



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TÍTULO DE LA TESIS

**FABRICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MEMBRANAS
DE POLICAPROLACTONA Y ÓXIDO DE GRAFENO
RECUBIERTAS CON COLÁGENO DE PESCADO PARA
LA REGENERACIÓN ÓSEA**

Tesis que para obtener el título de
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

JESÚS GONZALO GARCÍA DE JULIÁN

DIRECTORA:

DRA. JULIA FLORES TOCHIHUITL



Enero 2025

AGRADECIMIENTOS

A la **Dra. Julia Flores Tochiuitl** del Laboratorio multidisciplinario de la Facultad de la Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), mi asesora, por aceptarme, guiarme y aconsejarme en la construcción, realización y conclusión de este proyecto, mostrarme que “una idea puede llegar más lejos de lo que se piensa con dedicación y esmero necesario”.

A la **Dra. Olivia Hernández Cruz**, posdoctoral del Centro avanzado de pruebas analíticas no destructivas de Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) por proporcionar el conocimiento, habilidad, herramientas, asesoramiento, apoyo y su amistad, necesaria para la conclusión de este proyecto y mostrarme que “un biólogo puede pensar y hacer cosas más allá de la biología”.

Al **Dr César Márquez Beltrán** Instituto de Física “Ing. Luis Rivera Terrazas”, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), por proporcionarme las herramientas y equipos necesarios para la realización de este proyecto.

Al **Dr. Miguel Ángel Méndez Rojas** del Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad de las Américas Puebla (UDALP), por el asesoramiento y la caracterización morfológica y química de las membranas de este proyecto.

A la **Dra. Jessica Rosaura Campos Domínguez** del Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad de las Américas Puebla (UDALP), por la síntesis del óxido de grafeno.

A la **Dra. María Lourdes Guerrero Ontiveros** de la Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), por ser una de las primeras personas en apoyarme en este largo proceso y un pilar

fundamental, pues me dio los conocimientos base para iniciar con este gran proyecto.

A la licenciada en estomatología **Diana Briseida Sánchez Martínez** y a la estudiante de la licenciatura en estomatología **María de los Ángeles Calixto Pérez**, por su apoyo en la realización de este proyecto.

Al **Laboratorio multidisciplinario de la Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP)** por proporcionarme el material, equipo e instalaciones necesarias para la realización de este proyecto.

Al **Centro avanzado de pruebas analíticas no destructivas de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP)** por proporcionarme las instalaciones necesarias para la realización de este proyecto.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi abuela y mi segunda madre **María Antonia Sacramento Ángel Marcial**, mi tío **José Luis de Julián ángel**, mi primo **Luis Antonio Ramos de Julián** y amigo **Carlos Rodríguez Ruiz**, por ayudarme tanto, emocional y moralmente para terminar este proyecto y seguir con vida y mis sueños.

Para **Dulce Jimena Ruiz Zepeda**, una de mis mejores amigas y compañeras que me ayudó a disfrutar cada instante de este largo camino, convirtiendo su cariño, amor y alegría un pilar fundamental en este proyecto y mi vida.

Para **María de los Ángeles Calixto Pérez** una buena amiga, colega y alumna que me ayudó y que pude ver crecer exponencialmente a lo largo de este proyecto.

“una vez alguien me dijo que el mejor modo de medir el éxito es a través de los triunfos de los que alguna vez enseñaste, por lo tanto, tú eres el vivo ejemplo de lo que soy y seré, porque yo sé que llegarás más lejos de lo que he hecho y haré”.

Para mi amiga, **Carla Iris López Barrios**, una gran colega y compañera profesional que me acompañó en casi todo el transcurso de mi carrera, Ayudándome a crecer y confiar en mi habilidad profesional, demostrándome, que la vida es más fácil cuando sabe que alguien está ahí para apoyarte.

Para una compañera que conocí en una de las épocas más difíciles e indecisas de mi vida, que gracias a su compañía y cariño pude iniciar con este proyecto y algunos de mis sueños *“cuando nos conocimos; bien, por primera vez, mi vida era tan complida y difícil que la decisión más sensata era dejar todo, pero tu fuiste la razón suficiente para no hacerlo, para seguir a delante, para creer en mí. Por tal motivo, siempre serás parte de lo que logré y lo que pueda lograr en esta vida”*, para **María Carolina de los Santos Zarate**.

Para una de las personas que más he querido y admirado tanto profesional como personalmente, la cual tuve la fortuna de conocer en una de las etapas más tristes de mi vida, y sin siquiera saberlo, gracias a su amor, cariño y amistad pude realizar este proyecto y seguir adelante con mis ideas, sueños y mi vida. *“si no te hubiera conocido tal vez este proyecto y cualquier otra cosa que hubiera hecho habría sido muy distinta, pero de lo que estoy seguro, es que no hubiera sido mejor a lo que es hoy. Gracias a ti, entendí lo que puedo ser y lo que puedo llegar a hacer”*, para mi amiga y compañera **Diana Briseida Sánchez Martínez**.

Finalmente, para mis dos mejores amigos, que conocí hace más de 10 años, desde entonces han estado en los momentos más alegres y triste, desde el más sencillos hasta el más complejos y sin ellos nunca seria lo que soy y llegar donde estoy:

“La vida da tantas vueltas que fue una sorpresa que tú y yo fuéramos grandes amigos, pero es algo que agradezco, por que tu fuiste el que cambio mi forma de ver la vida, que me enseñó a ser mejor y gracias a eso puedo decir, que hice lo que siempre anhelé, dije lo que siempre soñé y llegué a donde nunca imaginé”

Para mi amigo y hermano **Pablo Daniel Romero Herrerías**

“Cuando perdí todo lo que tenía, mi vida no tenía sentido alguno, no había razón por que seguir adelante, no había razón por la cual vivir. Pero, gracias a ti, amigo y tu familia, que me han apoyado incondicionalmente desde ese momento, aprendí a vivir de nuevo, a seguir luchado por mis sueños y a nunca olvidar el amor y cariño que había perdido en el camino. Finalmente, Lo único que me queda es decirte, es gracias, por estar conmigo, por nunca dejarme solo, por ser parte de mi vida y de todo lo que pueda hacer y lograr”, para mi mejor amigo, compañero y hermano **Uriel Jafet Hernández de Ita**.

Hazlo por ti, por mí y por los que te quieren

1° junio del 2020 mi madre

DEDICATORIA

“¿Te gusta lo que haces?”

“No lo sé... he intentado tantas cosas y fallado tanto... que no lo sé”

“... Yo puedo asegurar que eres muy bueno, en lo que quieras hacer y en donde quieras hacerlo, pero siempre y cuando, trates de ayudar a quien más lo necesita...”

“...Pero sí fallo como en todo lo que he hecho hasta ahora...”

“...Eso no importa, puedes equivocarte, fallar y hasta arrepentirte de lo que hayas hecho, pero nunca dejes de intentarlo, porque todo en esta vida tiene solución... excepto la muerte...”

“... ¿Pero por qué yo?... Si todo lo que he hecho... siempre ha salido mal”

“... ¿Por qué?... Porque tú sabes lo que es perder a alguien sin poder hacer nada y para ayudar a alguien, no necesitas ser el más fuerte del mundo, ni mucho el más inteligente ...solo debes tener la voluntad para hacerlo... y querer cambiar lo que está mal”

esa fue la última vez que pude hablar con ella

llegué a cargarla entre mis brazos mientras ella me pedía perdón una y otra vez yo no sabía qué pasaba ¿Por qué me pedía perdón? ¿Por qué tenía que morir? yo solo podía sentir una tristeza y desesperación que nunca comprendí.

Tiempo después supe que esa sería la última vez que podría verla y escucharla

*2 de noviembre del 2020 mi madre y yo
Hospital de especialidades 5 de mayo, ISSSTEP*

Este trabajo va dedicado para la persona más importante de mi vida, mi madre,
la **profesora María Dolores de Julián Ángel:**

*“Hoy en día, no sé qué me depara la **vida**, el miedo del pasado me paraliza y la
incertidumbre del futuro me mortifica, sin embargo, mamá, tu recuerdo al igual
que tu amor, tu cariño y tu educación los guardo con tanto anhelo y afición, que
se han convertido en la luz y camino de mi vida, ayudándome a sobrellevar casi
cualquier cosa”*

*“No te voy a mentir, mamá, la vida ha sido difícil sin ti, pero aun así sigo aquí,
esperando, que algún día podamos volver a encontrarnos
para contarte lo que he logrado y a donde he llegado
por ti y tu amor”*

*“Nunca entendí el significado de tus enseñanzas
hasta el día que me hiciste falta.
Ese día comprendí quién era, que tenía que hacer y porque
tenía que hacerlo”*

*“Yo no soy el más fuerte, ni siquiera el más inteligente, sin embargo...
lo que me hace diferente, es que se lo que tengo que hacer...
ayudar a quien más lo necesita”*

¿Y qué más haría sino seguir y no parar y seguir?

FERNADO PESSOA

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	14
2. ANTECEDENTES GENERALES	18
2.1 Tejido óseo	18
2.1.1 Regeneración ósea	19
2.1.2 Defectos óseos	20
2.2 Ingeniería de tejidos	21
2.2.1 Ingeniería de tejido óseo	22
2.3 Biomateriales	23
2.4 Biomateriales para la regeneración ósea	24
2.4.1 Colágeno.....	24
2.4.1.1 Colágeno de pescado.....	24
2.4.1.1.1 Características fisicoquímicas del colágeno de pescado.....	24
2.4.1.1.2 Aplicación biomédica del colágeno de pescado	27
2.4.2 Policaprolactona	28
2.4.2.1 Características fisicoquímicas de la policaprolactona.....	29
2.4.2.2 Aplicación biomédica de la policaprolactona	30
2.4.3 Óxido de grafeno	30
2.4.3.1 Aplicación biomédica del óxido de grafeno.....	31
2.5 Fabricación de membranas.....	33
2.5.1 Técnica de electrohilado.....	33
2.5.2 El electrohilado y su mecanismo.....	34
2.5.3 Los parámetros del electrohilado	34
2.5.4 El electrohilado en la ingeniería de tejido	35
2.6 Antecedentes específicos.....	36
2.7 Planteamiento del problema	43
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	44
3.1 Hipótesis.....	44
3.1.1 Hipótesis alternativa (H1):	44
3.1.2 Hipótesis nula (H0):.....	44
3.2 Objetivos	44

3.2.1 Objetivo general.....	44
3.2.2 Objetivos específicos	44
4. MATERIAL Y MÉTODOS	46
4.1 Población y muestra.....	46
4.2 Criterios de selección	46
4.2.1 Criterios de inclusión.....	46
4.2.2 Criterios de exclusión.....	46
4.2.3 Criterios de eliminación	46
4.3 Elaboración de membranas	46
4.3.1 Reactivos	46
4.3.2 Optimización de condiciones de electrohilado para la fabricación de membrana PCL.....	47
4.3.3 Fabricación de membranas de PCL/OG.....	47
4.3.4 Inmersión de las membranas de PCL/OG en COLp.....	48
4.4 Pruebas de caracterización.....	48
4.4.1 Morfología superficial mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).....	48
4.4.2 Diámetro de fibra	48
4.4.3 Diámetro de poro.....	49
4.4.4 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)	49
4.4.5 Espectroscopía RAMAN.....	49
4.4.6 Grosor.....	49
4.4.7 Porosidad.....	49
4.4.8 Rugosidad.....	50
4.4.9 Hidrofobicidad (ángulo de contacto).....	50
4.4.10 Degradación	50
4.4.11 Pruebas mecánicas	51
4.5 Análisis estadístico	51
5. RESULTADOS	52
5.1 Morfología superficial	52
5.2 Diámetro de fibra	52
5.3 Diámetro de poro	53
5.4 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	54
5.5 Espectroscopia de RAMAN.....	55

5.6 Porcentaje de porosidad.....	56
5.7 Grosor.....	57
5.8 Rugosidad.....	58
5.9 Hidrofobicidad.....	59
5.10 Degradación.....	61
5.11 Caracterización mecánica.....	61
6. DISCUSIÓN.....	63
7 CONCLUSIONES.....	70
8 BIBLIOGRAFÍA.....	71
9. ANEXOS.....	90

ABREVIATURAS

AC – Ácido acético

ALG – Alginato

Ca-GP – β -glicerofosfato de calcio

COL1 – colágeno tipo 1

COL – Colágeno

COLp – Colágeno de pescado

CMS – Células madre mesenquimales

ELA – Elastina

FC – Fosfato de calcio

FTIR – Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier

HA – Hidroxiapatita

HFB4 - Celulas de fibroblastos humanos

Na-GP – β -Glicerofosfato de sodio pentahidratado

OG – Oxido de grafeno

PCL – Policaprolactona

PEG – polietilenglicol

PEO – Óxido de polietileno

PLA – Ácido polilactico

PLGA – Ácido poli(láctico-co-glicólico)

PLLA – Ácido poli-L-láctico

RGD – Arginina-glicina-ácido aspártico

ROG – Regeneración ósea guiada

β -TCP – β -Fosfato tricálcico

QT – Quitosano

RESUMEN

Introducción. El tejido óseo tiene la cualidad de autorrepararse y regenerarse en lesiones pequeñas no mayores a 2 cm o 50% de la pérdida de la circunferencia del hueso. Actualmente, la ingeniería de tejidos óseo es una alternativa, permitiendo la utilización de biomateriales, como COLp con una alta biocompatibilidad. La PCL con gran biodegradación y propiedades mecánicas. El OG con cualidades osteogénicas y osteoconductoras. Siendo el objetivo la elaboración de membranas electrohiladas compuestas de PCL/OG/COLp con características morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas para su utilización en la regeneración ósea. **Metodología.** Se elaboraron membranas electrohiladas de PCL al 30% / óxido de grafeno al 2% que fueron inmersas en una solución de COLp 4 mg/mL. Posteriormente se caracterizó morfológicamente por medio de SEM obtenido el diámetro de fibra y poro, porosidad, grosor, rugosidad caracterización química por medio de FTIR, espectroscopia de RAMAN e hidrofobicidad, además de prueba de biodegradación en solución PBS y pruebas mecánicas en maquina INSTRON. Todos los datos fueron analizados en el programa Grad Pad versión 8.0 **Resultados.** Se obtuvieron membranas electrohiladas con fibras hidrofílicas de 12.82 μm de diámetro, diámetro de poro de 17.98 μm y 56 % de porosidad y un grosor 0.6 mm, además, presentaron una degradación de 70.68% y módulo de elasticidad de 30.87 MPa. Asimismo, de presentar similitudes morfológicas como hidrofobicidad y rugosidad con la membrana BIOGIDE que actualmente es usada en los tratamientos clínicos para defectos óseos. **Conclusiones** Las membranas de PCL/OG/COLp presentaron fibras entrecruzadas con morfología, hidrofobicidad y características mecánicas similares lo reportado por investigaciones previas. Las pruebas de FTIR y Raman mostraron grupos funcionales de OG y PCL, sin embargo, no se encontraron espectros característicos de COLp. La característica hidrofílica se debe principalmente al COLp puesto que los grupos controles no presentan hidrofílicidad hasta ser inmersos en COLp y presentan similitud con BIOGIDE la membrana comercial en la prueba de degradación.

PALABRAS CLAVES

Membrana, Electrohilado, colágeno de pescado, Policaprolactona, Óxido de grafeno, Ingeniería de tejido óseo, Regeneración óseo

1. INTRODUCCIÓN

El hueso es una estructura biológica compuesta de células óseas (osteoblastos, osteocitos y osteoclastos), fibras de colágeno (COL) y minerales inorgánicos, que le proporcionan una constitución heterogénea sólida, con funciones como el respaldo, unión, soporte mecánico y la protección de los tejidos más importantes del cuerpo humano (Ansari, 2019; Uskoković et al., 2019).

Asimismo, estructuras óseas, como los dientes cumplen funciones como la masticación, la cinética de la fonación, la respiración, el mantenimiento de la vía aérea, además de servir como base para las dimensiones verticales de la cara (Traser et al., 2010). Sin embargo, diversos factores como los tumores, los traumatismos, las infecciones pueden desarrollar muchas lesiones óseas a gran escala (Liu et al., 2022)

El tejido óseo tiene la cualidad de autorrepararse y regenerarse cuando las lesiones son pequeñas, sin embargo, cuando este desarrolla una lesión o defecto mayor a 2 cm o 50% de la pérdida de la circunferencia del hueso, no puede regenerarse espontáneamente, provocando fracturas, deformidades, falta de unión y de consolidación ósea (pseudoartrosis o no-unión del hueso nuevo) (Bahrami et al., 2020; Xue et al., 2022). Actualmente, los aloinjertos (hueso trasplantado que proviene de un donante) y autoinjerto (trasplante de tejido o órgano en el que el mismo individuo es el donante y el receptor) son el tratamiento común para los defectos óseos, no obstante, están limitados por la morbilidad del sitio donante, una alta tasa de fracaso (50%), suministro limitado de injerto, además de que el uso de estos pueden provocar molestias, infecciones, complicaciones a largo plazo y cirugías repetidas en los pacientes (Bahrami et al., 2020; Holt et al., 2017).

Recientemente la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa se han convertido en una alternativa en tratamiento de defectos óseos, puesto que el desarrollo de técnicas como la regeneración ósea guiada (ROG), permite la

utilización de materiales o andamios temporales, de origen natural o sintético para un injerto óseo, reparando o reemplazando el tejido dañado (Cao et al., 2023; Carvalho et al., 2023). El uso de materiales poliméricos naturales o sintéticos ha tenido gran relevancia desde hace muchos años, principalmente para su utilización en la regeneración de tejidos, ya que algunos cuentan con propiedades como la autocuración y memoria de formas, una característica de los materiales inteligentes con la capacidad de recuperar su forma permanente a partir de una forma temporal bajo un estímulo externo, como calor, luz, presión, campo eléctrico, campo magnético, pH o disolvente. Los cuales permiten el desarrollo de varias estructuras o biocompuestos con diferentes propósitos como, andamios, hidrogeles, membranas, películas, etc. (Kalirajan et al., 2021; Ye et al., 2022; Zheng et al., 2020).

En la última década la investigación de membranas poliméricas fibrosas en defectos óseos ha ido en aumento, debido a que permiten la formación de una barrera que permite el crecimiento de tejido gingival y hueso (Figura 1), además, la migración y crecimiento de células progenitoras óseas en una zona específica (Yang et al., 2022). Sin embargo, el estudio de biomateriales para la regeneración ósea sigue siendo un área en constante transición, porque la formación de una membrana polimérica adecuada debe contar con materiales biocompatibles, con una tasa de degradación similar a lo fisiológico y con una arquitectura morfológica que permita imitar el proceso natural de formación ósea, algo que no puede hacer un material por sí solo (Ye et al., 2022).

La combinación de materiales poliméricos ha obtenido resultados favorables, ya que se ha observado que el adición de materiales como la PCL, el fosfato de calcio (FC) y el β -fosfato tricálcico (β -TCP), mejoran las propiedades fisicomecánicas, como la tasa de degradación, aunque, se ha visto una disminución en la respuesta biológica en microambientes y problemas con su incorporación con otros materiales de origen natural (Nelson et al., 2012). Asimismo, la incorporación de otros componentes como el OG ha tenido gran relevancia en los últimos años, ya que el OG es un material relativamente nuevo

con propiedades favorables para la regeneración ósea, mejora la osteoconductividad y las propiedades mecánicas, como hidrofobicidad, no obstante, también se ha observado la disminución en la citocompatibilidad de las membranas compuestas de estos materiales (Ricci et al., 2022; Yang et al.,

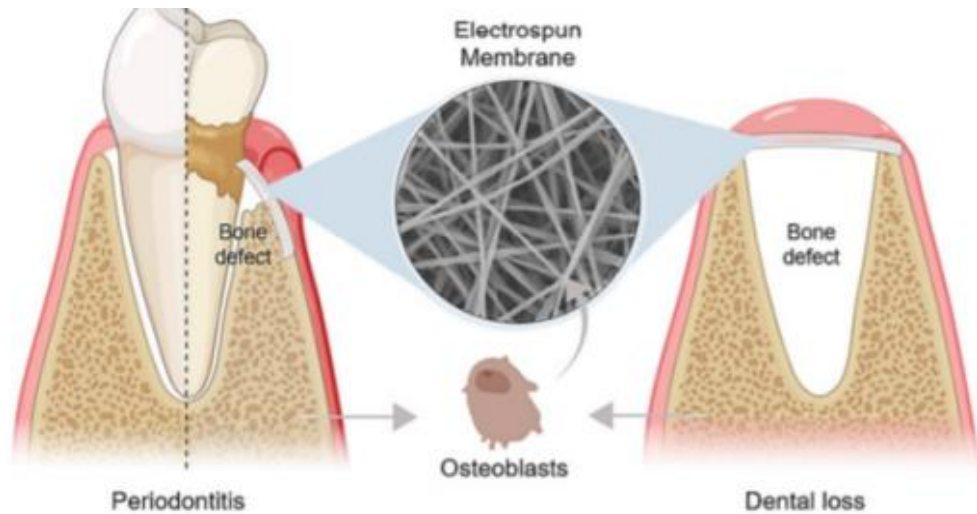


Figura 1. La aplicación de una membrana electrohilada para la regeneración guiada de tejido/hueso (GTR/GBR) en periodontitis y pérdida dental, respectivamente (dos Santos et al., 2020).

