



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
**Facultad de Estomatología**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**  
Maestría en Estomatología con Opción en Terminal en Rehabilitación Oral

**“ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ESPONJAS DE ALMIDÓN CON  
SIMVASTATINA Y BETA FOSFATO TRICÁLCICO PARA LA OSTEOINDUCCIÓN”**

**Tesis que para obtener el título de**  
Maestría en Estomatología con Opción en Terminal en Rehabilitación Oral

**Presenta:**

Claudia Michelle Arduser Villanueva  
Matrícula: 223450017

**Directora de Tesis:**

D.C. Julia Flores Tochiuitl  
I.D. 100228022

**Director Disciplinario:**

MRI. Guillermo Franco Romero  
I.D. 100526470

**Directora Metodológica:**

D.C. María de los Angeles Moyaho Bernal  
I.D.100289266

**Asesora Externa:**

D.C. Olivia Hernández Cruz  
ID. 537335

JUNIO 2025



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
**Facultad de Estomatología**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**  
Maestría en Estomatología con Opción en Terminal en Rehabilitación Oral

**“ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ESPONJAS DE ALMIDÓN CON  
SIMVASTATINA Y BETA FOSFATO TRICÁLCICO PARA LA OSTEOINDUCCIÓN”**

**Tesis que para obtener el título de**  
Maestría en Estomatología con Opción en Terminal en Rehabilitación Oral

**Presenta:**

Claudia Michelle Arduser Villanueva  
Matrícula: 223450017

**Directora de Tesis:**

D.C. Julia Flores Tochiuitl  
I.D. 100228022

**Director Disciplinario:**

MRI. Guillermo Franco Romero  
I.D. 100526470

**Directora Metodológica:**

D.C. María de los Angeles Moyaho Bernal  
I.D.100289266

**Asesora Externa:**

D.C. Olivia Hernández Cruz  
ID. 537335

JUNIO 2025



**BUAP**

Oficio No. FESIEP/CIFE/085/2025

C. Claudia Michelle Arduser Villanueva  
Estudiante de la Maestría en Estomatología con opción en Terminal en Rehabilitación Oral  
Matrícula No.: 223450017  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla  
**PRESENTE**

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, en mi doble calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado y Presidenta del Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; aprovecho para felicitarla por el avance significativo en su proceso académico. En atención a su solicitud, me permito notificarle que su tesis titulada:

"Elaboración y caracterización de esponjas de almidón con simvastatina y beta fosfato tricálcico para la osteoinducción"

ha recibido la aprobación oficial para su impresión.

Su trabajo ha sido registrado en el Libro de Registros No. 09, página 01, con el No. de Asignación 2024-232, quedando debidamente documentado en esta Secretaría de Investigación. Esta tesis será presentada como parte del procedimiento para su examen profesional, necesaria para obtener el grado de Maestría en Estomatología.

Próximos pasos:

1. *Impresión de la tesis:* Proceda con los trámites de impresión conforme a los lineamientos establecidos por la Facultad.
2. *Revisión del documento:* Asegúrese de que el texto cumpla con los estándares académicos y formales.
3. *Coordinación del examen profesional:* Comuníquese con el Responsable de la Etapa Terminal de la Maestría de su elección para programar su examen de grado y gestionar los trámites administrativos correspondientes.

Le recordamos que el cumplimiento de los plazos y requisitos establecidos es fundamental para garantizar la fluidez del proceso.

Reconocimiento y mensaje final:

Este logro refleja su esfuerzo, dedicación y el impacto de su investigación en el ámbito de la Estomatología. Le felicitamos por este avance significativo y confiamos en que continuará demostrando su compromiso académico y profesional.

Para cualquier consulta o información adicional, no dude en comunicarse con nosotros. Estamos a su disposición para acompañarla en esta etapa crucial de su formación.

Sin otro particular, le reitero mi más atenta y distinguida consideración y le deseo éxito en la etapa final de esta carrera académica.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a lunes 23 de junio

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología

\*Nota: Se anexa Formato de Impresión de Tesis - C. Claudia Michelle Arduser Villanueva - Maestría en Estomatología - Terminal en Rehabilitación Oral - S.I.E.P. - Facultad de Estomatología - B.U.A.P. (original) - p.s.c. y a.

