

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



**Síntesis y caracterización de hidrogel a base de quitina y
óxido de silicio para futura
implementación en regeneración ósea.**

Trabajo de graduación presentado por Sussan María Campos Enríquez
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería Biomédica

Guatemala,

2024

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



**Síntesis y caracterización de hidrogel a base de quitina y
óxido de silicio para futura
implementación en regeneración ósea.**

Trabajo de graduación presentado por Sussan María Campos Enríquez
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería Biomédica

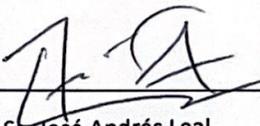
Guatemala,

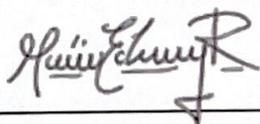
2024

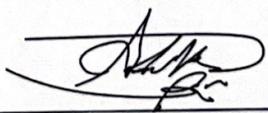
Vo.Bo.:

(f) 
M. Sc. José Andrés Leal

Tribunal Examinador:

(f) 
M. Sc. José Andrés Leal

(f) 
Dra. Mónica Echeverry

(f) 
Dra. Andrea del Valle

Fecha de aprobación: Guatemala, 13 de enero de 2024

Quiero expresar mi agradecimiento a quienes me han apoyado a lo largo de mi carrera universitaria y en la culminación de este trabajo de graduación. Primero agradecer a Dios y a la Virgencita, por guiarme en el desarrollo de esta tesis, iluminar mi camino, brindarme perseverancia y fuerza para superar los obstáculos que significaron nuevos retos. Agradezco sus bendiciones, oportunidades y reconozco que nada de este trabajo de graduación habría sido posible sin su presencia en mi vida.

A mis padres, les agradezco de todo corazón su amor incondicional, sacrificio y apoyo moral, sin ellos y sin su inspiración no habría sido capaz de llegar tan lejos, estoy eternamente agradecida por todo lo que han hecho por mi. A mis hermanos, les agradezco estar a mi lado, su apoyo y lo que hemos logrado juntos, su presencia es un verdadero tesoro en mi vida. A mis abuelos, tanto a los que ya no están entre nosotros como a los que aún disfruto su compañía, quiero rendirles homenaje, sus consejos y experiencias han sido mi motivación para ayudar a los adultos mayores de mi país, con este trabajo de graduación. A mi novio, que me inspira a ser mejor persona, y a superarme, un ejemplo de paciencia por amor. A mis amigos, por apoyarme y ayudarme en los momentos difíciles de la carrera.

Agradezco a mi asesor, MSc. José Andrés Leal, por su profesionalismo, conocimientos y experiencia, dando seguimiento incondicional y ser parte fundamental para el logro de esta tesis. A mi segunda asesora, MSc. Mónica Echeverry, por contagiarme su interés y vocación por el mundo de la ingeniería de tejidos y contribuir a la realización de un buen trabajo. A MSc. Carlos Esquit, Director del Departamento de Ingeniería Biomédica, por su comprensión, apoyo financiero e involucramiento en el desarrollo de esta tesis

A los departamentos de: Ingeniería Química y Química, especialmente a la Licda. Irma Orellana y al Ing. Gamaliel Zambrano, por el apoyo con reactivos; Microbiología, por el acceso a laboratorios, equipo y materiales necesarios durante el desarrollo de este trabajo, especial agradecimiento a la Licda. Cristha Contreras; e Ingeniería en Alimentos, por el equipo de prueba mecánica, especialmente a Licda. Ana Silvia Colmenares.

Agradezco al Centro de Investigación y Desarrollo de Corporación Cementos Progreso y su equipo de especialistas, por haber contribuido con su conocimiento y experiencia en la toma de imágenes de microscopio de barrido.

Finalmente, a mi casa de estudios, Universidad del Valle de Guatemala por la excelencia académica, su proyección en la búsqueda de soluciones a los retos de nuestra sociedad y principalmente por la satisfacción de estar preparada para el campo laboral con una base sólida de conocimientos, habilidades, experiencia y ética profesional.

Prefacio	IV
Lista de figuras	VIII
Lista de cuadros	IX
Resumen	X
Abstract	XI
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
3. Justificación	4
4. Objetivos	7
5. Alcance	8
6. Marco teórico	9
6.1. Tejido óseo:	9
6.1.1. Composición y fisiología:	9
6.1.2. Propiedades mecánicas:	11
6.1.3. Patologías:	13
6.2. Ingeniería de tejidos:	13
6.2.1. Definición:	13
6.2.2. Andamios celulares:	14
6.2.3. Células:	15
6.2.4. Factores de crecimiento:	16
6.3. Hidrogeles en la ingeniería de tejidos:	16
6.3.1. Definición:	16
6.3.2. Propiedades químicas y físicas:	17
6.3.3. Tipos de hidrogel:	17

6.3.4. Aplicaciones de los hidrogeles:	18
6.4. Quitina:	19
6.5. Agar:	20
6.5.1. Mecánica:	20
6.5.2. Biocompatibilidad:	21
6.6. Biovidrio:	21
6.6.1. Definición:	21
6.6.2. Propiedades físicas, químicas y mecánicas:	22
6.6.3. Usos del biovidrio:	23
6.7. Pruebas de compresión:	23
6.8. Biocompatibilidad:	25
7. Metodología	27
7.1. Síntesis de hidrogeles:	27
7.1.1. Proceso 1: Hidrogel de quitina con solvente de calcio	27
7.1.2. Proceso 2: Hidrogel de quitina con agente reticulante	28
7.1.3. Proceso 3: Hidrogel de quitina con solvente de calcio a nivel reactivo	28
7.1.4. Hidrogel de Agar	29
7.2. Pruebas de hinchazón:	30
7.3. Pruebas de compresión:	31
7.4. Imágenes en microscopio de barrido:	33
8. Resultados	34
8.1. Síntesis de hidrogeles:	34
8.1.1. Resultados del proceso 1: hidrogel de quitina con solvente de calcio	34
8.1.2. Resultados del proceso 2: hidrogel de quitina con agente reticulante	35
8.1.3. Resultados del proceso 3: hidrogel de quitina con solvente de calcio a nivel reactivo	35
8.1.4. Resultados del hidrogel de Agar:	36
8.2. Pruebas de hinchazón:	38
8.2.1. Resultados pruebas de hinchazón:	38
8.3. Pruebas mecánicas:	39
8.3.1. Resultados prueba de compresión:	39
8.3.2. Resultados de los módulos de compresión:	42
8.4. Imágenes con microscopio de barrido:	43
8.4.1. Resultados de imágenes con microscopio de barrido:	43
9. Discusión	45
10. Conclusiones	48
11. Recomendaciones	49
12. Bibliografía	50
13. Anexos	60

Lista de figuras

1.	5
2.	Estructura jerárquica del hueso [46]	10
3.	Anatomía del hueso largo [47]	10
4.	Cambio de propiedades mecánicas del hueso cortical con la edad. Reducción del módulo de elasticidad y fuerza compresiva máxima que disminuyen linealmente con el aumento de edad. [52]	12
5.	Comparación entre hueso sano y hueso enfermo [55]	12
6.	Diagrama con las distintas pruebas mecánicas de tensión, compresión y corte[56]	12
7.	13
8.	14
9.	Implante en hueso de andamio celular con y sin células[55]	15
10.	Células madre: Auto-replicación y diferenciación [65]	16
11.	18
12.	Estructura de quitina y quitosano. [85]	19
13.	Estructura química de agar [87]	20
14.	Deformaciones de gel de agar a distintas concentraciones [90]	21
15.	Estructura de un biovidrio de sílice desordenado ($SiO_2 Na_2O CaO P_2O_5$). [94]	22
16.	Aplicaciones del biovidrio [99]	23
17.	24
18.	Elementos que integran un gráfico de compresión y fórmula para obtenerla [102]	24
19.	Evaluaciones de biocompatibilidad basadas en la norma ISO 10993. [107]	26
20.	Diagrama de síntesis de hidrogel de agar y óxido de silicio	30
21.	Cabezal TA4/1000	31
22.	Posición de hidrogeles para pruebas mecánicas	31
23.	Gráfica de presión (Pa) contra porcentaje de deformación	32
24.	33
25.	Resultado de proceso 1: (A) solvente de calcio, (B) solución de quitina	35
26.	35
27.	36
28.	Hidrogel desmoldado	37

29.	Muestras de hidrogeles de agar observadas desde estereoscopio	37
30.	Hidrogel 1 % de agar	38
31.	Resultados de la prueba de hinchazón a distintas concentraciones y rangos de tiempo	39
32.	40
33.	40
34.	Gráfico con línea de deformación	42
35.	Módulos de compresión de las distintas concentraciones	43
36.	43
37.	44
38.	Texturómetro CT3, Concereal	60
39.	Tipos de cabezales de texturómetro	61
40.	Hidrogel 1 % de agar	62
41.	Pesos de hidrogeles para prueba de hinchazón	62
42.	Resultados de SW en muestras, promedios y porcentajes	62
43.	63
44.	63
45.	64
46.	Gráficos de presión (Pa) contra porcentaje de deformación para 4 muestras de hidrogeles de agar al 5 % y óxido de silicio al 1 %, con cargas objetivas de 1000 g (izquierda) y 5000 g (derecha)	64
47.	Gráficos de presión (Pa) contra porcentaje de deformación para 4 muestras de hidrogeles de agar al 5 % y óxido de silicio al 2 %, con cargas objetivas de 1000 g (izquierda) y 5000 g (derecha)	65
48.	Gráficos de presión (Pa) contra porcentaje de deformación para 4 muestras de hidrogeles de agar al 5 % y óxido de silicio al 3 %, con cargas objetivas de 1000 g (izquierda) y 5000 g (derecha)	65

Lista de cuadros

1.	11
2.	Propiedades de tensión y compresión del hueso femoral compacto. [52]	11
3.	Polímeros naturales comúnmente utilizados en síntesis de hidrogeles.[74]	17
4.	Polímeros sintéticos comúnmente utilizados en síntesis de hidrogeles. [74]	18
5.	Propiedades mecánicas del hueso y biovidrio (las cifras subrayadas están estimadas).[96]	22
6.	Cantidades de reactivos utilizados según concentraciones de muestras	29
7.	Resultados de módulos de compresión de las distintas concentraciones	61

El sistema esquelético juega un papel sumamente importante en el cuerpo humano, ya que brinda movilidad, soporte y protección a órganos vitales. En Guatemala la mayoría de pacientes tratados en hospitales públicos presentan algún tipo de fractura. Dentro de estas, varias deben de ser tratadas quirúrgicamente implementando tornillos y placas metálicas, las cuales representan costos elevados que la población de escasos recursos no puede pagar. Una alternativa a estos materiales costosos se presenta en la ingeniería de tejidos, donde la combinación de hidrogeles y biovidrios o biocerámicas pueden ser utilizados para fomentar y acelerar la regeneración ósea a precios más accesibles con materiales altamente biocompatibles.

En este trabajo se desarrolló y caracterizó un hidrogel a base de agar y óxido de silicio, debido a que a pesar de varios intentos, la quitina no se logró diluir y por ende no se pudo sintetizar el hidrogel de quitina. El agar representa un material de bajo costo, debido a que es obtenido de algas marinas, las cuales son abundantes en Guatemala, y el óxido de silicio proporciona estabilidad mecánica asociada al hueso y aporta a la biocompatibilidad. Se desarrollaron varios hidrogeles con distintas concentraciones de óxido de silicio y distintas concentraciones de agar, posteriormente se compararon y se determinó cuál de las concentraciones se asemeja más al tejido óseo, y aporta como posible cemento óseo. Como validación, se realizó la prueba mecánica de compresión a estos materiales para determinar si es posible su implementación a futuro en el campo de regeneración ósea.

The skeletal system plays an extremely important role in the human body, as it provides mobility, support and protection to vital organs. In Guatemala, most of the patients treated in public hospitals present some type of fracture. Among these, several must be treated surgically using screws and metal plates, which represent high costs that the low-income population cannot afford. An alternative to these expensive materials is presented in tissue engineering, where the combination of hydrogels and bioglasses or bioceramics can be used to promote and accelerate bone regeneration at more affordable prices with highly biocompatible materials.

In this work, a hydrogel based on agar and silicon oxide was developed and characterized, because despite several attempts, the chitin could not be diluted and therefore the chitin hydrogel could not be synthesized. Agar represents a low-cost material, since it is obtained from marine algae, which are abundant in Guatemala, and silicon oxide provides mechanical stability associated with bone and contributes to biocompatibility. Several hydrogels were developed with different concentrations of silicon oxide and different concentrations of agar, which were then compared and it was determined which of the concentrations most resembled bone tissue and provided a possible bone cement. As validation, the mechanical compression test was performed on these materials to determine whether it is possible to implement them in the future in the field of bone regeneration.

Las fracturas de hueso son un problema actual en Guatemala, que conlleva costos bastantes para la población, que no todos los Guatemaltecos son capaces de cubrir, principalmente los casos que figuran una operación e implantes [1] [2]. Durante el desarrollo del trabajo se busca solucionar dicho problema con el estudio de una solución de menor costo, y estudiar las mecánicas y biocompatibilidad de esta alternativa. La alternativa de la quitina aporta soluciones a posibles infecciones debido a su poder antibacterial, al igual que el agar [***]. Además con el aditivo de biovidrio como el dióxido de silicio se permite que se obtengan mejores resultados en pruebas de biocompatibilidad, actividad biológica, además que fomenta la unión entre células, y esto brinda un mejor comportamiento del andamio dentro del cuerpo humano. [3][4]

EL objetivo principal de este trabajo es conseguir sintetizar y caracterizar las propiedades mecánicas y biológicas de un hidrogel a base de quitina y óxido de silicio para la posible implementación en regeneración ósea. Esto utilizando la metodología de gelificación química, y en el caso del hidrogel de agar, por el metodo de enfriamiento.

Se determinó el proceso y concentraciones óptimas para sintetizar un hidrogel a base de agar y óxido de silicio, además de realizar pruebas mecánicas de compresión en cuadruple para las concentraciones y determinar la más resistente. Los resultados mecánicos demuestran la oportunidad de utilizar el hidrogel como andamio para ciertas aplicaciones biomédicas, mientras las células llegan a proliferar. El bajo costo del agar [5] permitiría ser una alternativa viable y de bajo costo para ciertos tratamientos fuera de los rangos accesibles por los Guatemaltecos.

La ingeniería de tejidos estudia la manera de desarrollar implantes que sean 100% biocompatibles con el cuerpo humano y faciliten la integración entre implante y tejido. Uno de los puntos de enfoque es el estudio de maneras de facilitar la reparación ósea, donde usualmente se utilizan implantes de titanio o cementos óseos. [6] Estos materiales tienen usualmente efectos secundarios, no llegan a contar con integración celular, e incluso puede afectar al tejido sano o generar infecciones en los pacientes. [7] Para evitar esto, se han investigado nuevas soluciones utilizando ingeniería de tejidos dentro de las cuales el uso de hidrogeles ha mostrado muchos beneficios. [6]

Algunos de los beneficios de los hidrogeles es que, al contar con una estructura similar a los componentes del cuerpo basados en macromoléculas, estos se les consideran biocompatibles. Los hidrogeles pueden ser sintetizados a partir de distintos materiales, como polímeros naturales o polímeros sintéticos. [8] El material escogido determina las propiedades mecánicas, biológicas y químicas, y por ende las posibles aplicaciones. [8] [9] Dentro de la ingeniería de tejidos los hidrogeles cuentan con distintas funciones que son beneficiosas para varias enfermedades y padecimientos, entre sus aplicaciones se encuentra el relleno de espacios, el transporte bioactivo, la construcción de tejido, los andamios celulares y matrices para la cicatrización de heridas [9]. Otro de los beneficios de los hidrogeles es que según el material por el que están compuestos, estos pueden tener propiedades antibacteriales y aportan a una menor probabilidad de infecciones [10].

Los hidrogeles han llegado a tomar un papel bastante significativo dentro del campo de la medicina debido a que son efectivos al momento de estar en contacto con la piel, o inclusive ser implantados, ya que tanto el cuerpo, como los hidrogeles están conformados principalmente por agua, permitiendo que un alto grado de adaptación, bioestabilidad y biocompatibilidad. [11] Según Mohite, et al., gracias a que los hidrogeles tienen una superficie porosa y por dentro permite retención de líquidos, solutos y otros materiales, los cuales pueden modificar características mecánicas y compatibilidad celular. [12]

Dentro de los materiales que pueden ser agregados a los hidrogeles se encuentran los biocerámicos, y entre estos el biovidrio. Estos materiales permiten un mejor desempeño de

cultivos celulares óseos y son candidatos prometedores para ser utilizados como una matriz inyectable promotora de regeneración ósea en pruebas *in vitro*. [13] Además de esto, se ha demostrado la eficacia que tienen los biovidrios o cerámicos como material potencialmente antibacterial, y el incremento en la viabilidad celular al ser utilizado en combinación con cultivos celulares. [14] Uno de los principales componentes de los biovidrios es el óxido de silicio, mejor conocido como sílice cristalina, que de igual manera se considera un biovidrio. El óxido de silicio genera un beneficio al unirse con el hidrogel ya que este tiene la habilidad de formar apatita y unirse con el hueso de manera más fácil. [15]

Se ha demostrado la importancia de aditivos y la influencia de las cantidades de concentraciones de partículas de nanosílice permite una mejor biocompatibilidad y cambios en las propiedades mecánicas por mineralización. Se ha determinado que el óxido de silicio permite una mejor regeneración y una buena biocompatibilidad. [15]

El sistema esquelético juega un papel fundamental en la vida del ser humano, ya que nos solo brinda soporte, movimiento y protección a órganos vitales, sino también almacena minerales fundamentales para el funcionamiento neuronal y muscular y es responsable de la generación de glóbulos rojos. [16]

Las enfermedades óseas que afectan al sistema esquelético, pueden tener repercusiones graves al afectar todas las propiedades fisiológicas de los huesos. La mayoría de las enfermedades óseas son genéticas y afectan este sistema haciéndolo más frágil. Las enfermedades más comunes son la osteoporosis, osteogénesis imperfecta, osteoartritis, enfermedad de Paget y cáncer como Ewing sarcoma y osteosarcoma. [17] [18] Para cada una de estas enfermedades existen distintos tratamientos, como radioterapia, medicamentos y suplementos de calcio. [18] [19] Además de las enfermedades genéticas, existen patologías en este sistema debido a otras razones como traumas o mala alimentación que pueden conllevar a fracturas. [17]

La fractura del hueso supone la pérdida de estabilidad de manera brusca y repentina. Esto conlleva a un proceso largo de recuperación donde el hueso debe regenerarse y reestablecer su estabilidad mecánica. En la mayoría de casos, se requiere inmovilización para que el hueso llegue a la consolidación, donde el hueso se regenera y vuelve a unir. [20] Debido a que esta regeneración está ligada a la mecánica que cumple el hueso, se debe seleccionar la manera más pertinente de inmovilización. [21] En muchos casos un inmovilizador externo (e.g., férula, yeso) es suficiente para la curación total de la fractura. Sin embargo, existen traumatismos que requieren intervenciones quirúrgicas (e.g., prótesis parciales o totales de articulación) y la implementación de inmovilizadores implantables (e.g., barrotos de titanio, cemento óseo) y, en algunos casos, tratamientos biológicos e injertos que faciliten la regeneración ósea (Figura 1). [20] [22] [23]

Otra razón por la cual el sistema esquelético puede verse dañado es debido a la pérdida de masa y calidad ósea por el envejecimiento lo que representa una disminución en la estabilidad mecánica del hueso, lo que puede llevar a fracturas. [24] En Guatemala, el 7.6% de la población son adultos mayores [25] y el 70% de los pacientes que llegan al hospital general San Juan de Dios entran con lesiones en el sistema esquelético, [22] de los cuales el 5.6% se deben a

fracturas de cadera. [26] El adulto mayor es más propenso a este tipo de fractura, [27] y en el país el 54.92% que vive en el área urbana, y el 45% en el área rural, viven en pobreza y carecen de recursos básicos. [25] Los tratamientos habituales, como los implantes parciales o totales de cadera, conllevan costos entre los 2,000-14,000 quetzales, [2] y varios son invasivos, y pueden conllevar efectos secundarios como infecciones, [28] alergias, [29] problemas de biocompatibilidad, corrosión de materiales o falta de integración ósea. [30]

La ingeniería de tejidos provee alternativas a estos tratamientos costosos y ayuda a la integración celular de injertos ya que se pueden utilizar las células del paciente y los injertos pueden ser biodegradables y reabsorbibles. Los hidrogeles son una tecnología ideal para esto ya que sumamente biocompatibles, y ayudan a que haya crecimiento de células, y con eso se cumpla la consolidación. [31] También pueden evitar las posibles infecciones que conllevan los implantes. Además de esto los hidrogeles pueden ser fácilmente modificados por medio de la adición de biocerámicas y biovidrios para facilitar la integración ósea y modificar las propiedades mecánicas, de tal manera que haya un acoplamiento mecánico entre hidrogel y hueso [31]. El biovidrio cuenta con características como ser biológicamente activo, capaz de formar unión entre células, es antibacterial y este es capaz de ser reabsorbido y reemplazado por el hueso debido a que está sintetizado a partir de materiales fisiológicos. [32] [33] El óxido de silicio es considerado un tipo de biovidrio, ya que es uno de sus componentes principales, este es capaz de formar apatita, y su unión con el hueso es más fácil, permitiendo regeneración más fácil. [15]



Figura 1:
Tratamientos para lesiones óseas convencionales (izquierda) y tratamientos tecnológicos (derecha). A) implante de cadera, [34] B) inmovilizador, [35] C) placa, [20] D) tornillo, [20] E) clavo intramedular, [20] F) y G) implantes biodegradables. [36] H) hidrogel, [37] I) inmovilizador impreso 3D [35].

La prevalencia de hidrogeles sintetizados a base de desechos biológicos como la quitina son una alternativa biológica y ecológicamente eficiente para este propósito. Para la síntesis

de quitina, se pueden utilizar desechos de camarón y así reciclar los mismos. [38] En Centroamérica, Guatemala es uno de los mayores productores de camarón, posee 1700 hectáreas para su cultivo, y tiene la capacidad de producir hasta 600 camarones por metro cuadrado. [39] De cada camarón producido, entre el 48 y 60% del peso total se considera desecho, [38] que al ser manejado incorrectamente puede violar la ley de protección y mejoramiento del medio ambiente. [40]

El uso de la quitina en un hidrogel es ecológico, orgánico y presenta un biopolímero que contiene propiedades antibacteriales, antioxidantes y mucoadhesivas que son indispensables para su aplicación en la ingeniería de tejidos. [41] La estructura química de la quitina es altamente estable y parecida a la de la celulosa, también es hidrofóbica y por sus grupos amino e hidroxilos tiene alta reactividad química, lo que permite un gran variedad de aplicaciones en distintos campos. [42]

Por ello se considera que el desarrollo de un hidrogel a base de quitina, con aditivos de biovidrio presentan una alternativa eficiente para el tratamiento de enfermedades óseas, sobre todo en un país en vías de desarrollo y con una alta producción de camarones como Guatemala. Estos hidrogeles presentan una opción biocompatible, de bajo costo y de fácil síntesis para la investigación y aplicación clínica en diversas áreas de la biomedicina.