2022).

Una de las alternativas para el mejoramiento de la citocompatibilidad en membranas es el uso de materiales de origen natural. El COL es un componente esencial del tejido conectivo y soporte de estructuras tisulares, además, es un material con alta biocompatibilidad y una baja o nula citotoxicidad (Sasaki et al., 2021). En la última década, el COLp ha tomado gran relevancia, en virtud de que ha demostrado propiedades favorables y seguras en su uso, no obstante, tiene propiedades mecánicas bajas a comparación de materiales sintéticos como los polímeros poliéster alifáticos biodegradables, siendo la PCL y el ácido poli-L-láctico (PLLA) los más utilizados en materiales médicos. Siendo necesario su combinación junto con otros materiales para mejorar sus cualidades (Bu et al., 2019; Madaghiele et al., 2022).

Siendo así, el propósito de este proyecto la elaboración de membranas que contenga PCL, OG y COLp con propiedades morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas para su utilización en la regeneración ósea guiada en la reparación de defectos óseos.

2. ANTECEDENTES GENERALES

2.1 Tejido óseo

El tejido óseo es una estructura porosa homogéneamente sólida, con funciones de soporte estructural; proporciona protección de órganos internos y tejidos blandos contra daños; participa en la locomoción; almacenamiento de minerales; producción de células sanguíneas y regulación endocrina (Šromová et al., 2023) (Figura 2). Esta principalmente compuesto por células óseas colocadas en un medio biomineral, que contiene 60% de componentes inorgánicos, principalmente hidroxapatita (HA), junto con un 10% de agua y 30% de segmentos orgánicos, siendo el COL, una proteína fibrosa, el 85-90% de este segmento orgánico, que proporciona al hueso flexibilidad y resistencia a la tracción, mientras que el 10% residual es principalmente proteínas no colágenas, lípidos, moléculas de proteoglicanos, osteopontina y otras proteínas de la matriz ósea (Hu et al., 2018; Šromová et al., 2023; Uskoković et al., 2019; D. Wang et al., 2019).

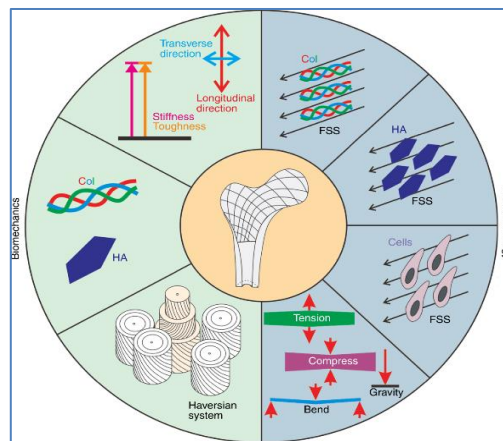


Figura 2. Representación esquemática de las propiedades del tejido óseo y los efectos de los estímulos mecánicos sobre los componentes de la matriz ósea, COL y HA, y las células relacionadas con el hueso, como las células madre mesenquimales, los osteocitos, los osteoblastos y los osteoclastos (Ma et al., 2022).

2.1.1 Regeneración ósea

La estructura ósea tiene notable capacidad de autocuración compleja que se logra gracias a la interacción de sus componentes celulares y del revestimiento óseo en un proceso fundamental que es la remodelación ósea (Figura 3) (Xue et al., 2022). La formación, proliferación, diferenciación y actividad de las células óseas están controladas por factores locales, que incluyen moléculas autocrinas y paracrinas como factores de crecimiento, citocinas y prostaglandinas producidas por las mismas células óseas por factores sistémicos (De Angelis et al., 2023; Phan et al., 2004)

El proceso de remodelación ósea está regulado por una serie de cinco etapas: activación, reabsorción, reversión, formación y terminación. El ciclo se inicia con la fase de activación, donde las células del revestimiento óseo se separan del hueso principalmente debido a señales después de la apoptosis de los osteocitos, posteriormente, células precursoras de osteoclastos se diferencian en osteoclastos multinucleados que se adhieren firmemente a la matriz ósea, creando fosas de resorción aisladas. En la fase de reabsorción, los osteoclastos secretan protones y enzimas, como la catepsina K, para disolver los minerales óseos y degradar la matriz (Kenkre., 2018; Percival et al., 2024). La fase de reversión prepara la superficie ósea para la deposición de hueso nuevo, facilitada principalmente por células del linaje osteoblástico. Limpiando la zona reabsorbida, preparándola para formación de nueva matriz. El inicio de la fase de formación los osteoide compuesto por COL1, se mineraliza posteriormente a través de la deposición de cristales de HA. la disponibilidad de calcio y fosfato para su regulación (Jahani et al., 2012)La finalización de la formación de hueso nuevo es marcada por la diferenciación de osteoblastos en células que recubren el hueso o su atrapamiento dentro de la matriz como osteocitos. Estos osteocitos recién formados luego secretan factores que señalan la terminación del ciclo de remodelación(Percival et al., 2024).

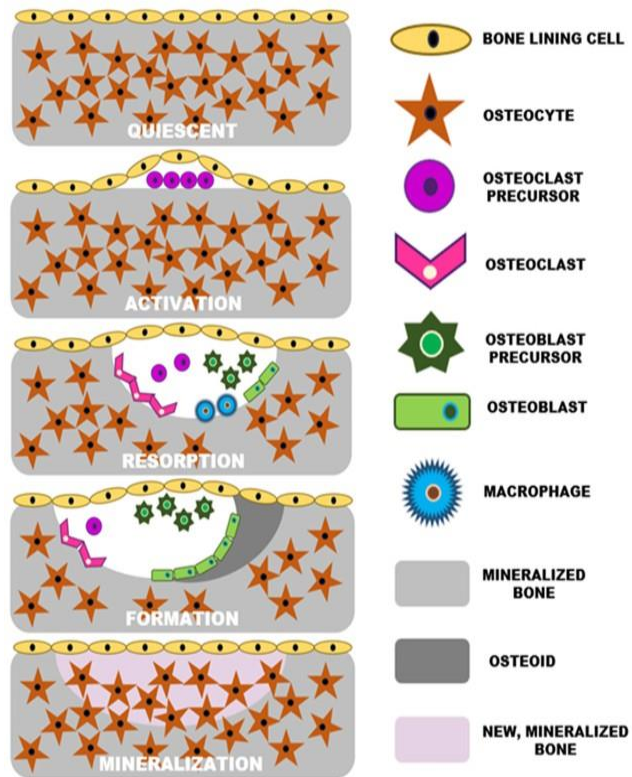


Figura 3. Etapas de la remodelación ósea (Pelsival et al., 2024)

2.1.2 Defectos óseos

Un defecto óseo se define como una condición anatómica donde ocurre la pérdida de hueso debido a incidentes como fracturas, enfermedades (osteoporosis y osteosarcoma), o cirugías (extirpación de tumores) (Zhan et al., 2021). Actualmente la aparición de estos defectos sigue ligado a la carga significativa de varias enfermedades congénitas y genéticas, particularmente si este tiene un tamaño crítico (aproximadamente >2 cm), aunque continúa la controversia en relación a cómo determinar la magnitud de un defecto de tamaño crítico, lo cual es necesario para determinar el tratamiento específico (Nauth et al., 2011; Schemitsch et al., 2017; Xue et al., 2022).

El tratamiento para los defectos óseos incluye terapias invasivas como no invasivas. La terapia de estimulación exógena, la de campo electromagnético,

de ultrasonido de baja intensidad y la hipertermia siendo el tratamiento quirúrgico el método más utilizado para reconstruir defectos óseos (Xue et al., 2022). Sin embargo, el estándar de oro sigue siendo el injerto óseo autógeno, donde el hueso autólogo tiene efectos duales de osteoinducción, osteoconducción y comprobada osteogénesis. No obstante, debido a la falta de tejido donado y la aparición de defectos secundarios, limita su uso para personas menores como de edad avanzada (Schemitsch, 2017; Xue et al., 2022). Otro tratamiento, es el uso de los injertos óseos alogénicos y xenoinjertos, pero su uso se limita debido a su integración y vascularización insuficiente en el área y los riesgos por rechazo inmunológicos y transmisiones de patógenos (Salamanca et al., 2018).

El tratamiento de los defectos óseos sigue estando limitado por varios factores, como los materiales usados, enfermedades subyacentes y rechazo inmunológico, teniendo un gran impacto tanto clínico como económico puesto que en algunas ocasiones requieren varias intervenciones quirúrgicas y equipo costoso para su tratamiento; además los métodos actuales no cumplen con la mayoría de los desafíos de los defectos óseos como son: angiogénesis, vascularización, osteoinducción, osteoconducción, oseointegración. Sin embargo, desde finales del siglo pasado, se ha buscado una solución desde otra perspectiva como la ingeniería tisular, la biomedicina, la medicina regenerativa, etc. (Pezzotti et al., 2016; Qiu et al., 2022; Q. Wu et al., 2020; Xue et al., 2022).

2.2 Ingeniería de tejidos

Desde hace más de 30 años la ingeniería de tejidos ha tomado gran relevancia en la ciencia y la industria médica como un campo interdisciplinario que aplica los conceptos de la ingeniería y las ciencias biológicas para restablecer, mantener y mejorar las funciones biológicas de los tejidos (Almouemen et al., 2019; Fisher et al., 1993; Jaklenec et al., 2012), sin embargo, la visión y evolución de la investigación en este campo se ha relacionado con el progreso en otras áreas, como la biomimética (disciplina que

busca, con un enfoque metodológico, aprender, imitar e inspirarse en las lecciones biológicas inherentes a los organismos vivos, con el propósito de resolver problemas humanos y desarrollar tecnologías y soluciones más eficientes y sostenibles), la biología molecular y estructural (Almouemen et al., 2019; Llorens et al., 2023; O’Leary et al., 2015)

La metodología de la ingeniería de tejidos desde sus inicios se desarrolla a partir de 3 principales conceptos: una selección de células relevantes, andamios de biomateriales para su cultivo y el uso de moléculas bioactivas, que, en combinación permitan el reemplazo y/o regeneración de tejido vivo (Almouemen et al., 2019; De Chiara et al., 2024). Si bien, estos conceptos son la base de este campo, su investigación ha tenido mayores convergencias en el biomimetismo, biotecnología, los protocolos de tratamiento y desarrollo de materiales biomédicos (Campbell, 2002; De Chiara et al., 2024), como andamios de colágeno biomiméticos 3D del miocardio que facilitan la infiltración celular y la difusión de nutrientes (Majid et al., 2020), hidrogeles de doble red para la regeneración de la piel, incorporando colágeno humano recombinante tipo I que aceleran significativamente el cierre de heridas y promoción de la recuperación de estructuras de la piel y apéndices (Li et al., 2024), biocompuestos bioactivos basados en quitosano y sílice no orgánica como Ca-GP, Na-GP y polvo de HA para la aplicación en tejido óseo (Adamski et al., 2021), etc.

2.2.1 Ingeniería de tejido óseo

La ingeniería de tejido óseo es una alternativa innovadora y prometedora para tratar defectos óseos basada en el desarrollo de biomateriales que apoyen la regeneración de tejidos (Bartolomeo et al., 2024), como materiales metálicos: plata, magnesio, cobalto, estroncio y titanio (Thukkaram et al., 2020), Biocerámicas: fosfato de calcio, vidrio activo (Lai et al., 2019), polímeros sintéticos: PLA, PCL y PLGA (De Angelis et al., 2023; Lin et al., 2021; Qian et al., 2019), polímeros naturales: quitosano (QT), COL, gelatina, ácido hialurónico, alginato y la fibroína (Saleem et al., 2020) y materiales compuestos

(Xing et al., 2020). Por lo tanto, el enfoque principal en la ingeniería de tejido óseo se ha concentrado en el desarrollo de material de soporte que imite el entorno natural de las células óseas para fomentar el crecimiento y la integración, además, de cumplir todas las necesidades clínicas (De Chiara et al., 2024).

2.3 Biomateriales

El término “biomaterial” se definió inicialmente como “cualquier sustancia, o una combinación de sustancias, de origen sintético o natural, que puede utilizarse durante cualquier período de tiempo, como un todo o como parte de un sistema” (Bartolomeo et al., 2024). Estos poseen características como biocompatibilidad, humectabilidad, biodegradación, baja toxicidad, bioactividad, etc. Interaccionando con sistemas biológicos para la ayuda en la reparación y la regeneración de uno o varios tejidos diana (Kalirajan et al., 2021). En la actualidad, los biomateriales pueden clasificarse por su química, interacción biológica, características físicas y origen entre otros. Una de las clasificaciones más utilizadas, es la que permite colocarlos en 2 categorías, naturales y sintéticos (Kalirajan et al., 2021; Mir et al., 2018).

La función fundamental de un biomaterial es imitar la matriz extracelular a la que las células se anclan y se orientan para formar tejido, que a su vez está compuesto principalmente por fibras elásticas, colágenos, glicosaminoglicanos integrados y los proteoglicanos relacionados, los cuales le proporcionan sus principales propiedades mecánicas de matriz extracelular si es necesario un diseño estructuralmente a las propiedades elásticas y de tracción de estos componentes de la Matriz extracelular (Almouemen et al., 2019; Humphrey et al., 2014). Uno de los métodos más sencillos para imitar la matriz extracelular es aislar y utilizar los polímeros naturales que la constituyen; como la proteína como el COL1, u otros polímeros como la elastina (ELA) o el alginato (ALG) que se utilizan actualmente para medicina regenerativa o modelos de enfermedades (Almouemen et al., 2019; Wise et al., 2014).

2.4 Biomateriales para la regeneración ósea

2.4.1 Colágeno

El COL es una de las proteínas, estructurales con gran relevancia y con mayor presencia en los organismos, principalmente ubicado en la matriz extracelular de tejidos conectivos. En los vertebrados, se pueden encontrar 28 tipos diferentes de COL, que representan el 25-35 % del contenido total de proteínas del cuerpo de un organismo (Jafari et al., 2020). Siendo el tipo I el más abundante en la matriz extracelular de la piel, huesos, ligamentos, cartílagos y tendones además de otros tipos comunes como el II, III, IV (Lim et al., 2019).

2.4.1.1 Colágeno de pescado

En la actualidad el uso del COL de orígenes animal ha ido en aumentos en las últimas décadas debido a su alta biocompatibilidad, biodegradación, accesibilidad y alto rendimiento. Sin embargo, su uso como biomaterial, sigue estando limitado por enfermedades transmitidas, preocupaciones sanitarias y disputas religiosas, siendo necesario la búsqueda de alternativas (Lim et al., 2019; Xu et al., 2021). El COL extraído de una fuente marina, como el pescado, ha sido una propuesta para su uso como biomaterial, resolviendo el problemas como la transmisión de enfermedades y patógenos animales, además, de presentar mejor durabilidad química y física, asimismo, de tener una fuente de extracción con mayor accesibilidad y renovable, siendo un sustituto del COL de los mamíferos y su uso e investigación en las industrias biomédica, alimentaria y nutraceútica (Geahchan et al., 2022; Xu et al., 2021).

2.4.1.1.1 Características fisicoquímicas del colágeno de pescado

El COLp puede aislarse de varias partes de un organismo como pie, huesos, aleta, cabeza, tripa y escamas del pescado, además de algún otro tipo de organismo con son las medusas y esponjas marinas. Actualmente algunas partes de estos organismos son consideradas residuos de desechos marinos, sin embargo, se ha demostrado un gran valor económico (Barzideh et al., 2014;

Lim et al., 2019; Pozzolini et al., 2012). Ya que los subproductos de la vida marina son una fuente rica de proteínas valiosas (10-25%) y lípidos, lo que atrae cada vez más atención a la noción de usarlos como fuentes de COL (Furtado et al., 2022)

El COL se puede dividir en varios grupos según el tipo de estructuras que forman. Actualmente se han descubierto 28 tipos diferentes de COL, pero los más comunes son los tipos I a IV (M. Wu et al., 2023), siendo el tipo I el más representativo, pues abarca más del 90 % del COL del cuerpo humano y es abundante en muchos tejidos. Este consiste en un heterotrímero con 2 cadenas de COL pro- α 1(I) y 1 pro- α 2(I), codificadas por los COL1A1 y COL1A2. Teniendo un dominio central triple helicoidal de estas cadenas pro- α que contiene aminoácidos tripletes Gly-XY repetidos, siendo la hidroxiprolina y la arginina los aminoácidos más comunes en la posición Y (Lin et al., 2018). Sin embargo, los demás tipos también cumplen funciones estructurales como el El COL tipo II, un homotrimérico que se encuentra en componente fibrilares más gruesas del cartílago y el COL de tipo IV, el cual es el principal componente estructural de todas las membranas basales en los filos animales. (Madaghiele et al., 2022; Tryggvason., 2009).

El COLp tipo I es extremadamente soluble en varios solventes y ácido a comparación con el COL de animales terrestres (Lim et al., 2019). Además, de exhibir un alto grado de similitud estructural entre especies con respecto a las cadenas α 1 y α 2. Asimismo, varios estudios han demostrado que la composición de aminoácidos del COLp es similar a la del COL de mamíferos siendo la glicina el aminoácido más abundante en COLp (Yamada et al., 2014., Lim et al., 2019). Generalmente, el contenido de aminoácidos, incluidas la prolina y la hidroxiprolina, es menor en la matriz extracelular de COL de los mamíferos, pero contiene más residuos de serina y treonina, particularmente similar al colágeno de peces derivado de especies de agua fría (GAO et al., 2018; Muralidharan et al., 2013). Estas diferencias en la composición de aminoácidos, especialmente en términos de contenido de hidroxiprolina, son

generalmente responsables de las diferencias en las propiedades del colágeno, como la rigidez, la estabilidad de la temperatura y la temperatura de desnaturalización, ya que se necesita un alto contenido de aminoácidos para la estabilización del colágeno (Lim et al., 2019; Yamamoto et al., 2015).

El COLp puede cambiar sus propiedades según el tipo de pez y su ambiente, un ejemplo son las especies de aguas cálidas, incluida la tilapia, ya que puede exhibir una composición de aminoácidos, propiedades reológicas y termoestabilidad similares a las del COL de mamíferos, siendo el COL de tilapia una alternativa en aplicaciones biomédicas (Geahchan et al., 2022; Lim et al., 2019; Xu et al., 2021) puesto que en los últimos años, se ha visto que los grupos hidroxilo de hidroxiprolina e hidroxilisina aumentan la estabilidad térmica de la triple hélice de esta proteína mediante enlaces de hidrógeno entre cadenas a través de una molécula de agua puente y mediante enlaces de hidrógeno directos a un grupo carbonilo (Furtado et al., 2022), Por lo tanto, el grado de hidroxilación de prolina y lisina influye directamente en la estabilidad térmica del COL y cuanto mayor es el contenido de aminoácidos, mayor es la estabilidad térmica, por ejemplo, el COLp de peces que viven en ambientes fríos tiene menores contenidos de hidroxiprolina y exhiben una menor estabilidad térmica que los de peces que viven en ambientes cálidos (Carvalho et al., 2023; Lim et al., 2019).

Por otro lado, se ha observado que la hidroxilación de la prolina es relativamente baja (35-37%) en pescados de mar frío, por ejemplo, *salmon chum*, en comparación con el de pescado de mar cálido (p. ej., tilapia: 43%) siendo menos estables (Lim et al., 2019). Siendo así, que la temperatura de desnaturalización del COLp es menor que la temperatura corporal de los mamíferos, por lo tanto, esta proteína se derrite cuando se coloca a temperaturas superiores a 37 °C. siendo la temperatura y la viscosidad limitantes del COLp para su uso como material (Lim et al., 2019; Xu et al., 2021).