\*C.p. Archivo

\*MCO. FJMA/MEP. GHRCC/yanazh

Secretaría de Investigación y  
Estudios de Posgrado  
Facultad de  
Estomatología

31 poniente 1304, Col. Volcanes  
Puebla, Pue.  
C.P. 72410  
Tel. Of. 22'22 29 55 00  
Ext. 5526

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
**FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA**  
**SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL**

Para obtener el Grado de: Maestría en Estomatología con opción en Terminal en Rehabilitación Oral.

No. Registro CIFE: 2024232      Fecha de Registro ante CIFE: lunes 22 de enero del 2024.

Título de la Tesis: "Elaboración y caracterización de esponjas de almidón con simvastatina y beta fosfato tricálcico para la osteoinducción"

**Nombre del estudiante:** Claudia Michelle Arduser Villanueva.      **Matrícula:** 223450017.

**Domicilio:** Av. 29 Pte. #507, Puebla.

**No. Cel.:** 68\*65 42 31 94.

**Fecha de ingreso a la Facultad:** lunes 22 de enero del 2024.

**Firma:** 

**Directora de Tesis:** DC. Julia Flores Tochiuhitl.

**Grado académico:** Doctora en Ciencias Químico-Biológicas.

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100228022.

**No. Cel.** 22\*25 46 67 11.

**Firma:** 

**Director Disciplinario:** MEII. Guillermo Franco Romero.

**Grado académico:** Maestría en Estomatología Integral

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100526470.

**No. Cel.** 22\*22 12 06 57.

**Firma:** 

**Director Metodológico:** DC. María de los Ángeles Moyaho Bernal. **Grado académico:** Doctor en Ciencias de la Salud

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100289266.

**No. Cel.** 22\*22 78 88 41.

**Firma:** 

**Asesora Externa:** DC. Olivia Hernández Cruz.

**Grado académico:** Doctora en Ciencias.

**Adscripción:** Facultad de Ciencias Químicas BUAP.

**ID:** COL537335.

**No. Cel.** 553 454 1006.

**Firma:** 

**Lectora:** MC. Adriana Martínez Hernández.

**Grado académico:** Maestra en Ciencias Médicas e Investigación.

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100483611

**No. Cel.** 22\*21 93 77 73.

**Firma:** 

**Nombre y firma de aprobación por parte del Responsable de la Maestría en Estomatología en Terminal en Rehabilitación Oral.**

MEII. Guillermo Franco Romero

**Firma:** 

**La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado**

Facultad de Estomatología,

**Autoriza la impresión de la Tesis.**

MEP. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana



**Fecha oficial de emisión:** lunes 23 de junio del 2025.



**BUAP**

Constancia No. FESIEP/CIFE/003/2024

DC. Julia Flores Tochiuhitl  
Responsable del Proyecto de Investigación  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla  
PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo la que suscribe MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana en mi calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, y tras un detenido análisis y evaluación en el Proyecto de Investigación (Colectiva):

Nombre del Título del Proyecto:

"Elaboración y caracterización de esponjas de almidón con simvastatina y beta fosfato tricálcico para la osteoinducción"

Presentado por:

No.	Cargos	Nombres	ID y/o Matricula
1	Responsable del Proyecto de Investigación:	DC. Julia Flores Tochiuhitl	109228022
2	Director Metodológica:	DC. María de los Ángeles Moyaha Bernal	100289266
3	Director Disciplinario:	MEI. Guillermo Franco Romero	100526470
4	Asesora Externa:	Dra. Olivia Hernández Cruz Facultad de Ciencias Químicas BUAP	COL537335
5	Estudiante de Maestría en Estomatología: Terminal en Rehabilitación Oral	C. Claudia Michelle Arduser Villanueva	223450017

HAGO CONSTAR que, ha sido oficialmente ACEPTADO. Este relevante proyecto ha sido registrado ante el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.), inscrito en el libro de registros No. 09, página 01, bajo el No. de asignación 2024232, en la Secretaría de Investigación de esta Unidad Académica.

