

Radiomodificación de materiales poliméricos en el Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN)

 Manuel Rapado Paneque

Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN). Calle 30 esq. 5ta Ave. Miramar, Playa, La Habana.
rapado@ceaden.edu.cu

Resumen

En el presente trabajo se muestran algunos estudios realizados a lo largo de estas dos décadas en el Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN) en el campo de la radiomodificación y síntesis de materiales poliméricos mediante el empleo de las radiaciones ionizantes en la obtención de polímeros por injerto, radioesterilización y purificación de un polímero natural: el alginato de sodio, obtención de un copolímero de metacrilato de 2 hidroxietilo (HEMA) y acrilamida, la preparación de apósitos de hidrogel a partir de polivinilpirrolidona (PVP) para uso tópico, con los cuales se realizaron dos ensayos clínicos en hospitales de La Habana y el CEADEN recibió el registro médico por parte del Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CEDMED) como órgano regulador, al final se describe la obtención de nanogeles de PVP y PVP-plata para la liberación controlada.

Palabras clave: radiaciones ionizantes; polímeros; monómeros; hidrogeles; nanopartículas; materias biológicas.

Radiomodification of polymeric materials at the Center for Technological Applications and Nuclear Development (CEADEN)

Abstract

This paper shows some studies carried out throughout these two decades at the Center for Technological Applications and Nuclear Development (CEADEN) in the field of radiomodification and synthesis of polymeric materials through the use of ionizing radiation to obtain polymers by grafting, radiosterilization and purification of a natural polymer: sodium alginate, obtaining a copolymer of 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and acrylamide, preparing hydrogel dressings from polyvinylpyrrolidone (PVP) for topical use, with two clinical trials were carried out in hospitals in Havana and CEADEN received the medical record from the Center for State Control of Medications, Equipment and Medical Devices (CEDMED) as a regulatory body, in the end it was describes the production of PVP and PVP-silver nanogels for controlled release.

Key words: ionizing radiations; polymers; monomers; hydrogels; nanoparticles; biological materials

Introducción

El procesamiento con radiaciones de alta energía se ha posicionado en el campo de los materiales poliméricos. Esto ha sido posible debido a bondades que ofrecen los procesos radioinducidos para la preparación de estos nuevos materiales, como son: los polímeros pueden ser modificados químicamente en un proceso relativamente simple, libre de aditivos a temperatura ambiente y muchas veces con la esterilización simultánea.

La irradiación de monómeros y polímeros conduce a la formación de especies intermediarias muy reactivas, tales como: radicales libres, iones y especies excitadas lo cual conlleva a producir cambios dramáticos en

sus propiedades físico-químicas y mecánicas de estos materiales. Estos efectos según las condiciones experimentales y estructura de la cadena polimérica provocan en los polímeros desprendimiento de gases, degradación, injerto, autoinjerto y reticulación. De acuerdo con las condiciones experimentales algunos de estos efectos pueden ser atenuados o utilizar unos de estos ellos con fines tecnológicos.

El objetivo del siguiente artículo es mostrar algunas de las aplicaciones de las radiaciones ionizantes en el campo de los materiales poliméricos en el Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN) durante los últimos 20 años.

Materiales y métodos

Obtención de un copolímero por injerto radioinducido de poliacetato de vinilo en polihidroxibutirato

En esta investigación se empleó el polihidroxibutirato, que es un poliéster, termoplástico semicristalino, biodegradable, obtenido microbiológicamente, valorado como un material importante para usar en el campo biomédico, como matriz para la liberación de fármacos, en ingeniería de tejidos y en otros dispositivos médicos. Este polímero por presentar propiedades semejantes al polipropileno se plantea que en el futuro pudiera ser su sustituto [1]. El polihidroxibutirato es moderadamente hidrofóbico, por lo que fue necesario estudiar su radiomodificación con el objetivo de obtener un material con propiedades hidrofílicas, para dicho propósito se le agregaron grupos funcionales los cuales eran sustentables de realizarle su modificación posterior.

Para el experimento de irradiación se utilizó PHB en polvo sumergido en acetato de vinilo (VAc). Se desgasificó el sistema reaccionante en una línea de vacío (10^{-3} - 10^{-6} Torr), las síntesis se realizaron en una instalación de irradiación autoblandada del tipo $MP\gamma^{30}$ de ^{60}Co .

La reacción fundamental del proceso de copolimización del PHB con el VAc por injerto radioinducido se representa en la figura 1, para ello se empleó la técnica de irradiación simultánea de ambos compuestos.