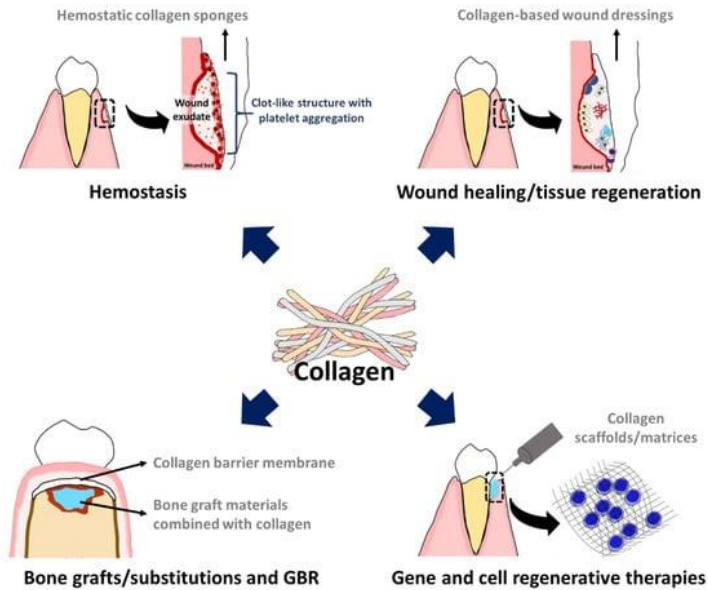


Figura 4. Aplicación del COL como biomaterial para la regeneración ósea periodontal. El COL se utiliza habitualmente como material hemostático, producto para apósitos de heridas para la cicatrización y regeneración, material de injerto óseo para la sustitución y la regeneración ósea y como andamiaje/matrices para terapias de regeneración génica y celular (Binlatah et al., 2022).

2.4.1.1.2 Aplicación biomédica del colágeno de pescado

El COL es un biomaterial versátil que tiene varias aplicaciones como la cicatrización de heridas o la aplicación en la ingeniería de tejidos óseo, muscular conectivo y epitelial, gracias a su alta biocompatibilidad, dando lugar al desarrollo de diseño de andamios de biomateriales para uso biomédico (Geahchan et al., 2022; Lim et al., 2019).

La fabricación de andamios a partir de COLp ha ido en aumento desde mediados del siglo XX, gracias a su alta biocompatibilidad y su sustentabilidad, siendo clave para su estudio en varios tejidos tomado gran relevancia su uso en tejido óseo, debido a que numerosos estudios han utilizado este tipo de COL como sustitutos y refuerzos del tejido óseo que promueven desarrollo de estructuras de crecimiento celular, siendo el objetivos central de la ingeniería del tejido óseo (Lim et al., 2019; Yamamoto et al., 2015).

En la última década ha propuesto una amplia variedad de compuestos a base de COLp (tabla 1) que imitan el microambiente del tejido óseo y mejoran el rendimiento *in vitro e in vivo*, acelerando así la regeneración del tejido óseo (Lim et al., 2019; Xu et al., 2021). (Figura 4) Además, se ha demostrado que la presencia de COLp en varios tipos de compuestos mejoran significativamente la tasa de degradación y el aumenta de la citocompatibilidad con CMS ósea y fibroblastos gingivales humanos, (Jin et al., 2019; Lim et al., 2019).

TABLA 1. Compuesto a base de colágeno de pescado para la regeneración ósea

TIPO	BIOMATERIAL	AUTOR
Andamio liofilizado	COLp piel de <i>Prionace glauca</i> /apatita diente de <i>Isurus oxyrinchus</i> y <i>Prionace glaucabifásico</i>	Diogo et al., 2018
Membrana porosa liofilizada	COLp <i>Prionace glauca</i> /hidroxiapatita/quitosano	Pallela et al., 2012
Esponja compuesta	COLp <i>Spongín</i> /hidroxiapatita	Parisi et al., 2019
Hidrogel con microcápsulas	COLp <i>salar Linnaeus</i> / PCL/CaO ₂	Suvarnapathaki et al., 2022

2.4.2 Policaprolactona

La PCL es un polímero de la familia de los poliésteres semicristalinos alifáticos con un PM de 3000 y 9000 g/mol, con características como la biodegradabilidad debido a la polimerización con aperturas de anillos de

monómero de ϵ -caprolactona, además, de presentar una temperatura de fusión de 59- 64 °C y una temperatura vítrea de -60 °C, lo que le confiere un buen manejo en temperaturas fisiológicas; además de una baja citotoxicidad, una alta compatibilidad con varios polímeros y tejidos y una alta solubilidad en solventes polares, (Dwivedi et al., 2020).

2.4.2.1 Características fisicoquímicas de la policaprolactona

La PCL es un material con naturaleza hidrófoba, por lo tanto, para su uso como andamio en tejidos, se necesita una superficie altamente hidrofílica para mejorar la compatibilidad celular y una máxima adhesión celular. Siendo necesario la modificación de la superficie del PCL, como el recubrimiento o modificación con materiales sintéticos imitadores o naturales como materiales proteicos (Dwivedi et al., 2020). Un ejemplo son los andamios de PCL con doble cubierta proteica, donde se observa que el doble recubrimiento proteico muestra una mayor colonización de células (Declercq et al., 2013). Además se observó que el recubrimiento con péptidos como la arginina-glicina-ácido aspártico (RGD) han mostrado superficie más lisas y una deposición temprana de hueso en las superficies de los andamios fabricados, ya que los resultados mostraron que las superficies de PCL es más suaves y promueve la deposición ósea inicial sobre las superficies del andamio, debido a la reorganización de la matriz extracelular en la superficie; además, mostraron una mejor adhesión celular, proliferación y actividad osteogénica de las células Saos-2. (Dwivedi et al., 2020; Gaona et al., 2012).

En los últimos años la PCL ha tenido relevancia en la regeneración de tejidos, ya que se han fabricado biocompuestos que contiene este material mezclándolo con otros componentes como ácido PLLA, PLGA β -TCP, PLA, HA entre otros, proporcionando un soporte eficaz para el desarrollo y adhesión celular para tejidos como cartílago, tejido vascular, óseo, cutáneo, cardíaco, ocular y nervioso (Gaona et al., 2012; Gupta et al., 2019; Rotbaum et al., 2019).

2.4.2.2 Aplicación biomédica de la policaprolactona

Muchos estudios han demostrado que la utilización de PCL mejoró la resistencia mecánica, además, de presentar características como la osteoconductividad y bioactividad. debido a su lenta degradación, a su temperatura de fusión lo que la hace adecuada para aplicaciones de ingeniería de tejidos blandos y duros como el hueso, (Díaz et al., 2014; Pai B et al., 2017; Sai Nievethitha et al., 2017). La PCL promueve la regeneración ósea natural y la progresión de la curación, ya que su biocompatibilidad, biodegradabilidad, no toxicidad, plasticidad y propiedades mecánicas hacen que sea un excelente sustituto del tejido óseo (Liang et al., 2024).

Las características de la PCL permiten utilizarla en una amplia lista de aplicaciones: defectos óseos, incluidas fracturas, infecciones, tumores óseos, pérdida ósea, pseudoartrosis de hueso, mala unión de hueso y osteonecrosis o necrosis avascular (Dwivedi et al., 2020; Liang et al., 2024; Liu et al., 20220). Algunos andamios de PCL se utilizan en dispositivos implantables a largo plazo, ofreciendo soluciones innovadoras para la integridad estructural sostenida y la función biológica (Ferroni et al., 2022; Liang et al., 2024). Además, se han diseñado componentes especializados que pueden controlar la tasa de liberación de agentes antibacterianos, (Liang et al., 2024), y estructuras con capacidad de reemplazar el hueso en un período, aceleran los procesos de curación y regeneración (Malikmammadov et al., 2018). En las fracturas complejas o grandes defectos óseos, la rápida integración y las propiedades osteoconductoras de los andamios de PCL facilitan tiempos de recuperación más rápidos y mejores resultados clínicos. Por otro lado su uso en la odontología ha mostrado resultados prometedores principalmente en la regeneración periodontal, la reconstrucción maxilofacial y como portadores para la administración de fármacos en tratamientos dentales (De Chiara et al., 2024; Liang et al., 2024; Y. Zheng et al., 2020).

2.4.3 Óxido de grafeno

El OG es un material con alta conductividad térmica y eléctrica, además

de una alta resistencia mecánica, con alto potencial en los campos científicos e industriales (Park et al., 2022; Zhu et al., 2010). Sus principales características OG se pueden atribuir a la estructura del grafeno y grupos funcionales que contiene oxígeno, como grupos hidroxilo, epoxy, carboxilo y cetona (Ricci et al., 2022; Wang et al., 2017).

En la segunda década del siglo XXI el OG ha tomado gran relevancia en el desarrollo de materiales para uso biomédico, ya que se ha reportado interacción (Figura 5) de sus grupos funcionales con células, factores de crecimiento y sustratos hidrófilos para mejorar la biocompatibilidad (Park et al., 2022).

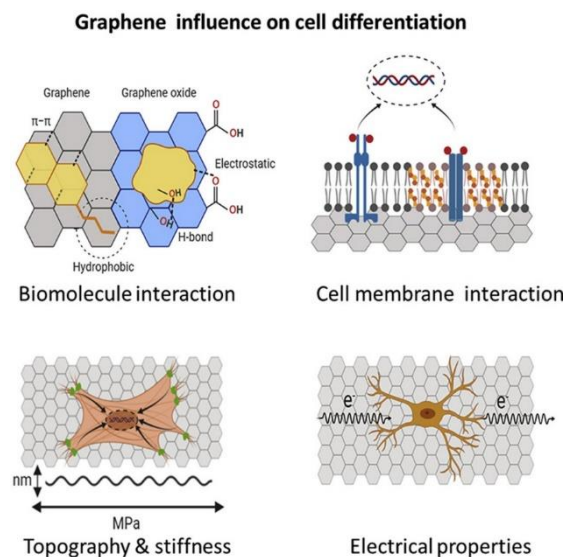


Figura 5. Las propiedades físicas y químicas de los materiales de la familia del grafeno afectan el medio ambiente y el comportamiento celular para modular la respuesta celular hacia la diferenciación (Ricci et al., 2022).

2.4.3.1 Aplicación biomédica del óxido de grafeno

Debido a las propiedades del OG, como la anfifilicidad y la biocompatibilidad, las aplicaciones biomédicas son amplias, incluidas la fabricación de placas de cultivo celular, biosensores y filtros (Girão et al., 2019.; Park et al., 2022). Además, se ha observado que el OG tiene ventajas al uso de metales, como el titanio, ya que presenta propiedades fisicoquímicas similares a

los metales (Ricci et al., 2022).

El OG presenta osteoconducción lo que los convierte en candidato para la regeneración ósea. solo o en combinación con otros biomateriales en forma de rellenos en compuesto, recubrimientos de implantes o vehículos para la administración de varios agentes de señalización y terapéuticos (Cheng et al., 2021; Ricci et al., 2022). Ya que promueve la adhesión, la proliferación y el potencial de diferenciación CMS óseas, debido a su fuerte capacidad principalmente para adsorber proteínas, creando así una capa entre las células y las superficies materiales.

Esto sucede principalmente a que la nube de electrones π del grafeno interactúa con el núcleo hidrofóbico interno de las proteínas séricas para formar una adhesión focal, son sitios especializados dentro de la célula donde los receptores de integrina agrupados interactúan con la matriz extracelular en el exterior de las células y con el citoesqueleto de actina en el interior, actuando, así como transductores de estímulos mecánicos lo que puede controlar la especificación del linaje de este tipo de células, un proceso conocido como mecano transducción, que aumenta por los grupos funcionales de oxígeno de OG (Ricci et al., 2022; Christopherson et al., 2021; Park et al., 2021),.

Algunos estudios han indicado que el OG, en combinación con biomateriales como el polietilenglicol (PEG), mejoran la adhesión celular y la biocompatibilidad, ya que están mediadas por la activación de la señalización de FAK (figura 5) (Xie et al. 2019) pues se han observado que las CMS sembradas sobre estos tipos de sustratos poseen una mayor expresión de proteínas integrina/FAK y marcadores osteogénicos en comparación con las CMS sembradas sobre en otros materiales (Ricci et al., 2022a). En otra investigación, se informó que la diferenciación osteogénica de CMS inducida por la modificación OG en una superficie de implante de titanio fue impulsada por las vías de señalización FAK/p38, lo que confirmó que el recubrimiento de

OG indujo osteointegración y osteogénesis aceleradas *in vivo* (Al-Ahmed et al., 2021a; Ferroni et al., 2022) (Figura 6).

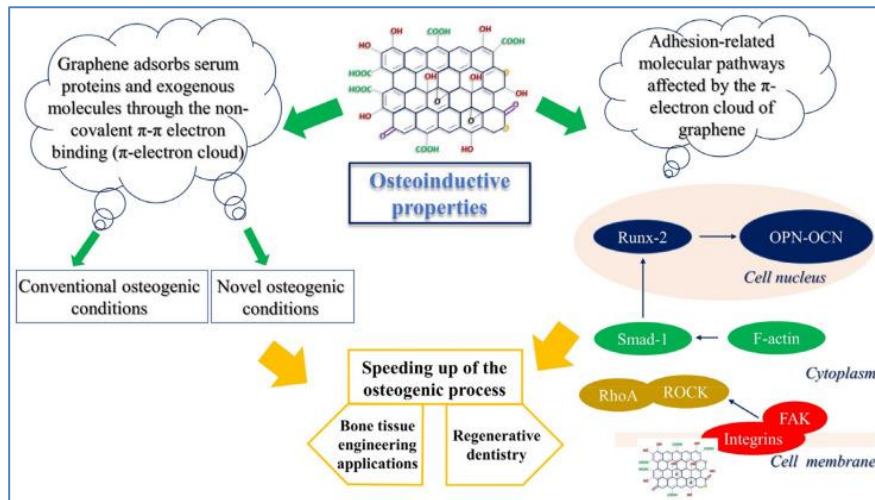


Figura 6. Propiedades osteoinductivas del GO, el GO es capaz de desencadenar vías moleculares relacionadas con la adhesión celular. FAK = quinasa de adhesión focal; SMAD1 = small mothers against decapentaplegic-1; ROCK = proteína quinasa asociada a Rho; RhoA = GTPasa homóloga de Ras; RUNX2 = factor de transcripción relacionado con runt 2; OPN = osteopontina; OCN = osteocalcina. (Ricci et al., 2022).

2.5 Fabricación de membranas

2.5.1 Técnica de electrohilado

El electrohilado es una técnica con la capacidad de fabricar nanoestructuras y microestructuras, tanto de polímeros naturales y sintéticos hasta compuestos orgánicos e inorgánicos. Actualmente la investigación relacionada al electrohilado ha ido en aumento ha favorecido técnica el avance y utilización en áreas como la bioingeniería, la industria electrónica, textil y biomédica (Flores et al., 2023; Haider et al., 2018).

2.5.2 El electrohilado y su mecanismo

El electrohilado consta principalmente de cuatro partes principales (Figura 7): una jeringa que contiene una solución, una aguja, fuente de poder y colector variable. El aumento del campo eléctrico durante el proceso permite que las fuerzas de carga internas y externas provoquen la agitación del líquido en dirección al colector permite que la gota de solución se deforme y adopte una forma cónica, esta estructura se conoce como cono de Taylor, de la cual emergen las fibras que se recogen en el colector distancia variable (Haider et al., 2018, Flores et al., 2023).

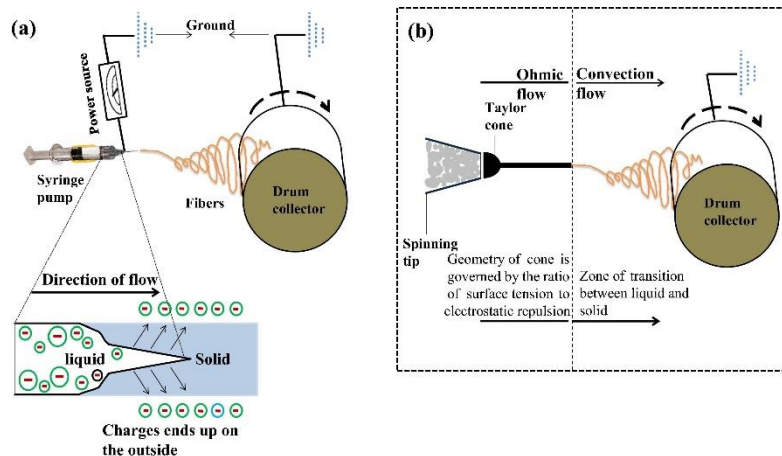


Figura 7. Esquema de a) la configuración del electrohilado y b) el fenómeno del electrohilado. (Flores et al., 2023)

2.5.3 Los parámetros del electrohilado

Hay varios factores que afectan el proceso de electrohilado que se pueden clasificar en parámetros de electrohilado, solución y parámetros ambientales cualquiera de estos puede influir la morfología final. Los parámetros del electrohilado pueden incluir el campo eléctrico aplicado, la distancia entre la aguja y el colector, el caudal y el diámetro de la aguja. Los parámetros de la solución pueden ser el disolvente, la concentración del polímero, la viscosidad y la conductividad de la solución. Los parámetros

ambientales incluyen la humedad relativa y la temperatura. (Haider et al., 2018; Kailasa et al., 2021).

2.5.4 El electrohilado en la ingeniería de tejido

Durante las últimas dos décadas, el electrohilado se ha utilizado para síntesis y desarrollo de nanofibras y microfibras, esteras de nanofibras y microfibras, ya que es un método simple, rentable, único ecológico y nanofibras (Kailasa et al., 2021). Así mismo, las estructuras y membranas electrohiladas se parecen mucho en morfología y propiedades mecánicas a las matrices extracelulares de tejido nativo (Flores et al., 2023; Han., 2006). Las características únicas y distintas de los materiales electrohilados, como su gran relación superficie-volumen, tamaño de poro y diámetro de fibra, facilitan la infiltración y proliferación celular, además, ofrecen el potencial de incorporar agentes bioactivos, mejoran su biocompatibilidad, convirtiéndolos en candidatos prometedores para una amplia gama de aplicaciones biomédicas.

Las estructuras electrohiladas con mayor relevancia, desarrollo y utilización son las utilizadas para la ingeniería de tejido óseo ya que es campo en rápida expansión en reparación y regeneración de lesiones óseas (Flores et al., 2023). La naturaleza inherente del electrohilado produce poros muy pequeños, típicamente de alrededor de un micrón, lo que puede no ser óptimo para la fabricación de estructuras óseas que requieren poros más grandes (20–400 μm). Sin embargo, las estructuras electrohiladas tienen un gran potencial como sustitutos óseos en la reconstrucción de tejidos debido a su morfología similar a la matriz extracelular (Flores et al., 2023; Han et al., 2006; Kailasa et al., 2021). Además, de lograr propiedades mecánicas adecuadas para el andamio es crucial, ya que debe imitar el hueso nativo, proporcionar soporte mecánico durante la regeneración ósea y al mismo tiempo guiar la osteogénesis para acelerar la curación ósea (Flores- et al., 2023; Rahimzadeh et al., 2016).

2.6 Antecedentes específicos

Aidun et al. en el 2019 (TABLA 2) realizaron en un estudio *in vitro* la evaluación de la actividad fisicoquímica y biológica de las membranas de PCL/quitosano/COL incorporados con OG por medio de electrohilado, donde utilizaron pruebas estándar para evaluar las características (TABLA 3A) y células MG-63 y simular el comportamiento de los osteoblastos, Sus resultados mostraron una notable disminución en el diámetro de las fibras con una mayor proporción de OG. Sin embargo, se observó un aumento en relacionado con una mayor proporción de OG en las características como la hidrofiliidad, la tasa de degradación, y la bioactividad, principalmente en la adhesión, proliferación celular y osteogénesis.

Posteriormente en el 2021 Al Ahmed et. (TABLA 2) investigaron el tratamiento de cicatrización de heridas óseas con una matriz fibrosas, adicionando nanopartículas de magnetita en membranas de nanoláminas de OG y PCL por medio de la técnica de electrohilado. Asimismo, realizaron pruebas de comportamientos estructurales y morfológicos de las membranas (TABLA 3B) y se investigó su funcionalidad *in vivo* en la línea celular de fibroblastos humanos (HFB4), los resultados mostraron que las células se adhirieron y proliferaron a través de los andamios fibrosos. Además, las células también se propagaron y crecieron significativamente gracias al diseño y fabricación de membranas electrohiladas dopadas con encapsulados de sustancias biocompatibles como OG y magnetita.