Para los fines legales que los interesados convengan, y sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a lunes 22 de enero del 2024

  
MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana,  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología





\*C.c.p. Archivo  
\*MCO. FJMA/MEP. GHRCQ/\*\*\*\*\*

Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología  
31 poniente 1304, Col. Volcanes  
Puebla, Pue.  
C.P. 72410  
Tel. Of. 22\*22 29 55 00  
Ext. 5526

# Michelle Arduser

## tesis

 Quick Submit

 Quick Submit

 JSEI

### Document Details

Submission ID

trn:oid::1:3274327270

Submission Date

Jun 11, 2025, 4:24 PM CST

Download Date

Jun 11, 2025, 4:36 PM CST

File Name

TESIS\_FINAL-MICHELLE.A.docx

File Size

16.4 MB

78 Pages

13,138 Words

74,026 Characters

Activar Wir  
Ve a Configur



Page 2 of 81 - Integrity Overview

Submission ID trn:oid::1:3274327270


## 9% Overall Similarity


The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.


### Filtered from the Report

- ▶ Bibliography
- ▶ Small Matches (less than 15 words)

### Top Sources

3%  Internet sources

0%  Publications

9%  Submitted works (Student Papers)



Otorgan la presente a:

# CONSTANCIA

a

**Arduser Villanueva Claudia Michelle**

Por haber sido *ganadora* en la Competencia Hatton de la Categoría Senior en el 3er Congreso de la International Association of Dental and craniofacial Research (IADR), División Mexicana 2025.

Con el trabajo: "*Starch-Based Polymeric Sponges to Promote Osteoinduction*"

Coautores: Julia Flores Tochiuitl, Olivia Hernández Cruz, Maria de los Angeles Moyaho, Guillermo Franco Romero

Cancún, Quintana Roo, a 28 de mayo de 2025.

Dra. Laura Susana Acosta Torres  
Presidenta  
IADR División Mexicana

Dra. Maria del Carmen Villanueva Vilchis  
Secretaria/Tesorera  
IADR División Mexicana





Otorgan la presente a:

# CONSTANCIA

a

**Arduser Villanueva Claudia Michelle**

Por su participación como **finalista** de la Competencia Hatton de la Categoría Senior en el 3er Congreso de la International Association of Dental and craniofacial Research (IADR), División Mexicana 2025.

Con el trabajo: *"Starch-Based Polymeric Sponges to Promote Osteoinduction"*

Coautores: Julia Flores Tochiuitl, Olivia Hernández Cruz, María de los Angeles Moyaho, Guillermo Franco Romero

**Cancún, Quintana Roo, a 28 de mayo de 2025.**

Dra. Laura Susana Acosta Torres  
Presidenta  
IADR División Mexicana

Dra. María del Carmen Villanueva Vilchis  
Secretaria/Tesorera  
IADR División Mexicana





**INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR DENTAL, ORAL AND CRANIOFACIAL  
RESEARCH, DIVISIÓN MEXICANA**

**Arduser Villanueva Claudia Michelle**

Estimada ponente:

A través de este medio tenemos el agrado de informarle que su trabajo de investigación titulado "Starch-Based Polymeric Sponges to Promote Osteoinduction", en el cual participan como coautores: Julia Flores Tochiuitl, Olivia Hernández Cruz, Maria de los Angeles Moyaho, Guillermo Franco Romero, con número de registro **IADR-HCSB011**, ha sido **APROBADO** para ser presentado en modalidad **Presentación Oral** en el Tercer Congreso de la Asociación Internacional para la Investigación Dental, Oral y Craneofacial División Mexicana, que se llevará a cabo del 25-29 de mayo de 2025 en el Hotel Hilton Cancún, Riviera Maya.

Así mismo, le recordamos que, para presentar, es necesario ser miembro activo de la IADR (para afiliarse o renovar su membresía vaya a la página <https://www.iadr.org/membership>) y realizar el pago de la cuota y registro al evento.

