. Handrick R, Reinhardt S, Becerete ML, Scandola M, Adamus G, Kowalczyk M, Jendrossek D. A new type of thermoalkalophilic hydrolase of *Pseudomonas*

- lemoignei* with high specificity for amorphous polyesters of short-chain-length hydroxyalkanoic acids. *J Biol Chem* 2001 Jun 16 [epub ahead of print]
83. Gao D, Maehara A, Yamane T, Ueda S. Identification of the intracellular polyhydroxyalkanoate depolymerase gene of *Paracoccus denitrificans* and some properties of the gene product. *FEMS Microbiol Lett* 2001 Mar 15;196(2):159-164
 84. Yan YB, Wu Q, Zhang RQ. Dynamic accumulation and degradation of poly(3-hydroxyalkanoate)s in living cells of *Azotobacter vinelandii* UWD characterized by ¹³C NMR. *FEMS Microbiol Lett* 2000 Dec 15;193(2):269-273
 85. Kumar A, Gross RA, Jendrossek D. Poly(3-hydroxybutyrate)-depolymerase from *Pseudomonas lemoignei*: catalysis of esterifications in organic media. *J Org Chem* 2000 Nov 17;65(23):7800-7806
 86. Ahn WS, Park SJ, Lee SY. Production of Poly(3-hydroxybutyrate) by fed-batch culture of recombinant *Escherichia coli* with a highly concentrated whey solution. *Appl Environ Microbiol* 2000 Aug;66(8):3624-3627
 87. Schober U, Thiel C, Jendrossek D. Poly(3-hydroxyvalerate) depolymerase of *Pseudomonas lemoignei*. *Appl Environ Microbiol* 2000 Apr;66(4):1385-1392
 88. Antonio RV, Steinbuchel A, Rehm BH. Analysis of in vivo substrate specificity of the PHA synthase from *Ralstonia eutropha*: formation of novel copolyesters in recombinant *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett* 2000 Jan 1;182(1):111-117
 89. Yao J, Zhang G, Wu Q, Chen GQ, Zhang R. Production of polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas nitroreducens*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1999 May;75(4):345-349
 90. Terada M, Marchessault RH. Determination of solubility parameters for poly(3-hydroxyalkanoates). *Int J Biol Macromol* 1999 Jun;25(1-3):207-215
 91. Quinteros R, Goodwin S, Lenz RW, Park WH. Extracellular degradation of medium chain length poly(beta-hydroxyalkanoates) by *Comamonas* sp. *Int J Biol Macromol* 1999 Jun;25(1-3):135-143
 92. Kichise T, Fukui T, Yoshida Y, Doi Y. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoates (PHA) by recombinant *Ralstonia eutropha* and effects of PHA synthase activity on in vivo PHA biosynthesis. *Int J Biol Macromol* 1999 Jun;25(1-3):69-77
 93. Kelley AS, Srien F. Production of two phase polyhydroxyalkanoic acid granules in *Ralstonia eutropha*. *Int J Biol Macromol* 1999 Jun;25(1-3):61-67
 94. Asada Y, Miyake M, Miyake J, Kurane R, Tokiwa Y. Photosynthetic accumulation of poly-(hydroxybutyrate) by cyanobacteria -- the metabolism and potential for CO₂ recycling. *Int J Biol Macromol* 1999 Jun;25(1-3):37-42
 95. Maehara A, Ueda S, Nakano H, Yamane T. Analyses of a polyhydroxyalkanoic acid granule-associated 16-kilodalton protein and its putative regulator in the *pha* locus of *Paracoccus denitrificans*. *J Bacteriol* 1999 May;181(9):2914-2921
 96. Hamkenmeyer CR, Tjeerdema RS. Polyhydroxybutyrate: plastic made and degraded by microorganisms. *Rev Environ Contam Toxicol* 1999;159:1-24
 97. Resch S, Gruber K, Wanner G, Slater S, Dennis D, Lubitz W. Aqueous release and purification of poly(beta-hydroxybutyrate) from *Escherichia coli*. *J Biotechnol* 1998 Oct 27;65(2-3):173-182
 98. Stuart ES, Tehrani A, Valentin HE, Dennis D, Lenz RW, Fuller RC. Protein organization on the PHA inclusion cytoplasmic boundary. *J Biotechnol* 1993 Oct 8;64(2-3):137-144
 99. Wong HH, Lee SY. Poly-(3-hydroxybutyrate) production from whey by high-density cultivation of recombinant *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* 1998 Jul;50(1):30-33
 100. Umeda F, Kitano Y, Murakami Y, Yagi K, Miura Y, Mizoguchi T. Cloning and sequence analysis of the poly(3-hydroxyalkanoic acid)-synthesis genes of *Pseudomonas acidophila*. *Appl Biochem Biotechnol* 1993;70-72:841-852

