

Bitácora@ Divulga

Biomateriales poliméricos: los gigantes que nacen de un desafío multidisciplinario

Autores: Miriam C. Strumia, Cecilia I. Alvarez Igarzábal, Marisa Martinelli, Agustín González, Esteban M. Euti, David García Schejtman, Micaela A. Macchione, Matías Picchio, Francisco Figueroa, Martín Juárez Data, Virginia Pasotti, Anabella P. Rosso, Alexis Wolfel.

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos y Química Aplicada (IPQA, CONICET-UNC), Ciudad Universitaria, Córdoba, Argentina.

En los últimos años, la ciencia y la tecnología han brindado grandes avances, donde los campos y disciplinas de las diferentes áreas se superponen en la búsqueda de nuevos desafíos. Este enfoque combinado se ejemplifica en la **ciencia de los polímeros**, que permite a los investigadores colaborar en la creación de materiales de características únicas. Un ejemplo son los **biomateriales**, materiales sintéticos o naturales, utilizados para mejorar o reemplazar sistemas biológicos o mejorar su funcionamiento. El término, también designa a materiales utilizados en la fabricación de dispositivos que interactúan con sistemas biológicos y que se aplican en diversas ramas de la medicina (1-2). Los mejores biomateriales son de característica biocompatible, y trabajan sinérgicamente con el huésped biológico. El campo de los biomateriales es interdisciplinario e incluye a la química, la bioquímica, la biología, la medicina, la ingeniería de tejidos y la ciencia de materiales.

En la actualidad, existe una gran cantidad de biomateriales que, según su composición, se pueden clasificar en metálicos, cerámicos o **poliméricos, de origen natural o sintético**.

Los **polímeros naturales y sintéticos** han sido de gran ayuda en la biomedicina desde hace tiempo. Debido a la versatilidad de sus propiedades mecánicas, biodegradabilidad, biocompatibilidad, entre otras, han permitido su vigencia en el tiempo y su permanencia como temática de punta a través de los años. La posibilidad de explorar co-polímeros, mezclas, materiales compuestos, así como modificaciones superficiales, abre el panorama hacia nuevos desarrollos de dispositivos biomédicos y medicina regenerativa. Además, los polímeros pueden presentarse de diversas formas físicas, como fibras, gránulos, películas, etc., ofreciendo la posibilidad de presentar características físico-químicas bien determinadas y de ser manipulados de distintas maneras.

Los **biomateriales poliméricos naturales** provienen de seres vivos (animales, plantas, microorganismos u hongos), y son posteriormente aislados para su uso. Tienen la ventaja de poseer alta biocompatibilidad, buenas reacciones inmune *in vivo*, funcionalidad y durabilidad. Estos polímeros pueden clasificarse en proteínas, poliésteres naturales y polisacáridos. Por ejemplo, polímeros naturales tales como quitosán, carragenano y alginato se usan en aplicaciones biomédicas, tales como regeneración tisular y sistemas de liberación controlada de fármacos.

Los **polímeros sintéticos** son los materiales más versátiles. Dentro de las aplicaciones biomédicas se encuentran: portadores de fármacos, materiales dentales, dispositivos para reemplazo y proliferación de diversos tejidos blandos, implantes permanentes del sistema

esquelético muscular, prótesis mamarias, productos cardiovasculares, de los sistemas respiratorio, genitourinario y nervioso, del aparato digestivo, prótesis de córneas, oídos, e incluso para implantes cosméticos maxilofaciales, accesorios de oxigenadores extracorpóreos, sistemas de diálisis, materiales de recubrimiento para productos médicos, materiales quirúrgicos, adhesivos tisulares, entre otros (3-5).