Agradecemos su interés y asistencia a este gran evento.  
**ATENTAMENTE**

Comité Organizador de la División Mexicana de la IADR



INTERNATIONAL ASSOCIATION  
FOR DENTAL, ORAL, AND  
CRANIOFACIAL RESEARCH



Federación Mexicana de Facultades y Escuelas de Odontología

Otorgan la presente  
**Constancia**

a:

**Arduser Villanueva Claudia Michelle**

Por haber sido seleccionado como *finalista en la categoría Senior* de la Competencia Hatton 2025, *Zona Centro*, realizada en la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla UPAEP.

**Coautores**

Julia Flores Tochiuhuitl, Olivia Hernández Cruz, María de los Angeles Moyaho, Guillermo Franco Romero

Puebla de Zaragoza, Puebla a 18 de marzo de 2025.

Dra. Laura Susana Acosta Torres  
Presidenta  
IADR División Mexicana

Dra. María del Carmen Villanueva Vilchis  
Secretaria/Tesorera  
IADR División Mexicana

Dr. Gabriel Hornedo Guillén  
Director Facultad de Odontología UPAEP



**INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR DENTAL, ORAL AND CRANIOFACIAL  
RESEARCH, DIVISIÓN MEXICANA  
CONCURSO HATTON ELIMINATORIA CENTRO**

**Arduser Villanueva Claudia Michelle**

Estimada ponente:

A través de este medio tenemos el agrado de informarle que su trabajo de investigación titulado "Starch-Based Polymeric Sponges to Promote Osteoinduction" en el cual participan como coautores: Julia Flores Tochihuitl, Olivia Hernández Cruz, Maria de los Angeles Moyaho, Guillermo Franco Romero, ha sido **Aceptado**, quedando registrado con el código **IADR-HCSB011** para ser presentado en inglés en modalidad **PRESENTACIÓN ORAL** dentro de la eliminatoria zona **Centro** del CONCURSO HATTON el **18 de marzo de 2025** a las **11:10** en la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla UPAEP /Aula T-252.

Esta eliminatoria se realizará previo a la final que tendrá lugar del 25 al 29 de mayo de 2025 en el Hotel Hilton Cancún, Riviera Maya durante el Tercer Congreso de la Asociación Internacional para la Investigación Dental, Oral y Craneofacial División Mexicana.

Asimismo, le recordamos que, para presentar, es necesario ser miembro activo de la IADR (para afiliarse o renovar su membresía vaya a la página <https://www.iadr.org/membership>) y realizar el pago de la cuota y registro al evento.

Agradecemos su interés y asistencia a este gran evento.

**ATENTAMENTE**

Comité Organizador de la División Mexicana de la IADR



## Carta Aceptación

15 de Enero de 2025

**Apreciable Autor,**

Tenemos el placer de informarle de que su contribución **ID-1150** con el título **Espojas de almidón reparadoras de tejidos** ha sido **Aceptado para ser publicado** en nuestra revista de divulgación.

A continuación se enlistan los autores de la publicación.

- 1) Claudia Michelle Arduser Villanueva
- 2) María de los Ángeles Moyaho Bernal
- 3) Guillermo Franco Romero
- 4) Olivia Hernández Cruz
- 5) Julia Flores Tochiuitl

Felicitaciones por su excelente trabajo y su esfuerzo para divulgar la

Atentamente,

Editor en Jefe  
Revista **Ciencia**  
*y Naturaleza*

[www.revistacyn.com](http://www.revistacyn.com)





**BUAP**<sup>®</sup>



**La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**

A través del  
**Instituto de Ciencias**  
otorga la presente

**Constancia**

A: **Claudia Michelle Arduser Villanueva**

Por haber obtenido el 1º lugar en el **"Concurso de Fotografía Científica 2024** en marco del 10º Aniversario de RD-ICUAP que se llevó a cabo el 27 de agosto del año en curso.



*"Pensar bien, para vivir mejor"*  
H. Puebla de Z., a 29 de agosto de 2024.