4.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar las propiedades mecánicas y biológicas de un hidrogel a base de quitina y óxido de silicio para la posible implementación en regeneración ósea.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar el proceso y concentraciones óptimas para sintetizar un hidrogel a base de quitina.
- Evaluar la proporción óptima de quitina y óxido de silicio para la integración de ambos componentes en un hidrogel biocompatible.
- Caracterizar las propiedades mecánicas del hidrogel dependiendo de la proporción de óxido de silicio y concentración de quitina.
- Caracterizar la biocompatibilidad del hidrogel por medio de pruebas de viabilidad celular.

Si bien los objetivos principales de este trabajo de graduación giran en torno al desarrollo de un hidrogel a base de quitina, la síntesis de este material requiere de diversos reactivos clasificados como restringidos por el gobierno de Guatemala como el metanol, cloruro de calcio a nivel reactivo y óxido de silicio, lo cual dificulta su obtención. Por ello se deben de considerar diversas posibles opciones para suplantar la quitina de ser necesario.

La validación de las propiedades mecánicas del hidrogel buscan evaluar la compatibilidad de este material para su integración dentro del sistema óseo. Para ello principalmente se consideran las pruebas de compresión, ya que los huesos están sujetos principalmente a estas fuerzas. Sin embargo, no se espera alcanzar valores idénticos ni en el mismo rango que el hueso debido a que se espera producir prototipos, no un hidrogel que será directamente inyectado o utilizado de manera definitiva. También podría utilizarse como una implementación de un tipo de cemento óseo, donde la integración celular dentro del material y la biodegradabilidad juegan un papel muy importante en su papel como apoyo de regeneración ósea [43].

Las pruebas de biocompatibilidad a realizar en este proyecto están enfocadas en determinar si la combinación de materiales es citotóxica. Debido a las complicaciones relacionadas a la obtención de líneas celulares óseas no se espera que la biocompatibilidad se pruebe con este tipo de células. Como pruebas iniciales se pueden considerar otras líneas celulares disponibles dentro de la Universidad del Valle de Guatemala.

6.1. Tejido óseo:

6.1.1. Composición y fisiología:

Los huesos son un tejido conjuntivo que consiste en una matriz intracelular calcificada que también contiene fibras de colágeno y distintos tipos de células, en la Figura 2 se puede observar un esquema representativo de los distintos niveles de la estructuración jerárquica del hueso. Los huesos integran la mayor parte del esqueleto. Este tejido está conformado por dos tipos de huesos: el compacto (cortical), y el esponjoso (trabecular) (Figura 3). El hueso compacto es denso, y es el que se encuentra en la superficie, y forma un tipo de cubierta exterior, rodeando el esponjoso. El hueso esponjoso es una malla interna tridimensional, formada por espículas de hueso, que crea cavidades que contienen la médula ósea. [44][45]

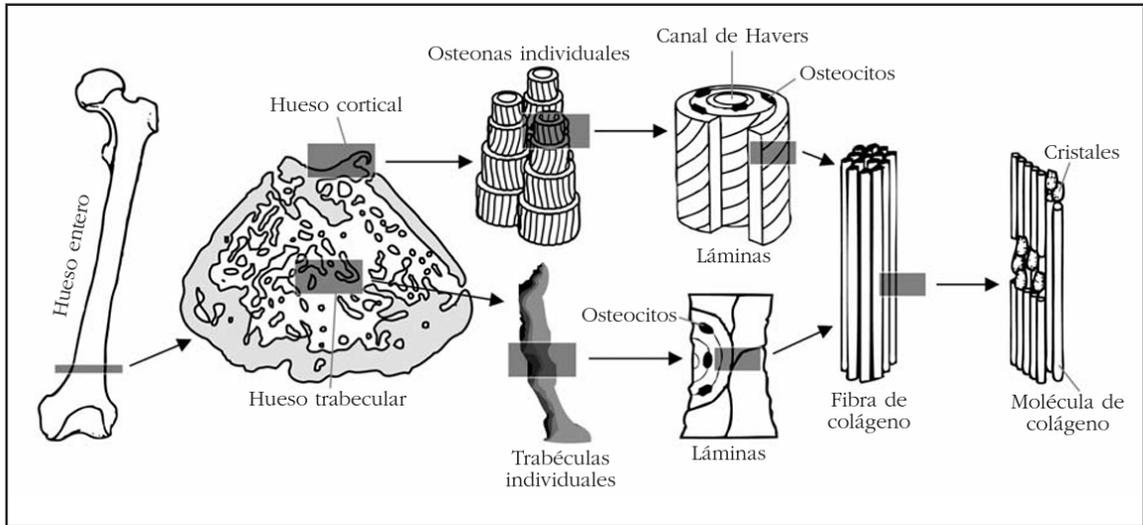


Figura 2: Estructura jerárquica del hueso [46]

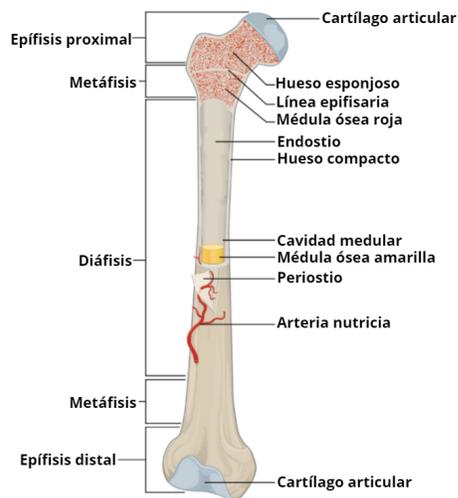


Figura 3: Anatomía del hueso largo [47]

El tejido óseo, es el más fuerte del cuerpo humano, compuesto de un 2 % de células, 33 % de materia orgánica y un 65 % de componente mineral, mayormente el calcio. [48] El hueso está constituido por células conocidas como osteocitos, permitiendo el remodelado óseo, que depende del equilibrio entre las células de osteoblastos y osteoclastos. Los osteoblastos se encargan de la síntesis de la matriz ósea extracelular y el osteoclasto mantiene un balance entre la formación y la resorción ósea. Las funciones de los huesos son proteger órganos, reservar células productoras de sangre, para depositar y almacenar minerales como calcio y fósforo para el funcionamiento muscular y neuronal, pero principalmente brindan soporte. [45][49][50]

6.1.2. Propiedades mecánicas:

Los huesos junto con las articulaciones y los músculos forman un sistema de palancas, donde los tres distintos tejidos funcionan como motor de movimiento, es por ello que la mecánica de cada uno es importante para que funcione todo el sistema. [49] El sistema esquelético de un adulto está compuesto por un total de 206 huesos, que abarca aproximadamente un 15 % del peso corporal total. [51] Según el tipo de tejido óseo, éste cuenta con distintas propiedades mecánicas. El hueso es un cuerpo anisotrópico, lo que significa que tiene distintas propiedades mecánicas según la dirección en que se mida. Un estudio de elasticidad realizado en el hueso femoral compacto dio como resultado la información que se puede observar en el Cuadro 1. Por otra parte, los resultados de la prueba de estrés en este mismo hueso y tejido se observan en el Cuadro 2. [52]

Pueba	Posición	Valor (MPa)	Desviación estándar
Tensión	Longitudinal	135.00	15.60
Compresión	Longitudinal	205.00	17.30
Tensión	Transversal	53.00	10.70
Compresión	Transversal	131.00	20.70
Módulo de corte		65.00	4.00

Cuadro 1:

Dependencia del límite elástico en (a) compresión, (b) tensión y (c) torsión en la densidad aparente del hueso trabecular tibial bovino. [52]

Pueba	Posición	Valor (MPa)	Desviación estándar
Tensión	Longitudinal	135.00	15.60
Compresión	Longitudinal	205.00	17.30
Tensión	Transversal	53.00	10.70
Compresión	Transversal	131.00	20.70
Módulo de corte		65.00	4.00

Cuadro 2: Propiedades de tensión y compresión del hueso femoral compacto. [52]

Con el envejecimiento, los huesos llegan a experimentar cambios que los hacen más débiles y menos eficientes en sus funciones mecánicas, algunos cambios son que se disminuye la capacidad de carga, se agotan las reservas de calcio y pueden haber alteraciones en la estructura ósea. Además el proceso de crecimiento óseo disminuye y a nivel microscópico, el hueso acumula el daño que recibe por cargas repetitivas a lo largo de la vida [53]. Esto llega a afectar las cargas soportadas por los huesos [54] [25] como se puede observar en la Figura 4, entre un lapso de 60 años se llegó a perder casi 20MPa de fuerza del hueso. También en la Figura 5 se puede observar la diferencia de densidad entre un hueso sano y un hueso que se encuentra enfermo, y que tiene mayor edad, dónde se ve mayor porosidad, menor densidad, indicando mayor fragilidad.

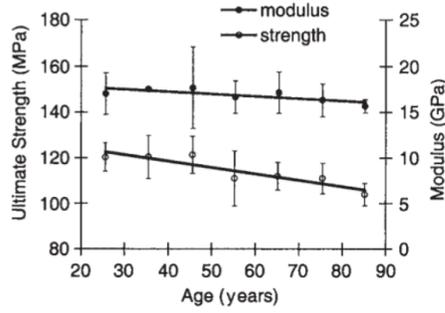


Figura 4: Cambio de propiedades mecánicas del hueso cortical con la edad. Reducción del módulo de elasticidad y fuerza compresiva máxima que disminuyen linealmente con el aumento de edad. [52]



Figura 5: Comparación entre hueso sano y hueso enfermo [55]

A diferencia del hueso compacto, el hueso esponjoso cuenta con propiedades mecánicas que dependen de la densidad del tejido. En un estudio realizado en el tejido esponjoso tibial bovino, según su densidad aparente, se obtuvieron los resultados de pruebas de compresión, tensión y torsión (Figura 6, Figura 7). En dicha figura se observa que el hueso soporta mayor estrés en compresión que en tensión, lo que también debe a la alta porosidad y que al momento de compactar, éste soporta mayores valores. [49]

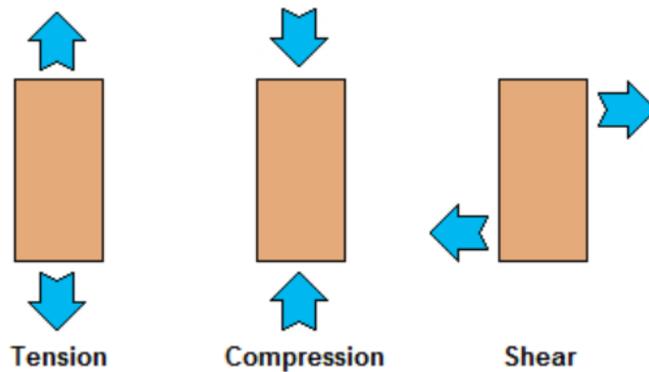


Figura 6: Diagrama con las distintas pruebas mecánicas de tensión, compresión y corte[56]

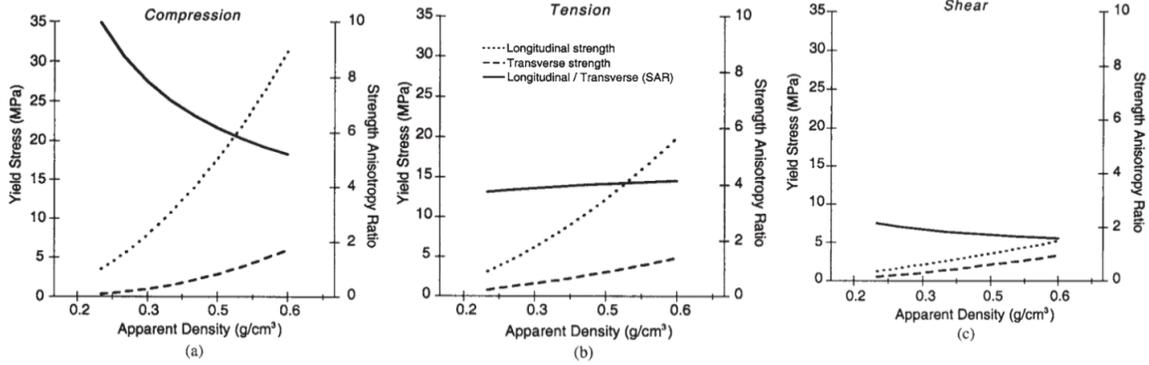


Figura 7:

Dependencia del límite elástico en (a) compresión, (b) tensión y (c) torsión en la densidad aparente del hueso trabecular tibial bovino [52]

6.1.3. Patologías:

Existen patologías bastante típicas en los huesos que atentan contra sus funciones tanto mecánicas como de protección. Algunas de ellas pueden ser la osteoporosis, que es conocida como una patología que deteriora la masa ósea y la microarquitectura que resulta en fracturas. Sus terapias en el presente son modificar el estilo de vida, el consumo de vitamina D o suplementos de calcio. [57] Otra de las patologías es la osteogénesis imperfecta, conocida también como la enfermedad de los huesos de cristal, ésta consiste en desórdenes de distintos tejidos conectivos, que generan huesos más frágiles y fracturas frecuentes. [58] Por otra parte, la enfermedad de Paget es un trastorno no maligno en el esqueleto que se caracteriza por deformaciones, dolor y fracturas en huesos largos. [59][60]

De las patologías más conocidas y más complicadas se encuentra el cáncer, de dos tipos, osteosarcoma y Ewing Sarcoma. El osteosarcoma es un tipo de cáncer donde se generan tumores en el hueso, es uno de los más comunes en niños y adolescentes, el hueso se va desgastando debido al tumor que crece de él, su diferencia con Ewing sarcoma es su tratamiento por metástasis. [61]

6.2. Ingeniería de tejidos:

6.2.1. Definición:

La ingeniería de tejidos busca reparar o reemplazar tejidos del cuerpo humano que no cumplen con sus funciones por encontrarse dañados o enfermos. [62] [63] Esta rama de la ingeniería permite generar tejidos ex vivo con las características necesarias para ser incorporados de nuevo al cuerpo humano y reemplazar el tejido que no cumple su función. Este campo ha avanzado a nivel de permitir la sustitución y regeneración de órganos a partir de tejidos artificiales. Entre sus beneficios se encuentra que permite utilizar un injerto que no será rechazado, no transmite enfermedades, ni se daña el material, como sucede en algunos casos de aloinjertos. [62] Para que la ingeniería de tejidos cumpla con su objetivo, conle-

va tres factores importantes que son: andamios celulares, células y factores de crecimiento. [64](Figura 8)

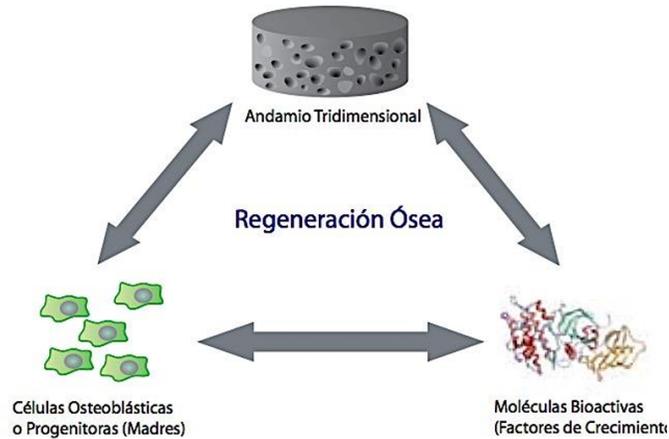


Figura 8:

Triada de ingeniería de tejidos. Una matriz tridimensional (andamio), células progenitoras (células madre u osteoblastos) y componentes moleculares bioactivos. [65]

6.2.2. Andamios celulares:

Los andamios celulares funcionan como una matriz extracelular donde las células pueden reproducirse, como una plantilla, son parte importante de la ingeniería de tejidos, ya que con su porosidad brindan el ambiente apropiado para la regeneración de los tejidos y penetración celular. Normalmente estos andamios llevan células y factores de crecimiento, y a veces dependiendo del material con el que está elaborado, éste presenta características que determinan sus niveles de funcionamiento según las necesidades requeridas por el tipo de tejido. Ocasionalmente, estos pueden contar con estímulos para las células. Los andamios celulares que cuentan con células son cultivados in vitro para observar la respuesta de las mismas en este ambiente. [64] [66] Entre los requerimientos necesarios para un andamio celular, se contempla que deben ser biocompatibles, biodegradables y contar con las propiedades mecánicas parecidas a el área donde serán introducidos. [64]

Existen distintos tipos de andamios celulares según la necesidad que se tiene, pueden variar por los biomateriales que los componen y por la forma de obtenerlos. Si se obtienen de manera química, impresos en 3D, si son polímeros naturales o sintéticos, o de otra especie. [66][64] Los andamios celulares sirven para distintos campos de la ingeniería de tejidos, uno de ellos es la ingeniería de tejidos para la regeneración ósea, la cual se encuentra actualmente en crecimiento debido a que disminuye la probabilidad de rechazo y permite hacer pruebas sin afectar animales (Figura 9). [67]

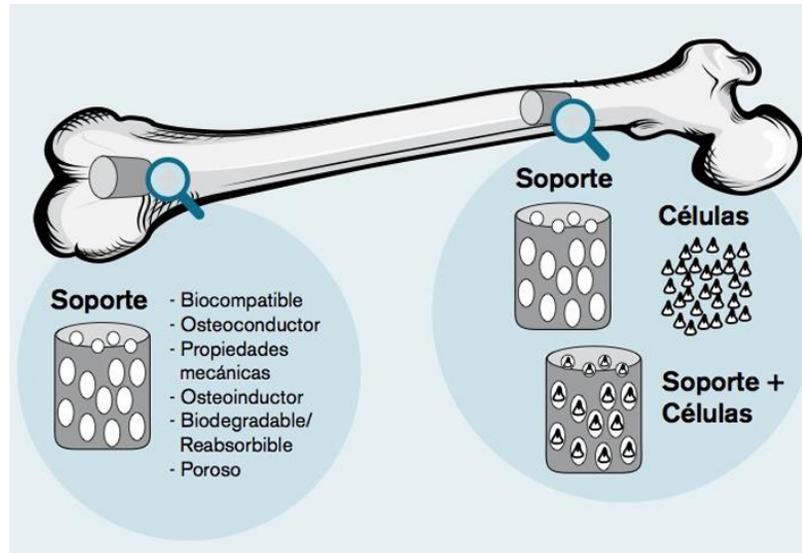


Figura 9: Implante en hueso de andamio celular con y sin células[55]

6.2.3. Células:

El segundo factor de la ingeniería de tejidos son las células, [64] las células son conocidas por ser la unidad más pequeña que compone a todos los seres vivos. [68] Existen distintos tipos de células según de qué ser provienen, como eucariotas o procariotas. Las células procariotas son aquellas que no contienen núcleo, mientras que las eucariotas pueden ser tanto de animales como plantas. A partir de las eucariotas de animales se pueden encontrar distintos tipos, según al tejido al cual pertenecen, su nivel de maduración, o su papel en el cuerpo. [68]

Las células madre son aquellas que se caracterizan por su capacidad de generar más células que cuenten con las mismas características y propiedades, además tienen la característica de diferenciación que les permite generar múltiples linajes tisulares en función de su origen. (Figura 10. [65] Dentro de la ingeniería de tejidos que se centra en la regeneración ósea existen varias líneas celulares que funcionan para comprobar biocompatibilidad y proliferación celular, algunos ejemplos son las células embrionarias (provienen de un embrión y aún no tienen un tejido específico), células estromales (son aquellas referentes a tejidos conectivos), [69] fibroblastos que también forman parte del tejido óseo al igual que osteoblastos. [70] Estas células, para las pruebas de biocompatibilidad pueden extraerse tanto de humanos como de animales.



Figura 10: Células madre: Auto-replicación y diferenciación [65]

6.2.4. Factores de crecimiento:

Para que las células crezcan y se reproduzcan, se requiere de ciertos nutrientes y medios, que se conocen como factores de crecimiento, que es el último factor importante en el campo de la ingeniería de tejidos. Existen sueros bovinos que contienen los nutrientes necesarios para que las células puedan reproducirse y estimular o inhibir la proliferación celular. Dependiendo de la línea celular que se desea utilizar, se debe tener ciertos medios para la nutrición de las células específicas, estos medios pueden adquirirse y simulan el ambiente que brinda el cuerpo humano, es importante tener en cuenta que se debe cambiar cuando las células los consumen. Los medios de cultivo se componen principalmente de macronutrientes, micronutrientes y los mencionados factores de crecimiento que son principalmente polipéptidos. Entre los factores de crecimiento se encuentran: la biotina, riboflavina, tiamina, oxígeno entre otros. [71] [72]

6.3. Hidrogeles en la ingeniería de tejidos:

6.3.1. Definición:

Los hidrogeles son polímeros hidrofílicos tridimensionales entrecruzados que tienen la capacidad de hincharse en un entorno acuoso sin disolverse [73], pueden ser aplicados como un tipo de andamio celular definido como red polimérica en 3D hidratado y poroso. [74][75] La suavidad, su grado de hinchamiento, la capacidad de absorción, y su capacidad de disolver distintos solutos, permite que se asemejen a los tejidos naturales, y da lugar a la proliferación, migración y diferenciación celular. Otro aspecto relevante es que el hidrogel y sus características transportan oxígeno y nutrientes. Al ser un andamio celular polimérico, sus propiedades son versátiles según el polímero del cual es sintetizado, siendo este natural o sintético. [76]

6.3.2. Propiedades químicas y físicas:

El hidrogel posee distintas propiedades químicas, físicas y mecánicas que dependen del material con el cual es sintetizado. [76][77] Las propiedades químicas de los hidrogeles se basan en que al ser una red polimérica versátil, son capaces de responder a distintos cambios fisicoquímicos como la composición que tiene el solvente, su temperatura y el pH, entre otros. Durante su síntesis también se le puede transmitir propiedades químicas que permiten biocompatibilidad, biodegradabilidad, naturaleza inerte, distintas propiedades mecánicas, resistencia química y térmica. [78] Sus propiedades físicas son su estructura parecida a malla, con porosidad, donde su estructura tridimensional le permite almacenar moléculas. Además también su porosidad les permite disponer de capacidades de hinchazón según el polímero utilizado, y sus aditivos. La hinchazón les permite mantener la misma forma, pero el polímero se hidrata y crece su tamaño. Cuentan con una textura de gel, pero sus texturas pueden cambiar dependiendo del material y sus aditivos.[78][79]

6.3.3. Tipos de hidrogel:

Los hidrogeles se clasifican según los compuestos que le sintetizan y por su función de síntesis. Respecto a su función de síntesis, los hidrogeles co-poliméricos, como menciona su nombre está conformado por dos o más monómeros que se polimerizan, los hidrogeles de redes semi penetradas, se forman por reticulación de monómero en un polímero ya formado, los de doble red, poros redes interpenetradas, y los hidrogeles híbridos presentan una fase orgánica y una inorgánica. [78] Adicionalmente, está su clasificación por tipo de polímero, que puede ser natural o sintético. (Cuadro 3, Cuadro 4) Algunos ejemplos de hidrogeles actualmente estudiados para aplicaciones en huesos son quitina con partículas de nanosilica [80], quitosano con el uso de biovidrio [13], también está el uso de alginato [81], entre otros.