Numerosas investigaciones se han centrado en el desarrollo de polímeros sintéticos biodegradables y/o bioadsorbibles, que puedan descomponerse a medida que avanza, por ejemplo, la regeneración del tejido. Muchos de estos sistemas se basan en poliacrilatos, polisiloxanos, poliamidas, policarbonatos, poliésteres, poliuretanos, poliestirenos, polipéptidos sintéticos y polioles. Como se mencionó previamente, se pueden obtener de múltiples formas, de mezclas variadas y composiciones diversas, con características fisicoquímicas, interfaciales y propiedades biomiméticas para cumplir un propósito específico, generando materiales compuestos con propiedades **sinérgicas**. Las ventajas de los biomateriales poliméricos sobre otras clases de materiales son: (i) facilidad de preparación, (ii) facilidad de procesabilidad secundaria, (iii) disponibilidad con las propiedades físicas y mecánicas deseadas, y (iv) costo razonable.

La industria biomédica está compuesta por cuatro grandes segmentos: farmacéutico, biotecnológico, dispositivos médicos y de diagnóstico. Los estudios de biocompatibilidad y respuesta inmune que los polímeros puedan generar, son muy importantes para lograr el desarrollo de biomateriales de altas prestaciones para el mejoramiento de la calidad de vida de los individuos. La selección de un biomaterial para una aplicación específica se basa en varios criterios, y es uno de los temas más desafiantes debido a requisitos cruciales que estos materiales deben cumplir, por lo que es de gran interés para los diseñadores de materiales. Para la obtención de un biomaterial polimérico, se busca alta eficiencia en la respuesta de los polímeros usados, para poder trasladar dicha propiedad a una aplicación particular. Además, es de suma importancia el diseño de un camino sintético adecuado, poniendo énfasis en el criterio para la elección de los monómeros, el grado de entrecruzamiento, los grupos funcionales presentes y la forma física final necesaria del material, considerando su aplicación específica. Muchas veces, estos objetivos se logran con la combinación de más de un polímero o mediante el sinergismo de los **materiales híbridos**. Además, aquellos con propiedades altamente manejables o "*taylor-made*", que puedan proporcionar una plataforma adecuada para múltiples aplicaciones y nuevas o mejores propiedades, tienen un futuro prometedor.

Como se mencionó anteriormente, la aplicación de diversos polímeros de origen sintético y natural, comienza a ser cada vez más frecuente en una gran diversidad de ámbitos. El *tratamiento de heridas*, y *los sistemas de liberación de fármacos* están siendo cada vez más explorados. En este último caso, el aumento en la necesidad de la administración controlada y dirigida de medicamentos ha llevado al desarrollo de numerosos biomateriales con biocompatibilidad y biodegradabilidad mejoradas (6).

Los **hidrogeles**, materiales poliméricos entrecruzados e insolubles pero hinchables en agua, son promisorios por su utilidad como sistemas para liberación controlada de fármacos. La propiedad de los hidrogeles de hincharse en agua, los convierte en vehículos ideales para almacenamiento o transporte de compuestos activos (7). Como ejemplo, se puede citar el desarrollo de un nuevo gel basado en un complejo iónico entre un polímero y ciprofloxacina (CIP). Dicho producto, fue utilizado como portador de CIP y formulado como gel para su utilización en liberación controlada y antibacteriana de uso tópico (8). A su vez, los **hidrogeles**