El equipo de Al baadani et al. en 2021 (TABLA 2) investigaron membranas compuestas de PCL/gelatina a base de COL (PCL/Gel) mediante co-electrospinning, y se evaluó su biocompatibilidad y capacidad de las fibras. Los resultados mostraron que la adición de Gel mejoró significativamente la adhesión y diferenciación de los osteoblastos, mientras que la adición de PCL mejoró significativamente las propiedades mecánicas (TABLA 3C). Además, los resultados de degradación mostraron que al ajustar la cantidad y el tamaño de las fibras de PCL, la degradación de Gel y el perfil de liberación de

fármacos/proteínas hidrófilas se podían controlar de manera efectiva, lo que resulta en fibras de Gel se disolvieron rápidamente, Sin embargo, con el aumento del contenido de PCL, la velocidad de degradación disminuyó gradualmente y el período total de liberación se pudo extender a más de 2 semanas.

Por otro lado, en el 2021, Zheng et al. (TABLA 2) realizaron una interfaz de apatita biomimética y COLp sobre fibras de PCL electrohiladas combinando nanorrecubrimiento capa por capa con mineralización para fabricar un andamio artificial osteoinductivo donde se evaluaron las características de las fibras (TABLA 3D) y su bioactividad. Los resultados mostraron que después de la modificación con polidopamina, el COL catiónico tipo I y el sulfato de condroitina aniónico se adsorbieron secuencialmente sobre la superficie de la fibra. Las fibras recubiertas con los componentes multicapa sirvieron como matriz precursora para inducir la deposición de apatita. Al ajustar el número de capas y la duración de la mineralización, se optimizó la morfología a microescala de las fibras compuestas. Cuando se depositaron diez bicapas de COL y sulfato de condroitina sobre las fibras seguidas de una mineralización de un día, los andamios compuestos de PCL-apatita obtenidos promovieron significativamente la adhesión, proliferación y diferenciación osteogénica en cultivos de células MC3T3-E1 lo que indica una posible imitación de la composición y la estructura de la matriz ósea.

En el 2022 He et al. (TABLA 2) investigaron la utilización de óxido de polietileno (PEO) como una ayuda para la elaboración de membranas de fibras de PCL mediante electrohilado, y la optimización de sus características y propiedades morfológicas y mecánicas de las membranas de COL/PCL (TABLA 3E). Los resultados mostraron que el diámetro de las fibras hiladas se volvía fino y suave cuando aumentaba la relación COL/PCL, además, de presentar buena resistencia mecánica, porosidad e hidrofiliidad que podrían promover la adhesión y proliferación celular.

Posteriormente en el 2023 Hamdan et al. (TABLA 2) fabricaron fibras electrohiladas de PCL/gelatina/OG que se funcionalizó mediante tratamiento de plasma con los grupos monoméricos dialilamina (POG-M1) y fueron evaluados morfológicamente, química y mecánicamente, además de medir la actividad antibacteriana en cultivos *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Los resultados mostraron morfología, ángulo de contacto, propiedades mecánicas y la estabilidad térmica favorables para la regeneración ósea (TABLA 3F) y buena actividad antibacteriana. Asimismo, presentaron buena interacción con el cultivo celular L929, tuvieron altos niveles de adhesión y proliferación con respecto al control PCL/gelatina/OG sin funcionalización. Por lo tanto, los resultados confirman que la funcionalización de la superficie mediante tratamiento de plasma con los grupos monoméricos dialilamina de las membranas puede utilizarse como una herramienta para diseñar fibras con propiedades antibacterianas controladas para la fabricación de dispositivos altamente versátiles adecuados para diferentes aplicaciones.

Altan et al. en el 2024 (TABLA 2) desarrollaron una membrana de doble capa para imitar tanto los tejidos blandos como los duros en el contexto de la ROG implementado la técnica de electrohilado para lograr la producción de fibras que se asemejan a las fibras de la matriz extracelular. Los resultados mostraron una superficie con vidrios bioactivos de tamaño nanométrico y capas que contienen vidrio bioactivo que desarrollaron hidroxiapatita en sus superficies a partir de la primera semana de inmersión en fluido corporal simulado, lo que demuestra que las membranas poseen propiedades de bioactividad favorables. Además, todas las membranas mostraron comportamientos de degradación distintos en varios medios (TABLA 3G). Sin embargo, se observó pérdida de peso superior al 50% en todas las muestras analizadas después de cuatro semanas. Las membranas de doble capa también se sometieron a pruebas mecánicas, revelando resistencia a la tracción de aproximadamente 4 MPa. Asimismo, las membranas de doble capa que contenían vidrio bioactivo dopado con zinc demostraron una viabilidad celular

de más del 70% en todas las concentraciones analizadas (0,2, 0,1 y 0,02 g/mL), lo que confirma la excelente biocompatibilidad de las membranas.

Tabla 2. Membranas fabricadas con 2 o 3 componentes para su uso en reparación, curación o ingeniería de tejido óseo.

Autor	Componente	Funcionalidad
(Aidun et al., 2019)	PCL 10 %/quitosano 3%/COL 5% con incorporación OG 3%	Membrana para uso en ingeniería de tejidos óseos
(Al-Ahmed et al., 2021)	PCL 10% /OG 0.1%	Membranas con encapsulados de nanopartículas de magnetita para usos en la curación de heridas óseas
(Al-Baadani et al., 2021)	PCL 15%/ gelatina 4%	Membrana como sistema de administración de fármacos ajustable para la regeneración del tejido óseo
(Zheng et al., 2021)	PCL 15%/COLp 2%/polidopamina 0.5M	membrana de fibra bioactiva y osteoinductora
(He et al., 2022)	PCL 10% /COLp 10% / PEO-polietileno 0.2%	membrana de fibras para la reparación de heridas óseas y determinar su función y mecanismo de reparación regeneración ósea.
(Hamdan et al., 2023)	PCL 10% / gelatina a base de colágeno tipo I 10% / OG 2%	Membranas para su uso en heridas ósea y cualidad antibacteriana
(Altan et al., 2024)	COL 10% / quitosano 8% en un parche de PCL	Membrana de doble capa para regeneración ósea con aditamentos de vidrio bioactivo
(Kashte et al., 2024)	PCL 10% / OG 2%	Membrana para regeneración ósea e ingeniería de tejido óseo

Finalmente, Kashet et al. en el 2024 (TABLA 2) diseñaron membranas de PCL mediante electrohilado y la superficie se modificó mediante deposición capa por capa utilizando grafeno u OG, se evaluaron las propiedades morfológicas, físicas (TABLA 3G), compatibilidad con las células y osteoinductividad. Los andamios de PCL recubiertos con OG mostraron una tendencia a mejorar las propiedades físicas, como el diámetro de la fibra, la humectabilidad y las propiedades mecánicas, el límite elástico y la resistencia a la tracción, en comparación con los andamios de PCL modificados con grafeno (PCL-GP). Sin embargo, la rugosidad de la superficie de los andamios PCL-GP mostró una tendencia mayor que la de los andamios PCL-OG. Los estudios *in vitro* mostraron que ambos andamios eran compatibles con las células. El OG en el andamio de PCL mostró una tendencia a mejorar la diferenciación osteogénica de las células madre mesenquimales derivadas de la gelatina de Wharton del cordón umbilical humano sin ningún medio de diferenciación que el grafeno en los andamios de PCL después de 21 días.

TABLA 3. PRUEBAS DE CARACTERIZACIÓN DE MEMBRANAS EXPERIMENTALES (2019-2024).

	Autor	Diámetro de fibra (μm)	Diámetro de poro (μm)	Porosidad (%)	FTIR	RAMAN	Rugosidad (mm)	Grosor (mm)	Angulo de contacto (°)	Degradación (%)	Elasticidad (MPa)
A	(Aidun, et al. 2019)	11	21	N/P	SI	N/P	3	0.7	52.2	75	N/P
B	(Al-Ahmed et al., 2021)	5	50	N/P	SI	SI	6.45	N/P	NA	54	6.16
C	(Al-Baadani et al., 2021)	31.8	3.80	64	SI	N/P	N/P	N/P	N/P	51	66
D	(Zheng et al., 2021)	3	33	79.1	SI	N/P	N/P	N/P	0.6	N/P	95
E	(He et al., 2022)	20	N/P	92	SI	N/P	N/P	N/P	24.18	65	22

F	(Hamdan et al., 2023)	41.3	N/P	N/P	SI	N/P	N/P	0.6	51.05	N/P	6
G	(Altan et al., 2024)	32.4	N/P	N/P	SI	N/P	N/P	N/P	NA	80	6.16
H	(Kashte et al., 2024)	69.64	N/P	N/P	SI	N/P	2.22	N/P	058.9	N/P	12.1

N/P no presenta Datos de la prueba en el artículo

2.7 Planteamiento del problema

El hueso es una estructura biológica con múltiples funciones como el soporte mecánico y la protección de los tejidos y órganos. Sin embargo, diversos factores como los tumores, los traumatismos o las infecciones pueden desarrollar defectos óseos. Si bien, el tejido óseo tiene la cualidad de regeneración, no puede regenerar lesiones > a 2 cm o 50% de la pérdida de la circunferencia del hueso.

Actualmente, el autoinjerto es el estándar de oro en la regeneración de tejido óseo, pese a ello, sus tasas de no unión, morbilidad en el sitio de toma del injerto y la limitada cantidad con la que se cuenta, han fomentado la búsqueda de alternativas como la ingeniería de tejido óseo, la cual permite la fabricación de membranas poliméricas fibrosas a partir de biomateriales naturales o sintéticos a través de técnicas simples y rentables como el electrohilado, permitiendo la migración y crecimiento de células progenitoras óseas en una zona específica. No obstante, el estudio de membranas sigue siendo un área en constante transición, ya que estas deben tener características similares a lo fisiológico y con una arquitectura morfológica que permita imitar el proceso natural de formación ósea, algo que ningún biomaterial puede hacer por sí solo.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

3.1.1 Hipótesis alternativa (H1):

Las membranas electrohiladas de PCL/OG e inmersas en COLp presentan características morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas para la regeneración ósea.

3.1.2 Hipótesis nula (H0):

Las membranas electrohiladas de PCL/OG e inmersas en COLp no presentan características morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas para la regeneración ósea.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo general

Elaborar membranas electrohiladas compuestas de PCL/OG, inmersas en COLp con características morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas para su utilización en la regeneración ósea.

3.2.2 Objetivos específicos

- Elaborar membranas de PCL/OG por medio de electrohilado.
- Utilizar de la técnica de inmersión para el recubrimiento de las membranas con COLp.
- Describir la morfología superficial de las membranas mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y comparar contra los grupos control: PCL, PCL/OG y BIOGIDE.
- Realizar el análisis químico y estructural de las membranas obtenidas, mediante espectroscopia de infrarrojos por transformada de Fourier y

Espectroscopia de Raman (FTIR-RAMAN) y comparar contra los grupos control.

- Determinar la porosidad, la hidrofobicidad, la capacidad de absorción, la rugosidad y el grosor de las membranas sintetizadas y comparar contra los grupos control.
- Analizar la resistencia mecánica, el porcentaje de deformación en la ruptura, así como el módulo de Young de las membranas en una máquina universal Instron y comparar con los grupos control.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Población y muestra

Se fabricaron 6 membranas de 8x8 cm de cada uno de los grupos: membrana comercial BIOGIDE (control positivo), PCL/OG/COLp, PCL/OG (control negativo) y PCL (control negativo), para obtener de cada grupo de membranas 3-10 muestras para cada prueba de caracterización de acuerdo con las medidas establecida para cada prueba y que se encuentran descritas en los procedimientos.

4.2 Criterios de selección

4.2.1 Criterios de inclusión

Membranas que tengan un rango de grosor de 0.3 a 0.9 mm (medido con Vernier) sin transparentarse a contraluz.

4.2.2 Criterios de exclusión

Membranas cuya mezcla no sea homogénea: que se observen dos fases y/o presenten aglomeraciones superficiales.

4.2.3 Criterios de eliminación

Membranas que durante el proceso se rompan estén incompletas y/o presente contaminación visible.

4.3 Elaboración de membranas

4.3.1 Reactivos

Se utilizó COLp de la marca Hefei Dielegance Biotechnology Co., LTD. OG sintetizado a partir de grafito por el método de Hummers modificando óxido

de grafito, INMETRO, Brasil; PCL ($M_w \sim 50000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) (Thermo Fisher Scientific); cloroformo ($\leq 99.5\%$) (sigma aldrich), ácido acético 99.5% puro (Sigma aldrich); agua destilada y tampón fosfato salino (PBS) con un pH fisiológico de 7.4.

4.3.2 Optimización de condiciones de electrohilado para la fabricación de membrana PCL

Se prepararon disoluciones de PCL con diferentes concentraciones, 2%, 5%, 10%, 20% 30%, y 40%, en cloroformo (sigma aldrich al $\leq 99.5\%$). Las cuales fueron vertidas en viales transparentes de 20 mL, posteriormente fueron sumergidos en un vaso de precipitado con agua potable y puesto en una parrilla de calentamiento magnética a 100° C de 20 a 40 min. o hasta su completa homogeneización. Se colocaron en un equipo de electrohilado, fabricado por el doctor César Márquez Beltrán del Instituto de Física “Ing. Luis Rivera Terrazas”, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), a distintas distancia, voltaje y velocidad de aguja-colector hasta encontrar la correcta distribución de las fibras.

4.3.3 Fabricación de membranas de PCL/OG

Se utilizó la concentración PCL al 30%, de la cual se prepararon disoluciones de 4 mL, las cuales fueron vertidas en viales transparentes de 20 mL, posteriormente fue sumergida en un vaso de precipitado con agua potable y puesto en una parrilla de calentamiento magnéticas a 100° C de 20 a 40 min. o hasta su completa homogeneización, posterior a eso, se le agregó OG en seco (2% p/v) y se agitó manualmente hasta su completa homogenización, Se colocaron en el equipo de electrohilado con una distancia aguja-recolector de 11 cm y con una fuente de poder de 17.34 Kv a una velocidad de 1.5 mL/hr.

4.3.4 Inmersión de las membranas de PCL/OG en COLp

Se realizó una disolución de ácido acético al 3% con agua destilada y se le agregó COLp (4 mg/mL), se dejó en una parrilla de agitación magnética a 40° C y 250 rpm por una hora. Las membranas PCL/OG fueron esterilizadas con una lámpara LED 405 nm de (Philips UIVC) por 2 horas y se cortaron en grupos de cuadros de distintas dimensiones dependiendo de los requerimientos de cada prueba de caracterización. Posteriormente, fueron lavadas con PBS (pH 7.4) para eliminar cualquier residuo de solvente, se colocaron en cajas Petri de 90 mm y se cubrieron por completo con la solución ácido acético-COLp, se dejaron por 2 horas en una campana de extracción a temperatura ambiente. Finalmente fueron lavadas con PBS para eliminar cualquier residuo de ácido acético y se colocaron en un refrigerador a 4°C por 12 horas hasta su uso (modificado de Arlk et al., 2021; Teymouri et al., 2017; X. Wang et al., 2016).

4.4 Pruebas de caracterización

4.4.1 Morfología superficial mediante microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se utilizaron 2 muestras de 10 X 10 mm por cada grupo (BIOGIDE, PCL/OG/COLp, PCL/OG, PCL,) La morfología se visualizó con un microscopio electrónico de barrido de alta resolución con emisión de campo (HR-FESEM, Tescan MAIA 3, Brno-Kohutovice/República Checa), que funciona a 10 keV, en muestras energizadas depositadas sobre un trozo de cinta de carbono conductora de doble cara en pasadores de aluminio.

4.4.2 Diámetro de fibra

La caracterización del diámetro de fibra se determinó manualmente a partir de la herramienta en línea ImageJ, donde se definieron 5 zonas aleatorias en una imagen 200 μm y se tomaron distintas muestras (n=35). Se trazó un histograma y se utilizó el ajuste de picos para evaluar los datos de cada grupo (PCL, PCL/OG y PCL/OG/COLp, BIOGIDE) (modificado de Hotaling et al., 2015).

4.4.3 Diámetro de poro

La caracterización del diámetro de poro se determinó a través de la segmentación que mejor representaba visualmente las imágenes SEM y el análisis de agujeros donde se definieron 5 zonas aleatorias en una imagen 200 μm y se tomaron distintas muestras ($n=35$). Se trazó un histograma y se utilizó el ajuste de picos para evaluar los resultados de cada grupo (Bio-GIDE, PCL, PCL/OG y PCL/OG/COLp) (modificado de (Hotaling et al., 2015)).

4.4.4 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR) se obtuvieron en un espectrómetro Carey 630 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.) utilizando el método de reflectancia total atenuada, en un rango entre 4000 y 400 cm^{-1} . Se utilizaron 2 muestras de 10 X 10 mm por grupo (Bio-GIDE, PCL, PCL/OG y PCL/OG/COLp).

4.4.5 Espectroscopía RAMAN

Las caracterizaciones de dispersión Raman se obtuvieron mediante un espectrómetro Horiba Scientific, Xplora Raman (Horiba Scientific, Shanghai, China) con una fuente de excitación Nd-Yang de 532 nm. Se utilizaron 2 muestras de 10 X 10 mm por grupo (Bio-GIDE, PCL, PCL/OG y PCL/OG/COLp).

4.4.6 Grosor

La caracterización del grosor se obtuvo con un calibrador vernier digital 6" acero iNOX, STD y mm, Truper. Se utilizaron 3 muestras de 10 mm x 20 mm tomando cuatro puntos aleatorios en cada membrana de cada grupo (BIOGIDE, PCL, PCL/OG y PCL/OG/COLp) (modificado de Lee et al., 2017).

4.4.7 Porosidad

La caracterización de la porosidad se obtuvo a través del método de intrusión de agua. Se utilizaron muestras de 10 mg de cada grupo (BIOGIDE, PCL, PCL/OG y

PCL/OG/COLp); se sumergieron en agua destilada y se guardaron en un lugar a temperatura ambiente durante 24 h. Luego se sacaron y se pesaron en balanza analítica. El porcentaje se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{porosidad (\%)} = \frac{W \text{ despues} - W \text{ antes}}{\rho_{\text{agua}} / \text{volumen}} * 100\%$$

donde W después es la masa seca de las muestras, W antes es la masa de la muestra saturada con agua y V es el volumen de la muestra (modificado de Wang et al., 2023)

4.4.8 Rugosidad

La caracterización de la rugosidad se obtuvo con un medidor de rugosidad de la superficie, un perfilómetro de la marca Mitotuyo, modelo SJ-301. Donde se obtuvo el perfil tridimensional del valor medio de la rugosidad de la superficie (Ra) a través de la técnica de interferometría de apantallamiento de fase. Se utilizaron 3 muestras de 20 X 10 mm por grupo (Bio-GIDE, PCL, PCL/OG y PCL/OG/COLp) (modificado de Al-Ahmed et al., 2021 y Kashte et al., 2024).

4.4.9 Hidrofobicidad (ángulo de contacto)

La caracterización de hidrofobicidad se obtuvo por medición del ángulo de contacto; donde se utilizó un equipo con una cámara Nikon D3500 18-55 VR II KIT y un lente NIKKOR LENS AF-5 Micro 85mm F/3.5g ED RV; posteriormente, las imágenes obtenidas fueron analizadas a través del plugin Contact, de la extensión FIJI del software Image J. Se utilizaron 3 membranas 10 mm x 10 mm por cada grupo (Bio-GIDE, PCL, PCL/OG y PCL/OG/COLp) (modificado de Aidun, et al. 2019, Zheng et al., 2021, He et al., 2022, Altan et al., 2024, Kashte et al., 2024),.

4.4.10 Degradación

La caracterización de degradación fue realizada colocando muestras de

10 mg, por triplicado, en viales de plásticos que se le agregaron 5 ml de PBS a 37°C con pH 7.4 en una zona estéril y se colocó en un agitador magnético en baño María manteniendo la temperatura a 37°C. Antes de cada lectura de peso se retiró el líquido del vial con una micropipeta de 1000 µl estéril. El porcentaje de pérdida de peso se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{pérdida de peso (\%)} = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$$

Donde P_i es el peso inicial de la muestra, P_f es el peso de la muestra después del tiempo. Las mediciones se realizaron 3, 5,7,14,21 días (modificado de Carbajal-De la Torre et al., 2022; Gil-Castell et al., 2019).

4.4.11 Pruebas mecánicas

La caracterización mecánica se realizó con las medidas de probeta según la norma D1708-ASTM. Las pruebas se realizaron a una velocidad de deformación de 10 mm/min. Los valores de carga y desplazamiento durante las pruebas fueron medidos por una celda de carga (110 N) y un transformador diferencial variable lineal (LVDT) (± 50 mm), respectivamente; todos los datos fueron registrados por un instrumento virtual programado en Lab-VIEW. Se promediaron las medidas de 4 muestras de cada grupo (Bio-GIDE, PCL, PCL/OG y PCL/OG/COLp) (modificado de Chou & Woodrow, 2017; Rodríguez Félix et al., 2017).