Polymer	Class	Advantages	Disadvantages
Collagen	Proteinaceous	<ul style="list-style-type: none"> • Adhesive and bioactive • Abundant and biodegradable • Mimics native ECM 	<ul style="list-style-type: none"> • Assembly sensitive to modification • Contamination can lead to immunogenicity
Gelatin	Proteinaceous	<ul style="list-style-type: none"> • Adhesive and bioactive • Tolerant of functionalisation 	<ul style="list-style-type: none"> • Mechanical stability lost during processing • Mechanically weak
Silk	Proteinaceous	<ul style="list-style-type: none"> • Abundant and biodegradable • High mechanical strength and elasticity 	<ul style="list-style-type: none"> • Contamination can lead to immunogenicity • Requires cross-linking • Slow gelation
ELPs	Proteinaceous	<ul style="list-style-type: none"> • Adhesive • Low immunogenicity • Thermoresponsive (LCST) • Tunable structure and sequence • Recombinant expression 	<ul style="list-style-type: none"> • Low stability without cross-linking
Alginate	Polysaccharide	<ul style="list-style-type: none"> • Rapid gelation with divalent cations • Abundant • Ease of use for 3D printing • Reactive handles for functionalisation 	<ul style="list-style-type: none"> • Cation leaching leads to dissolution • Non-biodegradable • Poorly adhesive
Chitosan	Polysaccharide	<ul style="list-style-type: none"> • Adhesive and antimicrobial • Abundant • Low immunogenicity 	<ul style="list-style-type: none"> • Poor solubility at neutral pH
HA	Polysaccharide	<ul style="list-style-type: none"> • Bioactive and biocompatible • Binds growth factors and cytokines 	<ul style="list-style-type: none"> • Low stability without cross-linking • Rapidly degraded <i>in vivo</i>
Chondroitin sulfate	Polysaccharide	<ul style="list-style-type: none"> • Reactive handles for functionalisation • Bioactive and biocompatible • Binds growth factors and cytokines • Reactive handles for functionalisation 	<ul style="list-style-type: none"> • Low stability without cross-linking • Rapidly degraded <i>in vivo</i>

Cuadro 3: Polímeros naturales comúnmente utilizados en síntesis de hidrogeles.[74]

Polymer	Class	Advantages	Disadvantages
PHEMA	Polyvinyl	<ul style="list-style-type: none"> • High mechanical strength • Generally biocompatible • Easily derivatized 	<ul style="list-style-type: none"> • Non-degradable • Non-adhesive • Potential calcification <i>in vivo</i> • High monomer toxicity
PVA	Polyvinyl	<ul style="list-style-type: none"> • High elasticity • Variable deacetylation ratios • High biocompatibility and hydrophilicity 	<ul style="list-style-type: none"> • Non-degradable • Non-adhesive
PNIPAM	Polyvinyl	<ul style="list-style-type: none"> • Temperature responsive (LCST) • Biocompatible • Low immunogenicity 	<ul style="list-style-type: none"> • Non-degradable • Non-adhesive • Monomer cyto- and neuro-toxic • Gels have weak mechanical strength
PEG	—	<ul style="list-style-type: none"> • Versatile architecture and functionality • 'Blank slate' scaffold • Modular gel properties 	<ul style="list-style-type: none"> • Non-degradable • Non-adhesive
PLA	Polyester	<ul style="list-style-type: none"> • Degradable by hydrolysis • Properties dependent on monomer feedstock 	<ul style="list-style-type: none"> • Evidence of immunogenicity in some patients • Hydrolysis products may cause inflammation
PGA	Polyester	<ul style="list-style-type: none"> • Degradable by hydrolysis • Co-polymers with PLA give tunable properties 	<ul style="list-style-type: none"> • Physically cross-linked gels are weak • Hydrolysis products may cause inflammation • Rapid breakdown <i>in vivo</i>
PCL	Polyester	<ul style="list-style-type: none"> • Degradable by hydrolysis • Sensitive to degradation by lipase • Stable hydrogels over wide concentration range • Crystallinity provides mechanical strength 	<ul style="list-style-type: none"> • Physically cross-linked gels are weak • Crystallinity may slow hydrolysis beyond relevant timeframe

Cuadro 4: Polímeros sintéticos comúnmente utilizados en síntesis de hidrogeles. [74]

6.3.4. Aplicaciones de los hidrogeles:

Las aplicaciones de los hidrogeles son amplias dentro del campo de la ingeniería de tejidos. Algunas de las principales son: distribución de medicinas y células, cicatrización de heridas, regeneración de tejidos, material de cirugía, revestimiento de algunos dispositivos, control de hemorragias Y lentes de contacto (Figura 11). [79] Dependiendo el papel en el campo de aplicación, debe cumplir con especificaciones mecánicas, materiales de sintetización, propiedades químicas y físicas. Un ejemplo puede ser en el caso de utilizar el hidrogel con células, es recomendable que el poro sea mayor a 10 nm de diámetro para que las células sean capaces de moverse. [74]

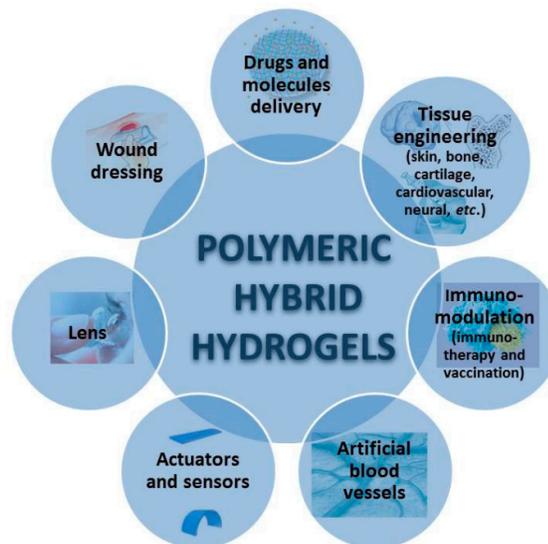


Figura 11:
Aplicaciones biomédicas de hidrogeles híbridos basados en polímeros naturales y sintéticos.[82]

6.4. Quitina:

La quitina es conocida por ser un mucopolisacárido abundante en la naturaleza, que se encuentra en las caparazones de ciertos crustáceos e insectos y cuenta con una estructura parecida a la celulosa. (Figura 12) [83]. Algunas características que posee la quitina son su biocompatibilidad y que es biodegradable. Se han realizado pruebas in vivo sobre cómo la quitina es capaz de activar algunos macrófagos peritoneales, que suprimen el crecimiento de células cancerígenas. También es conocido y utilizado en la ingeniería de tejidos por ayudar en el proceso de cicatrización de heridas. Puede inmovilizar enzimas o incluso células, lo que permite utilizarla en campos como farmacéutica, alimentos, medicina regenerativa, ingeniería biomédica y medicina. [83][84]

El quitosano es un derivado de la quitina, se obtiene al momento que la quitina alcanza un grado de 50 % de desacetilación. [84] En su estado sólido éste es semicristalino, debido a que es igual de compatible que la quitina, también se usa en aplicaciones del campo de la ingeniería biomédica. Algunos de sus usos son para hidrogeles, fibras, distribución controlada de fármacos y capas finas de recubrimiento. Dentro de sus beneficios se encuentra que es mucho más fácil de procesar que la quitina, pero tiene menor estabilidad. Debido a su estructura, (Figura 12) puede ser mezclado con otros químicos, permitiendo distintas propiedades según la necesidad. [83][84]

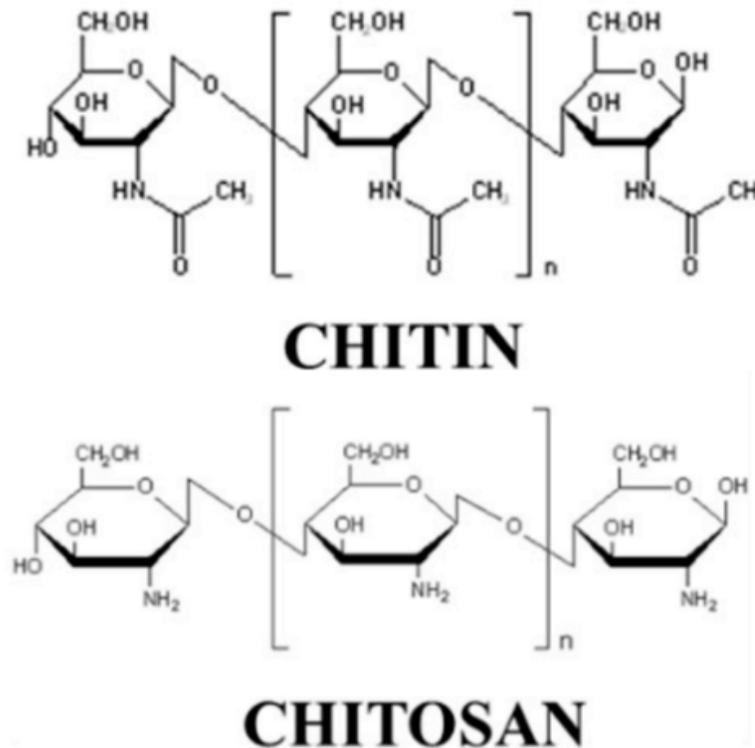


Figura 12: Estructura de quitina y quitosano. [85]

6.5. Agar:

El agar es conocido como un hidrocoloide gelificante proveniente de algas marinas. Sus propiedades como fácil gelificación, bajo peso molecular y mezcla de polisacáridos, esencialmente fracciones de agarosa y agarpectin. La agarosa es una de las partículas del agar, que se gelifican. Debido a que el agar no necesita de ninguna otra sustancia para gelificar, el agar tiene grandes potenciales de aplicaciones como ingredientes para alimentos, usos en biotecnología, cultivos de células y tejidos, o como soporte para electroforesis o cromatografías. Algo que también implica una gran característica del agar es que es capaz de ser reversible, se puede volver a calentar, y al enfriar este volverá a gelificar [86].

Su estructura química se basa en unidades repetitivas de D-galactosa y 3,6-anhidro-L-galactosa, con bajo contenido de ésteres de sulfato. La gran capacidad de gelificación del agar proviene exclusivamente de los enlaces de hidrógeno que se forman entre las cadenas lineales de galactano. Sus temperaturas de fusión y gelificación se aproximan a los 45°C [86]. La estructura química del agar se puede observar en la Figura 13.

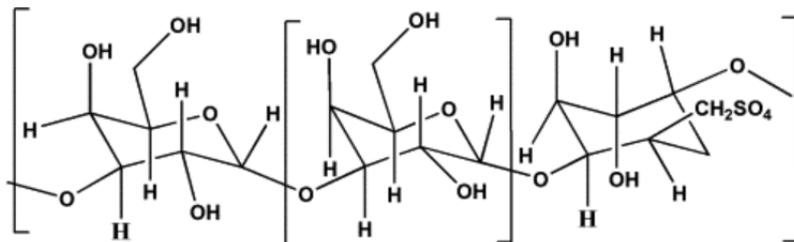


Figura 13: Estructura química de agar [87]

Entre las aplicaciones más importantes que se le da al agar se encuentra su uso en comida, donde se usa como gelificante, o como espesantes, en nanotecnología, donde se utiliza para electroforesis [87], en microbiología, donde se utiliza para cultivos bacteriales o microbiales. Dentro del campo de la ingeniería biomédica, hay estudios de uso de agar para aplicaciones como compuestos antimicrobiales [88] en heridas, también estudios de películas antioxidantes compuestas de agar y nanopartículas de melanina ([89]). El agar con sus propiedades de gelificación también cuenta con un amplio campo para andamios celulares como un tipo de hidrogel, que dependiendo de los aditivos puede conllevar aplicaciones distintas.

6.5.1. Mecánica:

La variación de cantidades de agar en un hidrogel y sus aditivos son los que marcan las propiedades mecánicas que este tendrá, tanto para estrés en tensión, como lo es también para la fuerza en compresión (Figura 14). Esto permite determinar que si se desea un gel extremadamente fuerte se debe buscar concentraciones altas de agar [90].

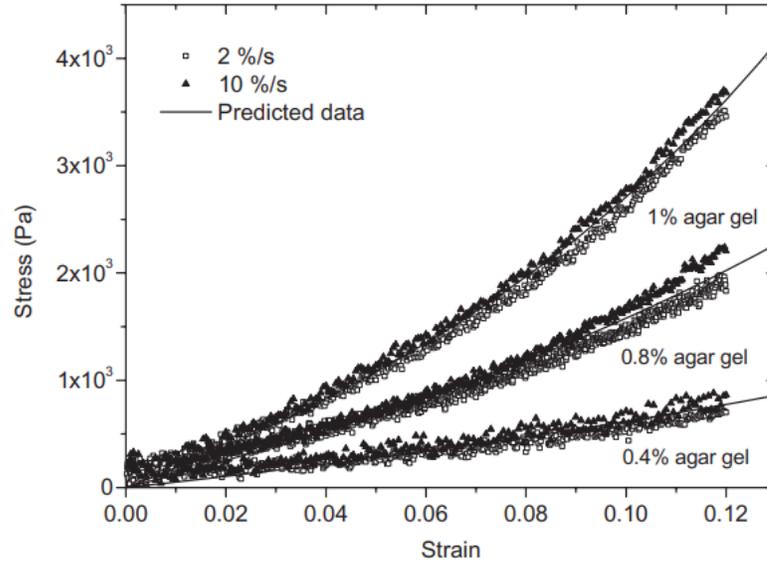


Figura 14: Deformaciones de gel de agar a distintas concentraciones [90]

6.5.2. Biocompatibilidad:

La biocompatibilidad del agar es alta al provenir de algas, y sus aplicaciones biológicas llevan ya décadas de ser utilizadas, en estudios realizados con células *in vitro* las respuestas de estas al ser expuestas al agar se comportan de manera normal, además de que los miofibroblastos demostraron unión al andamio, además de proliferación [91]. Lo que representa una gran oportunidad de aplicaciones de este gelificante en el área de ingeniería biomédica.

6.6. Biovidrio:

6.6.1. Definición:

El biovidrio es conocido por ser un biomaterial, forma parte del grupo de biocerámicos. Según su composición conlleva distintas propiedades, más utilizado y conocido dentro del campo de la ingeniería biomédica para la regeneración ósea es el 45S5. Se obtiene de manera química siendo sintetizado a partir de 45 % de SiO_2 , 24.5 % de Na_2O , 24.5 % de CaO y 6 % de P_2O_5 . Se pueden encontrar distintas cantidades de compuestos y según ello sus funciones. [92][93] Una imagen de la composición general de vidrios se puede observar en la Figura 15.

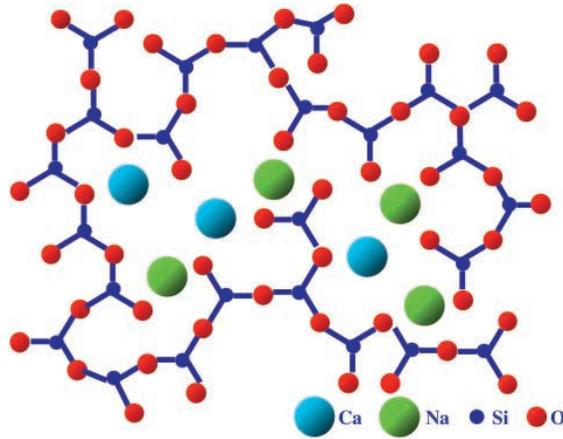


Figura 15: Estructura de un biovidrio de sílice desordenado ($SiO_2 Na_2O CaO P_2O_5$). [94]

El biovidrio cuenta con características como ser biológicamente activo, capaz de formar unión entre células, ser antibacterial y capaz de ser reabsorbido y reemplazado por el hueso debido a que está sintetizado a partir de materiales fisiológicos. [3][4] Usualmente se sintetiza el biovidrio por el método de sol-gel, que conlleva un proceso donde los reactivos se juntan para una solución, posteriormente se gelifica, y se deja secar el gel, para posteriormente ser molido y procesado. [92]

6.6.2. Propiedades físicas, químicas y mecánicas:

El biovidrio se puede encontrar como polvo, partículas, gránulos, mallas y conos o se puede moldear según la forma requerida, su color suele ser color blanco, y su porosidad permite la integración de células óseas. [93] Sus propiedades químicas dependen de su composición y la cantidad de reactivos que se utilizan, esto también determina el nombre y si este es biocompatible, si se une mejor con tejidos o si es reabsorbible. [93][95] Dentro de sus propiedades mecánicas se conoce que no contiene las mismas que el vidrio, sino una menor fuerza, pero la diferencia, y lo que le permite tener aplicaciones es debido a su propiedad de bioactividad. Algunas de sus características mecánicas se encuentran en el Cuadro 5. [96]

Material	Densidad (g/cm ³)	Dureza (Vickers, HV)	Resistencia a flexión (MPa)	Tenacidad de fractura (K _{1c})(MPa m ^{1/2})	Módulo de Young (GPa)	Carga de falla (kg)
Bioglass 45S5®	2.7	4.58 ± 9.4	42 (tensión)	0.6 (12)	35	2.75 ± 1.80
Hueso cortical	1.6-2.1	-	50-150*	2-12	7-30	-
Hueso esponjoso	1.0	-	10-20 (10)	<u>1.0</u>	0.05-0.5	-

* Hueso empapado en solución de Ringers durante la prueba

Cuadro 5: Propiedades mecánicas del hueso y biovidrio (las cifras subrayadas están estimadas).[96]

En el Cuadro 5 se observa que el biovidrio 45S5 alcanza valores menores que el hueso cortical, pero mayores que el hueso esponjoso; al ser introducido a un hidrogel, sus características pueden llegar a cambiar y este puede llegar a ser más parecido a alguno de los tejidos.

6.6.3. Usos del biovidrio:

Debido a que el biovidrio es bastante frágil, sus aplicaciones se ven limitadas, pero continúa siendo uno de los favoritos para la regeneración ósea. [97] Entre algunas de las aplicaciones del biovidrio se encuentran: la distribución de fármacos, como agente antibacterial, como agente remineralizante, implante endoóseo, como material de injerto, y como adición de andamios celulares en la ingeniería de tejidos. [93][98] Otras aplicaciones del biovidrio en el presente se pueden observar en la Figura 16

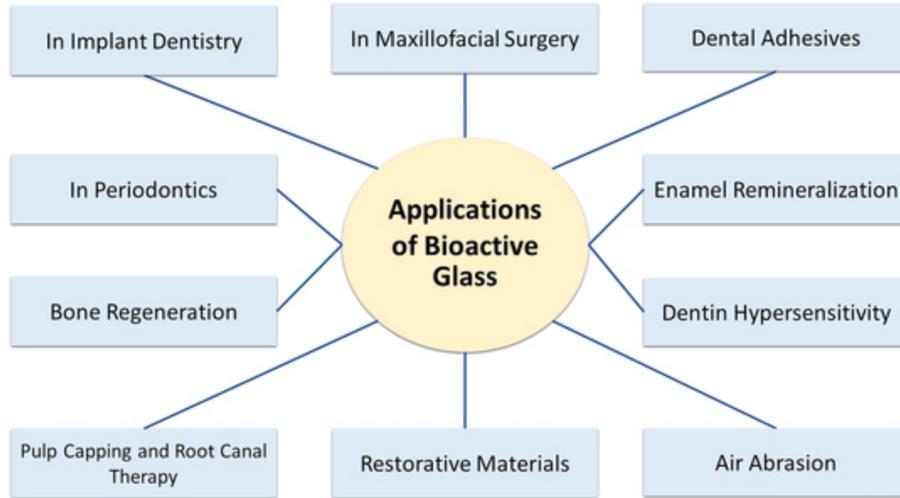


Figura 16: Aplicaciones del biovidrio [99]

6.7. Pruebas de compresión:

Algunas pruebas que pueden ayudar a determinar si un andamio celular tiene las propiedades mecánicas necesarias para el lugar donde este será implantado son las que se realizan en hidrogeles. La prueba de compresión consiste en colocar el material entre dos placas y aplicarle una fuerza aplastante para determinar la carga que soporta (Figura 17, A), una de las ventajas de esta prueba es que la geometría del hidrogel no es relevante, pero una desventaja es que la carga no sea aplicada de manera homogénea. [100] A partir de las pruebas de compresión se obtienen gráficos con el comportamiento de las muestras (Figura 17, B), y a partir de estos gráficos se pueden determinar los módulos de compresión de las muestras (Figura 18). La fórmula para obtener el módulo de compresión, o mejor conocido como young se puede observar en la ecuación 1.