**Dra. Carolina Morán Raya**  
Directora

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al programa **CONACYT** por el apoyo durante el posgrado para poder desarrollar y aprender en esta etapa.

A mi comité: las doctoras **Julia Flores, Olivia Hernández, Angeles Moyaho** y el doctor **Guillermo Franco**, gracias por confiar en este proyecto, con sus observaciones y su dedicación, moldeamos este trabajo para lo que hoy hemos logrado, con la esperanza de que no termine aquí.

Gracias especialmente a la doctora **Julia** por su tiempo para resolver mis dudas, por escucharme, por siempre recibirme y también mandarme a casa cuando ya era necesario, gracias por brindarnos un espacio y un equipo de trabajo como el laboratorio multidisciplinario, es un privilegio trabajar con usted y reconocer la entrega, apoyo y pasión que le dedica a cada proyecto.

Agradezco a la **Benemérita Universidad Autónoma de Puebla** y al **Posgrado de Rehabilitación Oral**, que me abrió las puertas a un mundo que yo no conocía, que me ofreció un equipo de docentes los cuales forman parte de mi crecimiento el día de hoy y me han formado profesional como personalmente. Gracias por el conocimiento que he adquirido a raíz de esto, para enriquecer y complementar mi educación científica y humana. Me cumplieron un sueño y me abrieron tantas puertas para cumplir incluso aquellos sueños que desconocía tener. **BUAP** me dejé satisfecha, feliz y plena con mi trayecto, doy cierre una etapa que ha marcado mi vida y que hoy mi corazón desearía aplazar.

Gracias a cada uno de mis pacientes que me dieron la oportunidad y la confianza de crecer con su ayuda.

Agradezco a quienes hacen funcionar la clínica de *Rehabi*, en especial aquellos que abogan por nosotros y se encarga de que todo equipo funcione pero que también alivianan los días largos con pláticas que nos regalan sonrisas.

A las generaciones de pasantes que nos acompañan en estos años y sobre todo, aquellos que nos dan la oportunidad de compartir el conocimiento, a quienes nos echan porras y forman parte del equipo, **Ximena**, muchas gracias por tu amistad.

Gracias a mis hermanos mayores, por compartir su experiencia y ayudarme a no tropezar con los mismos errores, pero también por instruirme en aquellos aciertos. **Ariel**, gracias por impulsarme y acompañarme en estas últimas metas que no eran parte del plan, es bonito verte crecer y darme cuenta de que nunca hemos dejado de estar.

A mi muchachito **José**, gracias por ser mi mejor amigo y compañero de viaje, por compartir cada momento, anécdota, aventura, logro, lágrima y cada risa, por la honestidad con la que construimos este equipo deseando que siempre le fuera mejor al otro, gracias por cuidarme y recordarme que esto no termina aquí.

Gracias a aquellas personas que se vuelven familia en este camino, a la doctora **Anita** que se convirtió en esa amiga y confidente pero también en ese abrazo cuando mamá estaba lejos y a mi papá poblano, el doctor **Guillermo Franco**, gracias por tantas lecciones, pláticas, consejos, regaños y jalones de oreja, por enseñarme cómo puede ser el mundo y que es más bonito aprender de él teniendo cerca a las personas correctas, gracias por brindarme su apoyo en todo momento y por enseñarme lo que pasa cuando alguien se vuelve indispensable, espero haberles dejado un poquito de lo mucho que me han dado, los quiero muchísimo.

Gracias a mis pilares, **mamita y papá Jous**, por apoyarme desde el día 1, por confiar en mí, por aligerar mi carga y darme la oportunidad y las herramientas necesarias para emprender este viaje. A Dalí, mi **hermanito** que conoce mis luchas, mis esfuerzos y mis victorias, quien me ha acompañado siempre y me regaló a una **hermana** para

también compartirlo con ella, gracias a ustedes mi espacio en Puebla se convirtió en un hogar.

Gracias a mis amigos y amigas que me acompañan a pesar de la distancia, a todos esos ángeles que Dios me ha enviado, aquellos que perdí en el camino y hoy descansan, a los estuvieron y los que continúan conmigo.