inteligentes son aquellos que cambian sus propiedades frente a un pequeño cambio químico o físico en el medio (pH, temperatura, luz, etc.). La red del polímero puede cambiar su volumen en respuesta a esos estímulos del medio, originando una transición de fase de volumen (en general, reversible) que corresponde al cambio de estado de la conformación de las cadenas (hinchadas-colapsadas). Por su lado, los **nanogeles** (NGs) son nano-redes poliméricas hinchadas en agua, de tamaño nanométrico (50-200 nm), formados por entrecruzamiento físico o químico. Poseen propiedades tales como alto contenido de agua, naturaleza blanda, flexibilidad, biocompatibilidad y capacidad de dispersabilidad en agua. Estas propiedades, junto con la posibilidad de un ajuste "a medida" de su estructura/superficie y la capacidad de incorporar fármacos en sus cavidades, abren oportunidades para su utilización como nano-transportadores de fármacos hacia niveles celulares. La utilización de NGs para encapsular fármacos puede ser una ventaja a la hora de formular y luego liberar los mismos en un lugar determinado, actuando como transportadores para proteger los fármacos que poseen baja estabilidad en fluidos biológicos. Además de la encapsulación física, los NGs pueden prepararse de manera que posean grupos funcionales para unir un fármaco químicamente, cuyas uniones puedan luego hidrolizarse (enzimáticamente; con uniones lábiles al pH), y el fármaco liberarse en el sitio de acción deseado. Algunos fármacos son unidos químicamente a polímeros, permaneciendo estable la unión a un determinado pH, e hidrolizándose con un cambio del mismo. También, pueden ser preparados de manera tal que, llegados al sitio de acción, respondan a algún estímulo y el fármaco contenido pueda difundir al exterior liberándose, aprovechando cambios en pH, entorno reductor, temperatura y concentración de iones. Así, fueron desarrollados NGs de poli(N-isopropilacrilamida-co-ácido acrílico) (NIPAm-co-AAc) sensibles al pH para su aplicación como portadores inteligentes en sistemas de administración de fármacos activados por el pH endolisosomal (Figura 1). Los NGs presentaron alta capacidad y eficacia de carga de doxorubicina (Dox). La formulación presentó muy buena dispersabilidad en agua, liberación retardada en medio plasmático simulado (pH 7,4 y NaCl 0,14 M) a 37 °C y sostenida en medio simulado lisosómico (pH 5 y NaCl 0,14 M), convirtiéndolos en excelentes candidatos para su aplicación como portadores de terapias contra el cáncer (9). Por su lado, NGs termosensibles de polivinilcaprolactona (pVCL) (Figura 2) mostraron poseer un tamaño nanométrico colapsado a temperatura fisiológica, ideal para aplicaciones biomédicas. Mediante el uso de un ensayo de actividad metabólica bien establecido (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, MTT), se determinó que los NGs con una cierta composición, no muestran efecto citotóxico en concentraciones inferiores a 10 µg/mL en la línea de células epiteliales cervicovaginales. Finalmente, se demostró el efecto antiviral contra la infección por VIH-1 mediante la cuantificación de la actividad de la luciferasa. Así, los NGs de pVCL podrían considerarse candidatos potenciales para nuevas formulaciones de microbicidas para VIH-1 (10).

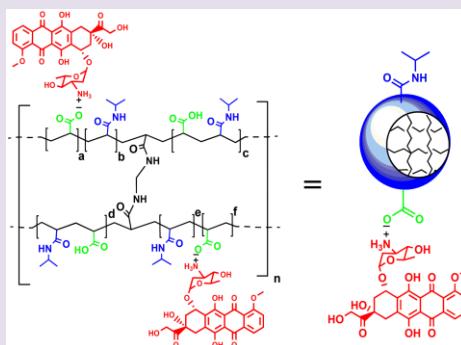


FIGURA 1. NGs de poli (NIPAm-co-AAC)(Figura adaptada de Ref. 9)