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} = \frac{\text{Esfuerzo de compresión}}{\text{Deformación}} \quad (1)$$

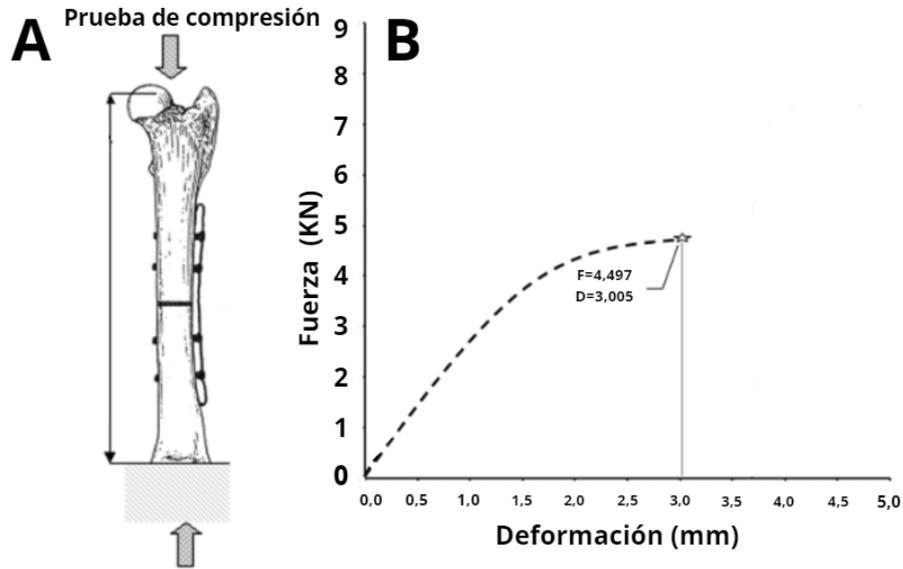


Figura 17: Ejemplo de un fémur canino siendo expuesto a fuerza de compresión longitudinal (A) y resultado gráfico del comportamiento (B) [101]

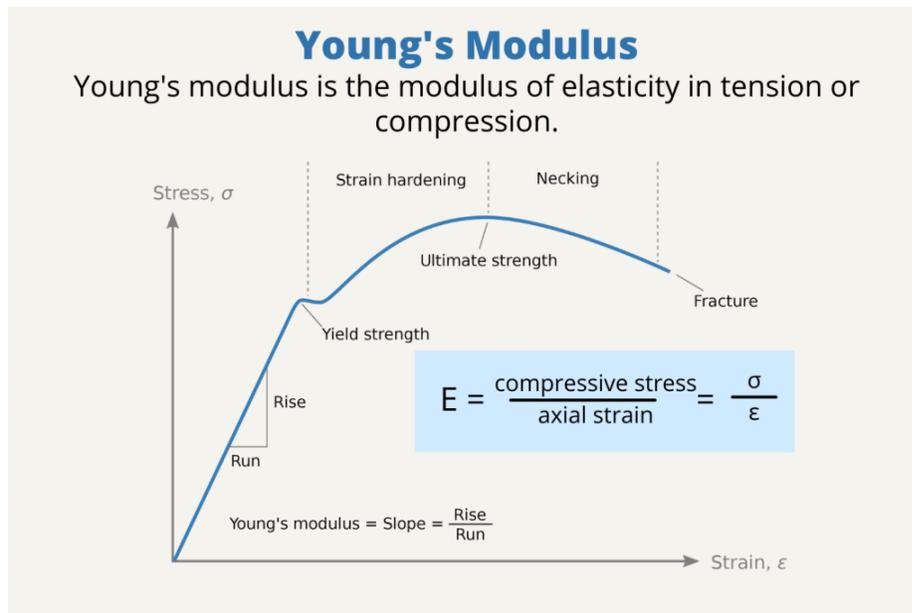


Figura 18: Elementos que integran un gráfico de compresión y fórmula para obtenerla [102]

Cabe mencionar que los huesos e hidrogeles ambos son materiales anisotrópicos, haciendo referencia a que pueden contar con diferentes módulos de compresión según la orientación de la carga a la que son expuestos (longitudinal o perpendicular) [102]. Si un material cuenta con un valor bajo del módulo de Young significa que este sólido es elástico, mientras que si cuenta con un valor alto significa que es un sólido inelástico o rígido, el hueso cortical se encuentra con un módulo de Young aproximado de 14 GPa [102].

6.8. Biocompatibilidad:

La biocompatibilidad hace referencia a la habilidad de un material de realizar la función establecida sin dañar el ambiente biológico donde se ubica. [103][104] Cuando no hay un rechazo por parte del organismo, entonces éste es aceptado biológica y química. La norma internacional que regula que esta propiedad se cumpla en dispositivos o injertos es la norma ISO 10993 y contiene 20 ensayos que deben de cumplirse. [104] Los 20 pasos se centran en salud animal, toxicidades y pruebas a realizar, materiales, biodegradabilidad y caracterización química de materiales. El ISO 10993-5 por su parte, busca medir la citotoxicidad por medio de pruebas in vitro para ayudar a determinar la compatibilidad de los dispositivos y para prevenir daños a la salud humana. [105] Por otra parte, las pruebas de toxicidad que cumplen con la ISO 10993-5 se hacen con cultivos celulares, pueden ser cultivadas en sus condiciones en una placa petri que contenga el andamio celular o biomaterial. Se determina su citotoxicidad según el crecimiento celular o por la muerte de células. Una manera para determinar la viabilidad de la célula es con el uso de la tinción azul Trypán, que muestra aquellas células no viables al introducirse en su membrana. [106]

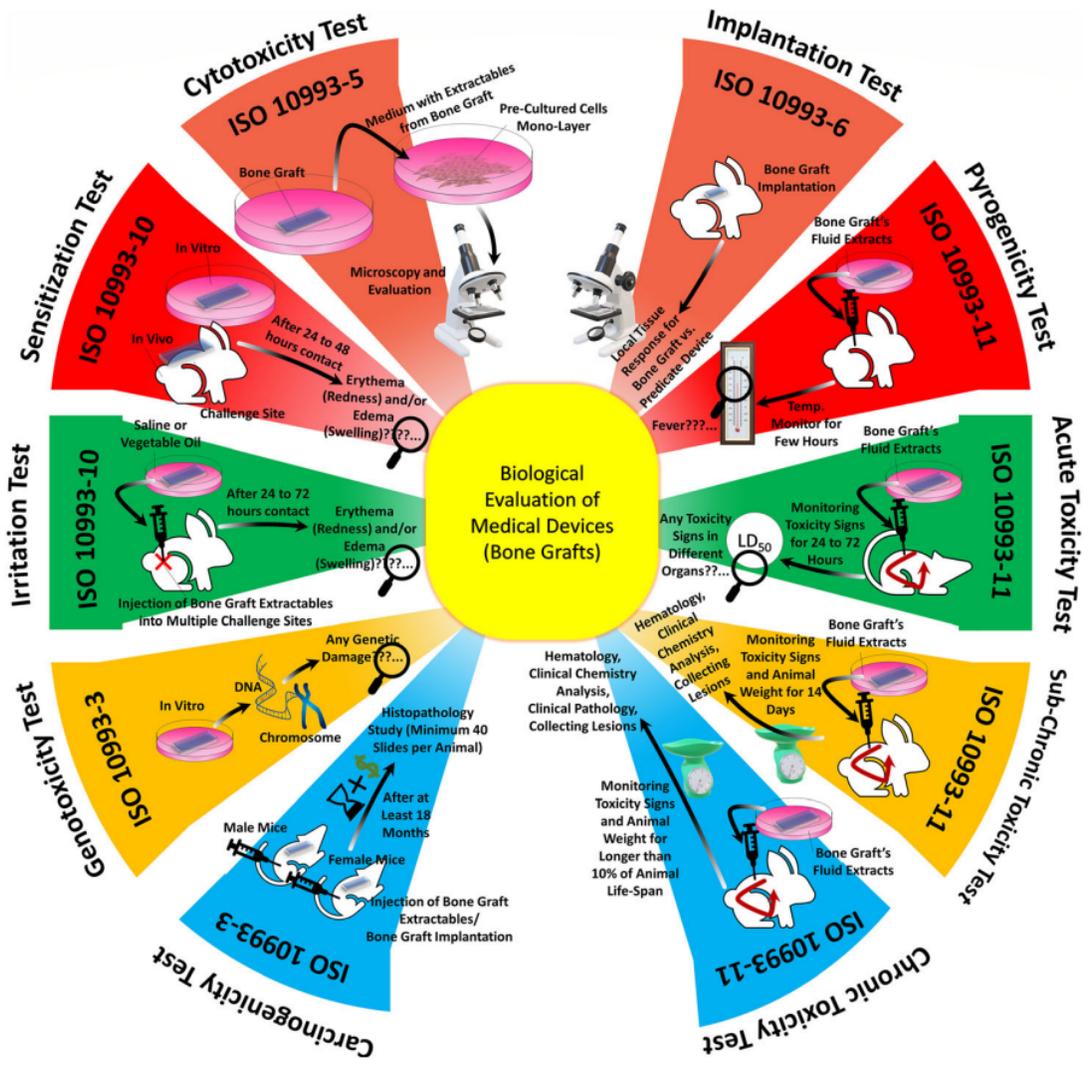


Figura 19: Evaluaciones de biocompatibilidad basadas en la norma ISO 10993. [107]

Durante el desarrollo del proyecto se realizan tres distintos experimentos para la prueba de distintos métodos para determinar el más conveniente.

7.1. Síntesis de hidrogeles:

7.1.1. Proceso 1: Hidrogel de quitina con solvente de calcio

Solvente de Calcio (Ca): El primer paso para la síntesis de un hidrogel, según el protocolo para la preparación de hidrogel de quitina [108] es el solvente transparente de Calcio. Para este se pesan, en una balanza analítica y con el uso de una espátula, 25 g de cloruro de calcio deshidratado (no en grado reactivo sino de cocina, Lamy S.A). Posteriormente el cloruro de calcio se coloca en un beaker de 100 ml. Con una probeta de 50 ml se miden 30 ml de metanol (no en grado reactivo, alcohol para quemar, Prochteca S.A) y se coloca en beaker que contiene el cloruro de calcio.

Se coloca el beaker sobre una estufa, se cubre este con aluminio y se enciende la estufa hasta aproximadamente una temperatura entre 100°C - 200°C, para que llegue a una temperatura sobre el punto de ebullición. Se enciende también el agitador magnético a un nivel 5, para que la agitación sea constante.

Se deja calentando y agitando por aproximadamente 1 hora, esperando a que el cloruro se disuelva. Se continúa con la filtración para remover las perlas no disueltas. Para esto se utiliza un filtro colocado dentro de un embudo, por encima de un beaker de 100 ml. Se filtra y el excedente sólido se desecha.

Solución de quitina: Para la solución de quitina el primer paso es pesar de 1 g de

quitina alpha (C7170, Merck, Darmstadt, Alemania) en la balanza analítica. Posteriormente, la quitina se introduce en el beaker de 100 ml que contiene el solvente de Ca, y se deja calentando, con una tapa de aluminio en la estufa a un nivel 9 de temperatura y agitación constante de nivel 6. Se deja por aproximadamente 3 horas, y luego se filtra con el uso de un embudo, por encima de un beaker de 200 ml. Se filtra y el material insoluble se desecha.

Se realiza diálisis con agua destilada por varias horas, y posteriormente se coloca en el molde, y se deja enfriar para que se solidifique. Posteriormente se utiliza una probeta para medir 400 ml de agua destilada, y se coloca en un beaker de 500 ml. Se agita magnéticamente, sin calor, y se introduce la solución de quitina previamente sintetizada.

Hidrogel de quitina: El precipitado luego se filtra y coloca dentro de una membrana y se realiza la diálisis con metanol para remover electrones. Posteriormente, este precipitado dializado se coloca en el molde (placa petri de vidrio de 60 mm de diámetro * 15 mm de altura), y se mezcla con el óxido de silicio (no en grado reactivo, sino de construcción) utilizando un agitador magnético, se retira el agitador y se deja enfriar hasta solidificar.

7.1.2. Proceso 2: Hidrogel de quitina con agente reticulante

Síntesis de ácido acético al 5 %: Para este proceso se utiliza una campana de extracción, y se introduce en ella el ácido acético glacial (grado reactivo, Universidad del Valle de Guatemala, departamento de ingeniería química) una probeta de 100 ml, una probeta de 5 ml y un beaker de 100 ml. Dentro de la campana se miden 50 ml de agua destilada en la probeta de 100 ml, y 2.5 ml de ácido acético glacial se miden en la probeta de 5 ml. Posteriormente, en una estufa se coloca el beaker de 100 ml y se coloca el agua destilada, se le introduce el agitador magnético, que gira más rápido según el nivel en que está y se enciende a un nivel 3. Poco a poco se introducen los 2.5 ml de ácido acético glacial en el beaker que contiene el agua destilada y agitador magnético. Al finalizar la mezcla, el ácido acético ya está listo para ser utilizado en la síntesis del hidrogel.

Solución de quitina: Se miden 50 ml del ácido acético al 5 %, recién sintetizado, en una probeta de 100 ml, esto se coloca en un beaker de 100 ml, y se le agregan 2.5 g de quitina alpha, previamente pesados con el uso de la balanza analítica y el apoyo de una espátula. Esta concentración producirá un hidrogel de concentración del 5 %.

Hidrogel de quitina: Para que la solución de quitina genere un precipitado y posteriormente este gelifique se requiere del uso de un agente reticulante, que en este caso se usará glutaraldehído al 2 % con agente corrosivo (Eufar, Glutfar plus, Bogotá, Colombia). En una probeta de 10 ml se miden 5ml de este agente reticulante, y se mezcla en el beaker de 100 ml que contiene la solución de quitina. El precipitado se coloca en el molde (placa petri de vidrio de 60 mm de diámetro * 15 mm de altura) y se deja solidificar. Posteriormente, se desmolda y lava el agente reticulante con el uso de una pisceta y agua destilada.

7.1.3. Proceso 3: Hidrogel de quitina con solvente de calcio a nivel reactivo

Idéntico al proceso 1, pero con reactivo de cloruro de calcio de alta calidad.

7.1.4. Hidrogel de Agar

Hidrogel de Agar y óxido de silicio: Con una probeta de 150 ml se miden 100 ml de agua destilada, y se colocan en un beaker de 200 ml. Posteriormente se miden en una balanza analítica, con la ayuda de una espátula, las cantidades de agar (A7921, for cell culture, Merck, Darmstadt, Alemania), según la concentración del hidrogel que se desea (Cuadro 6). Con el uso de la balanza analítica y una espátula, se pesa también el óxido de silicio (no en grado reactivo sino de construcción, ProSilica, Promisa), en caso que se desee el hidrogel con ambos componentes. El óxido de silicio se agrega según la concentración deseada (para una concentración de 1 % se coloca 1 g de óxido de silicio, para 2 % se colocan 2 g, y para 3 % se colocan 3 g de óxido de silicio).

Concentraciones	Reactivo	Cantidades por 100 ml de agua destilada
5% Agar + 3% SiO2	Agar	5 g
	SiO2	3 g
5% Agar + 2% SiO2	Agar	5 g
	SiO2	2 g
5% Agar + 1% SiO2	Agar	5 g
	SiO2	1 g
10% Agar + 3% SiO2	Agar	10 g
	SiO2	3 g
10% Agar + 2% SiO2	Agar	10 g
	SiO2	2 g
10% Agar + 1% SiO2	Agar	10 g
	SiO2	1 g
10% de Agar	Agar	10 g
	SiO2	-

Cuadro 6: Cantidades de reactivos utilizados según concentraciones de muestras

El agar y óxido de silicio, en caso de ser un hidrogel con ambos componentes, luego se introducen al agua destilada, y se enciende en mezclador magnético a un nivel 6, y la estufa a 9. Se coloca una tapa de aluminio al beaker, para que la mezcla llegue a punto de ebullición más rápido, se esperan entre 6-10 minutos y se deposita la mezcla en un molde (placa petri de vidrio de 60 mm de diámetro * 15 mm de altura) y se deja enfriar en un refrigerador durante 20 minutos. Posteriormente, se desmolda el hidrogel. Para una metodología visual sobre la síntesis de los hidrogeles de agar se puede aludir al diagrama en la Figura 20.

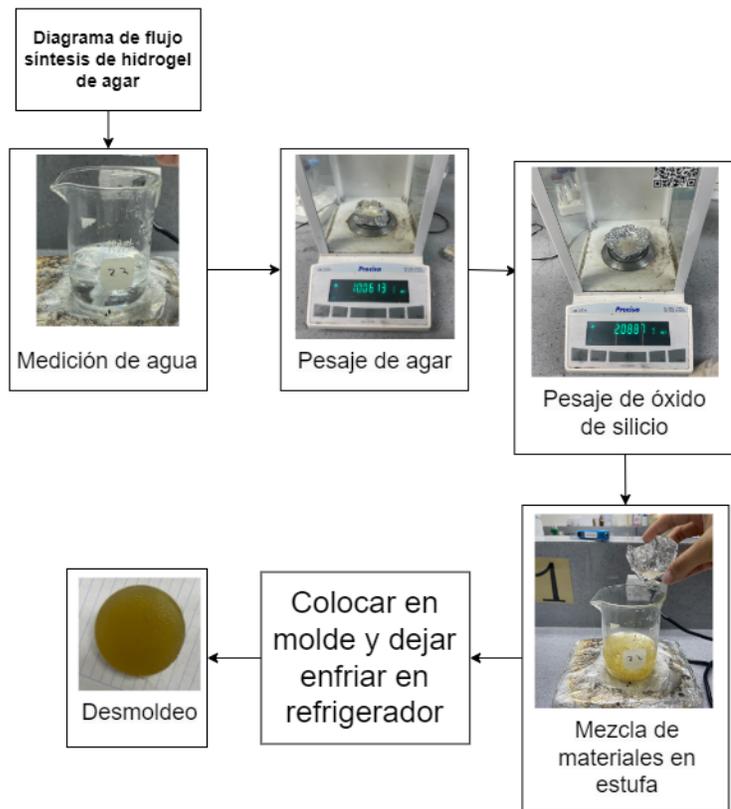


Figura 20: Diagrama de síntesis de hidrogel de agar y óxido de silicio

7.2. Pruebas de hinchazón:

Para las pruebas de hinchazón se cortan cubos de 1cm a partir de las muestras, utilizando un bisturí y un pie de rey estas son cortadas, posteriormente se colocan en distintas placas petri según las concentraciones, y se les coloca una marca indicando el número de muestra. A cada uno de las placas petri se les colocan 20 ml de solución salina normal (solución isotónica 0.9% de cloruro de sodio (Bonin)), y se taparon con sus respectivas tapas, y sellaron utilizando parafilm. Las muestras ya sumergidas en la solución salina se dejan reposar en la refrigeradora según el tiempo de estudio deseado.

Al pasar el tiempo correspondiente (24 horas ó 7 días) se realizan los pesajes de las muestras por orden, se apuntan los pesos y se desecha la solución salina y esta es reemplazada por 20 ml de solución salina nueva, y se vuelve a dejar reposando. Para los cálculos se utilizó la ecuación de hinchazón 2, basada en la literatura sobre pruebas de hinchazón, donde W_S representa el peso en estado seco, y W_D representa el peso de la muestra ya expuesta a hinchazón [109].

$$SW = ((W_S - W_D)/W_D) * 100 \quad (2)$$

7.3. Pruebas de compresión:

Para todas las pruebas mecánicas se utiliza un analizador de texturas, Texturómetro CT3, Concereal (Figura 38, anexos). Este analizador cuenta con distintos cabezales (Figura 39, anexos) que se pueden unir al pistón, para distintas pruebas mecánicas y formas de muestras. Para el caso de las muestras de hidrogel de agar se utilizó el cabezal TA4/1000 (Figura 21), debido a que el diámetro de éste es el más parecido al de las muestras. En la Figura 22 se observa una muestra en texturómetro, con el cabezal seleccionado.



Figura 21: Cabezal TA4/1000



Figura 22: Posición de hidrogel para pruebas mecánicas

Inicialmente se enciende la computadora y el texturómetro, este último se coloca en modo “Remote operation”. Posteriormente, en la computadora se selecciona el software texture loader, Concereal. En la aplicación se selecciona el puerto COM correspondiente al texturómetro. En la página principal se llena la información de “tests” con la información para identificar la muestra a la que se le realizarán las pruebas. Seguidamente se encuentra la sección de dimensiones de muestras, donde se completan los datos según las dimensiones de

cada muestra medidas con el pie de rey (todas las muestras contaban con una medida de 100 mm de diámetro * 15 mm de altura, debido al tamaño de la placa petri utilizada como molde).

Se coloca en el “objetivo de test” que el tipo de prueba sea de compresión, con una carga de valor meta de 1000, 5000 y 10000 g, que es el mayor valor posible. Para los “parámetros generales” se coloca una carga de activación de 100 g y una velocidad de test de 7 mm/seg, y se selecciona el cabezal TA4/1000 y un kit TA-RT-KIT.

Antes de dar inicio al test se debe calibrar la base, por lo que en el área de “ajustar barra” se coloca “localizar base” y se espera a que el texturómetro, ya con el cabezal seleccionado, localice la base. Finalmente, se puede dar inicio a las pruebas de las muestras colocándolas debajo del cabezal, centradas (Figura 22, anexos) y dando inicio al test. Estos pasos se realizan con cada una de las 28 muestras existentes, para las cuales se obtiene un set de datos en excel y un gráfico que representa el comportamiento de la muestra.

Los gráficos se generan con el uso de MATLAB (Mathworks Inc., MA, USA) y el código permite agrupar las muestras según su concentración de agar, óxido de silicio y cargas a las que fueron expuestas.

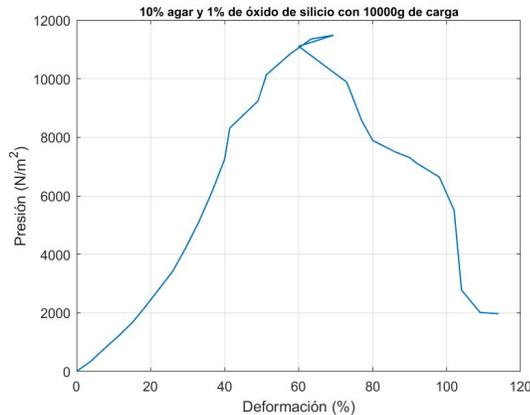


Figura 23: Gráfica de presión (Pa) contra porcentaje de deformación

Para calcular los módulos de compresión se calcula un promedio de las muestras de las mismas concentraciones, posteriormente se toma solamente el área debajo de la curva del promedio de las muestras siendo comprimidas (Figura 24, (B)) y se elabora un gráfico nuevo donde se calcula la ecuación de la línea de tendencia de los datos. El módulo de compresión se determina utilizando la pendiente de la ecuación (número que multiplica a la "x" en la ecuación de cada gráfico) (Figura 24, (A)). Esto se realiza para las distintas concentraciones tanto de agar como de óxido de silicio.