**Todos ustedes son el apoyo emocional y la motivación para lo que uno hace.**

## DEDICATORIA

A mi mayor tesoro, mi doctora favorita, a mi abuelita, gracias por ser un gran ejemplo de vida y sabiduría, por enseñarnos que uno aprende todos los días y recordarme siempre que haga las cosas que me hagan feliz.

A mi tía Quetzi por ser la mujer más fuerte que he conocido y que sin duda estaría celebrando todo esto conmigo.

Esto es para ti, para la mujer más grande en mi vida, quien me ha enseñado que uno puede levantarse todos los días y volver a empezar, que todo es cuestión de determinación, convicción, actitud y mucha fe, te amo mamita, gracias por confiar en mí y ser mi porra más grande, pero sobre todo gracias a Dios porque hasta aquí nos ha acompañado.

## ÍNDICE

2. RESUMEN.....	21
3. INTRODUCCIÓN.....	23
4. PALABRAS CLAVE.....	25
5. ANTECEDENTES.....	26
5.1 ANTECEDENTES GENERALES.....	26
5.1.1 Regeneración ósea.....	26
5.1.2 Preservación alveolar.....	27
5.1.3 Biocompuestos (biocompósitos) .....	27
5.1.4 Andamios .....	28
5.1.5 Esponjas como andamios para la ingeniería tisular.....	28
5.1.6 Almidón.....	29
5.1.7 Fosfato de calcio: $\beta$ -fosfato tricálcico.....	29
5.1.8 Simvastatina .....	31
5.1.9 Pruebas de caracterización.....	34
5.1.10 Uso de microondas para la elaboración de esponjas.....	34
5.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	36
6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	40
7. JUSTIFICACIÓN .....	41
8. HIPÓTESIS.....	43
8.1 Científica.....	43
8.2 Nula.....	43
9. OBJETIVOS .....	44
9.1 General.....	44
9.2 Específicos.....	44
10. MATERIAL Y MÉTODOS.....	45
10.1 Diseño del estudio.....	45
10.2 Población y muestra.....	45
10.3 Criterios de selección de la muestra.....	45
10.3.1 Inclusión.....	45
10.3.2 Exclusión.....	46

10.3.3 Eliminación .....	46
10.4 Variables .....	46
10.5 Concordancia y fiabilidad .....	47
10.6 Ubicación espacio – temporal .....	48
10.7 Procedimientos, técnicas y fuentes de recolección .....	48
10.7.1 Reactivos .....	48
10.7.2 Técnica de elaboración de esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP .....	49
10.7.3 Pruebas de caracterización .....	50
10.8 Análisis estadístico.....	53
11. BIOÉTICA.....	55
12. RESULTADOS .....	56
12.1 Morfología superficial.....	56
12.2 FTIR .....	58
12.3 Porosidad.....	59
12.4 Absorción.....	59
12.5 Hidrofobicidad.....	61
12.6 Biodegradación .....	61
12.7 Resistencia a la compresión.....	62
13. DISCUSIÓN .....	64
14. CONCLUSIÓN.....	69
15. BIBLIOGRAFÍA.....	70

## **ABREVIATURAS**

ALM	Almidón
SVT	Simvastatina
$\beta$ -TCP	$\beta$ -Fosfato Tricálcico
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido
FTIR	Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier
PBS	Solución Salina Tamponada con Fosfato

## RESUMEN

**Introducción:** El cuerpo humano cuenta con la capacidad de autoinducir la regeneración de tejidos, sin embargo, este proceso puede verse limitado dependiendo de su origen o grado de defecto. Los andamios poliméricos como las esponjas en la ingeniería de tejidos son utilizadas como coadyuvantes que proporcionan soporte y funcionan como administradores y liberadores de fármacos.

**Materiales y métodos:** estudio experimental *in vitro*, mediante la técnica de uso de microondas se elaboraron esponjas de ALM, ALM/  $\beta$ -TCP, ALM/SVT, ALM/SVT/ $\beta$ -TCP y se realizaron pruebas de caracterización físicas, químicas y mecánicas.