Ahora bien, una alternativa interesante desde el punto de vista de la funcionalidad de las diferentes redes, está representada por la incorporación de polímeros dendríticos. Éstos, forman una nueva clase de macromoléculas con interesantes alternativas estructurales. Una de las clasificaciones para estas arquitecturas poliméricas dendríticas incluye: co-polímeros en bloque, co-polímeros estrella, polímeros “rosario” o “collar” y polímeros dendronizados/dendríticos. Estos últimos, resultan de la unión de conceptos de la química de los dendrímeros y la de los polímeros. En los polímeros dendríticos, el efecto de multifuncionalidad se ve incrementado por la confinación de un gran número de estructuras dendríticas unidas al esqueleto polimérico. Las estrategias sintéticas pueden ser distinguidas en tres categorías: (a) la dendronización por injerto (*grafting*) de dendrones; (b) el crecimiento dendrítico divergente desde un polímero; y (c) la polimerización de dendrones polimerizables. A nivel molecular, la característica principal que presentan, está dada por la gran cantidad y variedad de grupos funcionales que se pueden confinar en una distribución espacial pequeña, abriendo un abanico de aplicaciones. Las estrategias (a) y (c) pueden ser aplicadas para la preparación exitosa de polímeros tipo red entrecruzadas que posean multifuncionalidad. Basados en el concepto de multivalencia de los polímeros dendronizados/dendríticos y en la importancia de la especificidad y selectividad de la interacción sustrato–ligando (en liberación controlada de fármacos), resulta de gran interés el desarrollo de redes del tipo hidrogel y nanogel, con una componente dendrítica. De esta manera, NGs inteligentes sintetizados por co-polimerización de NiPAm termosensible (Figura 2) con un monómero dendrítico multifuncional con grupos ácido en la periferia (ABC, derivado de amina de Behera), poseen una transición de fase (T_{cp}) regulada por la temperatura y el pH. Estos NGs mostraron, en general, baja citotoxicidad, según el *Real Time Cell Analysis* (RTCA), así como capacidad de encapsular y liberar cisplatino, un fármaco contra el cáncer. La cinética de liberación del fármaco *in vitro* fue dependiente del pH, observándose alta toxicidad de los sistemas frente a células A549. Por otra parte, los ensayos de absorción de proteínas después de la incubación en suero humano, mostraron una fuerte prevalencia de absorción de albúmina, demostrando alta biocompatibilidad (11). Por lo tanto, los NG inteligentes dendronizados con ABC representan nuevos materiales con aplicaciones prometedoras en liberación controlada de fármacos. Las propiedades multifuncionales del resto dendrítico pueden ser explotadas como vectores para la unión de proteínas de alto peso molecular (PM), así como la liberación sostenida de fármacos pequeños para diferentes

terapias. El interesante efecto quelante observado para la unión de proteínas séricas de alto PM podría explotarse aún más para la encapsulación y liberación de grandes biomacromoléculas hidrofílicas, como la asparaginasa, que aún sigue siendo un desafío para la práctica clínica.

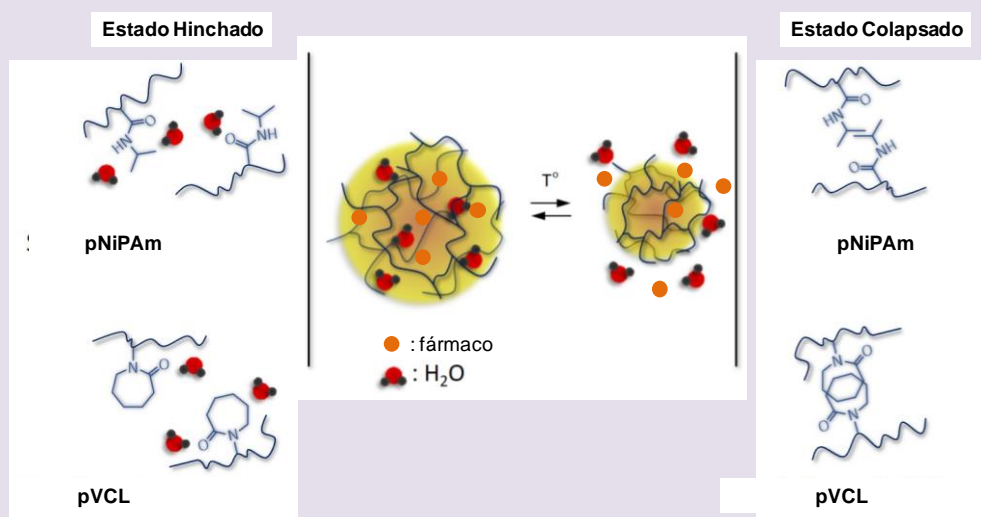


FIGURA 2. NGs termosensibles (Figura adaptada de "Design of multifunctional nanogels with intelligent behavior". G. Rimondino, C. Biglione, M. Martinelli, C. Alvarez Igarzábal and M. Strumia. *Polymer Gels. Science and Fundamentals*, Springer Book, 2016).