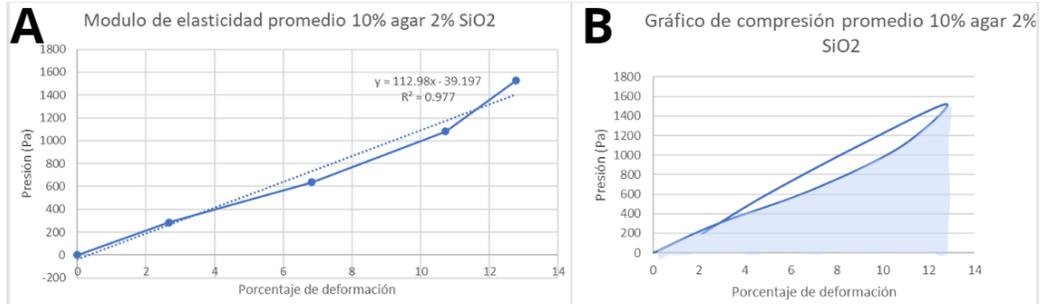


Figura 24:

Ejemplo de gráfica con línea de tendencia para cálculo de módulos de compresión (A) y ejemplo de gráfica de área utilizada para cálculos de módulos de compresión (B)

7.4. Imágenes en microscopio de barrido:

Cada muestra de distintas concentraciones de agar se cortan en cubos de 1 cm^3 y se trasladan al laboratorio del Centro de Investigación y Desarrollo de Cementos Progreso, S.A. dónde el experto las seca por medio de aire y las coloca en el microscopio de barrido (JSM-IT500, JEOL InTouchScope™, Japón).

Este capítulo contiene los resultados obtenidos del proceso de síntesis del hidrogel, y pruebas mecánicas.

8.1. Síntesis de hidrogeles:

8.1.1. Resultados del proceso 1: hidrogel de quitina con solvente de calcio

Antes de determinar el proceso de síntesis de hidrogel de agar, varios intentos fueron llevados a cabo para la síntesis de hidrogel de quitina. El objetivo era fabricar un hidrogel a base de quitina, capaz de soportar cargas mecánicas lo suficientemente altas para funcionar como un tipo de cemento en casos de regeneración ósea. Los resultados del intento de síntesis de hidrogel por medio de el proceso 1, descrito en la sección 7.1.1, demuestran que el solvente de calcio no se logró preparar bien. Este solvente no llegó a una disolución total (Figura 25, izquierda) y las perlas sobrantes se filtraron y descartaron, por ende al agregar en el solvente de calcio la quitina, ésta no llegó a disolverse tampoco. El resultado final fue un líquido de tono amarillo oscuro, sin ningún tipo de precipitación y conteniendo aún las partículas de quitina sin disolver (Figura 25, derecha).

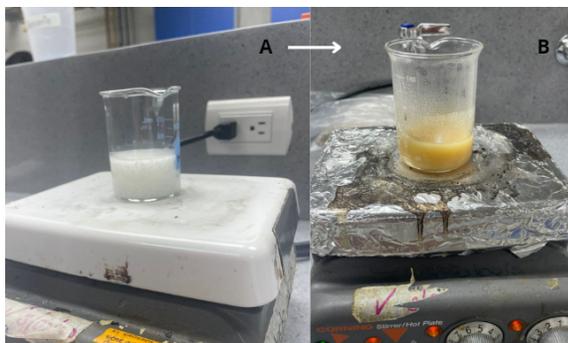


Figura 25: Resultado de proceso 1: (A) solvente de calcio, (B) solución de quitina

8.1.2. Resultados del proceso 2: hidrogel de quitina con agente reticulante

El resultado de la mezcla entre el ácido acético al 10 % y la quitina alpha pura fue una mezcla heterogénea, aunque la mezcla se veía más disuelta que la obtenida en el proceso 1, ésta seguía sin disolverse en su totalidad (Figura 26, A y B), al mezclarlo con el glutaraldehído al 2 % el resultado no fue ningún tipo de precipitación como se esperaba, sino una mezcla heterogénea con partículas de quitina sin disolver; la única diferencia, fue que el resultado final era una mezcla más clara como se observa en la Figura 26, C.

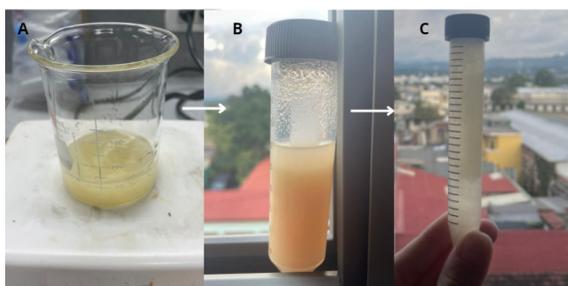


Figura 26:

Resultados de proceso 2: (A) solución de quitina y ácido acético al 10 %, (B) solución a contra luz, (C) mezcla de solución y glutaraldehído al 2 % a contra luz

8.1.3. Resultados del proceso 3: hidrogel de quitina con solvente de calcio a nivel reactivo

Debido a que el proceso 3 fue realizado con los químicos a nivel reactivos se esperaba que finalmente el resultado fuera un hidrogel de quitina. Se inició nuevamente el proceso con el solvente de calcio, el resultado de este solvente fue una mezcla homogénea (Figura 27, A) que al ser mezclado con la quitina logró disolver un poco de ella; aún así, habían bastantes partículas intactas. Al filtrar la solución se obtuvo toda la quitina sin disolver (Figura 27, C) y ningún tipo de precipitado. A pesar que el resultado no fue el esperado, se continuó con el proceso y se agregó agua destilada, esperando que precipitara la solución. El resultado final fue solamente un líquido amarillo claro, sin precipitado y sin ningún tipo de gelificación (Figura 27, D)

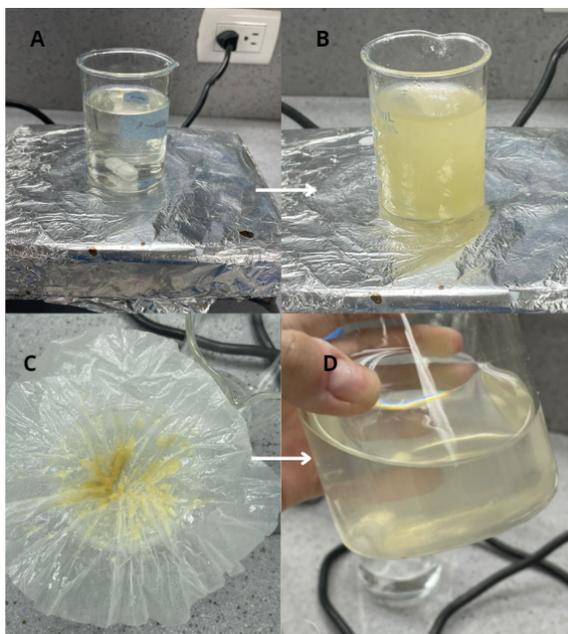


Figura 27:
Resultados proceso 3: (A) solvente de calcio, (B) solución de quitina, (C) filtración de solvente, (D) resultado final

Debido a que todos los intentos de síntesis de hidrogel a base de quitina fueron fallidos, se tomó la decisión de sintetizar los hidrogeles a base de agar con el proceso detallado en la sección 7.1.4

8.1.4. Resultados del hidrogel de Agar:

El resultado del proceso 4 fueron hidrogeles estables y posibles de desmoldar fácilmente como se puede observar en la Figura 28. Se sintetizaron tres distintas concentraciones de agar, cada una con tres distintas concentraciones de óxido de silicio (SiO_2). Los resultados para los hidrogeles con concentración del 10% de agar fueron bastante estables, firmes, y colocándolos a contra luz era posible observar la cantidad de óxido de silicio distribuída de manera homogénea por todo el hidrogel (Figura 29). Para las muestras de 10% de agar de observan muestras más oscuras y opacas que las de 5%, además al tacto, las de 5% se sienten más estables y más secas. Por otro lado, las distintas concentraciones de óxido de silicio permitían observar más oscuras las muestras de 3% y se observaban mayor cantidad a la simple vista, a diferencia con las de 2 y 1%, que aunque se podían observar las partículas de óxido de silicio, estas no eran tan notables (Figura 29).

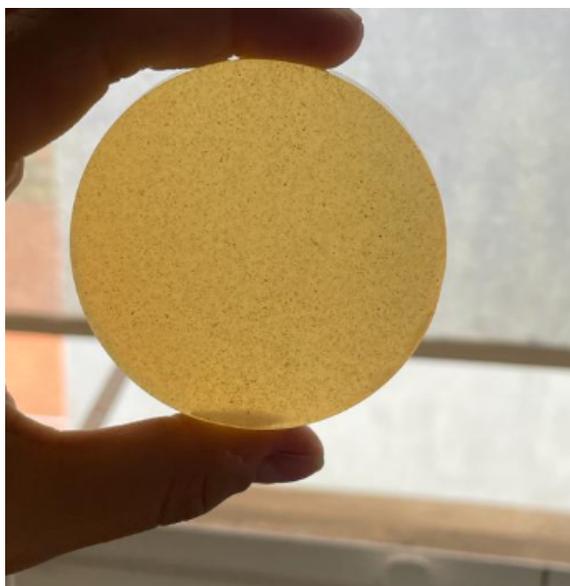


Figura 28: Hidrogel desmoldado

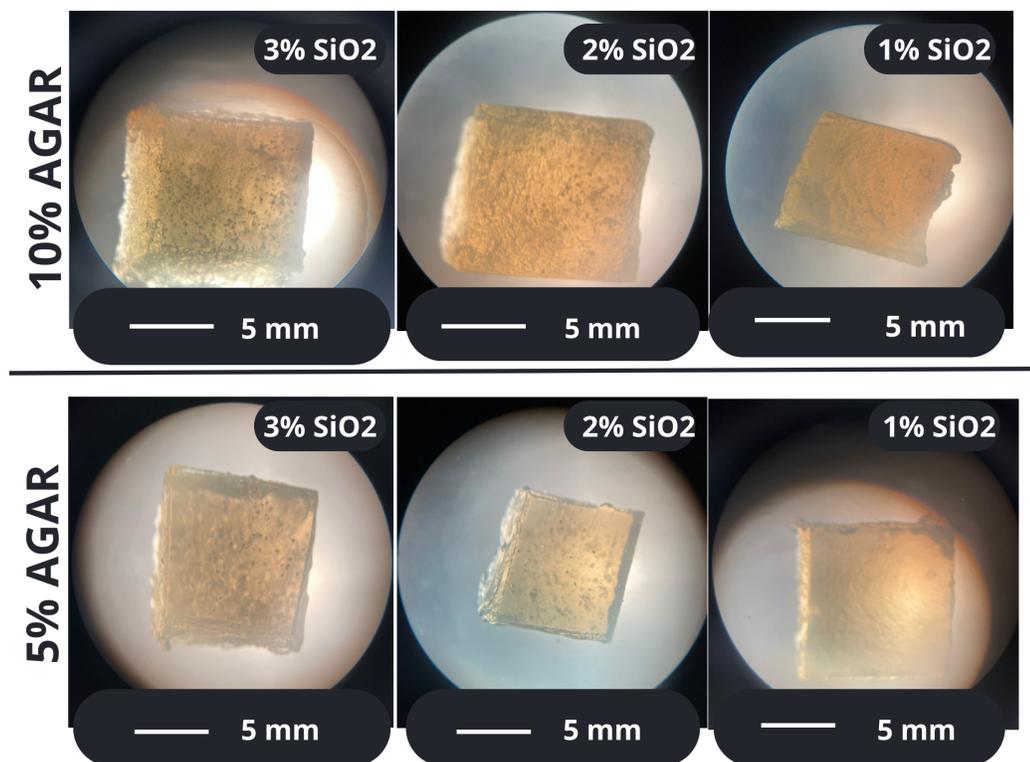


Figura 29: Muestras de hidrogel de agar observadas desde estereoscopio

Los resultados de los hidrogel con una concentración del 5% de agar también estaban totalmente estables (Figura 29), y contaban con una distribución del óxido de silicio

homogénea también, aunque al tocar el hidrogel, se sentía mayor estabilidad que con el de concentración de 10% de agar.

Por último, los hidrogeles con concentración de 1% de agar tuvieron como resultado un hidrogel bastante inestable, que se destruía al simple tacto, al realizar la mezcla con el óxido de silicio este no se distribuyó de manera homogénea, debido a que la viscosidad al verterla en el molde no permitía retener el óxido de silicio. Por ello el resultado fue un gel bastante acuoso con alto nivel de retención de agua, sí se formó un gel pero era bastante frágil y fue imposible desmoldarlos sin que estos se destruyeran. Debido a esto se tomó la decisión de no realizar en ellos el resto de las pruebas (Figura 40, anexos).

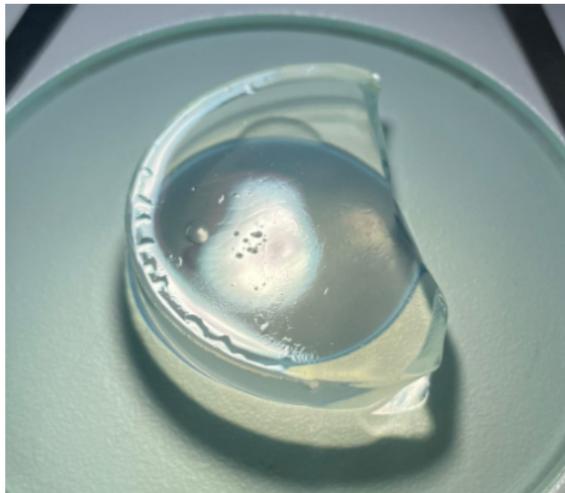


Figura 30: Hidrogel 1% de agar

8.2. Pruebas de hinchazón:

8.2.1. Resultados pruebas de hinchazón:

Las pruebas de hinchazón tuvieron como resultado que las muestras todas se hinchan, a mayor tiempo, mayor porcentaje de hinchazón esto se puede observar en la Figura 31. La muestra que presentó un mayor porcentaje de hinchazón fue la de la concentración de 5% de agar y 2% de óxido de silicio y la menor las muestras de 10% de agar y 3% de óxido de silicio. Para la hinchazón de 24 horas se observa un aumento de hinchazón según disminuyen las concentraciones de agar y óxido de silicio. (Anexo 41, 42)

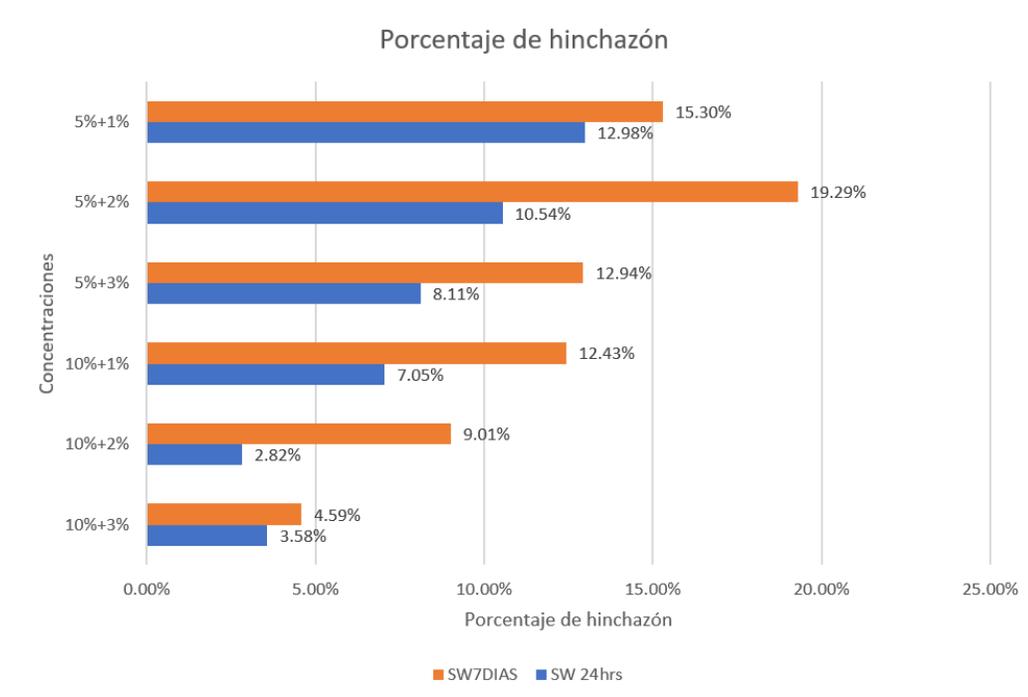


Figura 31: Resultados de la prueba de hinchazón a distintas concentraciones y rangos de tiempo

También se puede observar (Figura 31) en los resultados de hinchazón de 7 días para la muestra de 5 % de agar y 1 % de óxido de silicio que cuenta con menor hinchazón que la de 5 % de agar con 2 % de óxido de silicio, y el resto va en aumento según menor concentración de agar y óxido de silicio. Se observa una tendencia de aumento de hinchazón según disminuyen las concentraciones de agar y óxido de silicio, las muestras con mayor cambio entre un día y siete días fue la de 5 % de agar y 2 % de óxido de silicio, aumentando casi un 9 %, mientras que la de menor cambio fue la de 10 % de agar y 3 % de óxido de silicio. Ambas muestras representan el mayor y menor valor de hinchazón, en 7 días, respectivamente. Los promedios muestran las tendencias de hidrogeles con sus distintas concentraciones, y sus capacidades de retención de agua.

8.3. Pruebas mecánicas:

8.3.1. Resultados prueba de compresión:

La prueba de compresión se llevó a cabo en las distintas muestras que se sintetizaron. Para las pruebas mecánicas realizadas en las cuatro muestras de agar con concentración del 10 %, se obtuvo que las cuatro muestras llegaron a soportar una presión de aproximadamente 1250 Pa, mientras la presión aumentaba estas iniciaban su deformación, pero al llegar a sobrepasar los 1200 Pa el texturómetro detectó fallo total y completa deformación, posterior a ello inició su regreso y a retirarse tal y como se puede observar en la Figura 32 .

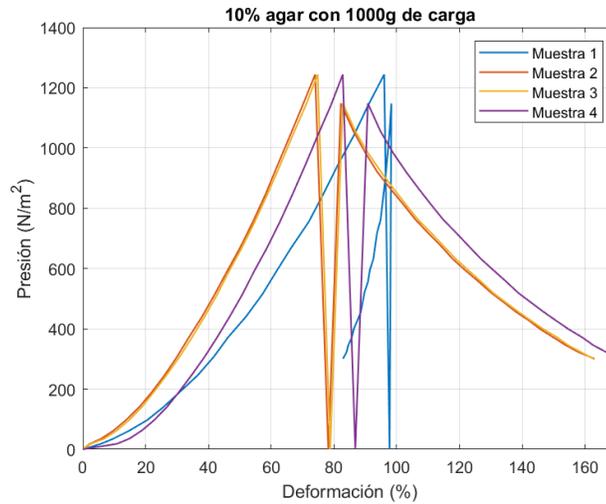


Figura 32:
Gráficos de presión (Pa) contra porcentaje de deformación para 4 muestras de hidrogeles de agar al 10%

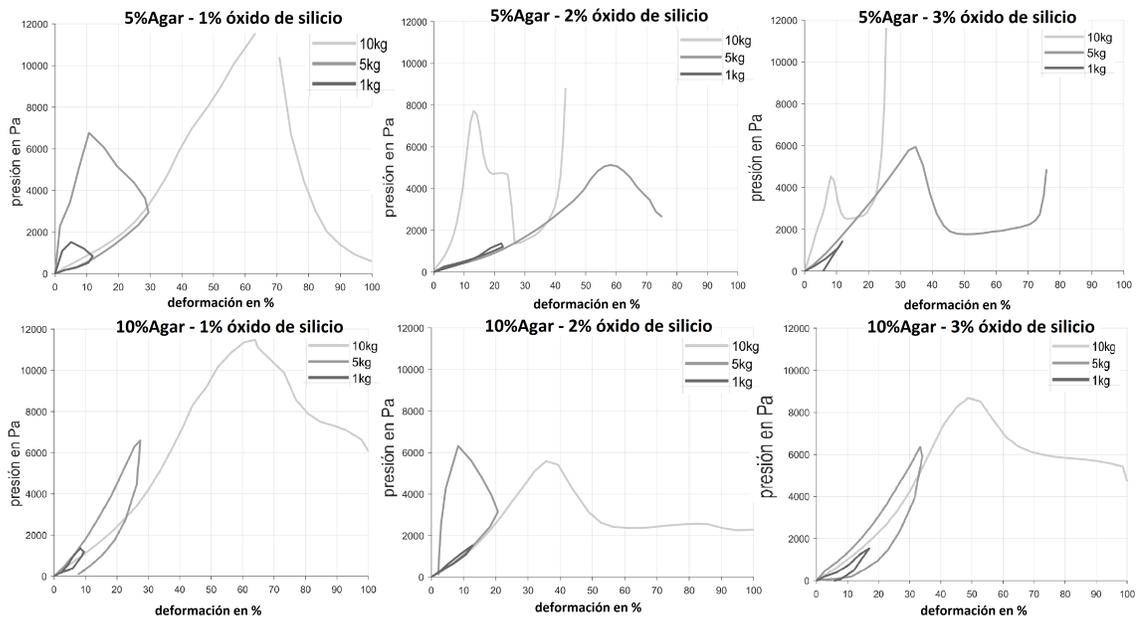


Figura 33:
Gráficos de presión (Pa) contra medias de porcentaje de deformación Pruebas de compresión para muestras de 5 y 10% de Agar con distintas concentraciones de oxido de silicio (1,2 y 3%). Las líneas muestran el promedio de 4 muestras para cada carga aplicada a las muestras (Gris oscuro 1 , gris medio 5 y gris claro 1 kg)

Las muestras con 10% de concentración de agar y 1% de óxido de silicio presentaron entre un 10 y 14% de deformación al llegar a casi 1500 Pa, y todos retornaron a sus formas iniciales en la prueba de carga de 1000 gramos (Figura 33). Al aumentar la carga objetiva a los 5000 g se observa que se llegó a una mayor deformación, de hasta 25% y que regresaron

a su forma inicial. (Figura 33)(Los gráficos de cada muestra previo a la media se pueden observar en anexos)

Por último, los resultados al aumentar la carga a 10000 g presentan una curva donde se llegaron a deformar por completo las muestras, de la misma manera que en la prueba pasada, se observa que el resultado de falla y deformación no permitieron que las muestras regresaran a su forma original, y soportaron hasta casi 12000 Pa de presión (Figura 33).

En la Figura 33 se pueden observar que las muestras de concentración de 10 % agar y 2 % de óxido de silicio sometidas a peso objetivo de 1000 g, sobrepasaron los 1000 Pa de presión, no hubo ninguna ruptura. Para los 5000 g, se observa que el texturómetro sobrepasó el límite de presión indicado, el resultado fue una disminución en el porcentaje de deformación, por último en el gráfico de 10000 g todas las muestras llegaron al fallo y fueron llevadas a ruptura aproximadamente a la presión de 5000 Pa.