4.5 Análisis estadístico

Los datos fueron vaciados en hojas de cálculo del software estadístico Grad Pad versión 8.0, donde se realizó estadística descriptiva y pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk. Todos los datos fueron analizados con la prueba de ANOVA de una vía y pruebas de Tukey, con significancia de $p \leq 0.05$.

5. RESULTADOS

5.1 Morfología superficial

Las imágenes de SEM mostraron morfología porosa con fibras entrecruzadas para las membranas de PCL, PCL/OG y PCL/OG/COLp, mientras que, las membranas de BIOGIDE mostraron morfología con poca porosidad y fibras entrecruzadas compactas con menor tamaño visible al de los otros grupos (Figura 8).

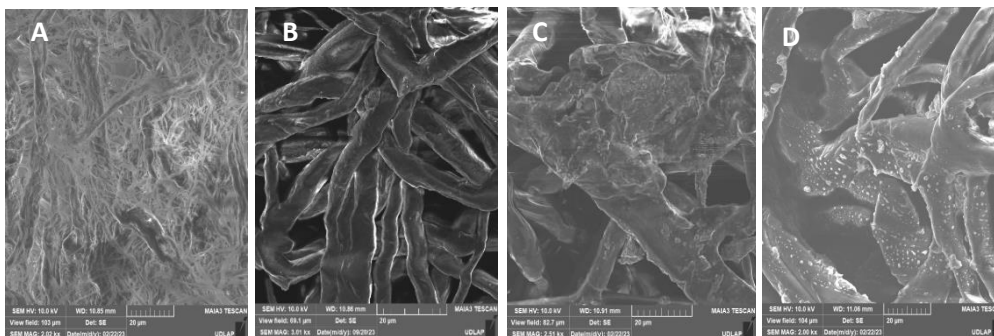


Figura 8. Imágenes de SEM de membranas fibrosas A) BIOGIDE B) PCL C) PCL/OG y D) PCL/OG/COLp (aumento $\pm 2000\times$)

5.2 Diámetro de fibra

El diámetro de fibra presenta diferencia significativa entre los cuatro grupos mostrados (ANOVA, $p = 0.0001$). Al comparar el diámetro de las membranas experimental PCL/OG/COLp con una media de $12.82 \mu\text{m}$, contra PCL con una media de $8.45 \mu\text{m}$, se observó diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.0001$); de la misma manera, contra PCL/OG con una media 10.33 (Tukey, $p \leq 0.0001$) y contra BIOGIDE con media de $12 \mu\text{m}$ (Tukey, $p \leq 0.0001$) (Figura 3A). Además, se observan diferencias significativas entre PCL/OG y PCL (Tukey, $p \leq 0.0018$) (Figura 9).

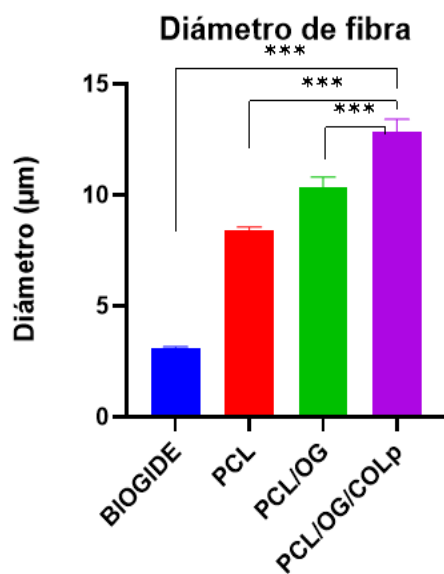


Figura 9. Diámetro de las fibras de los distintos grupos de membranas. Prueba de ANOVA de 1 vía en el diámetro de fibra (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$)

5.3 Diámetro de poro

El diámetro de los poros presenta diferencia significativa entre los cuatro grupos estudiados (ANOVA, $p = 0.0001$) Al cotejar el diámetro de poro de la membrana experimental PCL/OG/COLp con una media de $17.98 \mu\text{m}$, contra PCL (media de $22.90 \mu\text{m}$) se observó diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.0001$); de la misma manera, contra PCL/OG con una media $19.49 \mu\text{m}$ (TUKEY, $p \leq 0.0228$) y finalmente contra BIOGIDE (media de $0.83 \mu\text{m}$) (Tukey, $p \leq 0.0001$) (Figura 3A). sin embargo, no se observa diferencias significativas entre PCL/OG y PCL (Tukey, $p \leq 0.707$) (Figura 10).

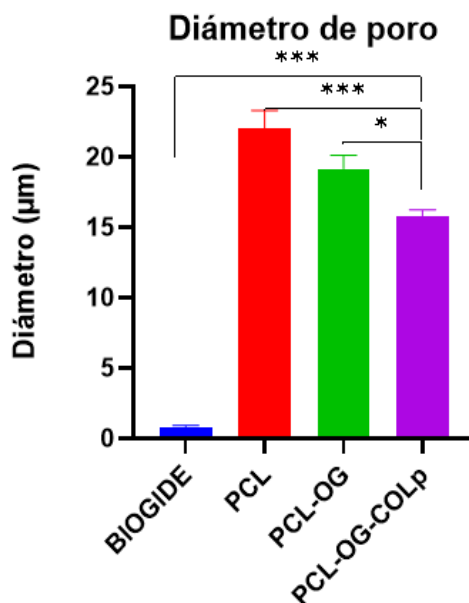


Figura 10. Diámetro de poro promedio de los distintos grupos de membranas. Prueba de ANOVA y Tukey en el diámetro de fibra (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$)

5.4 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Para conocer las propiedades químicas de las membranas fabricadas se realizó FTIR. Los resultados obtenidos muestran en las membranas de PCL/OG/COLp, PCL/OG y PCL similitudes en los espectros de transmisiones, ya que presentan picos característicos en 1726 cm^{-1} , 1361 , 1397 y 1473 cm^{-1} y 2942 y 2862 cm^{-1} , además de picos en 1042 , 1107 y 1233 cm^{-1} y posibles bandas características en 1160 y 1290 cm^{-1} , así mismo, picos 1728 , 1628 , 1422 , 1052 y 3200 cm^{-1} . Mientras que las membranas de BIOGIDE muestran espectros de transmisión entre $400 - 1900\text{ cm}^{-1}$, principalmente, espectros observables en 3402 cm^{-1} , 1623 cm^{-1} , 1457 cm^{-1} , 1247 cm^{-1} , 1457 cm^{-1} , 1384 cm^{-1} , 1352 cm^{-1} y 1247 cm^{-1} y bandas de baja intensidad en 1653 y 1560 cm^{-1} (Figura 11).

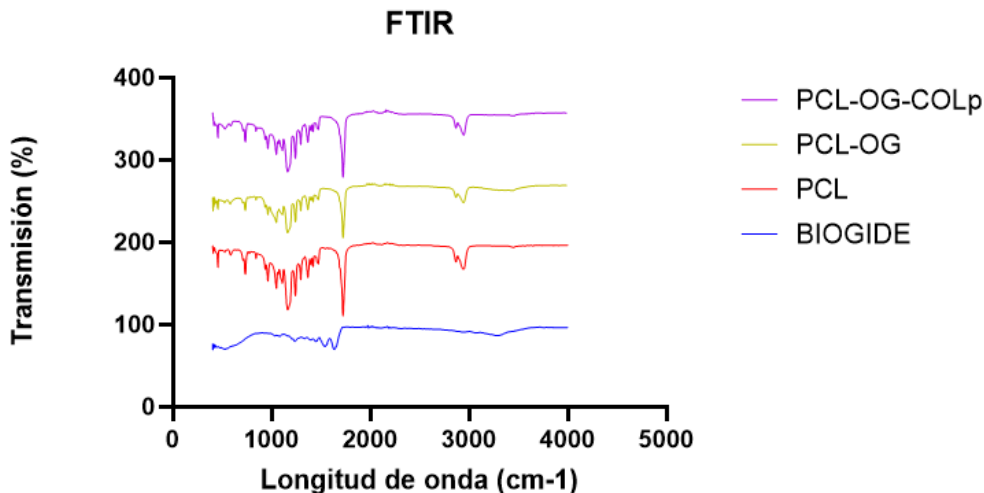


Figura 11. FTIR. Se muestran picos similares entre PCL/OG-COLp Y PCL/OG en CH₃ (1045 cm⁻¹) y CH₂ (2863 cm⁻¹) C=O (1737 cm⁻¹), C-O-C (1294 cm⁻¹ Y 2284 cm⁻¹), OH (3410 cm⁻¹), C-O (1087 cm⁻¹), sin embargo, no se notan los picos correspondientes C-S de los aminoácidos del COLp.

5.5 Espectroscopia de RAMAN

La espectroscopía de RAMAN mostró en las membranas PCL, PCL/OG y PCL/OG/COLp se observan similitudes en el espectro de transmisiones, ya que muestra picos característicos en 1726 cm⁻¹, 1361, 1397 y 1473 cm⁻¹ y 2942 y 2862 cm⁻¹, además de picos en 1042, 1107 y 1233 cm⁻¹ y posibles bandas características en 1160 y 1290 cm⁻¹, así mismo, picos 1728, 1628, 1422, 1052 y 3200 cm⁻¹. BIOGIDE mostró espectro de transmisión entre 400 - 1900cm⁻¹, principalmente, espectros observables en 3402 cm⁻¹, 1623 cm⁻¹, 1457 cm⁻¹, 1247 cm⁻¹, 1457, 1384, 1352 y 1247 cm⁻¹ y bandas de baja intensidad en 1653 y 1560 cm⁻¹ (Figura 12).

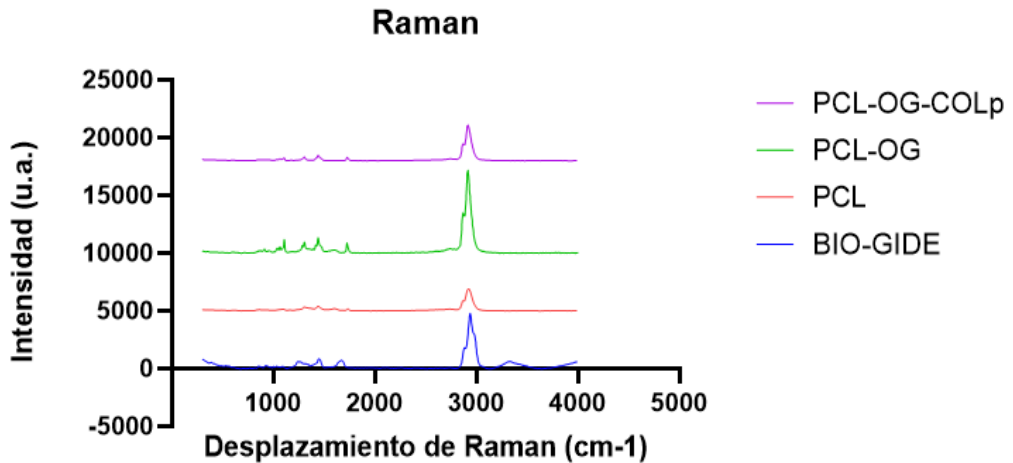


Figura 12. Espectroscopia de Raman. Se mostraron picos de vibración similares PCL/OG/COLp y PCL/OG, entre COO (530 cm^{-1}), C-O-C (840 cm^{-1}), CH₂ (1270 cm^{-1} y 1370 cm^{-1}), C=O (1770 cm^{-1}) parte del esqueleto estructural PCL C-COO (1045 cm^{-1}), no se observaron grupos funcionales del COLp.

5.6 Porcentaje de porosidad

El porcentaje de porosidad presenta diferencia significativa entre los cuatro grupos mostrados (ANOVA, $p=0.0001$). Al equiparar los porcentajes de las membranas experimental PCL/OG/COLp con 43%, contra PCL con un porcentaje de 72%, se observó diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.0001$); de la misma manera, contra PCL/OG con 56% (Tukey, $p \leq 0.0001$) y contra BIOGIDEmedia de 11% (Tukey, $p \leq 0.0001$) (Figura 3A). Además, se observa diferencias significativas entre PCL/OG y PCL (Tukey, $p \leq 0.0001$) (Figura 13).

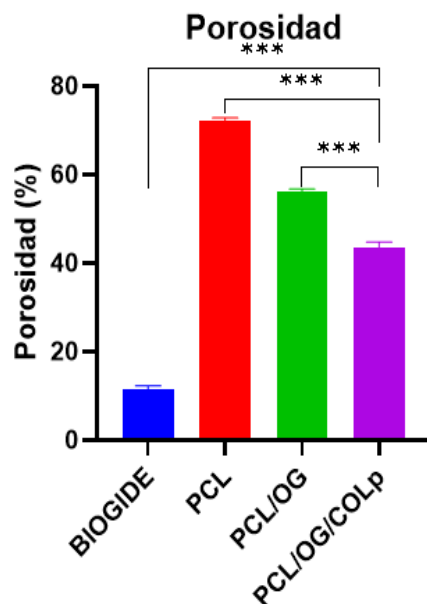


Figura 13. Prueba de ANOVA Y Tukey de porcentaje de poro (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$)

5.7 Grosor

El grosor de la membrana presenta diferencia significativa entre los cuatro grupos mostrados (ANOVA, $p = 0.0002$). Al relacionar el grosor de las membranas experimental PCL/OG/COLp con una media de 0.51, contra PCL con una media de 0.35 mm, se observó diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.0129$); de la misma manera, contra PCL/OG con una media 0.26 mm (Tukey, $p \leq 0.0001$) y contra Bio-GIDE media de 0.36 mm (Tukey, $p \leq 0.0259$) (Figura). Sin embargo, no se observa diferencias significativas entre PCL/OG y PCL (Tukey, $p \leq 0.3372$) (Figura 14).

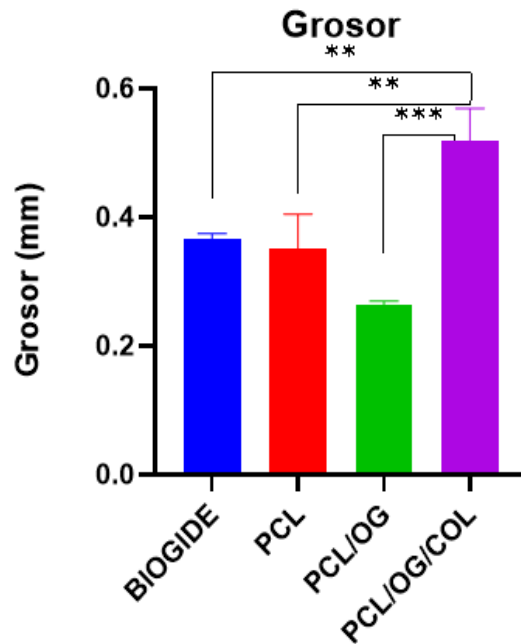


Figura 14. Grosor de los distintos grupos de membranas. Prueba de ANOVA y Tukey (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$)

5.8 Rugosidad

Al realizar el análisis de la rugosidad con la prueba de ANOVA de 1 vía no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($p = 0.176$), no siendo necesario otro tipo de prueba estadística o comparación (figura 15).

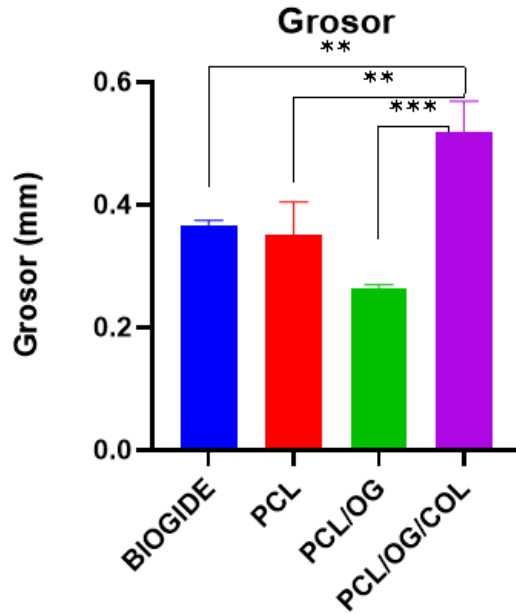


Figura 15. Rugosidad de los distintos grupos de membranas. La prueba de ANOVA de 1 vía no mostró diferencias significativas ($p=0.176$).

5.9 Hidrofobicidad

Al analizar las imágenes de hidrofobicidad obtenidas (Figura 16), la prueba de ANOVA mostró diferencias significativas ($p=0.0001$) en los ángulos de contacto de los 4 grupos. Las membranas de PCL/OG/COLp, mostraron una media de 0° al igual que las membranas de Bio-GIDE, por lo que no existe diferencias significativas. Mientras, si se encuentran diferencias significativas entre la membrana experimental contra PCL/OG, con una media de 120° ($p=0.0001$) y contra PCL, con una media de 125.8° ($p=0.0001$) (Figura 17).

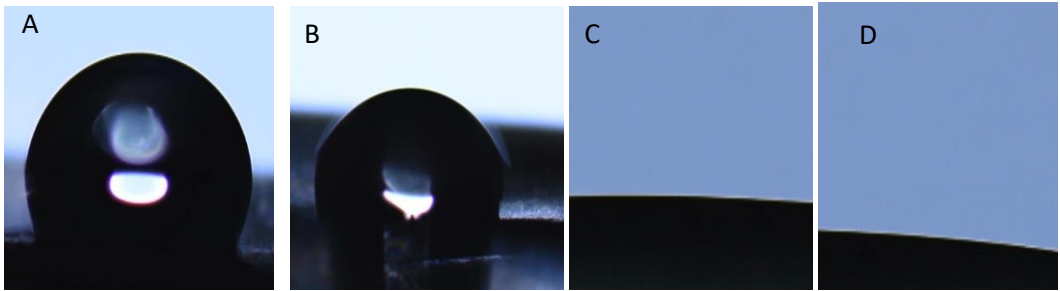


Figura 16. Hidrofobicidad A) BIOGIDE, B) PCL C) PCL/OG, D) PCL/OG/COLp

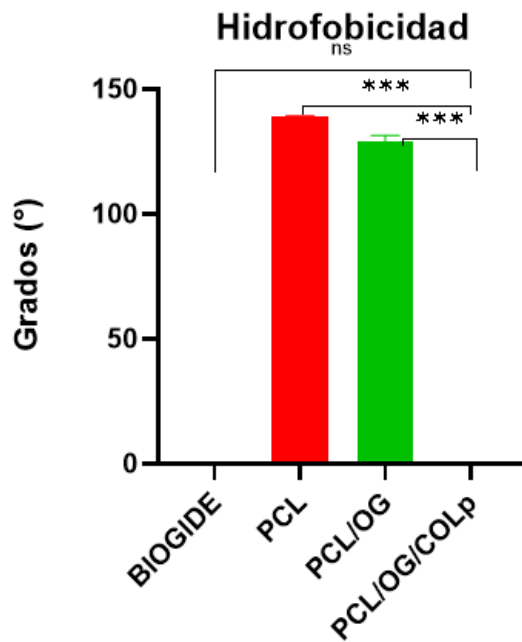


Figura 17. Hidrofobicidad (ángulo de contacto). Se realizó prueba de ANOVA de 1 vía y Tukey (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$).

5.10 Degradación

Al analizar el remanente de masa de las membranas, se observa una degradación constante a lo largo de los 21 días para los cuatro grupos (Figura 18). Las membranas PCL/OG/COLp mostraron una pérdida de peso del 70.63% al finalizar la prueba, con similitud a las membranas de PCL/OG con un 70.87%, por otro lado, las membranas de PCL presentaron una pérdida de 67.33 % y BIOGIDE una pérdida del 60.50 %, Finalmente a analizar los resultados de los remanentes de masa de las membranas por medio de ANOVA de una vía no se observó diferencias significativas ($p=0.9318$)

5.11 Caracterización mecánica

El módulo de elasticidad presentó diferencia significativa entre los cuatro

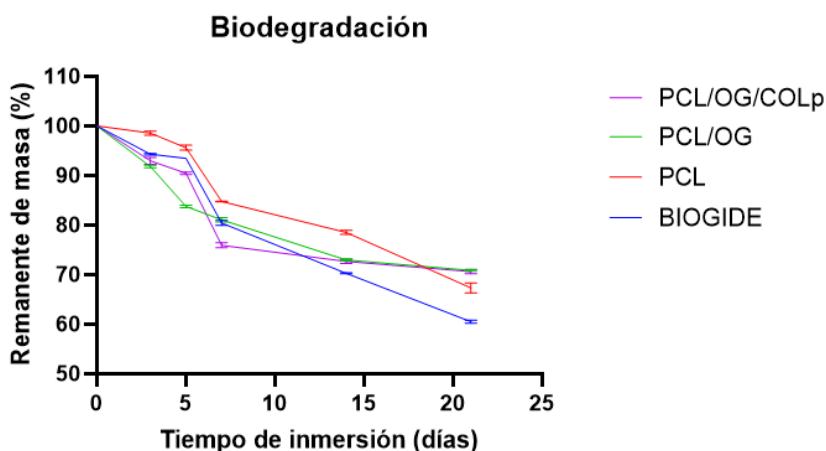


Figura 18. Pérdida de peso de membranas a los 3, 5, 7, 14 y 21 días.

grupos mostrados (ANOVA, $p= 0.0001$). Al comparar el módulo de elasticidad de las membranas experimental PCL/OG/COLp con una media de 30.87 MPa, contra PCL con una media de 88.49 MPa, se observó diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.0001$); de la misma manera, contra PCL/OG con una media 60.67 MPa (Tukey, $p \leq 0.0001$) y contra los resultados reportados de BIOGIDE con media de 8.85 MPa (Tukey, $p \leq 0.0001$) y 16.53 MPa (Tukey, $p \leq 0.0142$)

(Figura 3A). Además, se observa diferencias significativas entre PCL/OG y PCL (Tukey, $p \leq 0.0001$) (Figura 19).