Para la caracterización se empleó la técnica de microscopía óptica de alta resolución a los homopolímeros por separado, PHB, PVAc y al copolímero por injerto, PHB-co-PVc.

En la figura 2, se puede observar que estamos en presencia de materiales de diferente naturaleza.

La micrografía del PHB muestra una superficie lisa, característica de la fragilidad de este material.

Por otro lado, la imagen del PHB-co-PVc no presenta cambios morfológicos apreciables a esta resolución con respecto a la del PHB. Lo que puede inferirse que el injerto del PVAc en el PHB ocurre sin afectaciones apreciables en la morfología del sustrato. Comparativamente podemos afirmar que los materiales analizados tienen propiedades ópticas diferentes.

Los espectros Raman muestran que existe una clara diferencia en las bandas del copolímero por injerto en comparación con los espectros Raman del PHB de control (figura 3). La banda a 629 cm^{-1} corresponde al modo acoplado de la deformación C-COO del nuevo copolímero por injerto. En el trabajo publicado en [2] se muestran todas las asignaciones de las diferentes señales de los espectros Raman del PHB-co-PVc, que confirmaron la presencia del nuevo material.

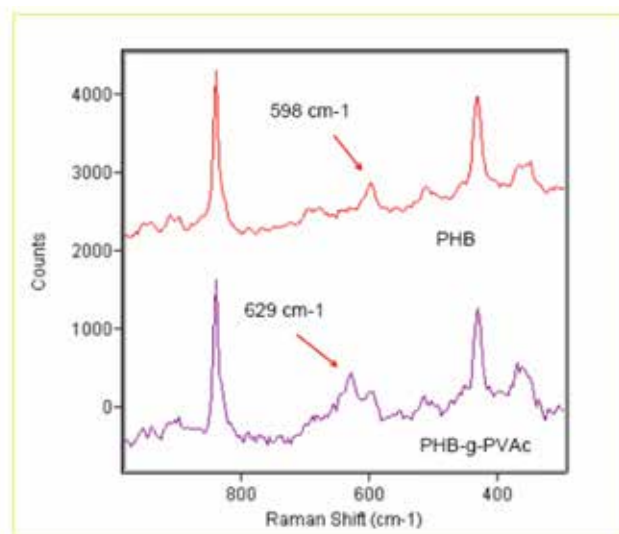


Figura 3. Espectros Raman del PBP y el copolímero por injerto PBP-graf-PAC en la región de los 300-1000 cm^{-1} .

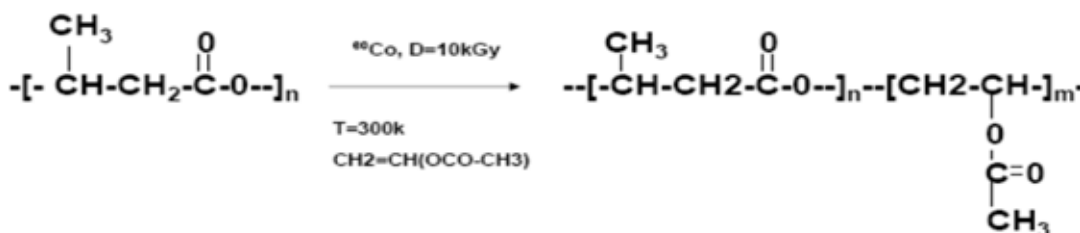


Figura 1. Reacción radioinducida que representa la formación del copolímero por injerto PHB-co-VAc.



Figura 2. Imagen del PHB, PVAc y PHB-co-PVc por microscopía óptica de alta resolución.

Radiesterilización y purificación de polisacáridos aniónicos para obtener concentrados poliméricos como sistemas inmunoprotectores

El acápite relacionado con esta investigación estuvo enfocado a la radioesterilización y purificación de polímeros naturales aniónicos, candidatos como inmunoprotectores en las terapias basadas en trasplantes de órganos híbridos, las que requieren biomateriales apropiados y de la selección de procesos adecuados para su preparación. Las operaciones de purificación y de preparación de polisacáridos tales como alginato de sodio y sulfato de celulosa se caracterizan por su capacidad para ser esterilizados, manteniendo un nivel bajo de endotoxinas capaz de conservar su biocompatibilidad.

La radiosterilización del Alginato de sodio se realizó empleando las normas ISO 11137 Sterilization of Health Care Products. Los protocolos de la radioesterilización y purificación del alginato de sodio se muestran representados mediante los siguientes diagramas de flujo. Los estudios básicos que fundamentaron estos protocolos aparecen reportados en [3, 4].