Los resultados para las muestras de concentración de 10 % de agar, y 3 % de óxido de silicio fueron que al ser expuestos a una carga de 1000 g llegaron a deformarse menos de un 20 %, y retornaron a su forma original (Figura 33). Al aumentar la carga a 5000 g se observó que la deformación llegó a ser para la mayoría de entre 34 y 36 %, pero de igual manera todas las muestras regresaron a su forma original. Finalmente en la prueba de 10000 g de carga se observó que llegó a destruirse totalmente, aproximadamente pasado de 8000 Pa el texturómetro decidió retirar la presión.

Los resultados de las muestras con concentraciones de 5 % de concentración de agar y 1 % de óxido de silicio fueron que al ser presentadas ante una carga de 1000 g se obtuvieron como resultado deformaciones de entre 10 y 14 % en la presión de 600 y 1000 Pa fue cuando se observaron mayores deformaciones, también se puede observar que regresaron a sus formas originales (Figura 33).

Con una carga de 5000 g se observa que llegaron a mayores porcentajes de deformaciones de entre 25 hasta 32 %, en 5000 Pa justamente, el texturómetro siguió aumentando pesos, pero todas las muestras fueron capaces de retornar a sus formas originales. Finalmente se expuso las muestras a una carga de 10000 g, donde se observó que al llegar a 12000 Pa se llevaba un 60 % de deformación y las muestras sedieron, por lo que el texturómetro inició con disminuciones de presiones.

Para las muestras con concentración de 5 % de agar y 2 % de óxido de silicio los resultados de la prueba con una carga objetiva de 1000 g se llevó hasta 1400 Pa y las muestras rondaron en deformaciones entre el 17 y 21 % y retomaron sus formas iniciales (Figura 33). Al aumentar la carga objetiva a los 5000 g se puede observar que las muestras se deformaron al fallo aproximadamente al llegar a una presión de 7500 Pa, excepto por la muestra 22, que sí logró retornar a su forma original y en la prueba de 10000 g esta llegó al fallo a los 5000 Pa.

La última prueba se realizó en muestras de 5 % de agar con un 3 % de óxido de silicio, donde el resultado para la prueba de compresión a los 1000 g presentó no más de 16 % de deformación en ninguna de las muestras, y no regresaron a su forma original (Figura 33). Los resultados al someter las muestras a una carga de 5000 g fue que todas las muestras llegaron a su punto de fallo llegando casi a los 6000 Pa, el único que logró no verse afectado fue la muestra 26, que logró mantenerse sin llegar al fallo, al someter la muestra a una carga de 10000 g ésta llegó al fallo al alcanzar 4000 Pa de presión.

En la Figura 34 se puede observar un gráfico de ejemplo de resultado, y se observa la deformación de la muestra conforme aumentaba la carga de compresión a la que esta estaba siendo sometida.

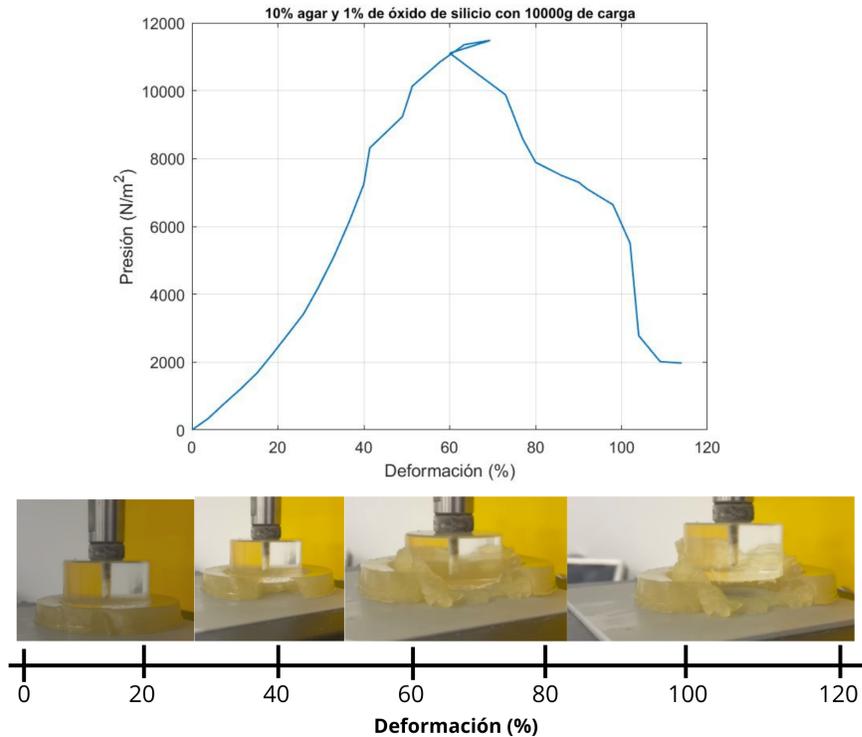


Figura 34: Gráfico con línea de deformación

8.3.2. Resultados de los módulos de compresión:

Los resultados de los módulos de compresión de pueden observar en la figura 35, que la muestra que alcanzó un mayor módulo de compresión en promedio fue la de 5 % de agar y 1 % de óxido de silicio, sobrepasando un módulo de 140 kPa, el de menor módulo fue el de 10 %. Se observa una tendencia en el caso de las muestras de 5 % de agar, que a mayor cantidad de óxido de silicio, menor es el módulo de compresión. En las muestras de concentración del 10 % de agar no se observa una tendencia clara (El cuadro con los datos utilizados para el gráfico se puede observar en anexos el Cuadro 7).

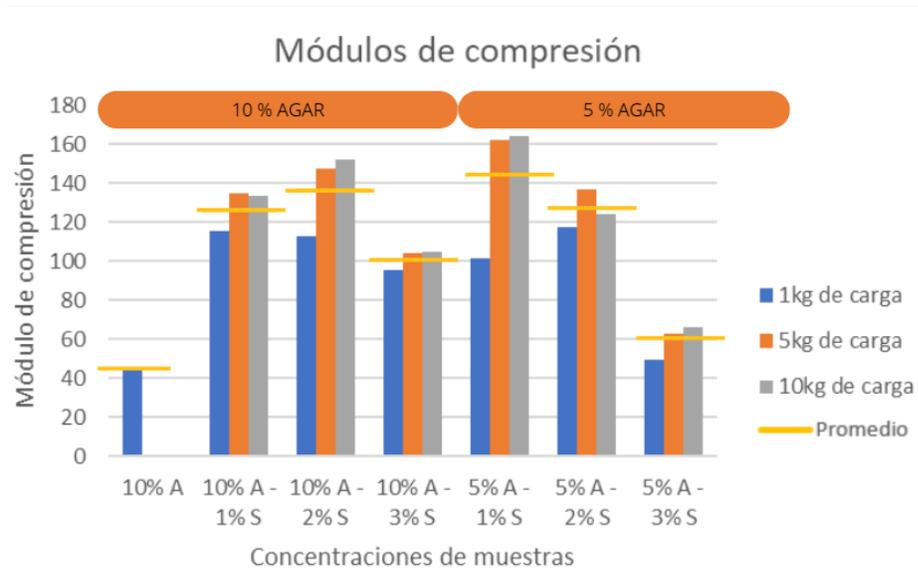


Figura 35: Módulos de compresión de las distintas concentraciones

8.4. Imágenes con microscopio de barrido:

8.4.1. Resultados de imágenes con microscopio de barrido:

En la Figura 36 se puede observar que el óxido de silicio utilizado se observa como piedras pequeñas, pero con distintos tamaños. Por otro lado el hidrogel de agar al 10 % se observa completamente liso y sin ningún cuerpo añadido, además no se observa ningún poro.

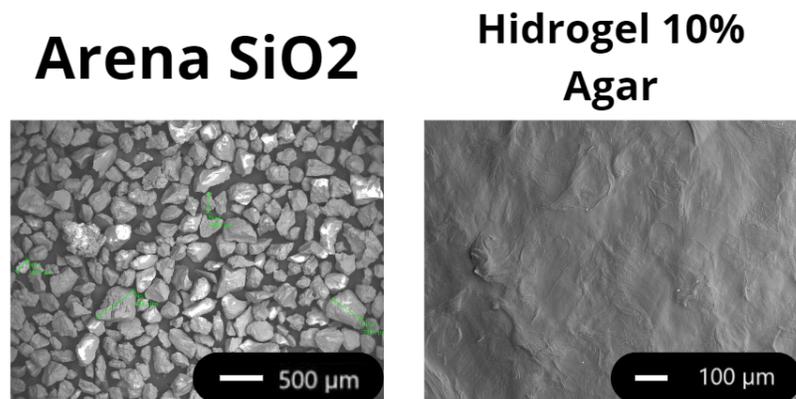


Figura 36:
Imágenes obtenidas de microscopio de barrido de muestra de óxido de silicio y un hidrogel de 10 % agar

Los resultados de las imágenes de las distintas muestras permiten observar diferencia entre las cantidades de partículas de óxido de silicio, aunque no es posible una mayor an-

placi3n de la imagen, se alcanzan a ver las piedras, y como 3stas aumentan cuando la concentraci3n es mayor en la muestra, por otro lado entre las concentraciones de agar se observa que las concentraciones de 5% son mucho m3s lisas, y tienen una superficie con menores part3culas de 3xido de silicio, a pesar de ser la misma concentraci3n 37.

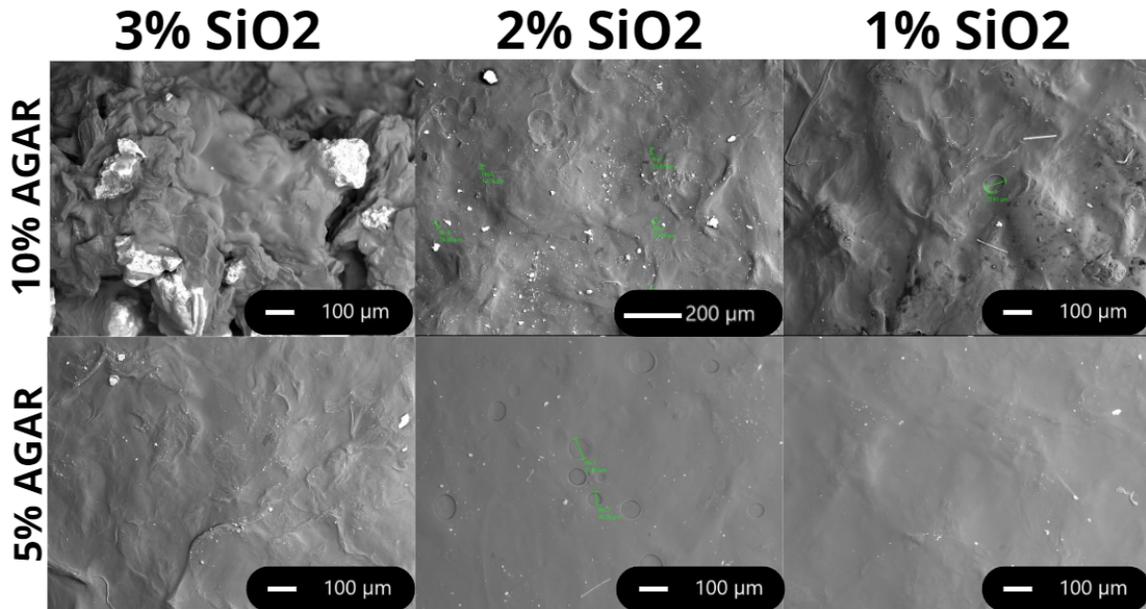


Figura 37:
Im3genes obtenidas de microscopio de barrido de las 6 muestras de distintas concentraciones de agar y 3xido de silicio

Los resultados obtenidos en los procesos de síntesis de hidrogel presentan ciertas discrepancias con las expectativas iniciales y la literatura de referencia. En el proceso uno se buscaba lograr la completa disolución de la quitina en un solvente de calcio para posteriormente precipitarla en forma de hidrogel. Sin embargo, los químicos no estaban en su nivel reactivo óptimo, debido a que en Guatemala la obtención de estos reactivos es demasiado complicado y existen ciertas leyes para la obtención de los mismos, por ello se buscan alternativas de bajo costo y accesibles. El resultado fue una disolución incompleta de la quitina. Este hallazgo subraya la importancia crucial de la calidad y capacidad de reacción de los reactivos utilizados en procesos de síntesis química [108].

El resultado para el proceso dos tampoco fue el esperado, ya que se agregó el ácido acético al 10 %, y el resultado fue la no disolución de la quitina, sus partículas quedaron intactas a pesar de llevar bastante tiempo esperando a que se disolvieran en altas temperaturas. La falta de los resultados esperados se atribuyen a que la quitina era demasiado pura, y que esta es más complicada de disolver[110]. Además que la desacetilación es otro factor que puede afectar al nivel de disolución de un material tan hidrofóbico y estable como lo es la quitina [110]. Tampoco se contaba con el agente reticulante puro, que es el glutaraldehído al 2 %, para obtenerlo se necesitaba tener una certificación y agente comercializado está diluido en otros químicos. Al ser éste el encargado de generar las redes de interconexiones para que el hidrogel se produzca y no utilizarlo puro, aunque un poco de la quitina se hubiese disuelto, al agregar el agente reticulante impuro este no produjo las reacciones químicas y reticulantes que se esperaban.

Para el tercer proceso, donde se contaba con los reactivos puros se esperaba que finalmente funcionara la síntesis del hidrogel, a pesar de ello esto no fue lo sucedido. Aún utilizando los químicos adecuados la quitina no llegó a disolverse, esto se atribuye a que la publicación por Tamura et.al no explica de manera detallada la temperatura a la que deben llegar los reactivos, por ello se tomaron ciertas libertades conforme a la temperatura utilizada. Ade-

más, no se encontraba ningún tipo de diagrama que explicara claramente el procedimiento de síntesis con imágenes del proceso paso a paso y no se establece tampoco el nivel de pureza de la quitina. [108] Al no contar con el equipo y cristalería necesaria para realizar un reflujo, se optó por una alternativa de calentamiento normal. Por este motivo, ciertas discrepancias se pueden encontrar entre los procesos realizados.

Por último, los resultados del cuarto proceso utilizando agar como agente gelificante en el hidrogel fueron los esperados, ya que se lograron gelificar hasta 28 muestras de manera correcta, las concentraciones seleccionadas de agar del 5 y 10 % que fueron resistentes debido a su menor tendencia a retención de agua, a diferencia del gel de 1 % de agar.

Para las pruebas de hinchazón se buscaba encontrar la concentración que lograra una hinchazón baja para poder darle una aplicación de cemento óseo al hidrogel, la muestra con menor hinchazón fue la de 10 % de agar y 3 % de óxido de silicio, por lo que permitiría un buen resultado como cemento óseo y aquel que no serviría como un cemento óseo debido a su alto nivel de hinchamiento es el de 5 % de agar y 2 % de óxido de silicio. A medida que el tamaño de poro de la red decrece, los hidrogeles también pueden exhibir una marcada reducción en el máximo contenido de agua que pueden almacenar, a esa razón se le atribuye que este hidrogel cuenta con menor hinchamiento, debido a que los poros son más pequeños. [111]

En las imágenes obtenidas por el microscopio de barrido no se observa ningún poro debido a la falta de acercamiento que se le podía dar a las muestras por ser húmedas, pero las diferencias de óxido de silicio demuestra que la síntesis de estas concentraciones fue realizada correctamente. La falta de homogeneidad al rededor de las muestras se puede deber a que la forma esperada de el óxido de silicio son pequeñas perlas de tamaños más o menos iguales, pero en este caso el utilizado al ser piedras de distintos tamaños pueden no ser propagadas de manera homogénea por toda la muestra [112].

Los resultados incoherentes de ciertas muestras al ser expuestas a presiones altas y que las gráficas cobrasen formas distintas se le atribuye al texturómetro utilizado, al llegar al fallo presenta valores de error en los datos, esto se puede deber a que el texturómetro no busca llevar las pruebas de comida al fallo, sino solamente determinar sus principales características, el uso de equipos profesionales y aptos para las pruebas es esencial para obtener resultados más exactos, con equipos recomendados para pruebas mecánicas en hidrogeles [113]. Actualmente en UVG solamente se cuenta con dispositivos especializados para materiales de construcción dentro del departamento de ingeniería civil o con el texturometro utilizado en este proyecto. En ambos casos el rango utilizado de fuerzas y la precisión de medición no es lo ideal para caracterizar hidrogeles. Sin embargo, los resultados obtenidos aquí son el primer paso para poder comprender la influencia de los diversos parámetros investigados en las propiedades mecánicas del hidrogel.

Según los resultados obtenidos por el texturómetro, ninguna de las muestras expuestas a las pruebas sería capaz de llegar a los 205 MPa, ni 131 MPa de presión, como la que los huesos son capaces de soportar [52], esto se puede deber a la alta capacidad del agar para retener agua, por lo que a pesar de tener alta concentración de agar, el agua absorbida debilita la capacidad de soporte de cargas. Según estudios parecidos se observó que la fuerza mecánica de compresión rondaba entre 3790 y 47700 Pa [114], por lo que el resultado obtenido de los hidrogeles con agar y óxido de silicio superaron a los 3790 Pa, por ende sí

se pueden determinar como un andamio dentro de sus propiedades mecánicas, pero no son lo suficientemente fuerte como para su aplicación en huesos de manera definitiva, sino más bien como un apósito. Además gracias a la adición de óxido de silicio logran ser bioactivos y al contar con una baja cantidad, si aumenta la presión soportada y su módulo de compresión, pero al aumentar demasiado la adición de este, la muestra se seca demasiado y al deshidratarlo este se debilita y presenta menor módulo de compresión.

Los hidrogeles sintetizados podrían ser utilizados como un tipo de cemento óseo de huesos rotos, al mezclar con algún otro material, como lo es el alcohol polivinílico (PVA), las muestras presentarían mayor resistencia mecánica, biocompatibilidad y conductividad. [115] [116] Por el momento, la muestra que conviene más como un cemento óseo sería la que cuenta con concentraciones de 10 % de agar y 2% de óxido de silicio, ya que tiene un valor alto dentro de su módulo de compresión de 137.61 kPa y tampoco llega a un nivel mayor que 9 % de hinchazón y al contar con óxido de silicio permite obtener los beneficios de los biovidrios sin deshidratar la muestra en exceso, permitiendo ser moldeable y adaptable a distintas formas.

Los resultados obtenidos son solamente el inicio para el desarrollo de andamios celulares a base de agar y biovidrio. Dentro del plan original del proyecto se esperaba realizar pruebas de biocompatibilidad con células óseas, por motivos de retrasos en las cadenas de suministro de los proveedores de material biológico, no pudieron ser realizadas. Un paso esencial dentro del desarrollo a futuro de este tipo de andamios debe ser la determinación de su biocompatibilidad con las células adecuadas al área de exposición del hidrogel.

- Al utilizar la quitina que es un material poco soluble, es necesario contar con todos los equipos y reactivos para producir un hidrogel correctamente. Si no se utiliza el equipo, reactivos y se sigue el proceso detalladamente, no es posible sintetizar y caracterizar las propiedades mecánicas y biológicas de un hidrogel a base de quitina y óxido de silicio para la posible implementación en regeneración ósea. Esto limita la posibilidad de desarrollar un hidrogel de menor costo y de fácil síntesis pero apunta hacia los requisitos mínimos que debe cumplir cualquier centro de investigación que quiera desarrollar este tipo de hidrogeles en Guatemala.
- Al no lograr disolver la quitina se tomó la decisión de realizar hidrogeles a base de agar. El agar tiene un proceso de síntesis más sencillo y es mucho más fácil de obtener en Guatemala.
- No se llegó a evaluar la proporción óptima de quitina sino de agar y óxido de silicio para la integración de ambos componentes en un hidrogel, siendo la más óptima en resistencia a compresión la de 5% de agar y 1% óxido de silicio.
- El óxido de silicio en pequeñas cantidades es capaz de mejorar las propiedades mecánicas de compresión de un hidrogel mientras que en altas cantidades disminuye su resistencia.
- El agar a pesar de tener gran potencial de absorción de agua, al ser utilizado junto con óxido de silicio, presenta suficiente resistencia mecánica y versatilidad de forma; para su aplicación como andamio celular en apósitos.
- Aunque los hidrogeles no alcanzaron la resistencia mecánica necesaria para imitar las capacidades de carga de huesos, se consideran prometedores como cemento óseo para unir huesos rotos. La mezcla con otros materiales como alcohol polivinílico, podría fortalecerlos, mostrando posibles aplicaciones en el campo de la medicina ortopédica.

Se sugiere a futuro, utilizar el equipo completo de reflujo, adquiriendo uno por medio de la universidad o en calidad de préstamo. Adicionalmente, se recomienda contar con los reactivos, en caso contrario, buscar alternativas como el quitosano, por ser más fácil de disolver y manipular. El quitosano puede ser adquirido comprándolo directamente o a través de la decantación de quitina con hidróxido de sodio.

Es recomendable disponer de equipo apto para pruebas mecánicas de hidrogeles o de andamios, para que los resultados de las pruebas mecánicas sean más exactos. Otras alternativas podrían ser el cambio de aditivo de óxido de silicio, por un aditivo distinto para comparar diferencias de las propiedades.

En caso de continuar con los estudios de agar como la base del hidrogel se sugiere obtener óxido de silicio en grado reactivo, realizar pruebas con una mayor concentración de agar, colocar las muestras de hidrogeles tratadas con oxígeno en el microscopio de barrido para poder obtener una mayor ampliación de imagen para observar los poros y sus tamaños. También se recomienda realizar pruebas de biocompatibilidad con los materiales para establecer si pueden ser utilizados dentro del cuerpo humano.

En un futuro se pueden preparar hidrogeles a base de agar y alcohol polivinílico para la creación de un cemento óseo más resistente y que cuente con mayores antecedentes científicos, se podrían realizar todas las pruebas previamente mencionadas y agregar una de viabilidad celular. También se puede continuar con el uso de agar y óxido de silicio, como apósitos, realizando estudios antibacteriales y de biocompatibilidad.