Los denominados **nanomateriales híbridos**, formados por la combinación de componentes orgánicos e inorgánicos, representan también una alternativa novedosa para la obtención de materiales con propiedades de interés en nanomedicina. Las ventajas que aporta el componente orgánico es la multifuncionalidad, como la de poder conferir sitios de unión para moléculas *target*, contener un fármaco o poseer comportamiento inteligente. Mientras que las ventajas del componente inorgánico, es conferir propiedades ópticas, eléctricas, magnéticas y/o morfológicas. Los componentes orgánicos más usados son polímeros lineales, en bloque, ramificados, dendrímeros o biomacromoléculas; mientras que los componentes inorgánicos pueden ser nanopartículas de oro, magnéticas, de sílice mesoporosa, *quantum dots*, entre otras. Una de las ventajas sinérgicas de esta combinación es poder convertir estos nanomateriales en sistemas teragnósticos, es decir, capaces de realizar una terapia guiada por imágenes. En este sentido, se han estudiado diferentes metodologías sintéticas para la obtención de nanopartículas magnéticas del tipo *core-brush* y NGs híbridos, como sistemas de liberación controlada de Dox (12) y como dispositivos de captación de células circulantes cancerígenas (13-14).

Finalmente, hay un creciente interés en la búsqueda de nuevos materiales y procesos que contribuyan al desarrollo de estrategias de producción de los mismos, a partir de sustancias naturales provenientes de la biomasa o del reciclado de distintas corrientes de residuos, que hagan a los procesos y a los productos, amigables con el medioambiente. Además, el empleo de materias primas provenientes de fuentes renovables podría resultar en nuevos biomateriales no tóxicos, con alto valor agregado, y alta biocompatibilidad y/o biodegradabilidad. Particularmente, las proteínas poseen un extraordinario potencial para la síntesis de nuevos materiales debido a su gran número de grupos funcionales, que a su vez

presentan posibilidad de introducir modificaciones en su estructura. A partir de dichos biopolímeros, se pueden generar materiales poliméricos entrecruzados biodegradables para uso en encapsulamiento de fármacos para liberación controlada. Particularmente, el aislado de proteína de soja (SPI), un sub-producto de la industria del aceite de soja, presenta propiedades filmogénicas excepcionales, un bajo costo por la extensa producción de soja en nuestro país y buenas propiedades de los *films* que forma, como baja permeabilidad al oxígeno, aromas y lípidos bajo condiciones de humedad intermedia. Se estudió el potencial de películas basadas en SPI como dispositivos de administración de fármacos para la terapia ocular. Se prepararon películas entrecruzadas con un agente natural y no citotóxico, genipina (Gen) y recubierto con poli (ácido láctico) (PLA). Las soluciones filmogénicas se cargaron con timolol maleato (TM) como medicamento modelo y se evaluó el comportamiento de liberación en medio acuoso, y la efectividad hipotensora de las películas en ensayos *in vivo*. A través de pruebas de determinación de presión intraocular (PIO) en conejos, se demostró que mediante el uso de alta reticulación y películas recubiertas, se podría lograr una disminución significativa de la PIO durante períodos de tiempo prolongados (15).

Por otra parte, la caseína representa cuantitativamente, la fracción proteica principal existente en la leche bovina y se obtiene a partir del cuajo resultante de la industria láctea. Presenta excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad, siendo un gran atractivo para el desarrollo de nuevos materiales farmacéuticos. Así, mediante un proceso controlado, se obtuvieron micelas de caseína bovina entrecruzadas (MCBE), utilizando DL-gliceraldehído como agente reticulante, con tamaños de 200 nm. El colorante Rojo de Nilo fue utilizado como molécula hidrofóbica modelo para analizar la capacidad de carga de las MCBE y su liberación en diferentes medios, simulando las condiciones plasmáticas y lisosomales. Se observó que el colorante es liberado en condiciones que simulan el ambiente lisosomal (pH 5 y una proteasa modelo), pero mantienen su carga a pH plasmático (pH 7,4) lo cual es altamente deseable (16).