El diseño de la secuencia de purificación debía considerar operaciones simples, efectivas y productivas

pero que a su vez garantizaran que el producto final no presentara modificaciones apreciables de la estructura polimérica ni de sus características macromoleculares. El diseño de la secuencia de separación para la purificación está basado en el conocimiento de las características físico químicas de sus constituyentes del producto y su interacción (figura 4). El método de purificación reportado, consiste en la precipitación de polianiones en solución acuosa usando diferentes solventes (etanol-acetona) el cual resultó ser un solvente menos tóxico y menos costoso comparado con los que se usan para la extracción. Las especificaciones de pureza del alginato de sodio comercial se realizaron utilizando las especificaciones de calidad de la National Formulary (NF) [5] establecidas para el alginato de sodio. Los resultados de los análisis realizados se muestran en la tabla 1.

Como se aprecia en la tabla 1, los parámetros de control de la calidad de los productos de partida cumplen con lo establecido por las normas internacionales para estos tipos de materiales [5].

Ensayos realizados en el CEADEN permitieron obtener cápsulas estables a partir de alginato de sodio de grado clínico, con resultados satisfactorios (figura 5).

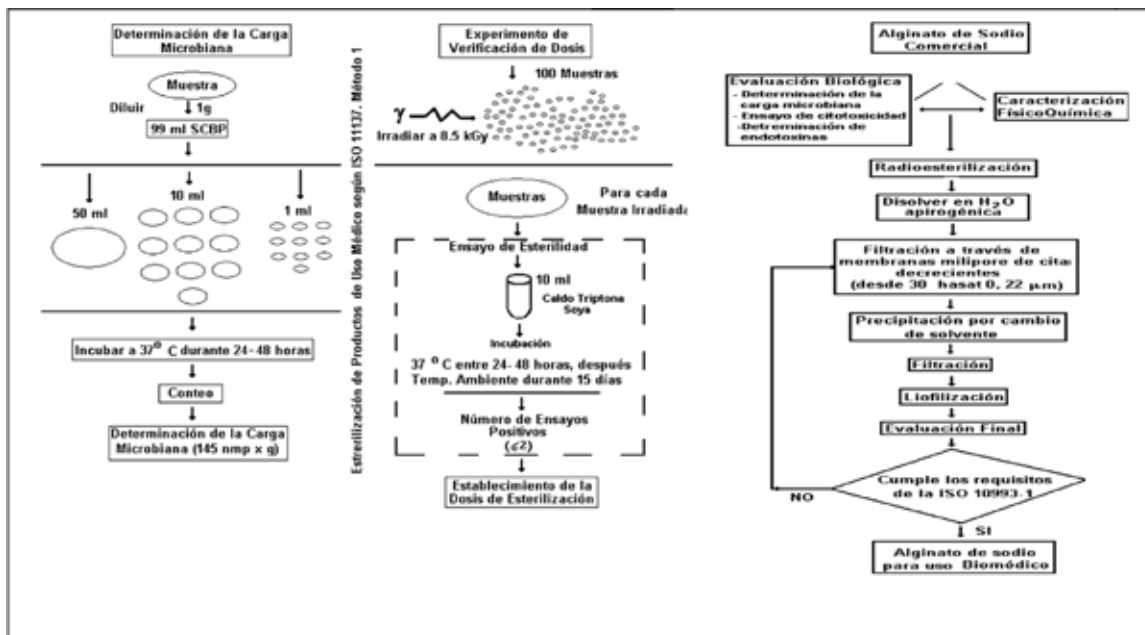


Figura 4. Representación esquemática de las etapas de radioesterilización y purificación del alginato de sodio.

Tabla 1. Especificaciones de pureza para las muestras de Alginato de sodio utilizados en la investigación.

Especificaciones de Pureza	National Formulary		
	Alginato de sodio GC	Alginato de sodio Keltone HV/ Nutra Sweet	Alginato de sodio Algimar FAC Na-0069
Materia Seca (%)	90.8–106	96.3 ±0.4	95.8 ±0.2
Humedad (%)	máx 15	4.04	3.24
Cenizas (%)	<4	2.3 ±0.02	2.4 ±0.03
As (ppm)	<3	<3	<3
Pb (ppm)	<10	<10	<10
Metales pesados	0.004	<0.002	<0.002



Figura 5. Cápsulas obtenidas a partir de alginato de sodio de grado farmacéutico.

Formación de Hidrogeles a partir de monómeros para uso biomédico.