-
- [1] B. Martínez, «Desafíos que debe enfrentar el adulto mayor en Guatemala,» *Prensa Libre*, 2021.
 - [2] J. Corado, «Fundaorto: el milagro de vida para miles de Guatemaltecos.,» *El Periódico*, 2018. dirección: <https://elperiodico.com.gt/cultura/salud/2018/09/02/fundaorto-el-milagro-de-vida-para-miles-de-guatemaltecos/#:~:text=Actualmente%20un%20implante%20de%20cadera,de%201a%20poblaci%C3%B3n%E2%80%9D%2C%20cuenta.> (visitado 20-04-2023).
 - [3] M. L. Dittler, I. Unalan, A. Grünwald et al., «Bioactive Glass (45S5)-based 3D scaffolds coated with magnesium and zinc-loaded hydroxyapatite nanoparticles for tissue engineering applications,» *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 182, pág. 110346, oct. de 2019. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110346. dirección: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110346>.
 - [4] D. Durgalakshmi, S. Subhathirai y S. Balakumar, «Nano-Bioglass: a versatile antidote for bone tissue engineering problems,» *Procedia Engineering*, vol. 92, págs. 2-8, ene de 2014. DOI: 10.1016/j.proeng.2013.08.288. dirección: <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2013.08.288>.
 - [5] Sigma-Aldrich, es, 2023. dirección: <https://www.sigmaaldrich.com/GT/es/search/a7921?focus=products&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=a7921&type=product>.
 - [6] J. F. Alvarez Barreto, «Regeneración ósea a través de la ingeniería de tejidos: una introducción,» Español, *RET. Revista de Estudios Transdisciplinarios*, 2009, ISSN: 1856-9161. dirección: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179214945008>.
 - [7] A. R. Amini, J. S. Wallace y S. P. Nukavarapu, «Short-Term and Long-Term Effects of Orthopedic Biodegradable Implants,» *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants*, vol. 21, págs. 93-122, 2 2011.
 - [8] K. Y. Lee y D. J. Mooney, «Hydrogels for tissue engineering,» *Journal Chemical Reviews*, vol. 101, págs. 1869-1879, 7 jul. de 2001, ISSN: 00092665. DOI: 10.1021/cr000108x.

- [9] J. L. Drury y D. J. Mooney, «Hydrogels for tissue engineering: Scaffold design variables and applications,» *Biomaterials*, vol. 24, págs. 4337-4351, 24 2003, ISSN: 01429612. DOI: 10.1016/S0142-9612(03)00340-5.
- [10] M. C. Straccia, G. G. D'Ayala, I. Romano y P. Laurienzo, «Novel zinc alginate hydrogels prepared by internal setting method with intrinsic antibacterial activity,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 125, págs. 103-112, jul. de 2015, ISSN: 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.03.010.
- [11] G. K. Carpenter, «Explainer: what is a hydrogel?» *Science news explores*, 2022. dirección: <https://www.snexplores.org/article/explainer-what-is-a-hydrogel>.
- [12] P. B. Mohite y S. S. Adhav, «International Journal of Advances in Pharmaceutics A hydrogels: Methods of preparation and applications QR Code *Correspondence Info,» *International Journal of Advances in Pharmaceutics*, vol. 06, pág. 6, 03 2017, ISSN: 2320-4931. DOI: 10.7439/ijap. dirección: www.ssjournals.comJournalDOI: <https://dx.doi.org/10.7439/ijap>Journalhomepage:<http://ssjournals.com/index.php/ijap>.
- [13] C. D. Moreira, S. M. Carvalho, R. M. Florentino et al., «Injectable chitosan/gelatin/bioactive glass nanocomposite hydrogels for potential bone regeneration: In vitro and in vivo analyses,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 132, págs. 811-821, jul. de 2019, ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.237.
- [14] M. L. Dittler, I. Unalan, A. Grünewald et al., «Bioactive glass (45S5)-based 3D scaffolds coated with magnesium and zinc-loaded hydroxyapatite nanoparticles for tissue engineering applications,» *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 182, pág. 110 346, oct. de 2019, ISSN: 09277765. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110346. dirección: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776519304801>.
- [15] «Novel chitin/nanosilica composite scaffolds for bone tissue engineering applications,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 45, págs. 289-292, 3 oct. de 2009, ISSN: 01418130. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2009.06.009.
- [16] W. F. Boron y E. L. Boulpaep, *Medical physiology E-book*. Elsevier Health Sciences, 2016.
- [17] H. Zhang, S. Wu, W. Chen, Y. Hu, Z. Geng y J. Su, «Bone/cartilage targeted hydrogel: Strategies and applications,» *Bioactive Materials*, vol. 23, págs. 156-169, mayo de 2023, ISSN: 2452199X. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.10.028.
- [18] R. V. Thakker, M. P. Whyte, J. Eisman y T. Igarashi, *Genetics of bone biology and skeletal disease*. Academic Press, 2017, vol. 2. dirección: <https://shop.elsevier.com/books/genetics-of-bone-biology-and-skeletal-disease/thakker/978-0-12-804182-6>.
- [19] J. L. Ferguson y S. P. Turner, «Bone cancer: diagnosis and treatment principles,» *American family physician*, vol. 98, n.º 4, págs. 205-213, 2018.
- [20] N. Reina y J. Laffosse, «Biomecánica del hueso: aplicación al tratamiento y a la consolidación de las fracturas,» *EMC - Aparato Locomotor*, vol. 47, págs. 1-17, 3 sep. de 2014, ISSN: 1286935X. DOI: 10.1016/s1286-935x(14)68513-0.

- [21] K. Pituckanotai, A. Arirachakaran, P. Piyapittayanun, H. Tuchinda, E. Peradhammanon y J. Kongtharvonskul, «Comparative Outcomes of Cast and Removable Support in Fracture Fifth Metatarsal Bone: Systematic Review and Meta-Analysis,» *Journal of Foot and Ankle Surgery*, vol. 57, págs. 982-986, 5 sep. de 2018, ISSN: 15422224. DOI: 10.1053/j.jfas.2018.03.018.
- [22] MSPAS, «Más de mil 500 pacientes son beneficiadas con osteosíntesis en el Hospital General San Juan de Dios,» *Sala de Prensa Gobierno de Guatemala*, 2022. dirección: <https://prensa.gob.gt/comunicado/mas-de-mil-500-pacientes-son-beneficiadas-con-osteosintesis-en-el-hospital-general-san> (visitado 16-04-2023).
- [23] I. Reyes, «Fracturas, huesos rotos, fisuras ¿conoce todos los cuidados que necesita?» *Prensa Libre*, 2021. dirección: <https://www.prensalibre.com/vida/salud-y-familia/fracturas-huesos-rotos-fisuras-conoce-todos-los-cuidados-que-necesita/> (visitado 22-04-2023).
- [24] S. Portal-Núñez, D. Lozano, M. de la Fuente y P. Esbrit, «Fisiopatología del envejecimiento óseo,» *Revista Espanola de Geriatria y Gerontologia*, vol. 47, págs. 125-131, 3 2012, ISSN: 15781747. DOI: 10.1016/j.regg.2011.09.003.
- [25] B. Martínez, «Desafíos que debe enfrentar el adulto mayor en Guatemala,» *Prensa libre*, 2021. dirección: <https://www.prensalibre.com/guatemala/comunitario/desafios-que-debe-enfrentar-el-adulto-mayor-en-guatemala/> (visitado 26-05-2023).
- [26] S. Sánchez, «Caracterización de pacientes con fractura de cadera en el año 2013,» *Hospital Nacional Roorsevelt*, 2015. dirección: <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2015/09/03/Sanchez-Stefany.pdf> (visitado 22-04-2023).
- [27] B. E. L. Guerra, «Caracterización de pacientes con fractura de cadera en hospitales de referencia nacional,» *Revista Ciencia Multidisciplinaria CUNORI*, vol. 5, págs. 31-39, 1 ene. de 2021, ISSN: 2617-474X. DOI: 10.36314/cunori.v5i1.150.
- [28] A. F. Widmer, «New Developments in Diagnosis and Treatment of Infection in Orthopedic Implants,» 2001. dirección: https://academic.oup.com/cid/article/33/Supplement_2/S94/528013 (visitado 20-04-2023).
- [29] P. Thomas, «Clinical and diagnostic challenges of metal implant allergy using the example of orthopaedic surgical implants,» *Allergo journal international*, vol. 23, págs. 179-185, 2014.
- [30] D. Bairagi y S. Mandal, «A comprehensive review on biocompatible Mg-based alloys as temporary orthopaedic implants: Current status, challenges, and future prospects,» *Journal of Magnesium and Alloys*, vol. 10, págs. 627-669, 3 mar. de 2022, ISSN: 22139567. DOI: 10.1016/j.jma.2021.09.005.
- [31] C. D. Moreira, S. M. Carvalho, R. M. Florentino et al., «Injectable chitosan/gelatin/bioactive glass nanocomposite hydrogels for potential bone regeneration: In vitro and in vivo analyses,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 132, págs. 811-821, jul. de 2019, ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.237.

- [32] M. L. Dittler, I. Unalan, A. Grünwald et al., «Bioactive glass (45S5)-based 3D scaffolds coated with magnesium and zinc-loaded hydroxyapatite nanoparticles for tissue engineering applications,» *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 182, pág. 110346, oct. de 2019, ISSN: 09277765. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110346. dirección: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776519304801>.
- [33] D. Durgalakshmi, S. P. Subhathirai y S. Balakumar, «Nano-bioglass: A versatile antidote for bone tissue engineering problems,» *Journal Procedia Engineering*, vol. 92, págs. 2-8, 2014, ISSN: 18777058. DOI: 10.1016/j.proeng.2013.08.288.
- [34] J. S. Hoellwarth y S. R. Rozbruch, «Periprosthetic femur fractures in osseointegration amputees: A report of 2 cases using a modified traction technique,» *JBJS Case Connector*, vol. 12, n.º 3, e21, 2022.
- [35] Y.-J. Chen, H. Lin, X. Zhang, W. Huang, L. Shi y D. Wang, «Application of 3D-printed and patient-specific cast for the treatment of distal radius fractures: initial experience,» *3D Printing in Medicine*, vol. 3, págs. 1-9, 2017.
- [36] A. R. Amini, J. S. Wallace y S. P. Nukavarapu, «Short-Term and Long-Term Effects of Orthopedic Biodegradable Implants,» *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants*, vol. 21, págs. 93-122, 2 2011.
- [37] C. D. Moreira, S. M. Carvalho, R. G. Sousa, H. S. Mansur y M. M. Pereira, «Nanostructured chitosan/gelatin/bioactive glass in situ forming hydrogel composites as a potential injectable matrix for bone tissue engineering,» *Materials Chemistry and Physics*, vol. 218, págs. 304-316, oct. de 2018, ISSN: 02540584. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2018.07.039.
- [38] L. Ángel, C. Bojórquez, É. Paul, G. Grijalva y J. B. Heredia, «Desechos de camarón: un coctel de oportunidades para la industria,» dirección: https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/online/X1_71_4_1274_DesechosCamaron.pdf (visitado 19-04-2023).
- [39] (s.f), «Cultivo de camarón super intensivo en Guatemala,» *República*, 2020. dirección: <https://republica.gt/economia/2020-3-10-21-10-0-cultivo-de-camaron-super-intensivo-en-guatemala> (visitado 27-04-2023).
- [40] G. de Guatemala, «Ley de Protección y Mejoramiento del Medio Ambiente,» *El congreso de la república de Guatemala.*, 1986. dirección: https://www.oas.org/dsd/fida/laws/legislation/guatemala/guatemala_1986.pdf (visitado 26-04-2023).
- [41] C. Casadidio, D. V. Peregrina, M. R. Gigliobianco, S. Deng, R. Censi y P. D. Martino, *Chitin and chitosans: Characteristics, eco-friendly processes, and applications in cosmetic science*, 2019. DOI: 10.3390/md17060369.
- [42] B. A. Cheba, «Chitin and Chitosan: Marine Biopolymers with Unique Properties and Versatile Applications,» *Global Journal of Biotechnology Biochemistry*, vol. 6, págs. 149-153, ene. de 2011.
- [43] W. Liang, L. Li, X. Cui et al., «Enhanced proliferation and differentiation effects of a CGRP- and Sr-enriched calcium phosphate cement on bone mesenchymal stem cells,» *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, vol. 14, n.º 4, págs. 431-440, 2016.

- [44] S. Aguado Henche, *Reconocimiento y posición anatómica de los huesos del esqueleto humano*. Editorial Universidad de Alcalá, 2011. dirección: <https://elibro.net/es/lc/unis/titulos/53553>.
- [45] A. M. L. Drake A. Vogl, *Gray Anatomía para estudiantes*. Elsevier, 2015, vol. 2. dirección: <https://books.google.com.co/books?id=1LFpzfYrHF8C&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>.
- [46] J. Caeiro, P. González y D. Guede, «Biomecánica y hueso (y II): ensayos en los distintos niveles jerárquicos del hueso y técnicas alternativas para la determinación de la resistencia ósea,» *Revista de osteoporosis y metabolismo mineral*, vol. 5, n.º 2, págs. 99-108, 2013.
- [47] L. M. B. S. B. S. D. A. H. R. H. J. K. M. L. P. M. K. M.-G. K. O. D. Q. J. Runyeon, *Anatomy Physiology*. Pressbooks, 2019. dirección: <https://open.oregonstate.edu/education/aandp/>.
- [48] S. S. A. Henche, *Reconocimiento y posición anatómica de los huesos del esqueleto humano*. Editorial Universidad de Alcalá, 2011.
- [49] R. Karpiński, Ł. Jaworski y P. Czubacka, «THE STRUCTURAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF THE BONE,» *Journal of Technology and Exploitation in Mechanical Engineering*, vol. 3, n.º 1, págs. 43-50, jun. de 2017. DOI: 10.35784/jteme.538. dirección: <https://ph.pollub.pl/index.php/jteme/article/view/538>.
- [50] B. Boyan, Z. Schwartz y A. Boskey, «The importance of mineral in bone and mineral research,» *Bone*, vol. 27, n.º 3, págs. 341-342, 2000.
- [51] M. K. S. K. G. S.-T. Jens Waschke y B. Spittau, *Texto de anatomía*. Elsevier, 2018. dirección: https://books.google.com.gt/books?id=M9zQDwAAQBAJ&printsec=frontcover&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false.
- [52] T. M. Keaveny, E. F. Morgan y O. C. Yeh, «BONE MECHANICS,» 2004. dirección: www.digitalengineeringlibrary.com.
- [53] A. L. Boskey y R. Coleman, «Aging and bone,» *Journal of dental research*, vol. 89, n.º 12, págs. 1333-1348, 2010.
- [54] S. L. D. d. l. F. E. Portal Núñez, «Fisiopatología del envejecimiento óseo,» *Revista Española de Geriatria y Gerontología*, 2012. DOI: 10.1016/j.regg.2011.09.003.
- [55] T. M. Link, «Osteoporosis imaging: state of the art and advanced imaging,» *Radiology*, vol. 263, n.º 1, págs. 3-17, 2012.
- [56] R. of the University of Colorado, «Testing Fundamental Loads,» *TeachEngineering.org*, 2013. dirección: https://www.teachengineering.org/activities/view/test_load.
- [57] T. D. Rachner, S. Khosla y L. C. Hofb, «Osteoporosis: now and the future,» *Lancet*, vol. 377, págs. 1276-87, 2011. DOI: 10.1016/S0140.
- [58] A. Forlino y J. C. Marini, *Osteogenesis imperfecta*, abr. de 2016. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)00728-X.
- [59] «Diagnosis and Management of Paget's Disease of Bone in Adults: A Clinical Guideline,» *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 34, págs. 579-604, 4 2019, ISSN: 15234681. DOI: 10.1002/jbmr.3657.

- [60] M. Á. B. F. A. R. Fernández, «Enfermedad de Paget monostótica,» 2014, págs. 227-230.
- [61] B. R. Eaton, R. Schwarz, R. Vatner et al., «Osteosarcoma,» *Pediatric Blood and Cancer*, vol. 68, S2 mayo de 2021, ISSN: 15455017. DOI: 10.1002/pbc.28352.
- [62] A. A. Deyanira Serrato Renato Nieto, «Investigación y Ciencia DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA Tissue engineering. A new discipline in regenerative medicine,» (s.f).
- [63] H. Qu, H. Fu, Z. Han e Y. Sun, «Biomaterials for Bone Tissue Engineering Scaffolds: A review,» *RSC Advances*, vol. 9, n.º 45, págs. 26 252-26 262, ene de 2019. DOI: 10.1039/c9ra05214c. dirección: <https://doi.org/10.1039/c9ra05214c>.
- [64] F. J. O'Brien, «Biomaterials scaffolds for tissue engineering,» *Materials Today*, vol. 14, n.º 3, págs. 88-95, mar. de 2011. DOI: 10.1016/s1369-7021(11)70058-x. dirección: [https://doi.org/10.1016/s1369-7021\(11\)70058-x](https://doi.org/10.1016/s1369-7021(11)70058-x).
- [65] G. E. Medicina, S. Q. C. Directora y F. M. Pérez-Campo, «Aplicaciones de Células Madre Mesenquimales (MSCs) en la reparación y regeneración del tejido óseo. Application of Mesenchymal Stem Cells (MSCs) in bone repair and regeneration,» 2017.
- [66] M. Jafari, Z. Paknejad, M. R. Rad et al., «Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering: A literature review,» *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, vol. 105, n.º 2, págs. 431-459, oct. de 2015. DOI: 10.1002/jbm.b.33547. dirección: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33547>.
- [67] S. Bose, M. Roy y A. Bandyopadhyay, «Recent advances in bone tissue engineering scaffolds,» *Trends in Biotechnology*, vol. 30, n.º 10, págs. 546-554, oct. de 2012. DOI: 10.1016/j.tibtech.2012.07.005. dirección: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.07.005>.
- [68] G. Rushworth, *Body systems - human cells*. Benchmark Education Company, ene de 2011.
- [69] W. Grayson, B. A. Bunnell, E. C. Martin, T. Frazier, B. P. Hung y J. M. Gimble, «Stromal cells and stem cells in clinical bone regeneration,» *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 11, n.º 3, págs. 140-150, ene de 2015. DOI: 10.1038/nrendo.2014.234. dirección: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.234>.
- [70] T. Wong, J. A. McGrath y H. Navsaria, «The role of fibroblasts in tissue engineering and regeneration,» *British Journal of Dermatology*, vol. 156, n.º 6, págs. 1149-1155, jun. de 2007. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2007.07914.x. dirección: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2007.07914.x>.
- [71] A. Doménech, «Medios de cultivo. Seminarios de Microbiología,» (s.f). dirección: <https://www.uib.cat/depart/dba/microbiologia/seminarios/1%20Medios%20de%20cultivo.pdf>.
- [72] T. Karande, J. L. Ong y C. M. Agrawal, «Diffusion in musculoskeletal tissue engineering scaffolds: design issues related to porosity, permeability, architecture, and nutrient mixing,» *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 32, n.º 12, págs. 1728-1743, dic de 2004. DOI: 10.1007/s10439-004-7825-2. dirección: <https://doi.org/10.1007/s10439-004-7825-2>.

- [73] N. V. Gupta y H. Shivakumar, «Investigation of swelling behavior and mechanical properties of a pH-sensitive superporous hydrogel composite,» *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, vol. 11, n.º 2, pág. 481, 2012.
- [74] C. D. Spicer, «Hydrogel scaffolds for tissue engineering: The importance of polymer choice,» *Polymer Chemistry*, vol. 11, n.º 2, págs. 184-219, ene de 2020. DOI: 10.1039/c9py01021a. dirección: <https://doi.org/10.1039/c9py01021a>.
- [75] J. C. y. A. M. A. M. Lucio Ortiz Rocio cruz, «Síntesis y caracterización de hidrogeles obtenidos a partir de acrilamida y metilcelulosa,» dirección: %5Curl%7Bhttps://reviberpol.files.wordpress.com/2019/08/2006-ortiz.pdf%7D (visitado 26-05-2023).
- [76] K. Y. Lee y D. J. Mooney, «Hydrogels for tissue engineering,» *Chemical Reviews*, vol. 101, n.º 7, págs. 1869-1880, mayo de 2001. DOI: 10.1021/cr000108x. dirección: <https://doi.org/10.1021/cr000108x>.
- [77] J. L. Drury y D. J. Mooney, «Hydrogels for Tissue Engineering: Scaffold design Variables and Applications,» *Biomaterials*, vol. 24, n.º 24, págs. 4337-4351, nov. de 2003. DOI: 10.1016/s0142-9612(03)00340-5. dirección: [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00340-5](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00340-5).
- [78] A. Ramírez, J. L. Benítez, L. Rojas y B. R. De Gáscue, «MATERIALES POLIMÉRICOS DE TIPO HIDROGELES: REVISIÓN SOBRE SU CARACTERIZACIÓN MEDIANTE FTIR, DSC, MEB y MET (POLYMERS MATERIALS TYPE HYDROGELS: REVIEW OF THEIR CHARACTERIZATION BY FTIR, DSC, SEM AND TEM),» *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, págs. 108-130, mar. de 2016. dirección: <https://www.rlmm.org/ojs/index.php/rlmm/article/download/736/455>.
- [79] S. Correa, A. K. Grosskopf, H. L. Hernandez et al., «Translational applications of hydrogels,» *Chemical Reviews*, vol. 121, n.º 18, págs. 11 385-11 457, mayo de 2021. DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c01177. dirección: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c01177>.
- [80] K. Madhumathi, P. T. S. Kumar, K. C. Kavya et al., «Novel chitin/nanosilica composite scaffolds for bone tissue engineering applications,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 45, págs. 289-292, 3 oct. de 2009, ISSN: 01418130. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2009.06.009.
- [81] A. C. Hernández-González, L. Téllez-Jurado y L. M. Rodríguez-Lorenzo, «Alginate hydrogels for bone tissue engineering, from injectables to bioprinting: A review,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 229, feb. de 2020, ISSN: 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115514.
- [82] C. Vasile, D. Pamfil, E. Stoleru y M. Baican, «New developments in medical applications of hybrid hydrogels containing natural polymers,» *Molecules*, vol. 25, n.º 7, pág. 1539, 2020.
- [83] M. Kumar, «A review of chitin and chitosan applications,» *Reactive Functional Polymers*, vol. 46, págs. 1-27, 2000. dirección: www.elsevier.com/locate/react.
- [84] M. Rinaudo, «Chitin and chitosan: Properties and applications,» *Progress in Polymer Science*, vol. 31, n.º 7, págs. 603-632, jul. de 2006. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001. dirección: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>.