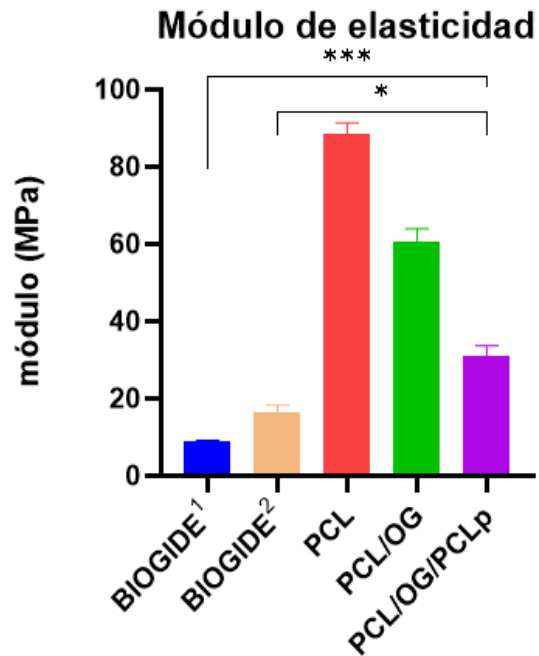


Figura 19. Se realizó ANOVA de una vía y Tukey para comparar módulo de elasticidad y resultados reportados por membranas BIOGIDE1 (Ortolani et al., 2015) BIOGIDE2(Raz et al., 2019) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$)

6. DISCUSIÓN

El propósito de la presente investigación fue fabricar membranas por medio de la técnica de electrohilado con una base de PCL/OG inmersas en COLp, caracterizar sus propiedades morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas y analizar si son apropiadas para probarse a corto plazo en modelos animales de regeneración ósea.

Las membranas de PCL/OG electrohiladas recubiertas con COLp presentaron una morfología fibrosa entrecruzada con fibras de diámetro de 12.82 μm , Aunque actualmente, no hay ninguna publicación combinando estos 3 biomateriales; este dato concuerda con el rango reportado (1.34-69.64 μm) por algunos autores para su uso en defectos y regeneración óseos, al combinar materiales como PCL y OG con quitosano y COL (Aidun, et al. 2019), nanopartículas (Al-Ahmed et al., 2021), y gelatina (Mohamend. et al,2021); asimismo, al combinar COL, PCL y sulfato de condroitina (Zheng et al., 2021) PCL y COLp (He et al., 2022) COLp, PCL y quitosano (Altan et al., 2024), lo que podría sugerir una posible imitación de la matriz extracelular, debido a que se ha observado una adhesión, proliferación y diferenciación de células óseas en un rango ≥ 100 μm de diámetro de fibras en cultivos celulares MG-63 y Saos-2 (Aidun, et al. 2019; Altan et al., 2024). Además, se ha reportado que al incorporar OG a membranas, puede inducir diferentes estados de morfología celular, secreción y adhesión de macrófagos (Hamdan et al., 2023; Kashte et al., 2024). Sin embargo, en los últimos años se ha reportado un posible cambio en el tamaño de las fibras para su uso en la ingeniería de tejido óseo, la razón es que se pretende imitar la red de fibrillas de COL tipo I y los cristales de HA que abundan en el hueso y piel humana (Altan et al., 2024) (Amirrah et al., 2022).

El diámetro de poro obtenido en las membranas PCL/OG/COLp fue de 17.98 μm similar a lo reportado por Aidun, et al. 2019, Al-Ahmed et al., 2021, Mohamend. et al., 2021 y Zheng et al., 2021 (3.80 - 50 μm), lo que podría influir en la angiogénesis y el proceso de vascularización, regula el impacto del

material sobre las células inflamatorias y posteriormente sobre las células endoteliales activando las vías de neovascularización (Bryers et al., 2012; Sussman et al., 2014; Tylek et al., 2020). Además, de mostrar una regulación negativa de los marcadores proinflamatorios y la regulación positiva de los factores antiinflamatorios y el alargamiento celular de macrófagos, dando lugar a macrófagos regenerativos M2 para mejorar la regeneración de tejidos y la cicatrización de heridas, especialmente para membranas y como andamios para tejidos finos como piel o membranas mucosas (Tylek et al., 2020; Yin et al., 2020).

Los resultados del porcentaje de porosidad obtenidos de la membrana experimental PCL/OG/COLp fue de 56% los cuales coinciden con lo publicado por Mohamend. et al., 2021, Zheng et al., 2021, He et al., 2022 (54-62 %), lo que indica una posible superficie-volumen estable que proporciona un entorno similar a la matriz extracelular del tejido óseo, con poros altamente interconectados que facilitan el transporte de nutrientes, adhesión y el arrastre de células /oxígeno. En este sentido, algunos estudios de membranas de PCL/COL en cultivos de fibroblastos (He et al., 2022) y osteoblastos (Gohari et al., 2021; W. Wang et al., 2023), tuvieron mayor proliferación en los materiales (≤ 90 de porcentaje de poro), mostraron resultados beneficiosos, incluso con una densidad de siembra de 200 mil células/andamio. Sin embargo, algunos otros estudios sugieren un rango de 70% al 80%, debido a resultados favorables con membranas PCL/OG que mejoraron el crecimiento *in vitro* de células madre mesenquimales de médula ósea; además, de una buena osteogénesis, osteoconductividad, osteointegración y bioseguridad en pruebas *in vivo* en un modelo de rata, para la reparación de defectos óseos en el cóndilo femoral lateral (Huang et al., 2021; Jiao et al., 2023).

La caracterización química de las membranas de PCL/OG/COLp a través del FTIR y la espectroscopia de RAMAN mostraron similitud con lo reportado por Aidun, et al. 2019, Al-Ahmed et al., 2021, Mohamend. et al., 2021, Zheng et al., 2021, He et al., 2022, Hamdan et al., 2023, Altan et al., 2024,

Kashte et al., 2024. Se observan dominios cristalinos de PCL reflejados por dos bandas intensas para el estiramiento antisimétrico y simétrico de CH₂ a 2870 cm⁻¹ y 2920 cm⁻¹, respectivamente. Las bandas a 1728 cm⁻¹ (C=O), a 1110 cm⁻¹ (COC) y aproximadamente a 1728 cm⁻¹. Además, de picos estrechos a 916 cm⁻¹ (C-COO), 1046 cm⁻¹, 1110 cm⁻¹ (COC) y 1298–1419 cm⁻¹ (CH₂) que también están relacionados con la naturaleza cristalina del PCL, Los picos menores restantes, como la banda ancha a aproximadamente a 860 cm⁻¹, son atribuibles a la parte amorfa de PCL, coincidiendo con lo reportado por varios autores (Ferroni et al., 2022; Haji Mohammadi Gohari et al., 2021; Hamdan et al., 2023; He et al., 2022; Mohamend 2021.; W. Wang et al., 2023b). EL OG tiene bandas vibratorias de estiramiento O-H ancha a 3410 cm⁻¹, banda de estiramiento carboxilo CH-O a 1721 cm⁻¹, O-H banda vibratoria a 1404 cm⁻¹ y vibración de estiramiento C-O a 1087 cm⁻¹. Que fueron detectadas en las membranas (Ferroni et al., 2022; Haji Mohammadi Gohari et al., 2021; Hamdan et al., 2023; Çiplak et al., 2015). En el espectro Raman se observan bandas principales en 1350 cm⁻¹ y 1593 cm⁻¹ asociadas a las conocidas bandas D y G del OG, respectivamente (Johra et al., 2014). En el caso del COLp la estructura secundaria de las proteínas se presentan como bandas en el 1029 cm⁻¹ (amida I), 1237 cm⁻¹ (amida III) y 1450 cm⁻¹ (amida II) (Kristoffersen et al., 2023; Sripriya et al., 2015), no obstante, estos son imperceptibles o tenues en las membranas de PCL/OG/COLp, lo que podría indicar un posible enmascaramiento por la concentración o por la composición estructural a base de carbono de los materiales utilizados; además de que podría influir la técnica de inmersión, el COLp podría estar haciendo una interacción superficial con los componentes, algo normal en esta técnica, provocando una disminución en la tasa de degradación y las características mecánicas (Ark et al., 2021). En este sentido, es necesaria la implementación de otras técnicas para comprobar la interacción del COLp con los otros materiales que componen a la membrana, como la termogravimetría o calorimetría, que puedan demostrar su estabilidad térmica y la presencia de materiales orgánicos (Fouad et al., 2018; Valencia et al., 2022).

La hidrofobicidad de la superficie de las membranas es una de las características fundamentales puesto que puede influir en la unión, la proliferación y diferenciación celular en este sentido, se ha visto que influencia la respuesta biológica de las células del linaje de osteoblastos y mesenquimales, las cuales liberan señales estructurales para promover la regeneración de tejidos y la formación de hueso nuevo (Bächle et al, 2004; Boyan et al., 2017). Las membranas de PCL/OG/COLp presentaron una hidrofobicidad de 0°, distinto a lo reportado por Aidun, et al. 2019, Zheng et al., 2021, He et al., 2022, Altan et al., 2024, Kashte et al., 2024, posiblemente, debido a que las membranas recubiertas con un biomaterial de origen natural como el COLp forman una capa superficial altamente hidrofílica (Arık et al., 2021), ya que el COL está glicosilado de forma natural (residuos de lisina e hidroxilisina) por lo tanto, tiene mayor interacción con medios acuosos (Li et al 2021). No obstante, algunos estudios han demostrado que las superficies hidrófilas $\leq 2^\circ$ pueden producir un aumento significativo en la cantidad de adsorción de proteínas (Mahetab et al 2018), una alta tasa inicial de adhesión celular (Altankoy et al 2019) y en general, una mejor adhesión celular (Murry et al 2019). Sin embargo, también se ha informado que las células se adhieren y proliferan más en superficies con hidrofiliidad moderada que en los puntos más hidrófobos o hidrófilos(Aidun et al., 2019)

Los resultados de la prueba de rugosidad de la membrana PCL/OG/COLp fue de 13.59 mm, lo que no mostró similitud con lo reportado por Al-Ahmed et al., 2021 y Kashte et al., 2024 (5 - 6.45 mm) para membranas con una base de PCL y OG, en nuestro caso posiblemente debido a un mal recubrimiento de COLp que provocó el aumento excesivo de la rugosidad mostrando una superficie con mayor números de ondulaciones en forma de microarrugas y aumento del grosor, siendo necesario hacer modificaciones para disminuir mínimamente la rugosidad, ya que está permitiría aumentar la bioactividad de los compuestos, la hidrofiliidad y la citocompatibilidad (Arık et al., 2021). No se encontraron diferencias significativas con los demás grupos, lo que podría indicar buena biocompatibilidad y estabilidad en contacto con los

tejidos (Llano et al., 2022). Es favorable que esta característica sea similar a BIOGIDE porque esta se utiliza en tratamientos clínicos, ha demostrado resultados favorables en la regeneración ósea porque promueve la quimiotaxis y la adhesión de las células progenitoras, junto con su maniobrabilidad intraoperatoria, capacidad de mantenimiento del espacio, baja inmunogenicidad y degradación fisiológica (Zhang et al., 2023).

En este sentido, el grosor de las membranas PCL/OG/COLp (0.51 mm) presentó similitud con lo reportado por Aidun, et al. 2019 y Hamdan et al., 2023 (0.5-0.6 mm) quienes caracterizaron membranas de PCL y quitosano recubiertas con OG y PCL/gelatina/OG. En la presente investigación se detectó diferencia significativa entre las membranas de PCL/OG/COLp y BIOGIDE, posiblemente debido a la técnica de inmersión utilizada para el recubrimiento, dado que al ser inmersa en COLp, la matriz de COLp puede formar una capa adicional a la membranas (Aidun et al., 2019), aun así, este engrosamiento no ha tenido ningún reporte de algún efecto negativo en estudios *in vivo* (Seo et al., 2019), ya que no se ha observado el aumento excesivo en el grosor del tejido blando ni la formación de tejido conectivo denso cuando se han aplicado membranas comerciales de COL tipo I con un grosor >0.4 mm como tutodent y resodont en modelos animales como perros y conejos (Aprile et al., 2020; Seo et al., 2019).

Una de las propiedades más importantes de un biomaterial es la degradación y las características mecánicas, ya que estas garantizan la posibilidad de renovar los tejidos dañados, al igual que, está estrechamente relacionada con la alta resistencia a la corrosión y al desgaste, lo que permite un uso prolongado y sencillo (Oleksy et al., 2023). Actualmente, los biomateriales degradables son candidatos preferidos para desarrollar dispositivos terapéuticos, como estructuras porosas tridimensionales para ingeniería de tejidos óseo y vehículos de administración de fármacos de liberación controlada, ya que permiten que el tejido óseo recién formado ocupe gradualmente el lugar de la construcción implantada, lo que dará como

resultado la reparación ósea perfecta y sin material residual (Davison et al., 2014; Li et al., 2014). Los resultados obtenidos en esta prueba mostraron una degradación acelerada de las membranas de PCL/OG/COLp (70.68%), lo cual no concuerda con los resultados de algunos investigadores, con una degradación del 34-54% a las 3 semanas de membranas con una composición base de PCL y OG (Al-Ahmed et al., 2021) y PCL/Gelatina (Mohamend. et al., 2021) y PCL/COLp (He et al., 2022); esto se debe, posiblemente a la falta de homogeneización de los materiales lo que provoca la baja o nula interacción entre los componentes (He et al., 2022). Por otro lado, también se ha visto que una mala distribución en los componentes al ser electrohilados, provoca el aumento de las regiones amorfas de la PCL, causa una mayor hidrólisis de los enlaces éster de las fibras, aumentando el desgaste de las mismas y provocando degradación acelerada (Oleksy et al., 2023; Augustine et al. 2014). Por otro lado, los resultados de las membranas de BIOGIDE (60.50%) son similares a lo reportado por algunos autores, aproximadamente 60 % a las 4 semanas, en membranas de PCL/COLp y COL/quitosano (He et al., 2022; M. Wang et al., 2024) y aproximadamente 70-80% para membranas de PCL/quitosano/COL recubiertas con OG y COLp/quitosano a las 9 semanas (Aidun et al., 2019; Altan et al., 2024). De igual modo, al comparar las membranas de PCL/OG/COLp contra BIOGIDE no hubo diferencias significativas, por lo tanto, ambas membranas podrían cumplir los efectos de barrera requeridos para la regeneración ósea. Además, es necesario indagar en modelos vivos si poseen las mismas propiedades osteoinductoras reportadas para BIOGIDE, debido a que en análisis histológicos previos se han reportado para BIOGIDE, áreas de osteoconductividad, pues se ha observado signos de reabsorción visibles que han proporcionado evidencia indirecta de la actividad celular similar a la de los osteoclastos (Alccayhuaman et al., 2024).

Otra razón que podría indicar una mala degradación sería la técnica de inmersión, como lo han mostrado los estudios de Kravanja & Finšgar, 2022 & Arlk et al., 2021, quienes reportaron el aumento en la tasa de degradación por una mala integración del componente y la formación de una capa altamente

hidrofílica que disminuye el tiempo de vida del biomaterial. Por otro lado, la degradación de un material está estrechamente relacionada con las características mecánicas, sin embargo, las membranas muestran diferencias significativas entre PCL/OG/COLp y BIOGIDE, posiblemente debido a una combinación e interacción PCL y OG, que mejora la resistencia de las fibras(Ferroni et al., 2022; Hamdan et al., 2023a; He et al., 2022)

7 CONCLUSIONES

Las membranas de PCL/OG/COLp presentaron morfología fibrosa entrecruzada con características como diámetro de fibra, diámetro poro, grosor y rugosidad promedio prometedoras para la regeneración ósea.

Las pruebas de FTIR y Raman de las membranas de PCL/OG/COLp muestran grupos funcionales característicos de OG y PCL, sin embargo, no se encontraron o son poco perceptibles los espectros característicos de COLp. Por lo que es necesario complementar esta caracterización química de las membranas PCL/OG/COLp con técnicas como la termogravimetría para la determinación de la presencia de COLp.

La característica hidrofílica de las membranas de PCL/OG/COLp se debe principalmente al COLp puesto que los grupos controles no presentan características hidrofílicas hasta ser inmersas en COLp.

Las membranas PCL/OG/COLp cumplen con las características morfológicas, de hidrofobicidad y mecánicas reportadas para su uso en la regeneración ósea. Sin embargo, su tasa de degradación distinta a BIOGIDE una membrana comercial que es usada en tratamientos clínicos por su alta biocompatibilidad y regeneración comprobable en tejido óseo, es un factor para mejorar y garantizar su funcionalidad en la regeneración ósea.