Este método es uno de los más empleados y mediante esta técnica ocurre la polimerización en una primera etapa, seguida del entrecruzamiento de las cadenas formadas (figura 6). Esta vía es la conveniente cuando el monómero seleccionado está disponible y no el polímero, sin embargo, a veces ocurre muchos monómeros son nocivos y

tóxicos por lo que en la práctica se adiciona un monómero bifuncional para incrementar la eficiencia del entrecruzamiento [6]. En este sentido en nuestra investigación se estudió la reacción de copolimerización del metacrilato de 2 hidroxietilo (HEMA) y la AAm la cual se puede representar, en forma simplificada, según el siguiente esquema: (figura 6)

Los hidrogeles obtenidos mostraron buena consistencia mecánica, eran estables y fáciles de manipular, y todos resultaron ser transparentes. Las matrices M4 y M5 fueron más blandas y de mayor elasticidad. En la figura 7 se evidencia la transparencia de los hidrogeles hinchados y su apariencia vítrea en su forma de xerogel (primero a la izquierda).

En la figura 8 puedes notarse como el copolímero obtenido a 3 kGy (menos entrecruzado), posee mayor cantidad de poros que el obtenido a 10 kGy, además se observa que el copolímero obtenido a 40 kGy no posee una superficie porosa; sino, más bien en forma de escamas.

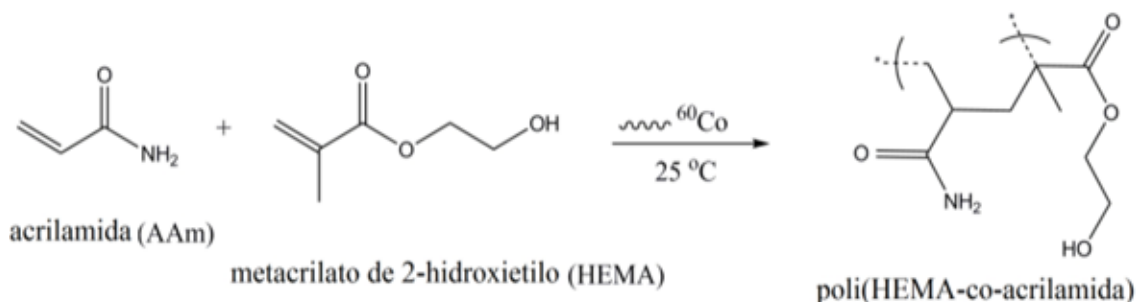


Figura 6. Representación esquemática simplificada de la obtención del poli(HEMA-co-AAm).

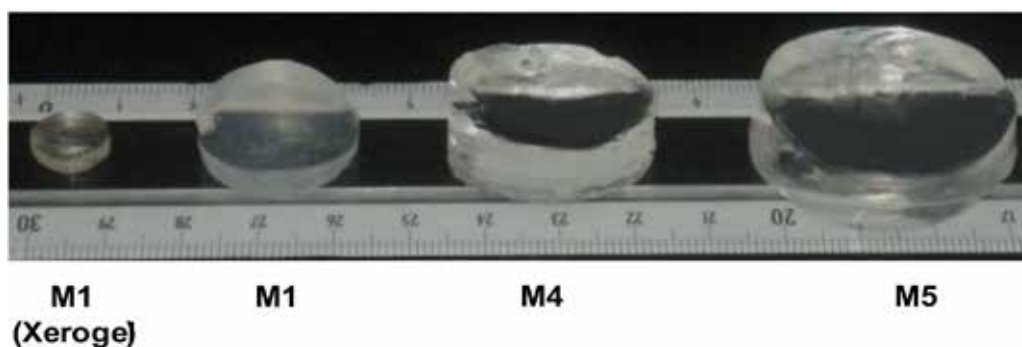


Figura 7. Imágenes de los hidrogeles de poli(HEMA-co-AAm), saturados con N2O, obtenidos a 10 kGy. Aparecen de izquierda a derecha el xerogel de M1 y los hidrogeles de las matrices M1, M4 y M5, hinchados en agua a 25°C hasta el equilibrio.