**Resultados y discusión:** las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP se realizaron por medio de la técnica de microondas y presentaron características favorables de morfología, en cuanto a la rugosidad y porosidad para favorecer la adhesión celular y formación de vasos sanguíneos, alcanzaron hasta 43 días para su biodegradación, siendo prometedora para la liberación controlada del fármaco de SVT, su capacidad de absorción, entre otras características indican que la composición del andamio mediante la técnica de microondas sugiere propiedades prometedoras.

**Conclusión:** las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP son prometedoras para continuar con los estudios correspondientes como liberación controlada de fármacos, biocompatibilidad celular, pruebas en modelo animal, entre otras, para determinar la osteoinducción.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** The human body has the capacity to self-induce tissue regeneration; however, this process can be limited depending on the origin or degree of tissue defect. Polymeric scaffolds such as sponges are used in tissue engineering as adjuvants that provide support and function as drug delivery and release agents.

**Materials and methods:** An in vitro experimental study was carried out using microwave technology. Sponges made of starch, simvastatin and  $\beta$ -tricalcium phosphate were used, and physical, chemical, and mechanical characterization tests were performed.

**Results and Discussion:** Starch, simvastatin and  $\beta$ -tricalcium phosphate sponges were prepared using the microwave technique and presented favorable morphological characteristics, including roughness and porosity, which will benefit cell adhesion and blood vessel formation. They achieved biodegradation time up to 43 days, what could be ideal for the drug-controlled release of simvastatin. Their absorption capacity, among other characteristics, indicates that the composition of the scaffold using the microwave technique suggests promising properties.

**Conclusion:** The starch, simvastatin and  $\beta$ -tricalcium phosphate sponges are promising for further studies, such as controlled drug release, cellular biocompatibility, and animal model testing, among others, to determine adequate osteoinduction.

### 3. INTRODUCCIÓN

El hueso por sí mismo cuenta con la capacidad para auto regenerarse, sin embargo, existen condiciones clínicas complejas las cuales pueden generar una discapacidad sustancial, impactando de manera negativa en la calidad de vida del paciente. En casos de trauma, enfermedades, infecciones, inflamación persistente o cuando se requiere regenerar en gran volumen, su capacidad autorregenerativa puede verse limitada. En la actualidad existen gran cantidad de estrategias diferentes para aumentar o acelerar el proceso de formación de tejido óseo.

La ingeniería de tejido óseo es un nuevo método el cual depende de un equipo multidisciplinario para tratar anomalías óseas, este consiste en la aplicación de materiales biocompatibles para colocar en defectos óseos de tamaño crítico, que logren la estimulación adecuada y dé como resultado una regeneración, conservación o aumento del tejido por medio de la estimulación celular, para esto, hoy en día se requieren de estrategias innovadoras para realizar estos tratamientos y lograr resultados favorables.

Existen distintos materiales probados para la osteoinducción, los cuales proporcionan buenas características biomecánicas y biológicas. La elaboración de un biocompuesto, se consigue por medio de la integración de distintos materiales que cuenten con propiedades adecuadas para obtener los resultados deseados, tal es el caso de las esponjas, son utilizadas debido a la gran cantidad de poros lo cual es excelente para proporcionar la conducción de nutrientes así como ser portadoras y liberadoras de fármacos a pesar de no ser un andamio de primera elección, cuentan con la característica de poder incorporar fármacos y biocompuestos que estimulen formación ósea. En este sentido las esponjas de almidón (ALM), beta fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP) y simvastatina (SVT) son un biocompósito prometedor para la ingeniería de tejidos, debido a sus propiedades las cuales contribuyen a la osteoinducción, además de que se espera que sean biocompatibles, biodegradables, no tóxicas, con buena adhesión y rápida hemostasia.

La SVT, el  $\beta$ -TCP y el ALM, son materiales biocompatibles que podrían cumplir con las características ideales para la elaboración de un andamio, debido a que de manera individual se han estudiado y existe evidencia de que son beneficiosos en el área de la ingeniería tisular.