8 BIBLIOGRAFÍA

- Adamski, R., & Siuta, D. (2021). Mechanical, Structural, and Biological Properties of Chitosan/Hydroxyapatite/Silica Composites for Bone Tissue Engineering. *Molecules*, 26(7), 1976. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26071976>
- Aidun, A., Safaei Firoozabady, A., Moharrami, M., Ahmadi, A., Haghighipour, N., Bonakdar, S., & Faghihi, S. (2019). Graphene oxide incorporated polycaprolactone/chitosan/collagen electrospun scaffold: Enhanced osteogenic properties for bone tissue engineering. *Artificial Organs*, 43(10), E264–E281. <https://doi.org/10.1111/AOR.13474>
- Al-Ahmed, Z. A., Al Jahdaly, B. A., Radwan, H. A., Hassana, A. A., Almahri, A., Ahmed, M. K., & Taher, M. M. (2021a). Electrospun nanofibrous scaffolds of ϵ -polycaprolactone containing graphene oxide and encapsulated with magnetite nanoparticles for wound healing utilizations. *Materials Research Express*, 8(2), 025013. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ABE42B>
- Al-Baadani, M. A., Hii Ru Yie, K., Al-Bishari, A. M., Alshobi, B. A., Zhou, Z., Fang, K., Dai, B., Shen, Y., Ma, J., Liu, J., & Shen, X. (2021). Co-electrospinning polycaprolactone/gelatin membrane as a tunable drug delivery system for bone tissue regeneration. *Materials & Design*, 209, 109962. <https://doi.org/10.1016/J.MATDES.2021.109962>
- Almouemen, N., Kelly, H. M., & O'Leary, C. (2019). Tissue Engineering: Understanding the Role of Biomaterials and Biophysical Forces on Cell Functionality Through Computational and Structural Biotechnology Analytical Methods. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 17, 591. <https://doi.org/10.1016/J.CSBJ.2019.04.008>
- Altan, D., Özarslan, A. C., Özel, C., Tuzlakoglu, K., Sahin, Y. M., & Yücel, S. (2024). Fabrication of Electrospun Double Layered Biomimetic Collagen–Chitosan Polymeric Membranes with Zinc-Doped Mesoporous Bioactive Glass Additives. *Polymers* 2024, Vol. 16, Page 2066, 16(14), 2066. <https://doi.org/10.3390/POLYM16142066>
- Amirrah, I. N., Lokanathan, Y., Zulkiflee, I., Wee, M. F. M. R., Motta, A., & Fauzi, M. B. (2022). A Comprehensive Review on Collagen Type I Development of

- Biomaterials for Tissue Engineering: From Biosynthesis to Bioscaffold. *Biomedicines*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES10092307>
- Ansari, M. (2019). Bone tissue regeneration: biology, strategies and interface studies. In *Progress in Biomaterials* (Vol. 8, Issue 4, pp. 223–237). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s40204-019-00125-z>
- Apaza Alccayhuaman, K. A., Heimel, P., Tangl, S., Lettner, S., Kamleitner, C., Panahipour, L., Kuchler, U., & Gruber, R. (2024). Active and Passive Mineralization of Bio-Gide® Membranes in Rat Calvaria Defects. *Journal of Functional Biomaterials*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/JFB15030054/S1>
- Aprile, P., Letourneur, D., & Simon-Yarza, T. (2020). Membranes for Guided Bone Regeneration: A Road from Bench to Bedside. *Advanced Healthcare Materials*, 9(19). <https://doi.org/10.1002/ADHM.202000707>
- Ark, Y. B., De Sa Vivas, A., Laarveld, D., Van Laar, N., Gemser, J., Visscher, T., Van Den Berg, A., Passier, R., & Van Der Meer, A. D. (2021). Collagen i based enzymatically degradable membranes for organ-on-a-chip barrier models. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 7(7), 2998–3005. https://doi.org/10.1021/ACSBIMATERIALS.0C00297/SUPPL_FILE/AB0C00297_SI_001.PDF
- Bächle, M., & Kohal, R. J. (2004). A systematic review of the influence of different titanium surfaces on proliferation, differentiation and protein synthesis of osteoblast-like MG63 cells. *Clinical Oral Implants Research*, 15(6), 683–692. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0501.2004.01054.X>
- Bahrami, S., Baheiraei, N., & Shahrezaee, M. (123 C.E.). Biomimetic reduced graphene oxide coated collagen scaffold for in situ bone regeneration. *Scientific Reports* |, 11, 16783. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96271-1>
- Bartolomeo, M. Di, Bauso, L. V., Fauci, V. La, Longo, C., & Calabrese, G. (2024). Bone Tissue Engineering and Nanotechnology: A Promising Combination for Bone Regeneration. *Biology 2024*, Vol. 13, Page 237, 13(4), 237. <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY13040237>
- Barzideh, Z., Latiff, A. A., Gan, C. Y., Abedin, M. Z., & Alias, A. K. (2014). ACE

- Inhibitory and Antioxidant Activities of Collagen Hydrolysates from the Ribbon Jellyfish (*Chrysaora* sp.). *Food Technology and Biotechnology*, 52(4), 495–504. <https://doi.org/10.17113/FTB.52.04.14.3641>
- Binlath, T., Thammanichanon, P., Rittipakorn, P., Thinsathid, N., & Jitprasertwong, P. (2022). Collagen-Based Biomaterials in Periodontal Regeneration: Current Applications and Future Perspectives of Plant-Based Collagen. *Biomimetics* 2022, Vol. 7, Page 34, 7(2), 34. <https://doi.org/10.3390/BIOMIMETICS7020034>
- Boyan, B. D., Lotz, E. M., & Schwartz, Z. (2017). Roughness and Hydrophilicity as Osteogenic Biomimetic Surface Properties. *Tissue Engineering. Part A*, 23(23–24), 1479. <https://doi.org/10.1089/TEN.TEA.2017.0048>
- Bryers, J. D., Giachelli, C. M., & Ratner, B. D. (2012). Engineering biomaterials to integrate and heal: The biocompatibility paradigm shifts. *Biotechnology and Bioengineering*, 109(8), 1898–1911. <https://doi.org/10.1002/BIT.24559>
- Bu, Y., Ma, J., Bei, J., & Wang, S. (2019). Surface Modification of Aliphatic Polyester to Enhance Biocompatibility. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 98. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2019.00098>
- Campbell, I. D. (2002). Timeline: the march of structural biology. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 3(5), 377–381. <https://doi.org/10.1038/NRM800>
- Cao, S., Bo, R., & Zhang, Y. (2023). Polymeric Scaffolds for Regeneration of Central/Peripheral Nerves and Soft Connective Tissues. *Advanced NanoBiomed Research*, 3(3), 2200147. <https://doi.org/10.1002/ANBR.202200147>
- Carbajal-De la Torre, G., Zurita-Méndez, N. N., Ballesteros-Almanza, M. de L., Ortiz-Ortiz, J., Estévez, M., & Espinosa-Medina, M. A. (2022). Characterization and Evaluation of Composite Biomaterial Bioactive Glass–Polylactic Acid for Bone Tissue Engineering Applications. *Polymers* 2022, Vol. 14, Page 3034, 14(15), 3034. <https://doi.org/10.3390/POLYM14153034>
- Carvalho, D. N., Lobo, F. C. M., Rodrigues, L. C., Fernandes, E. M., Williams, D. S., Mearns-Spragg, A., Sotelo, C. G., Perez-Martín, R. I., Reis, R. L., Gelinsky, M., & Silva, T. H. (2023). Advanced Polymeric Membranes as

- Biomaterials Based on Marine Sources Envisaging the Regeneration of Human Tissues. *Gels* 2023, Vol. 9, Page 247, 9(3), 247. <https://doi.org/10.3390/GELS9030247>
- Cheng, J., Liu, J., Wu, B., Liu, Z., Li, M., Wang, X., Tang, P., & Wang, Z. (2021). Graphene and its Derivatives for Bone Tissue Engineering: In Vitro and In Vivo Evaluation of Graphene-Based Scaffolds, Membranes and Coatings. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 734688. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2021.734688/BIBTEX>
- Chou, S. F., & Woodrow, K. A. (2017). Relationships between mechanical properties and drug release from electrospun fibers of PCL and PLGA blends. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 65, 724. <https://doi.org/10.1016/J.JMBBM.2016.09.004>
- Christopherson, G. T., de Vasconcellos, J. F., Dunn, J. C., Griffin, D. W., Jones, P. E., & Nesti, L. J. (2021). Three-Dimensional Modeling of the Structural Microenvironment in Post-Traumatic War Wounds. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 18(6), 963–973. <https://doi.org/10.1007/S13770-021-00355-Y/FIGURES/6>
- Çiplak, Z., Yildiz, N., & Çalimli, A. (2015). Investigation of graphene/Ag nanocomposites synthesis parameters for two different synthesis methods. *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures*, 23(4), 361–370. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2014.894025>
- Davison, N. L., Barrère-de Groot, F., & Grijpma, D. W. (2014). Degradation of Biomaterials. *Tissue Engineering: Second Edition*, 177–215. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420145-3.00006-7>
- De Angelis, N., Bagnasco, F., & Amaroli, A. (2023b). Bone Regeneration: Overview and Future Trends. *Journal of Clinical Medicine*, 12(13). <https://doi.org/10.3390/JCM12134529>
- De Chiara, F., Ferret-Miñana, A., Fernández-Costa, J. M., & Ramón-Azcón, J. (2024a). The Tissue Engineering Revolution: From Bench Research to Clinical Reality. *Biomedicines*, 12(2), 453. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES12020453>

- De Chiara, F., Ferret-Miñana, A., Fernández-Costa, J. M., & Ramón-Azcón, J. (2024b). The Tissue Engineering Revolution: From Bench Research to Clinical Reality. *Biomedicines* 2024, Vol. 12, Page 453, 12(2), 453. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES12020453>
- Declercq, H. A., Desmet, T., Berneel, E. E. M., Dubrueel, P., & Cornelissen, M. J. (2013). Synergistic effect of surface modification and scaffold design of bioplotting 3-D poly-ε-caprolactone scaffolds in osteogenic tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 9(8), 7699–7708. <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2013.05.003>
- Díaz, E., Sandonis, I., & Valle, M. B. (2014). In vitro degradation of poly(caprolactone)/nHA composites. *Journal of Nanomaterials*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/802435>
- Diogo, G. S., López-Senra, E., Pirraco, R. P., Canadas, R. F., Fernandes, E. M., Serra, J., Pérez-Martín, R. I., Sotelo, C. G., Marques, A. P., González, P., Moreira-Silva, J., Silva, T. H., & Reis, R. L. (2018). Marine Collagen/Apatite Composite Scaffolds Envisaging Hard Tissue Applications. *Marine Drugs* 2018, Vol. 16, Page 269, 16(8), 269. <https://doi.org/10.3390/MD16080269>
- dos Santos, V. I., Merlini, C., Aragones, Á., Cesca, K., & Fredel, M. C. (2020). Influence of calcium phosphates incorporation into poly(lactic-co-glycolic acid) electrospun membranes for guided bone regeneration. *Polymer Degradation and Stability*, 179, 109253. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMDEGRADSTAB.2020.109253>
- Dwivedi, R., Kumar, S., Pandey, R., Mahajan, A., Nandana, D., Katti, D. S., & Mehrotra, D. (2020). Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: Review of literature. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 10(1), 381–388. <https://doi.org/10.1016/J.JOBCR.2019.10.003>
- Ferroni, L., Gardin, C., Rigoni, F., Balliana, E., Zanotti, F., Scatto, M., Riello, P., & Zavan, B. (2022). The Impact of Graphene Oxide on Polycaprolactone PCL Surfaces: Antimicrobial Activity and Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cell. *Coatings* 2022, Vol. 12, Page 799, 12(6), 799. <https://doi.org/10.3390/COATINGS12060799>

- Fisher, J. P., Mikos, A. G., & Bronzino, J. D. (1993). Tissue engineering. *Science (New York, N.Y.)*, 260(5110), 1–583. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.8493529>
- Flores-Rojas, G. G., Gómez-Lazaro, B., López-Saucedo, F., Vera-Graziano, R., Bucio, E., & Mendizábal, E. (2023). Electrospun Scaffolds for Tissue Engineering: A Review. *Macromol 2023, Vol. 3, Pages 524-553*, 3(3), 524–553. <https://doi.org/10.3390/MACROMOL3030031>
- Fouad, H., AlFotawi, R., Alothman, O. Y., Alshammari, B. A., Alfayez, M., Hashem, M., & Mahmood, A. (2018). Porous polyethylene coated with functionalized hydroxyapatite particles as a bone reconstruction material. *Materials*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/MA11040521>
- Furtado, M., Chen, L., Chen, Z., Chen, A., & Cui, W. (2022). Development of fish collagen in tissue regeneration and drug delivery. *Engineered Regeneration*, 3(3), 217–231. <https://doi.org/10.1016/J.ENGREG.2022.05.002>
- GAO, L. ling, WANG, Z. yu, LI, Z., ZHANG, C. xia, & ZHANG, D. quan. (2018). The characterization of acid and pepsin soluble collagen from ovine bones (Ujumuqin sheep). *Journal of Integrative Agriculture*, 17(3), 704–711. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61751-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61751-9)
- Gaona, L. A., Gómez Ribelles, J. L., Perilla, J. E., & Lebourg, M. (2012). Hydrolytic degradation of PLLA/PCL microporous membranes prepared by freeze extraction. *Polymer Degradation and Stability*, 97(9), 1621–1632. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMDEGRADSTAB.2012.06.031>
- Geahchan, S., Baharlouei, P., & Rahman, M. A. (2022). Marine Collagen: A Promising Biomaterial for Wound Healing, Skin Anti-Aging, and Bone Regeneration. *Marine Drugs*, 20(1). <https://doi.org/10.3390/MD20010061>
- Gil-Castell, O., Badia, J. D., Bou, J., & Ribes-Greus, A. (2019). Performance of Polyester-Based Electrospun Scaffolds under In Vitro Hydrolytic Conditions: From Short-Term to Long-Term Applications. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/NANO9050786>
- Girão, A. F., Serrano, M. C., Completo, A., & Marques, P. A. A. P. (2019). Do biomedical engineers dream of graphene sheets? *Biomaterials Science*,

- 7(4), 1228–1239. <https://doi.org/10.1039/C8BM01636D>
- Gupta, D., Singh, A. K., Kar, N., Dravid, A., & Bellare, J. (2019). Modelling and optimization of NaOH-etched 3-D printed PCL for enhanced cellular attachment and growth with minimal loss of mechanical strength. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 98, 602–611. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2018.12.084>
- Haider, A., Haider, S., & Kang, I. K. (2018). A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(8), 1165–1188. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2015.11.015>
- Haji Mohammadi Gohari, P., Haghbin Nazarpak, M., & Solati-Hashjin, M. (2021). The effect of adding reduced graphene oxide to electrospun polycaprolactone scaffolds on MG-63 cells activity. *Materials Today Communications*, 27, 102287. <https://doi.org/10.1016/J.MTCOMM.2021.102287>
- Hamdan, N., Khodir, W. K. W. A., Hamid, S. A., Nasir, M. H. M., Hamzah, A. S., Cruz-Maya, I., & Guarino, V. (2023a). PCL/Gelatin/Graphene Oxide Electrospun Nanofibers: Effect of Surface Functionalization on In Vitro and Antibacterial Response. *Nanomaterials*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/nano13030488>
- Hamdan, N., Khodir, W. K. W. A., Hamid, S. A., Nasir, M. H. M., Hamzah, A. S., Cruz-Maya, I., & Guarino, V. (2023b). PCL/Gelatin/Graphene Oxide Electrospun Nanofibers: Effect of Surface Functionalization on In Vitro and Antibacterial Response. *Nanomaterials*, 13(3), 488. <https://doi.org/10.3390/NANO13030488>
- Han, D., & Gouma, P. I. (2006). Electrospun bioscaffolds that mimic the topology of extracellular matrix. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2(1), 37–41. <https://doi.org/10.1016/J.NANO.2006.01.002>
- He, X., Wang, L., Lv, K., Li, W., Qin, S., & Tang, Z. (2022b). Polyethylene Oxide Assisted Fish Collagen-Poly-ε-Caprolactone Nanofiber Membranes by Electrospinning. *Nanomaterials*, 12(6).

<https://doi.org/10.3390/nano12060900>

- Holt, B. D., Wright, Z. M., Arnold, A. M., & Sydlík, S. A. (2017). Graphene oxide as a scaffold for bone regeneration. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 9(3). <https://doi.org/10.1002/WNAN.1437>
- Hotaling, N. A., Bharti, K., Kriel, H., & Simon, C. G. (2015). DiameterJ: A Validated Open Source Nanofiber Diameter Measurement Tool. *Biomaterials*, 61, 327. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2015.05.015>
- Hu, S., Zhou, Y., Zhao, Y., Xu, Y., Zhang, F., Gu, N., Ma, J., Reynolds, M. A., Xia, Y., & Xu, H. H. K. (2018). Enhanced bone regeneration and visual monitoring via superparamagnetic iron oxide nanoparticle scaffold in rats. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 12(4), e2085–e2098. <https://doi.org/10.1002/TERM.2641>
- Huang, G., Pan, S. T., & Qiu, J. X. (2021). The Clinical Application of Porous Tantalum and Its New Development for Bone Tissue Engineering. *Materials*, 14(10). <https://doi.org/10.3390/MA14102647>
- Humphrey, J. D., Dufresne, E. R., & Schwartz, M. A. (2014). Mechanotransduction and extracellular matrix homeostasis. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 15(12), 802. <https://doi.org/10.1038/NRM3896>
- Jafari, H., Lista, A., Siekapen, M. M., Ghaffari-Bohlouli, P., Nie, L., Alimoradi, H., & Shavandi, A. (2020). Fish Collagen: Extraction, Characterization, and Applications for Biomaterials Engineering. *Polymers 2020, Vol. 12, Page 2230*, 12(10), 2230. <https://doi.org/10.3390/POLYM12102230>
- Jahani, M., Genever, P. G., Patton, R. J., Ahwal, F., & Fagan, M. J. (2012). The effect of osteocyte apoptosis on signalling in the osteocyte and bone lining cell network: a computer simulation. *Journal of Biomechanics*, 45(16), 2876–2883. <https://doi.org/10.1016/J.JBIOMECH.2012.08.005>
- Jaklenec, A., Stamp, A., Deweerd, E., Sherwin, A., & Langer, R. (2012). Progress in the tissue engineering and stem cell industry “are we there yet?” *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, 18(3), 155–166.

<https://doi.org/10.1089/TEN.TEB.2011.0553>

- Jiao, J., Hong, Q., Zhang, D., Wang, M., Tang, H., Yang, J., Qu, X., & Yue, B. (2023). Influence of porosity on osteogenesis, bone growth and osteointegration in trabecular tantalum scaffolds fabricated by additive manufacturing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2023.1117954/FULL>
- Jin, S., Sun, F., Zou, Q., Huang, J., Zuo, Y., Li, Y., Wang, S., Cheng, L., Man, Y., Yang, F., & Li, J. (2019). Fish Collagen and Hydroxyapatite Reinforced Poly(lactide- co-glycolide) Fibrous Membrane for Guided Bone Regeneration. *Biomacromolecules*, 20(5), 2058–2067. https://doi.org/10.1021/ACS.BIOMAC.9B00267/ASSET/IMAGES/LARGE/BM-2019-00267F_0008.JPEG
- Johra, F. T., Lee, J. W., & Jung, W. G. (2014). Facile and safe graphene preparation on solution based platform. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(5), 2883–2887. <https://doi.org/10.1016/J.JIEC.2013.11.022>
- Kailasa, S., Sai Bhargava Reddy, M., Raj Maurya, M., Geeta Rani, B., Venkateswara Rao, K., Kumar Sadasivuni, K., Kailasa, S., B Reddy, M. S., Rani, B. G., Rao, K. V, Maurya, M. R., & Sadasivuni, K. K. (2021). Electrospun Nanofibers: Materials, Synthesis Parameters, and Their Role in Sensing Applications. *Macromolecular Materials and Engineering*, 306(11), 2100410. <https://doi.org/10.1002/MAME.202100410>
- Kalirajan, C., Dukle, A., Nathanael, A. J., Oh, T. H., & Manivasagam, G. (2021a). A Critical Review on Polymeric Biomaterials for Biomedical Applications. *Polymers*, 13(17). <https://doi.org/10.3390/POLYM13173015>
- Kashte, S. B., Kadam, S., Maffulli, N., Potty, A. G., Migliorini, F., & Gupta, A. (2024). Osteoinductive potential of graphene and graphene oxide for bone tissue engineering: a comparative study. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 19(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S13018-024-05028-9/FIGURES/6>
- Kenkre, J. S., & Bassett, J. H. D. (2018). The bone remodelling cycle. *Annals of Clinical Biochemistry*, 55(3), 308–327.