Otro grupo atractivo de biopolímeros lo constituyen los carbohidratos. Particularmente el quitosán, cuyo precursor es la quitina, naturalmente presente en los exoesqueletos de crustáceos, es uno de los más abundantes y prometedores. Es un polisacárido funcional versátil, relativamente insoluble en agua pero soluble en ácido (a pH inferior a 6,5) debido al grupo amino de carga positiva en el C2 de la glucosamina. Este biopolímero, posee una serie de propiedades funcionales (biocompatibilidad, biodegradabilidad, actividad antimicrobiana, capacidad para formar películas protectoras y actividad antioxidante), que lo hacen técnica y fisiológicamente útil. Mejoras en las propiedades mecánicas, capacidad de permeabilidad al vapor de agua y grado de hinchamiento de películas de quitosán, se lograron por el entrecruzamiento de la red con ácido tánico, y agregado de aceites esenciales de canela y clavo de olor. Estas películas mantuvieron las propiedades funcionales de un biomaterial (17). Un aporte más al desarrollo de biomateriales a partir de quitosán está representado por las películas y NGs de quitosán dendronizados. Las películas fueron biocompatibles y demostraron capacidad para aumentar la proliferación celular y curación de heridas (18). Las propiedades microbiológicas y la capacidad antibacteriana son muy relevantes para su aplicación en ingeniería de tejidos y medicina regenerativa. El balance hidrofílico/hidrofóbico de cada una de las caras de las películas y la adecuada adherencia, las hace muy promisorias como vendas de heridas cutáneas. En cuanto a los NGs, los avances realizados alcanzan a la optimización en el diseño sintético, etapa que representa un desafío

importante al momento de preparar un biomaterial con las propiedades adecuadas para una aplicación en particular (19).

Cabe destacar que, en todos los casos, los aspectos fundamentales que se tienen en cuenta en el diseño sintético de los biomateriales son: (i) especificación adecuada para la cual el biomaterial es necesariamente elegido; (ii) caracterización precisa del entorno en el que se necesita que funcione el biomaterial y los efectos que el ambiente pueda ejercer en las propiedades del mismo; (iii) delineación del tiempo hasta el cual el biomaterial debe cumplir su función; y (iv) comprensión clara del biomaterial respecto a las precauciones de seguridad antes del uso.

La experiencia y la capacidad de trabajo del grupo de investigación en todos los aspectos que son abordados, involucran desde el diseño y la síntesis de las diferentes estructuras, la caracterización empleando técnicas físico-químicas, el estudio de propiedades (carácter hidrofílico/hidrofóbico, magnitud de las interacciones inter/intramoleculares, morfológicas, reológicas, mecánicas, etc.), hasta las aplicaciones, comprendiendo áreas tales como la medicina y la farmacología.