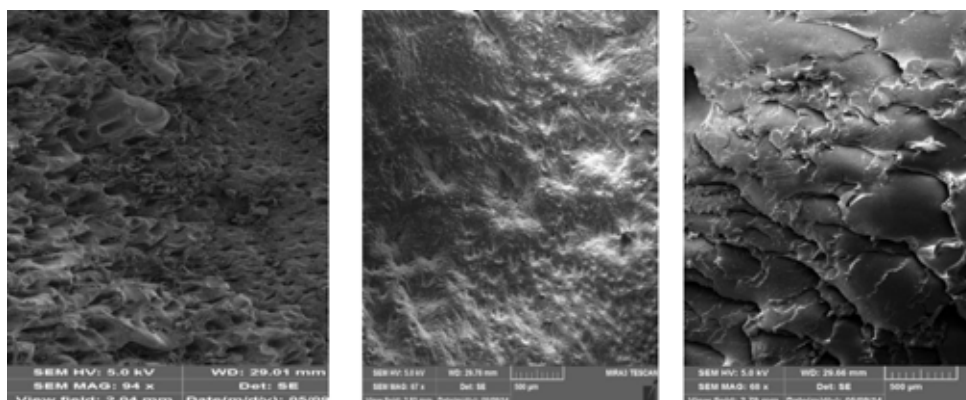


Figura 8. Morfología mediante imagen SEM de los xerogeles liofilizados para el copolímero M5: (A) 3 kGy, (B) 10 kGy, (C) 40 kGy.

Estos hidrogeles fueron ensayados para la liberación controlada in vitro de un citostático, la doxorubicina (DOX). Los perfiles de liberación de la DOX a partir de los hidrogeles obtenidos, a distintas dosis de radiación se presentan en la figura 9.

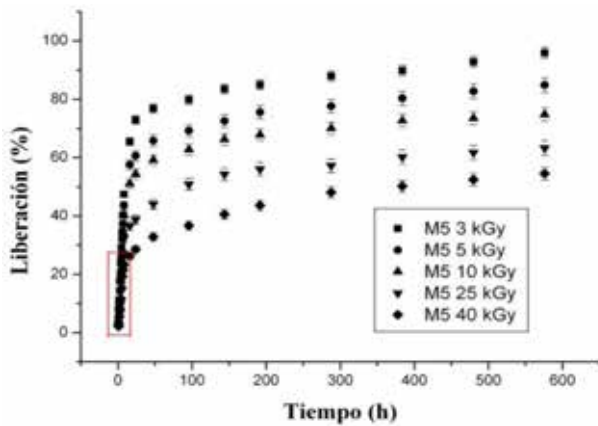


Figura 9. Perfiles de liberación de DOX, obtenidos a 37 °C, para la matriz M5(A): a diferentes dosis absorbidas.

Se puede observar que la cantidad de fármaco liberada es función de la dosis absorbida. Estos hidrogeles fueron propuestos para uso potencial como sistemas de liberación controlada de citostáticos y otros principios activos para contacto directo con el sistema sanguíneo en humanos.

Formación de Hidrogeles a partir de un polímero para uso tópico.

Presentamos un ejemplo de un sistema que ha resultado exitoso y hemos asimilado y adaptado la tecnología en el CEADEN desde el 2007 [7], este apósito de hidrogel se prepara directamente a partir de un polímero la polivinilpirrolidona con la bondad de evitar el uso de monómeros ni agentes entrecruzante donde se evita el homoinjerto que puede conducir a estructuras ramificadas y residuos de monómeros sin reaccionar. Este tipo de apósito es considerado un equipo médico de categoría 2B por el Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CEMED) y se utiliza en contacto directo con los tejidos vivos y previene la contaminación por microorganismos, inhibe la pérdida de fluidos, permite la entrada de oxígeno a la herida y generalmente acelera la cicatrización en aproximadamente la mitad del tiempo de otros tratamientos convencionales para estos fines (figura 10).



Figura 10. Tratamiento de zona posttraumática en un paciente diabético.

Las primeras experiencias fueron llevadas a cabo en el tratamiento de úlceras varicosas y flebotáticas mediante un ensayo clínico fase I, en el Instituto de Angiología durante el 2012, en ese mismo año el CEADEN obtuvo el registro médico otorgado por el CECMED, lo que dio lugar a la posibilidad de comenzar la introducción en el sistema nacional de salud y la generalización del uso del apósito mediante la producción de pequeños lotes a escala de laboratorio en diferentes hospitales de la Capital. De esta forma las membranas obtenidas se han utilizado en el tratamiento de pacientes en el Instituto de Angiología (INAV) con úlceras varicosas y flebotáticas, Hospital Pediátrico Juan Manuel Márquez, en niños quemados y con queloides, Hospital Hermanos Ameijeiras, en zonas donantes, Hospital Manuel Fajardo y Hospital Joaquín Albarán, en zonas cruentas (figura 11). Debido a la ausencia de coberturas temporales se aplicó en 500 personas y este apósito fue utilizado para el tratamiento de 60 pacientes críticos con diferentes afecciones que implicaban la posible pérdida de su vida.