- [85] M. Maddaloni, I. Vassalini e I. Alessandri, «Green routes for the development of chitin/chitosan sustainable hydrogels,» *Sustainable Chemistry*, vol. 1, n.º 3, págs. 325-344, 2020.
- [86] R. Armisen y F. Gaiatas, «Agar,» págs. 82-107, 2009.
- [87] A. Ghorbal, F. Grisotto, J. Charlier et al., «Nano-electrochemistry and nano-electrografting with an original combined AFM-SECM,» *Nanomaterials*, vol. 3, n.º 2, págs. 303-316, 2013.
- [88] J. Rhim, L. Wang y S. Hong, «Preparation and characterization of agar/silver nanoparticles composite films with antimicrobial activity,» *Food Hydrocolloids*, vol. 33, n.º 2, págs. 327-335, 2013.
- [89] S. Roy y J.-W. Rhim, «Agar-based antioxidant composite films incorporated with melanin nanoparticles,» *Food Hydrocolloids*, vol. 94, págs. 391-398, 2019.
- [90] J. Yu, P. Santos y O. Campanella, «A study to characterize the mechanical behavior of semisolid viscoelastic systems under compression chewing—case study of agar gel,» *Journal of texture studies*, vol. 43, n.º 6, págs. 459-467, 2012.
- [91] K. K. Nayak y P. Gupta, «In vitro biocompatibility study of keratin/agar scaffold for tissue engineering,» *International journal of biological macromolecules*, vol. 81, págs. 1-10, 2015.
- [92] I. Cacciotti, M. Lombardi, A. Bianco, A. Ravaglioli y L. Montanaro, «SoL–Gel derived 45S5 Bioglass: synthesis, microstructural evolution and thermal behaviour,» *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 23, n.º 8, págs. 1849-1866, mayo de 2012. DOI: 10.1007/s10856-012-4667-6. dirección: <https://doi.org/10.1007/s10856-012-4667-6>.
- [93] Krishnan y L. T, «Bioglass: a novel biocompatible innovation,» *Journal of advanced pharmaceutical technology research*, vol. 4, n.º 2, pág. 78, ene de 2013. DOI: 10.4103/2231-4040.111523. dirección: <https://doi.org/10.4103/2231-4040.111523>.
- [94] M. Vallet-Regí, «Ceramics for medical applications,» *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, n.º 2, págs. 97-108, 2001.
- [95] L. L. Hench, «The story of Bioglass®,» *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 17, n.º 11, págs. 967-978, nov. de 2006. DOI: 10.1007/s10856-006-0432-z. dirección: <https://doi.org/10.1007/s10856-006-0432-z>.
- [96] I. D. Thompson y L. L. Hench, «Mechanical properties of bioactive glasses, glass-ceramics and composites,» *Proceedings Of The Institution Of Mechanical Engineers, Part H: Journal Of Engineering In Medicine*, vol. 212, n.º 2, págs. 127-136, feb. de 1998. DOI: 10.1243/0954411981533908. dirección: <https://doi.org/10.1243/0954411981533908>.
- [97] R. Ravarian, X. Zhong, M. Barbeck et al., «Nanoscale chemical interaction enhances the physical properties of bioglass composites,» *ACS Nano*, vol. 7, n.º 10, págs. 8469-8483, sep. de 2013. DOI: 10.1021/nm402157n. dirección: <https://doi.org/10.1021/nm402157n>.
- [98] S.-B. Hua, J. Su, Z. Deng et al., «Microstructures and properties of 45S5 Bioglass® BCP bioceramic scaffolds fabricated by digital light processing,» *Additive Manufacturing*, vol. 45, pág. 102074, sep. de 2021. DOI: 10.1016/j.addma.2021.102074. dirección: <https://doi.org/10.1016/j.addma.2021.102074>.

- [99] H. E. Skallevoid, D. Rokaya, Z. Khurshid y M. S. Zafar, «Bioactive glass applications in dentistry,» *International journal of molecular sciences*, vol. 20, n.º 23, pág. 5960, 2019.
- [100] M. Richter, *Fundamentals of Biomechanics*. ene de 2007. DOI: 10.1007/978-0-387-49312-1. dirección: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-49312-1>.
- [101] C. Fioretti, J. Natali, A. Galán et al., «Características Mecánicas Dinámicas del Fémur Aislado de Perro, Sometido a Prueba de Impacto,» *International Journal of Morphology*, vol. 29, n.º 3, págs. 716-722, 2011.
- [102] A. Helmenstine, «Young's modulus formula and example,» en-US, *Science Notes and Projects*, mayo de 2022. dirección: <https://sciencenotes.org/youngs-modulus-formula-and-example/>.
- [103] J. Black, *Biological performance of materials: Fundamentals of Biocompatibility, Fourth Edition*. CRC Press, dic de 2005.
- [104] L. R. C Oldani N Salvatierra y R. Taborda, «Qué es la biocompatibilidad?» *Universidad Nacional de Córdoba*, dirección: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/54921/CONICET_Digital_Nro_fb31bcdb-333a-40bc-80bf-3b95638c6527_B.pdf?sequence=8&isAllowed=y.
- [105] I. 10993-5:2009, en. dirección: <https://www.iso.org/standard/36406.html>.
- [106] T. G. Carolina Galeano, «Estandarización de dos técnicas para evaluar actividad y viabilidad celular in vitro en respuesta a biomateriales,» *UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE*, 2009.
- [107] P. Ghelich, M. Kazemzadeh-Narbat, A. Hassani Najafabadi, M. Samandari, A. Memić y A. Tamayol, «(Bio) manufactured Solutions for Treatment of Bone Defects with an Emphasis on US-FDA Regulatory Science Perspective,» *Advanced nanobiomed research*, vol. 2, n.º 4, pág. 2100073, 2022.
- [108] H. Tamura, H. Nagahama y S. Tokura, «Preparation of chitin hydrogel under mild conditions,» *Cellulose*, vol. 13, págs. 357-364, 4 ago. de 2006, ISSN: 09690239. DOI: 10.1007/s10570-006-9058-z.
- [109] A. Borzacchiello, L. Ambrosio, P. A. Netti et al., «Chitosan-based hydrogels: synthesis and characterization,» *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 12, págs. 861-864, 2001.
- [110] Y.-W. Cho, J. Jang, C. R. Park y S.-W. Ko, «Preparation and solubility in acid and water of partially deacetylated chitins,» *Biomacromolecules*, vol. 1, n.º 4, págs. 609-614, 2000.
- [111] A. Ramirez, J. L. Benítez, L. Rojas de Astudillo y B. Rojas de Gáscue, «Materiales polimeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización mediante ftir, dsc, meb y met,» *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, vol. 36, n.º 2, págs. 108-130, 2016.
- [112] G. J. Kearns, E. W. Foster y J. E. Hutchison, «Substrates for direct imaging of chemically functionalized SiO₂ surfaces by transmission electron microscopy,» *Analytical chemistry*, vol. 78, n.º 1, págs. 298-303, 2006.
- [113] K. K. Nayak y P. Gupta, «In vitro biocompatibility study of keratin/agar scaffold for tissue engineering,» *International journal of biological macromolecules*, vol. 81, págs. 1-10, 2015.

- [114] T. G. Polat, O. Duman y S. Tunc, «Agar/k-carrageenan/montmorillonite nanocomposite hydrogels for wound dressing applications,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 164, págs. 4591-4602, 2020.
- [115] X. Sun, C. Luo y F. Luo, «Preparation and properties of self-healable and conductive PVA-agar hydrogel with ultra-high mechanical strength,» *European Polymer Journal*, vol. 124, pág. 109 465, 2020.
- [116] M. F. Saavedra y S. O. Giraldo, «Hidrogeles Inyectables Para Regeneración Ósea,» 2023.



Figura 38: Texturómetro CT3, Concereal



Figura 39: Tipos de cabezales de texturómetro

Muestras	Carga en gramos			Promedio	CORRELACIÓN
	1000	5000	10000		
	Módulo de elasticidad				
10% A - 1% S	115.61	134.6	133.67	127.96	0.977
10% A - 2% S	112.98	147.53	152.31	137.61	0.984
10% A - 3% S	95.589	104.33	104.57	101.50	0.967
5% A - 1% S	101.27	162.36	164.57	142.733	0.982
5% A - 2% S	117.25	136.98	124.50	126.24	0.963
5% A - 3% S	49.21	62.84	66.39	59.48	0.971
10% A	44.63	N/A	N/A	44.63	0.985

Cuadro 7: Resultados de módulos de compresión de las distintas concentraciones

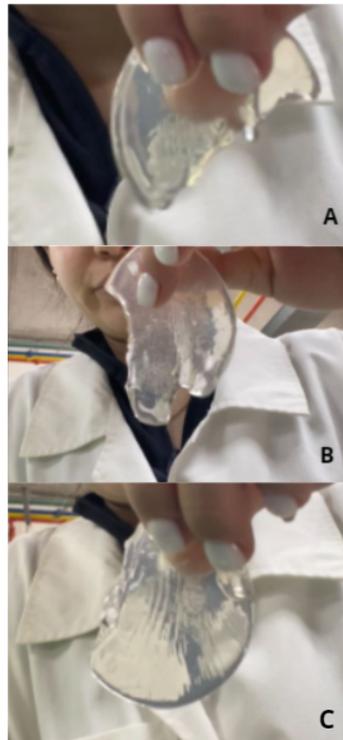


Figura 40: Hidrogel 1% de agar

Muestra (concentración de agar + concentración de SiO ₂)	MUESTRA1			MUESTRA 2			MUESTRA 3		
	Día de síntesis	24 horas post síntesis	7 días post síntesis	Día de síntesis	24 horas post síntesis	7 días post síntesis	Día de síntesis	24 horas post síntesis	7 días post síntesis
	Peso en gramos (g)								
10%+3%	1.5188	1.59042	1.6034	1.3078	1.3470	1.3543	1.4909	1.5359	1.5601
10%+2%	1.4301	1.4951	1.7036	1.4177	1.4416	1.4747	1.2192	1.2464	1.2667
10%+1%	1.4204	1.6668	1.7037	1.3997	1.4034	1.4863	1.4968	1.5498	1.6640
5%+3%	1.1015	1.2390	1.3811	1.2542	1.3423	1.3450	1.1720	1.2286	1.2446
5%+2%	1.0901	1.3858	1.4282	1.0459	1.0700	1.1454	1.1503	1.1755	1.3499
5%+1%	1.0868	1.2184	1.4183	1.0994	1.3412	1.3511	1.1688	1.2255	1.2458

Figura 41: Pesos de hidrogeles para prueba de hinchazón

Muestra (concentración de agar + concentración de SiO ₂)	MUESTRA1		MUESTRA 2		MUESTRA 3		p SW 24H	p SW 7D
	SW24HRS	SW7DIAS	SW24HRS	SW7DIAS	SW24HRS	SW7DIAS		
10%+3%	0.047	0.056	0.030	0.036	0.030	0.046415	3.58%	5%
10%+2%	0.045	0.191	0.017	0.040	0.022	0.03896	2.82%	9%
10%+1%	0.173	0.199	0.003	0.062	0.035	0.111705	7.05%	12%
5%+3%	0.125	0.254	0.070	0.072	0.048	0.061945	8.11%	13%
5%+2%	0.271	0.310	0.023	0.095	0.022	0.17352	10.54%	19%
5%+1%	0.121	0.164	0.220	0.229	0.049	0.06588	12.98%	15%

Figura 42: Resultados de SW en muestras, promedios y porcentajes

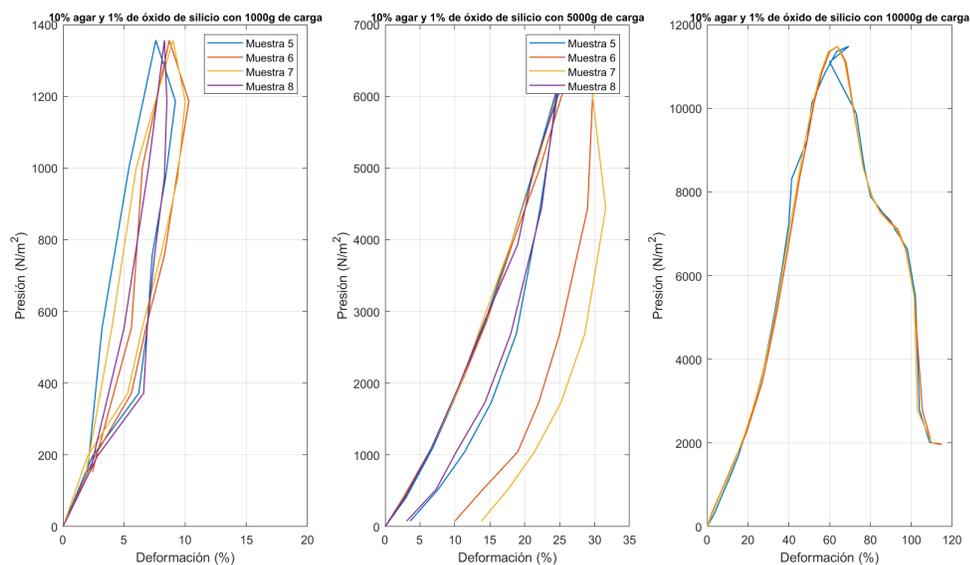


Figura 43:
Gráficos de presión (Pa) contra porcentaje de deformación para 4 muestras de hidrogeles de agar al 10 % y óxido de silicio al 1 %, con cargas objetivas de 1000 g (izquierda), 5000 g (centro) y 10,000 g (derecha)

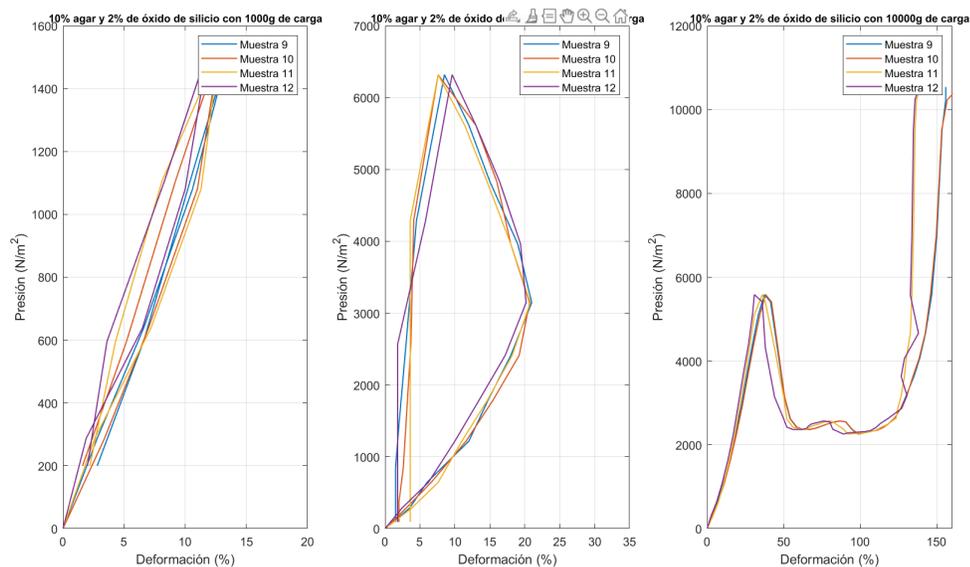


Figura 44:
Gráficos de presión (Pa) contra porcentaje de deformación para 4 muestras de hidrogeles de agar al 10 % y óxido de silicio al 2 %, con cargas objetivas de 1000 g (izquierda), 5000 g (centro) y 10,000 g (derecha)

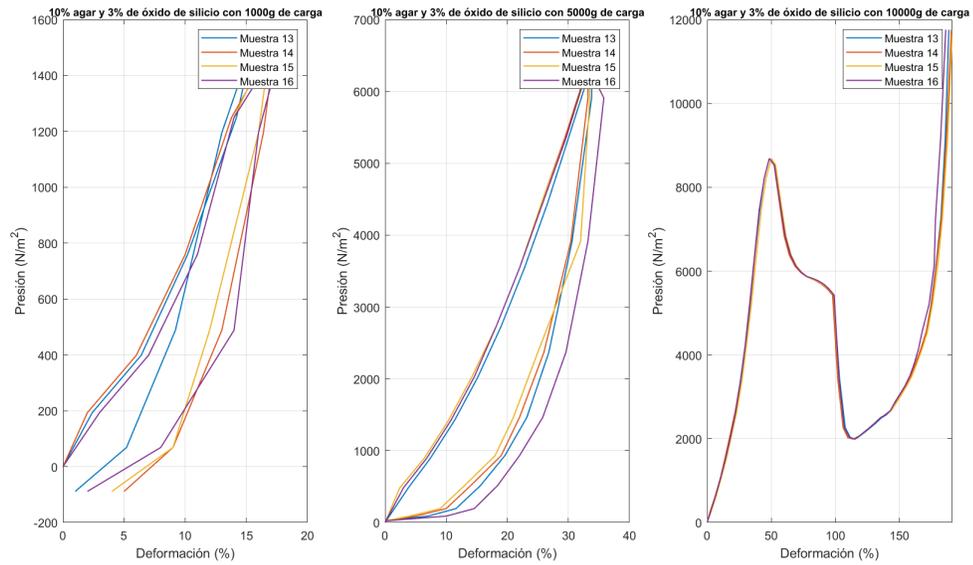


Figura 45:

Gráficos de presión (Pa) contra porcentaje de deformación para 4 muestras de hidrogeles de agar al 10 % y óxido de silicio al 3 %, con cargas objetivas de 1000 g (izquierda), 5000 g (centro) y 10,000 g (derecha)

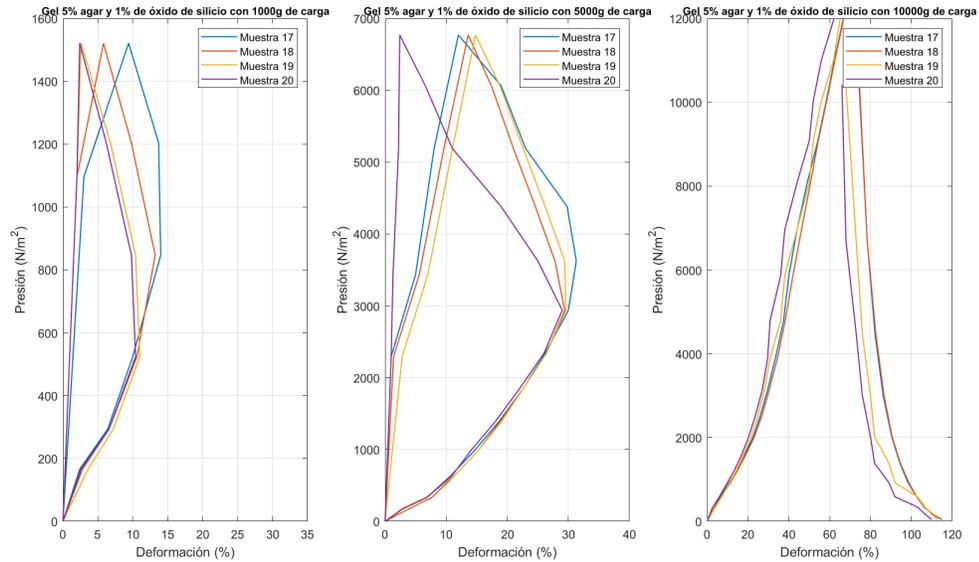


Figura 46: Gráficos de presión (Pa) contra porcentaje de deformación para 4 muestras de hidrogeles de agar al 5 % y óxido de silicio al 1 %, con cargas objetivas de 1000 g (izquierda) y 5000 g (derecha)

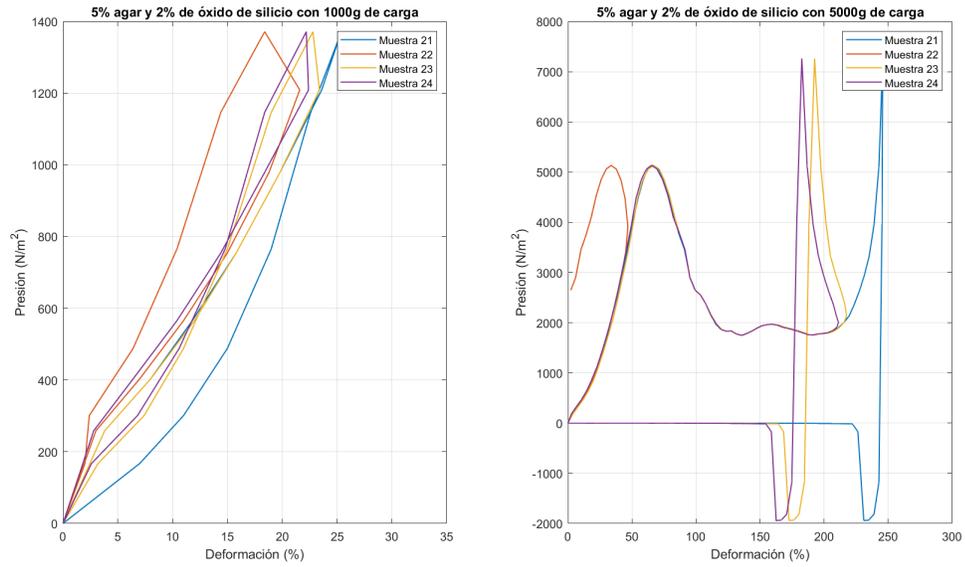


Figura 47: Gráficos de presión (Pa) contra porcentaje de deformación para 4 muestras de hidrogeles de agar al 5 % y óxido de silicio al 2 %, con cargas objetivas de 1000 g (izquierda) y 5000 g (derecha)

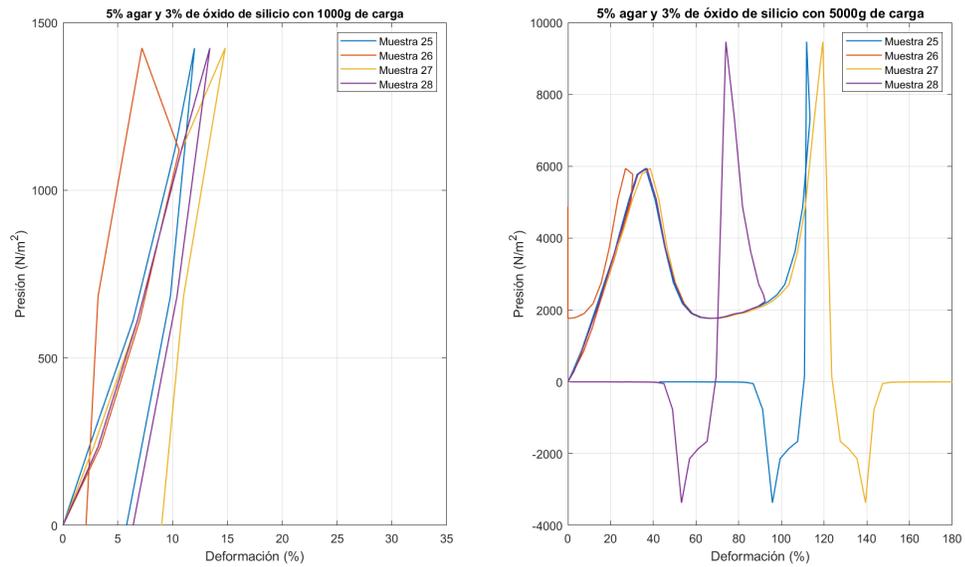


Figura 48: Gráficos de presión (Pa) contra porcentaje de deformación para 4 muestras de hidrogeles de agar al 5 % y óxido de silicio al 3 %, con cargas objetivas de 1000 g (izquierda) y 5000 g (derecha)