Referencias

- 1-Biomaterials Science, An introduction to materials in medicine, Third Edition, 2013, Edited by B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons, Academic Press is an imprint of Elsevier.
- 2-Biomaterials: Design, development and biomedical applications, 2015, G. Malegowd Raghavendra, K. Varaprasad, T. Jayaramudu, S. Thomas, Y. Grohens, N. Ninan, Nanotechnology applications for tissue engineering, Elsevier Inc.
- 3-Biomedical applications of polymeric biomaterials, 2017, Osorio-Delgado, M. A., Henao-Tamayo, L. J., Velásquez-Cock, J. A., Cañas-Gutierrez, A. I., Restrepo-Múnera, L. M., Gañán-Rojo, P. F., Zuluaga-Gallego, R. O., Ortiz-Trujillo, I. C., Castro-Herazo, C. I., Aplicaciones biomédicas de biomateriales poliméricos DYNA 84 (201), 241-252.
- 4-Applications of synthetic polymers in clinical medicine. Maitz, M. F. Biosurface and biotribology, 2015, 1 (3) 161–176.
- 5-50th Anniversary Perspective: Polymeric biomaterials: Diverse functions enabled by advances in macromolecular chemistry. Liang, Y., Li, L., Scott, R. A., Kiick, K. L., Macromolecules, 2017, 50 (2), 483–502.
- 6- Polymers in drug delivery, A. Srivastava, T. Yadav, S. Sharma, A. Nayak, A. Kumari, N. Mishra, 2016, Journal of Biosciences and Medicines, 4, 69-84.
- 7- Recent advances in hydrogel based drug delivery systems for the human body, A. Vashist, A. Vashist, Y. K. Gupta, S. Ahmad, J. Mater. Chem. B, 2014, 2, 147.
- 8- A novel gel based on an ionic complex from a dendronized polymer and ciprofloxacin: Evaluation of its use for controlled topical drug release. M. García, J. Cuggino, C. Rosset, P. Páez, M.C. Strumia, R. Manzo, F. Alovero, C.I. Alvarez Igarzabal, A. Jimenez-Kairuz, 2016, Materials Science and Engineering: C (Materials for Biological Applications) 69, 236-246.
- 9-Responsive nanogels for application as smart carriers in endocytic pH-triggered drug delivery systems. J. Cuggino, M. Molina, S. Wedepohl, C. I. Alvarez Igarzabal, M. Calderon, L. Gugliotta, 2016, European Polymer Journal, 78, 14-24.
- 10-Poly(N-vinylcaprolactam) nanogels with antiviral behavior against HIV-1 infection, M. Macchione, C. Guerrero-Beltrán, A. Rosso, E. Euti, M. Martinelli, M.C. Strumia, M. A. Muñoz-Fernández. Enviado para su consideración, Septiembre de 2018.

11-Rational design of dendritic thermoresponsive nanogels that undergo phase transition under endolysosomal conditions. G. N. Rimondino, E. Miceli, M. Molina, S. Wedepohl, S. Thierbach, E. Ruhl, M.C. Strumia, M. Martinelli, M. Calderón. 2017, *J. Mater. Chem. B*, 5, 866-874.

12- Tesis doctoral de la Dra. Catalina Biglione (2017), Directora: Dra. Miriam Strumia.

13- Transferrin decorated thermoresponsive nanogels as magnetic trap devices for circulating tumor cells. M. Asadian-Birjand, C. Biglione, J. Bergueiro, A. Cappelletti, C. Rahane, G. Chate, J. Khandare, B. Klemke, M. Strumia, M. Calderon, 2016, *Macromolecular Rapid Communications*, 37 (5) 439-445.

14-Optimizing circulating tumor cells' capture efficiency of magnetic nanogels by transferrin decoration. C. Biglione, J. Bergueiro, M. Asadian-Birjand, C. Weise, V. Khobragade, G. Chate, M. Dongare, J. Khandare, M. Strumia, M. Calderón, 2018, *Polymers* 10 (2) 174.

15-Crosslinked soy protein films and their application as ophthalmic drug delivery system. A. González, I. Tártara, S.D. Palma, C.I. Alvarez Igarzabal, 2015, *Materials Science and Engineering C*, 51,73-79.

16-Crosslinked casein-based micelles as a dually responsive drug delivery system, M. Picchio, J. Cuggino, G. Nagel, S. Wedepohl, R. Minari, C.I. Alvarez Igarzabal, L. Gugliotta, M. Calderon, 2018, *Polym. Chem.* 9, 3499-3510.

17-Tesis Doctoral de la Bioq. Virginia Pasotti. Directora: Dra. Marisa Martinelli.

18-Bioadhesive and biocompatible films as wound dressing materials based on a novel dendronized chitosan loaded with ciprofloxacin. M. García, A. Aldana, L. Tártara, F. Alovero, M. Strumia, R. Manzo, M. Martinelli, A. Jimenez-Kairuz, 2017, *Carbohydrate Polymers*, 175, 75-86.

19-Tesis Doctoral de la Lic. Annabella Rosso. Directora: Dra. Marisa Martinelli.