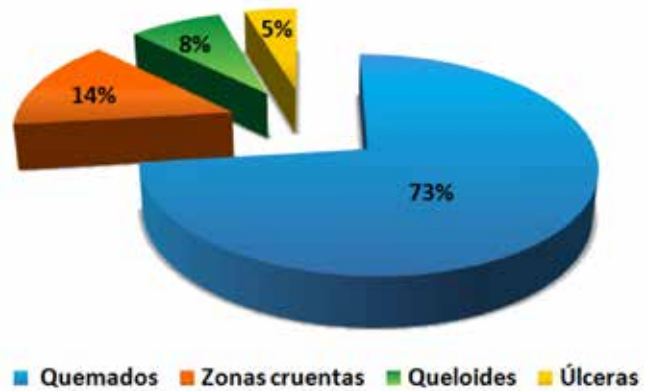


Figura 11. Empleo de los apósitos de hidrogel por dolencia.

El apósito de hidrogel fue preparado según un sistema de calidad según las siguientes normas: NC-ISO 13485: 2018: Equipos médicos - sistemas de gestión de la calidad- requisitos del sistema para propósitos reguladores, NC-ISO 14971: 2012: Aplicación de la gestión de riesgos a los equipos y/o dispositivos médicos, Buenas Prácticas de Producción. Productos Estériles: NC 211-1: 1993, normativas reguladoras del CECMED.



Resultados y discusión

Resultados obtenidos al aplicar el apósito de hidrogel

- Acorta el tiempo de cicatrización en las quemaduras de segundo y tercer grado.
- Cierre definitivo de muchas quemaduras de tercer grado evitando con ellas el autoinjerto de piel.
- Favorece temprana epitelización de zonas donantes de piel.
- Disminución inmediata del dolor al ser colocado en zonas cruentas.
- Controla la infección y el sangramiento.
- Facilita la formación de un tejido de granulación útil en zonas cruentas.
- Hidrata, alivia el prurito, el dolor y mejora la calidad de cicatrización de las mismas.

Nanogeles de PVP obtenidos mediante polimerización inducida por radiación gamma.

En esta parte de la investigación con nanogeles poliméricos no se empleó la polimerización, sino la reticulación intramolecular de las cadenas poliméricas. El objetivo de la investigación fue obtener nanogeles de polivinilpirrolidona (PVP) mediante irradiación gamma para su posterior evaluación como sistema potencial de liberación de fármacos [8]. Los experimentos se realizaron en ausencia de oxígeno empleando soluciones acuosas de PVP. La síntesis se llevó a cabo en una cámara de irradiación

gamma. Las técnicas de caracterización empleadas fueron: viscosimetría, microscopía electrónica (TEM y SEM), se realizaron estudios de citotoxicidad en línea celular de primate Vero. Los resultados muestran que a concentraciones diluidas y altos valores de dosis se favorece la formación nanogeles. Los nanogeles muestran una estructura química y sensibilidad a la degradación térmica similar al polímero inicial, con un rango de tamaño entre 45 y 370 nm aproximadamente, una morfología esférica y alta biocompatibilidad (figura 12).

Los nanogeles obtenidos no presentan toxicidad para las células, evidenciándose un efecto protector o estimulador de la viabilidad celular a medida que aumenta las concentraciones de los mismos. Este resultado muestra que los nanogeles logran entrar a la célula de monocitos humanos y su tráfico celular es mediante endocitosis [9]. Los nanogeles no son reconocidos como cuerpos extraños para el organismo y logran internarse en la célula mediante endocitosis, (figura 12) la microscopía óptica de la derecha.

Obtención y caracterización de nanocompuestos de polivinilpirrolidona-plata.

En el presente trabajo se obtuvo un sistema de nanocompuestos de polivinilpirrolidona-plata (PVP-Ag) y se realizó su caracterización por microscopía electrónica de barrido (SEM). Se evaluó la citotoxicidad en la línea de fibroblastos murinos mediante el ensayo de captación de rojo neutro y se observó la internalización a la célula mediante la microscopía de fluorescencia. En la figura 13 se muestra la instalación experimental,