101. Fukui T, Doi Y. Efficient production of polyhydroxyalkanoates from plant oils by *Alcaligenes eutrophus* and its recombinant strain. *Appl Microbiol Biotechnol* 1998 Mar;49(3):333-336
102. Kuno Jung, Will Hazenberg Two- stage continuous process development for the production of medium-chain- length poly(3-hydroxyalkanoates) *Biotechnology an bioengineering* 2001 vol 72 No 1 20-24
103. Ulrich A Stock, takahiko Sakamoto. Tissue- engineered valvule conduits in the pulmonary circulation *J thorac Cardiovasc Surg* 2000, 120:1158-68
104. Ulrich A Stock, takahiko Sakamoto. Tissue- engineered of autogenous aorta using a new biodegradable polymer *J thorac Cardiovasc Surg* 2000, 119-732-40
105. Ehsan Gürsel, Feza Kusuz In vivo application of biodegradable controlled antibiotic release systems *Biomaterials* 22 (2001) 73-80
106. Ulrich A Stock, takahiko Sakamoto. Tissue- engineered valvule conduits in the pulmonary circulation *J thorac Cardiovasc Surg* 2000, 120:1144-49
107. C. L. jungberg, G Johansson Neuronal survival using a reabsorbable synthetic conduit as an alternative to primary nerve repair. *Mycrosurgery* 1999 19:259-264
108. E. Ksioglu, F. Gursel Novel antibiotic carrying biodegradable implant for the treatment bone Infections. *The J of bone & joint surgery V-81-B Supl II* 1999
109. Madison, L.L. and Huisman, G.W. Metabolic engineering of poly(3-hydroxyalkanoates): From DNA to plastic. *Mol. Biol. Rev.* 63:21-53 (1999).
110. Williams, S. and Peoples, Making plastics green. *O. Chem. Br.* 33(12):29-32 (1997).
111. Williams, S.F. and Peoples. Biodegradable plastics from plants. *O.P. CHEMTECH* 26:38-44 (1996).
112. Jon - il Choi, Sang Yup Lee Efficient and Economical Recovery of Poly (3-Hidroxybutarate) from Reombinat *Escherichia coli* by Simple Digestion with Chemicals *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 62 No. 5, March 5, 1999
113. Naohiko Taga, Kenji Tanaka, Ayaaki Ishizaki Communication to the Editor Effects of Rheological Change by Addition of Carboxymethylcellulose in Culture Media of an Air-Lift Fermentor on Poly-D-3-Hydroxybutyric Acid Productivity in Autotrophic Culture of Hydrogen- Oxidizing Bacterium, *Alcaligenes eutrophus* *Biotechnology and Bioengineering* , vol.53.5 March 5, 1997
114. Sang Yup Lee Fulai Wang Communication to The Editor Chiral Compunds from bacterial Polyesters: Sugar to Plastics to Fine Chemicals. *Biotechnology and Bioengineering*, vol.3 November 5, 1999
115. Dgi Gao, Akira Maehara, Tsuneo Yamane, Shunsaku Veda Poly (3-hydroxybutarate)- depolymerase from *Pseudomonas lemoignei*: Catalysis of Esterifications in Organica Media *J. Org Chem* 2000; 65: 7800-7806
116. Ute Scöber, Christian Thiel, and Dieter Jendrossek Poly (3-Hidroxyvalerate) Depolymerase of *Pseudomonas lemoignei* *Applied and environmental Microbiology*. Apr.2000. p.1385-1392
117. Akira Maehara, Shunsaku Udea, Hideo Nakano, and Tsuneo Yamane .Analyses of a Polyhydroxyalkanoic Acid Granule-Associated 16-kilodalton Protein and Its Putative Regulator in the pha Locus of *Paracoccus denitrificans* *Journal of Bacteriology*, May 1999, p2914-2921
118. H.Matsusaki-H.Abe. Atguchi-T.Fukui-Y.Doi Biosynthesis of poly (3-hydroxybutarate-co-3-hidroxyalkanoates) by recombinant bacteria expressing the PHA synthase gene pha Ci from *Pseudomonas sp.61-3* *Microbiol Biotechnol* (2000) 53: 401-408
119. Ehsan Gürsel, Feza Kor Kusuz, Fusun Türresin, N. Gürdal Alceddinogul, Vaski Hasirci. In vivo application of biodegradable controlled antibiotic release systems for the treatment of implant-related osteomyelitis *Biomaterials* 22 (2001) 73-80

- 120.H.Matsusaki, H. Abe, K. Tag Uchi, T Fukui Biosynthesis of poly (hydroxybutarate-co-3-hidroxyalkanoates) by recombinant bacteria expressing the PHA synthase gene *phnC1* from *Pseudomonas* sp.61-3 *Appl Microbiol Biotech* (2000) 53:401-409
121. Victor J Matukas Dwight J Castleberry Jack E Lemons. The use of the hydroxyapatite in jaw reconstruction. *Dental implants. Principles and practice* 1991
122. Galgut P., R.Pitrola, I Waite. Histological evaluation of biodegradable and non-degradable membranes placed transcutaneously in rats *J Clin Periodontol* 1991; 18: 581-58
123. Padros JL, Padros E, Keogh TP, Monterrubio M. New method in vitro evaluation dental alloy bonding systems. *Journal of Prosthetic Dentistry* 84(2): 217-21, 2000 Aug.
124. Ulrich A, Stock, Mitsug Nagashima, Philippe N Kalil. Tissue-engineered valved conduits in the pulmonary circulation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 119:732-740.
125. Feza Korkusuz, Petek Korkusuz, Faith Eksioğlu. In vivo response to biodegradable controlled antibiotic release systems. *J Biomed Mater Res* 55:217-228 2001
126. Ljungberg C, Johansson-Ruden G, Bostrom KJ. Neuronal survival using reabsorbable synthetic conduit as an alternative to primary nerve repair. *Microsurgery* 19(6):259-64, 1999.
127. Hazari A, Wiberg M, Johansson-Ruden G. A reabsorbable nerve conduit as an alternative to nerve autograft in nerve gap repair. *Br J Plas Surg* 52(8):653-7, 1999 Dec