<https://doi.org/10.1177/0004563218759371>

- Kristoffersen, K. A., Måge, I., Wubshet, S. G., Böcker, U., Riiser Dankel, K., Lislelid, A., Rønningen, M. A., & Afseth, N. K. (2023). FTIR-based prediction of collagen content in hydrolyzed protein samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 301, 122919. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2023.122919>
- Lai, Y., Li, Y., Cao, H., Long, J., Wang, X., Li, L., Li, C., Jia, Q., Teng, B., Tang, T., Peng, J., Eglin, D., Alini, M., Grijpma, D. W., Richards, G., & Qin, L. (2019). Osteogenic magnesium incorporated into PLGA/TCP porous scaffold by 3D printing for repairing challenging bone defect. *Biomaterials*, 197, 207–219. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2019.01.013>
- Lee, Y. J., An, S. J., Bae, E. Bin, Gwon, H. J., Park, J. S., Jeong, S. I., Jeon, Y. C., Lee, S. H., Lim, Y. M., & Huh, J. B. (2017). The Effect of Thickness of Resorbable Bacterial Cellulose Membrane on Guided Bone Regeneration. *Materials*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/MA10030320>
- Li, D., Wang, Y., Zhu, S., Hu, X., & Liang, R. (2024). Recombinant fibrous protein biomaterials meet skin tissue engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12, 1411550. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2024.1411550/BIBTEX>
- Li, M., & Li, J. (2014). Biodegradation behavior of silk biomaterials. *Silk Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 330–348. <https://doi.org/10.1533/9780857097064.2.330>
- Liang, H.-Y., Lee, W.-K., Hsu, J.-T., Shih, J.-Y., Ma, T.-L., Vo, T. T. T., Lee, C.-W., Cheng, M.-T., & Lee, I.-T. (2024). Polycaprolactone in Bone Tissue Engineering: A Comprehensive Review of Innovations in Scaffold Fabrication and Surface Modifications. *Journal of Functional Biomaterials* 2024, Vol. 15, Page 243, 15(9), 243. <https://doi.org/10.3390/JFB15090243>
- Lim, Y. S., Ok, Y. J., Hwang, S. Y., Kwak, J. Y., & Yoon, S. (2019). Marine Collagen as A Promising Biomaterial for Biomedical Applications. *Marine Drugs*, 17(8). <https://doi.org/10.3390/MD17080467>
- Lin, C. J., Lin, C. Y., & Stitzel, N. O. (2018). Genetics of the extracellular matrix in

- aortic aneurysmal diseases. *Matrix Biology*, 71–72, 128–143. <https://doi.org/10.1016/J.MATBIO.2018.04.005>
- Lin, C.-Y., Kang, J.-H., Lin, C.-Y. ;, & Kang, J.-H. (2021). Mechanical Properties of Compact Bone Defined by the Stress-Strain Curve Measured Using Uniaxial Tensile Test: A Concise Review and Practical Guide. *Materials* 2021, Vol. 14, Page 4224, 14(15), 4224. <https://doi.org/10.3390/MA14154224>
- Liu, J., Wu, S., Ma, J., Liu, C., Dai, T., Wu, X., Zhao, H., & Zhou, D. (2022). Polycaprolactone/Gelatin/Hydroxyapatite Electrospun Nanomembrane Materials Incorporated with Different Proportions of Attapulgite Synergistically Promote Bone Formation. *International Journal of Nanomedicine*, 17, 4087. <https://doi.org/10.2147/IJN.S372247>
- Llorens Vargas, A., & Hernandis Ortuño, B. (2023). Categorización de factores biomiméticos: Enfoques para una base conceptual en diseño sostenible, revisión de literatura. *Interciencia: Revista de Ciencia y Tecnología de América*, ISSN 0378-1844, Vol. 48, Nº. 8, 2023, Págs. 388-397, 48(8), 388–397. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9109987&info=resumen&idioma=ENG>
- Ma, C., Du, T., Niu, X., & Fan, Y. (2022). Biomechanics and mechanobiology of the bone matrix. *Bone Research* 2022 10:1, 10(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41413-022-00223-y>
- Madaghiele, M., Quarta, A., Barca, A., Chen, L., Cheng, G., Meng, S., & Ding, Y. (2022). Collagen Membrane Derived from Fish Scales for Application in Bone Tissue Engineering. *Polymers* 2022, Vol. 14, Page 2532, 14(13), 2532. <https://doi.org/10.3390/POLYM14132532>
- Majid, Q. A., Fricker, A. T. R., Gregory, D. A., Davidenko, N., Hernandez Cruz, O., Jabbour, R. J., Owen, T. J., Basnett, P., Lukasiewicz, B., Stevens, M., Best, S., Cameron, R., Sinha, S., Harding, S. E., & Roy, I. (2020). Natural Biomaterials for Cardiac Tissue Engineering: A Highly Biocompatible Solution. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 7, 554597. <https://doi.org/10.3389/FCVM.2020.554597>

- Malikmammadov, E., Tanir, T. E., Kiziltay, A., Hasirci, V., & Hasirci, N. (2018). PCL and PCL-based materials in biomedical applications. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 29(7–9), 863–893. <https://doi.org/10.1080/09205063.2017.1394711>
- Mir, M., Murtaza, -, Ali, N., Barakullah, A., Gulzar, A., Arshad, - Munam, Fatima, S., & Asad, M. (2018). Synthetic polymeric biomaterials for wound healing: a review. *Progress in Biomaterials*, 7, 1–21. <https://doi.org/10.1007/s40204-018-0083-4>
- Muralidharan, N., Jeya Shakila, R., Sukumar, D., & Jeyasekaran, G. (2013). Skin, bone and muscle collagen extraction from the trash fish, leather jacket (*Odonus niger*) and their characterization. *Journal of Food Science and Technology*, 50(6), 1106–1113. <https://doi.org/10.1007/S13197-011-0440-Y/FIGURES/4>
- Nauth, A., McKee, M. D., Einhorn, T. A., Watson, J. T., Li, R., & Schemitsch, E. H. (2011). Managing bone defects. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 25(8), 462–466. <https://doi.org/10.1097/BOT.0B013E318224CAF0>
- Nelson, M. T., Keith, J. P., Li, B. B., Stocum, D. L., & Li, J. (2012). Electrospun composite polycaprolactone scaffolds for optimized tissue regeneration. <Http://Dx.Doi.Org/10.1177/1740349912450828>, 226(3), 111–121. <https://doi.org/10.1177/1740349912450828>
- O’Leary, C., Gilbert, J. L., O’Dea, S., O’Brien, F. J., & Cryan, S. A. (2015). Respiratory Tissue Engineering: Current Status and Opportunities for the Future. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, 21(4), 323–344. <https://doi.org/10.1089/TEN.TEB.2014.0525>
- Oleksy, M., Dynarowicz, K., & Aebisher, D. (2023). Advances in Biodegradable Polymers and Biomaterials for Medical Applications—A Review. *Molecules*, 28(17). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28176213>
- Pai B, G., Kulkarni, A. V., & Jain, S. (2017). Study of smart antibacterial PCL-xFe3O4 thin films using mouse NIH-3T3 fibroblast cells in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 105(4), 795–804. <https://doi.org/10.1002/JBM.B.33615>

- Pallela, R., Venkatesan, J., Janapala, V. R., & Kim, S. K. (2012). Biophysicochemical evaluation of chitosan-hydroxyapatite-marine sponge collagen composite for bone tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, *100A*(2), 486–495. <https://doi.org/10.1002/JBM.A.33292>
- Parisi, J. R., Fernandes, K. R., Avanzi, I. R., Dorileo, B. P., Santana, A. F., Andrade, A. L., Gabbai-Armelin, P. R., Fortulan, C. A., Trichês, E. S., Granito, R. N., & Renno, A. C. M. (2019). Incorporation of Collagen from Marine Sponges (Spongin) into Hydroxyapatite Samples: Characterization and In Vitro Biological Evaluation. *Marine Biotechnology*, *21*(1), 30–37. <https://doi.org/10.1007/S10126-018-9855-Z/FIGURES/6>
- Park, D., Park, J., Lee, J., Shim, C. J., Kim, M. S., Lee, T. Y., & Lim, J. O. (2021). Fabrication and Characterization of Graphene Oxide-Coated Plate for Efficient Culture of Stem Cells. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, *18*(5), 775–785. <https://doi.org/10.1007/S13770-021-00370-Z/METRICS>
- Percival, K. M., Paul, V., & Hussein, G. A. (2024). Recent Advancements in Bone Tissue Engineering: Integrating Smart Scaffold Technologies and Bio-Responsive Systems for Enhanced Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences* *2024*, Vol. *25*, Page *6012*, *25*(11), 6012. <https://doi.org/10.3390/IJMS25116012>
- Pezzotti, G., Enomoto, Y., Zhu, W., Boffelli, M., Marin, E., & McEntire, B. J. (2016). Surface toughness of silicon nitride bioceramics: I, Raman spectroscopy-assisted micromechanics. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *54*, 328–345. <https://doi.org/10.1016/J.JMBBM.2015.09.036>
- Phan, T. C. A., Xu, J., & Zheng, M. H. (2004). Interaction between osteoblast and osteoclast: impact in bone disease. *Histology and Histopathology*. <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/21643>
- Pozzolini, M., Bruzzone, F., Berilli, V., Mussino, F., Cerrano, C., Benatti, U., & Giovine, M. (2012). Molecular Characterization of a Nonfibrillar Collagen

- from the Marine Sponge *Chondrosia reniformis* Nardo 1847 and Positive Effects of Soluble Silicates on Its Expression. *Marine Biotechnology*, 14(3), 281–293. <https://doi.org/10.1007/S10126-011-9415-2/FIGURES/6>
- Qian, G., Fan, P., He, F., & Ye, J. (2019). Novel Strategy to Accelerate Bone Regeneration of Calcium Phosphate Cement by Incorporating 3D Plotted Poly(lactic-co-glycolic acid) Network and Bioactive Wollastonite. *Advanced Healthcare Materials*, 8(9). <https://doi.org/10.1002/ADHM.201801325>
- Qiu, L., Zhu, Z., Peng, F., Zhang, C., Xie, J., Zhou, R., Zhang, Y., & Li, M. (2022). Li-Doped Ti Surface for the Improvement of Osteointegration. *ACS Omega*, 7(14), 12030–12038. https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.2C00229/SUPPL_FILE/AO2C00229_SI_001.PDF
- Ricci, A., Cataldi, A., Zara, S., & Gallorini, M. (2022a). Graphene-Oxide-Enriched Biomaterials: A Focus on Osteo and Chondroinductive Properties and Immunomodulation. *Materials*, 15(6). <https://doi.org/10.3390/MA15062229>
- Rodríguez Félix, D. E., Quiroz Castillo, J. M., Castillo Ortega, M. M., Lizárraga Laborín, L. L., García Duarte, T., García Bedoya, D., Cruz Campas, M. E., Ramírez Leal, R., & Herrera Franco, P. J. (2017). Degradación acelerada de películas de polietileno con quitosano compatibilizadas con anhídrido maléico. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 33(Special Issue 1), 99–107. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.ESP02.10>
- Rotbaum, Y., Puiu, C., Rittel, D., & Domingos, M. (2019). Quasi-static and dynamic in vitro mechanical response of 3D printed scaffolds with tailored pore size and architectures. *Materials Science and Engineering: C*, 96, 176–182. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2018.11.019>
- Sai Nievethitha, S., Subhpradha, N., Saravanan, D., Selvamurugan, N., Tsai, W. B., Srinivasan, N., Murugesan, R., & Moorthi, A. (2017). Nanoceramics on osteoblast proliferation and differentiation in bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 67–74. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.01.089>
- Salamanca, E., Hsu, C. C., Huang, H. M., Teng, N. C., Lin, C. T., Pan, Y. H., &

- Chang, W. J. (2018). Bone regeneration using a porcine bone substitute collagen composite in vitro and in vivo. *Scientific Reports* 2018 8:1, 8(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19629-y>
- Saleem, M., Rasheed, S., & Yougen, C. (2020). Silk fibroin/hydroxyapatite scaffold: a highly compatible material for bone regeneration. *Science and Technology of Advanced Materials*, 21(1), 242–266. <https://doi.org/10.1080/14686996.2020.1748520>
- Sasaki, J.-I., Abe, G. L., Li, A., Thongthai, P., Tsuboi, R., Kohno, T., & Imazato, S. (2021). Barrier membranes for tissue regeneration in dentistry. *Biomaterial Investigations in Dentistry*, 8(1), 54. <https://doi.org/10.1080/26415275.2021.1925556>
- Schemitsch, E. H. (2017). Size Matters: Defining Critical in Bone Defect Size! *Journal of Orthopaedic Trauma*, 31, S20–S22. <https://doi.org/10.1097/BOT.0000000000000978>
- Seo, G. Y., Thoma, D. S., Jung, U. W., & Lee, J. S. (2019). Increasing the tissue thickness at implant sites using guided bone regeneration and an additional collagen matrix: Histologic observations in beagle dogs. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 107(3), 741–749. <https://doi.org/10.1002/JBM.B.34168>
- Sripriya, R., & Kumar, R. (2015). A Novel Enzymatic Method for Preparation and Characterization of Collagen Film from Swim Bladder of Fish Rohu (<i><i>Labeo rohita</i></i>). *Food and Nutrition Sciences*, 06(15), 1468–1478. <https://doi.org/10.4236/FNS.2015.615151>
- Šromová, V., Sobola, D., & Kaspar, P. (2023). A Brief Review of Bone Cell Function and Importance. *Cells*, 12(21), 2576. <https://doi.org/10.3390/CELLS12212576>
- Sussman, E. M., Halpin, M. C., Muster, J., Moon, R. T., & Ratner, B. D. (2014). Porous implants modulate healing and induce shifts in local macrophage polarization in the foreign body reaction. *Annals of Biomedical Engineering*, 42(7), 1508–1516. <https://doi.org/10.1007/S10439-013-0933-0/FIGURES/4>
- Suvarnapathaki, S., Wu, X., Zhang, T., Nguyen, M. A., Goulopoulos, A. A., Wu,

- B., & Camci-Unal, G. (2022). Oxygen generating scaffolds regenerate critical size bone defects. *Bioactive Materials*, 13, 64–81. <https://doi.org/10.1016/J.BIOACTMAT.2021.11.002>
- Teymouri, S., Calejo, M. T., Hiltunen, M., Sorkio, A., Juuti-Uusitalo, K., Skottman, H., & Kellomäki, M. (2017). Collagen-immobilized polyimide membranes for retinal pigment epithelial cell adherence and proliferation. *Cogent Chemistry*, 3(1), 1292593. <https://doi.org/10.1080/23312009.2017.1292593>
- Thukkaram, M., Vaidulych, M., Kylián, O., Hanuš, J., Rigole, P., Aliakbarshirazi, S., Asadian, M., Nikiforov, A., Van Tongel, A., Biederman, H., Coenye, T., Du Laing, G., Morent, R., De Wilde, L., Verbeken, K., & De Geyter, N. (2020). Investigation of Ag/a-C:H Nanocomposite Coatings on Titanium for Orthopedic Applications. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 12(21), 23655–23666. https://doi.org/10.1021/ACSAMI.9B23237/SUPPL_FILE/AM9B23237_SI_001.PDF
- Traser, L., Birkholz, P., Viktoria Flügge, T., Kamberger, R., Burdumy, M., Richter, B., Gerrit Korvink, J., & Echternach, M. (2010). Relevance of the Implementation of Teeth in Three-Dimensional Vocal Tract Models. *Lindblom & Sundberg*. <https://doi.org/10.23641/asha>
- Tryggvason, K., & Patrakka, J. (2009). Alport's Disease and Thin Basement Membrane Nephropathy. *Genetic Diseases of the Kidney*, 77–96. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-449851-8.00004-8>
- Tylek, T., Blum, C., Hrynevich, A., Schlegelmilch, K., Schilling, T., Dalton, P. D., & Groll, J. (2020). Precisely defined fiber scaffolds with 40 μm porosity induce elongation driven M2-like polarization of human macrophages. *Biofabrication*, 12(2), 025007. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/AB5F4E>
- Uskoković, V., Janković-Častvan, I., & Wu, V. M. (2019). Bone Mineral Crystallinity Governs the Orchestration of Ossification and Resorption during Bone Remodeling. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 5(7), 3483–3498. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b00255>
- Valencia-Llano, C. H., López-Tenorio, D., & Grande-Tovar, C. D. (2022).

- Biocompatibility Assessment of Two Commercial Bone Xenografts by In Vitro and In Vivo Methods. *Polymers* 2022, Vol. 14, Page 2672, 14(13), 2672. <https://doi.org/10.3390/POLYM14132672>
- Wang, D., Jang, J., Kim, K., Kim, J., & Park, C. B. (2019). “tree to Bone”: Lignin/Polycaprolactone Nanofibers for Hydroxyapatite Biomineralization. *Biomacromolecules*, 20(7), 2684–2693. https://doi.org/10.1021/ACS.BIOMAC.9B00451/SUPPL_FILE/BM9B00451_SI_001.PDF
- <https://doi.org/10.3760/CMA.J.CN112144-20231127-00269>
- Wang, W., Zhou, X., Yin, Z., & Yu, X. (2023a). Fabrication and Evaluation of Porous dECM/PCL Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(7), 343. <https://doi.org/10.3390/JFB14070343/S1>
- Wang, W., Zhou, X., Yin, Z., & Yu, X. (2023b). Fabrication and Evaluation of Porous dECM/PCL Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(7), 343. <https://doi.org/10.3390/JFB14070343/S1>
- Wang, X., Wu, P., Hu, X., You, C., Guo, R., Shi, H., Guo, S., Zhou, H., Chaocheng, Y., Zhang, Y., & Han, C. (2016). Polyurethane membrane/knitted mesh-reinforced collagen-chitosan bilayer dermal substitute for the repair of full-thickness skin defects via a two-step procedure. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 56, 120–133. <https://doi.org/10.1016/J.JMBBM.2015.11.021>
- Wang, X. Y., Richter, M., He, Y., Björk, J., Riss, A., Rajesh, R., Garnica, M., Hennersdorf, F., Weigand, J. J., Narita, A., Berger, R., Feng, X., Auwärter, W., Barth, J. V., Palma, C. A., & Müllen, K. (2017). Exploration of pyrazine-embedded antiaromatic polycyclic hydrocarbons generated by solution and on-surface azomethine ylide homocoupling. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-017-01934-1>
- Wise, S. G., Yeo, G. C., Hiob, M. A., Rnjak-Kovacina, J., Kaplan, D. L., Ng, M. K. C., & Weiss, A. S. (2014). Tropoelastin - a versatile, bioactive assembly module. *Acta Biomaterialia*, 10(4), 1532. <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2013.08.003>

- Wu, M., Cronin, K., & Crane, J. S. (2023). Biochemistry, Collagen Synthesis. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507709/>
- Wu, Q., Wang, X., Jiang, F., Zhu, Z., Wen, J., & Jiang, X. (2020). Study of Sr-Ca-Si-based scaffolds for bone regeneration in osteoporotic models. *International Journal of Oral Science*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/S41368-020-00094-1>
- Xing, H., Wang, X., Xiao, G., Zhao, Z., Zou, S., Li, M., Richardson, J. J., Tardy, B. L., Xie, L., Komasa, S., Okazaki, J., Jiang, Q., Yang, G., & Guo, J. (2020). Hierarchical assembly of nanostructured coating for siRNA-based dual therapy of bone regeneration and revascularization. *Biomaterials*, 235, 119784. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2020.119784>
- Xu, N., Peng, X. L., Li, H. R., Liu, J. X., Cheng, J. S. Y., Qi, X. Y., Ye, S. J., Gong, H. L., Zhao, X. H., Yu, J., Xu, G., & Wei, D. X. (2021). Marine-Derived Collagen as Biomaterials for Human Health. *Frontiers in Nutrition*, 8, 702108. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.702108>
- Xue, N., Ding, X., Huang, R., Jiang, R., Huang, H., Pan, X., Min, W., Chen, J., Duan, J. A., Liu, P., & Wang, Y. (2022a). Bone Tissue Engineering in the Treatment of Bone Defects. *Pharmaceuticals*, 15(7). <https://doi.org/10.3390/PH15070879>
- Xue, N., Ding, X., Huang, R., Jiang, R., Huang, H., Pan, X., Min, W., Chen, J., Duan, J. A., Liu, P., & Wang, Y. (2022b). Bone Tissue Engineering in the Treatment of Bone Defects. *Pharmaceuticals*, 15(7). <https://doi.org/10.3390/PH15070879>
- Yamamoto, K., Yoshizawa, Y., Yanagiguchi, K., Ikeda, T., Yamada, S., & Hayashi, Y. (2015). The Characterization of Fish (Tilapia) Collagen Sponge as a Biomaterial. *International Journal of Polymer Science*, 2015(1), 957385. <https://doi.org/10.1155/2015/957385>
- Yang, Z., Wu, C., Shi, H., Luo, X., Sun, H., Wang, Q., & Zhang, D. (2022). Advances in Barrier Membranes for Guided Bone Regeneration Techniques. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2022.921576>

- Ye, B., Wu, B., Su, Y., Sun, T., & Guo, X. (2022). Recent Advances in the Application of Natural and Synthetic Polymer-Based Scaffolds in Musculoskeletal Regeneration. *Polymers* 2022, Vol. 14, Page 4566, 14(21), 4566. <https://doi.org/10.3390/POLYM14214566>
- Yin, Y., He, X. T., Wang, J., Wu, R. X., Xu, X. Y., Hong, Y. L., Tian, B. M., & Chen, F. M. (2020). Pore size-mediated macrophage M1-to-M2 transition influences new vessel formation within the compartment of a scaffold. *Applied Materials Today*, 18, 100466. <https://doi.org/10.1016/J.APMT.2019.100466>
- Zhan, Y., Deng, B., Wu, H., Xu, C., Wang, R., Li, W., & Pan, Z. (2021). Biomaterialized Composite Liquid Crystal Fiber Scaffold Promotes Bone Regeneration by Enhancement of Osteogenesis and Angiogenesis. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.736301>
- Zheng, Y., Liu, J., Lu, X., & Li, Y. (2020). Shape Memory Biomaterials and Their Clinical Applications. *Biomedical Materials: Second Edition*, 195–255. https://doi.org/10.1007/978-3-030-49206-9_5/FIGURES/48
- Zhu, Y., Murali, S., Cai, W., Li, X., Suk, J. W., Potts, J. R., & Ruoff, R. S. (2010). Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties, and Applications. *Advanced Materials*, 22(35), 3906–3924. <https://doi.org/10.1002/ADMA.201001068>

9. ANEXOS

GRUPOS FUNCIONALES DE FTIR Y RAMAN

BIBLIOTECA DIGITAL:

IR Table

<https://www.chem.ucla.edu/~bacher/General/30BL/IR/ir.html>

LibreTextsCHEMISTRY

https://chem.libretexts.org/Ancillary_Materials/Reference/Reference_Tables/Spectroscopic_Reference_Tables/Infrared_Spectroscopy_Absorption_Table

InstaNANO

<https://instanano.com/all/characterization/ftir/ftir-functional-group-search/>

ThermoFisher scietific

<https://www.thermofisher.com/blog/materials/a-gift-for-you-an-ftir-basic-organic-functional-group-reference-chart/>