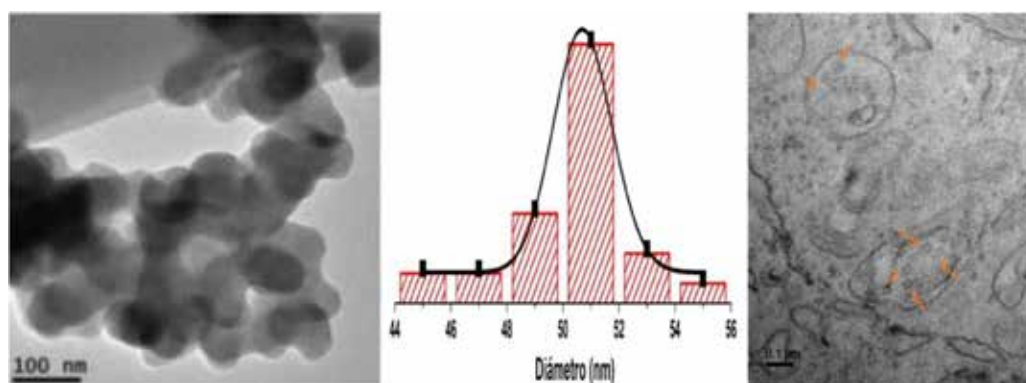


Figura 12. Microscopía electrónica de transmisión SEM de nanogeles de PVP (0.25% a 15 kGy), (a la izquierda). Histograma de la distribución del tamaño de partícula (en el centro). Imagen TEM de una célula de monocitos humanos con nanogeles atrapados dentro de una endosoma, indicados con flechas carmelitas (a la derecha).



Figura 13. Esquema de instalación experimental para la síntesis de nanocompuestos PVP-Ag.

donde se obtuvieron dos tipos de nanocompuestos con tamaños aproximados de 125 nm y 140 nm, con concentraciones de PVP 0.05% y 0.15% respectivamente; en ambos las concentraciones de nanopartículas de plata fueron de 2×10^{-4} (mol/L) y la dosis de irradiación 20 kGy.

La microscopía electrónica de barrido permitió confirmar la obtención de los nanocompuestos de forma redondeada, los cuales se encuentran en forma de cúmulos (figura 14), ahí se pueden observar los nanocompuestos, señalados con flechas amarillas. Esto permite suponer que las nanopartículas de plata se encuentran totalmente ocluidas en los microgeles.

Para ambos casos se pudo constatar que la morfología y apariencia fue similar a resultados obtenidos por

diversos autores en nanogeles con ácido poliacrílico [10] y nanocompuestos de PVP-Fe [11]. Teniendo en cuenta estos resultados podemos confirmar la formación de los nanocompuestos de PVP-Ag. El estudio permitió establecer el rol que juega el polímero entrecruzado como medio estabilizante para el control en la formación de las nanopartículas de plata y el almacenamiento de estas. A la misma vez se expresa la contribución del metal como agente entrecruzante del polímero para lograr un material nanoestructurado con efecto sinérgico (biomaterial estéril con propiedades antimicrobianas).

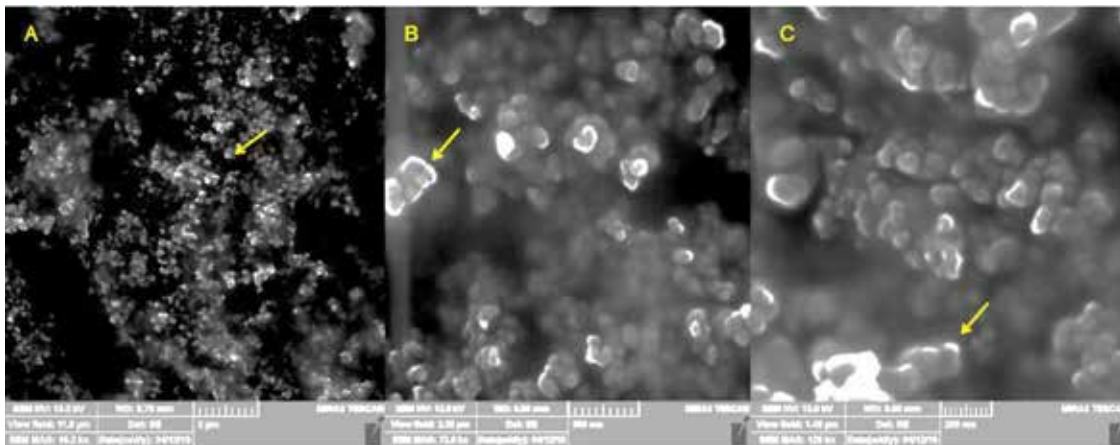


Figura 14. Microscopías electrónicas de barrido para diferentes ampliaciones A: 2 μ m, B: 500 nm, C: 200 nm, las flechas amarillas indican nanocompuestos de PVP-Ag.

Conclusiones

Los procesos inducidos por técnicas de irradiación se han posicionado para obtener diferentes materiales poliméricos amigables con el hombre, como alternativa a otras tecnologías existentes.

Las membranas de hidrogel se han aplicado satisfactoriamente en Cuba en diversas afecciones de la piel, tales como: quemaduras de diferentes grados, úlceras varicosas y flebostáticas, úlceras del pie diabético, zonas cruentas y donantes, mordeduras de animales y otras.

La obtención de nanogeles y compuestos nanoestructurados con nanopartículas de plata y polímeros de PVP, son candidatos para su uso potencial como vehículos de fármacos anticancerígenos y a su vez son de interés en aplicaciones para el diagnóstico y como agentes terapéuticos para la transfección y vacunación.

Agradecimientos

Quiero agradecer la contribución en estas investigaciones de los siguientes colegas: Maikel González, Norma Galego, Dianelys Sainz, Cristine Wandrey, Carlos

Peniche, Liudys García, Yuri Aguilera, Armando Chávez, Enrique Prieto, Roxana Páez, Rosa Pérez, Juan González, Adriana Díaz, Marioly Vernhés Isabel Otero y Gisela Barrera.

Referencias

- [1]. SASTRE R, DE AZA S, SAN ROMÁN J. Biomateriales. Faenza Editrice Ibérica, S.L., Marzo 2004. 522 p.
- [2]. GONZÁLEZ M, GALEGO N, ORTIZ P, RAPADO M. Raman spectroscopy of poly(3-hydroxybutyrate) modified with poly(vinylacetate) by radiation induced copolymerization, *Nucleus*. 2007; (42): 40-44.
- [3]. RAPADO M, SAINZ D, FERRER A, WANDREY C. Physical-chemical changes in irradiated sodium alginate alginate. *Nucleus*. 2004; (35): 55-59.
- [4]. WANDREY C, SAINZ D. Purification of polymeric biomaterials. *AnnNY Acad Sci*. 2001; 944: 187-198.
- [5]. United States. FDA guidelines USP. Bacterial endotoxin test. 1991.
- [6]. RAPADO M, PENICHE C. Synthesis and characterization of pH and temperature responsible poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-acrylamide) hydrogels. *Polímeros: Ciencia e Tecnologia*, 2015; 25(6): 547-555.
- [7]. RAPADO M, RODRÍGUEZ A, PENICHE C. Hydrogel wound dressing preparation at laboratory scale by using electron beam and gamma radiation. *Nucleus*. 2013; (53): 24-31.
- [8]. GES A, VILTRES H, RAPADO M, AGUILERA Y. Radiation-induced synthesis of polyvinylpyrrolidone. (PVP) nanogels. *Journal of Physical Science and Application*. 2016; 6(5): 21-26.

- [9]. GARCÍA RODRÍGUEZ LAURA M, DÍAZ JIMÉNEZ DANIELA,, PÉREZ GUEVARA OL, et. al. Evaluación de la citotoxicidad de nanogeles de polivinilpirrolidona (PVP) en fibroblastos murinos. Revista Biomédica. 2019; 30(3). Disponible en: <https://www.revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/708>
- [10]. KOUL V, KUCKLING D, CHOUDHARY V. Interpenetrating polymer network (IPN) nanogels based on gelatin and poly(acrylic acid) by inverse miniemulsion technique: synthesis and characterization. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2011; 83(2): 204-213.
- [11]. MBHELE Z, SITTERT V, NEDELJKOVIC JM, et. al. Fabrication and characterization of silver polyvinyl alcohol nanocomposites. Chem Mater. 2003; 15(26): 5019-5024.

Recibido: 23 de enero de 2023

Aceptado: 17 de febrero de 2023

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses en la realización, ni la comunicación del presente trabajo.

CRedit / Conceptualización: Manuel Rapado Paneque. **Fuentes:** Manuel Rapado Paneque. **Curación de datos:** Manuel Rapado Paneque. **Software:** Manuel Rapado Paneque. **Análisis formal:** Manuel Rapado Paneque. **Supervisión:** Manuel Rapado Paneque. **Adquisición de fondos:** Agencia de Energía Nuclear y Tecnología de Avanzada (AENTA), Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). **Validación:** Manuel Rapado Paneque. **Investigación:** Manuel Rapado Paneque. **Visualización:** Manuel Rapado Paneque. **Metodología:** Manuel Rapado Paneque. **Administración de Proyecto:** Manuel Rapado Paneque. **Redacción – borrador original:** Manuel Rapado Paneque. **Redacción – revisión y edición:** Manuel Rapado Paneque.