Las técnicas para la elaboración esponjas son diversas, entre ellas destaca la metodología que usa microondas la cual consiste en colocar la mezcla homogénea en un recipiente apto para el microondas, calentar durante un tiempo y potencia determinada hasta obtener la textura deseada. Las esponjas son prometedoras para el tratamiento de defectos óseos, convirtiéndolas en un material de fácil procesamiento, con costo accesible, en comparación con productos comerciales ya existentes en el mercado.

Entre las pruebas de caracterización de estas esponjas se considera el análisis de morfología superficial mediante la Microscopia Electrónica de Barrido (SEM), pruebas químicas como el análisis estructural mediante la Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), capacidad de absorción (hinchamiento), ángulo de contacto (hidrofobicidad), biodegradación, y pruebas mecánicas como la resistencia a la compresión.

EL propósito de la presente investigación es la elaboración y caracterización de esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP mediante el uso de microondas que tenga propiedades morfológicas, físicas, químicas y mecánicas apropiadas para que contribuyan al proceso osteoinductor en el área médica odontológica especializada.

**4. PALABRAS CLAVE:** osteoinducción, regeneración ósea, esponja, microondas, biocompuesto, simvastatina,  $\beta$ -fosfato tricálcico, almidón.

## **5. ANTECEDENTES**

### **5.1 Antecedentes Generales**

#### **5.1.1 Regeneración Ósea**

El término regeneración ósea consiste en la recuperación de tejidos perdidos o lesionados de manera que las estructuras originales y su función queden rehabilitadas por medio de la colocación de un injerto para reparar un defecto óseo o corregir una deficiencia (1). Requiere de una fase inflamatoria, reparadora y finalmente la de remodelación ósea (2) para promover un mensaje osteoinductivo que estimule la formación de hueso nuevo y un soporte sólido con técnicas que transmitan el mensaje para generarlo mediante la activación de las células en respuesta a estímulos. Un injerto debe de cumplir con ciertas características como biocompatibilidad para que pueda ser considerado como promotor de la regeneración ósea, debe ser osteogénico para que presente el potencial para desencadenar la formación de tejido óseo, debe ser osteoinductivo para proveer un estímulo para la migración y la diferenciación de las células formadoras de hueso y por último osteoconductor para que proporcione al andamio la migración y crecimiento de las células óseas (1).

Existen alternativas que pueden utilizarse para minimizar o prevenir la reabsorción ósea (3). Durante un procedimiento quirúrgico pueden utilizarse distintos biomateriales como membranas, esponjas, hidrogeles, para ayudar a la migración de células osteogénicas (3). Para considerar exitoso un procedimiento regenerativo, los andamios deben cumplir con diversas características ideales como la porosidad, biocompatibilidad, osteoinductividad, propiedades mecánicas y potencializar la proliferación de dichas células (4).

El andamio por colocar en el defecto óseo debe contener sustancias bioactivas, estas sustancias consisten en compuestos como, factores de crecimiento, fármacos, matriz extracelular, materiales inorgánicos, entre otros (5).

La colocación de un injerto tendrá características específicas para el tipo de defecto óseo que el paciente presente, a pesar de que el cuerpo humano posee la capacidad

para autorregenerarse, este proceso puede verse limitado si no hay un estímulo adecuado. El defecto óseo puede ser consecuencia de algún proceso natural, trauma o una patología, por ejemplo, posterior a la extracción de un órgano dentario.

### **5.1.2 Preservación Alveolar**

La preservación de reborde alveolar es un procedimiento el cual busca minimizar la reabsorción que conlleva posterior a realizar una extracción dental, considerando este tratamiento como preventivo para facilitar una futura rehabilitación incluyendo la colocación de implantes. La primera descripción del término fue en 1982 como “mantenimiento de hueso”. El objetivo de la preservación alveolar consiste en mantener de manera horizontal y vertical la forma del alveolo utilizando injertos óseos (6). Con base a la evidencia, posterior a una extracción, la mayor reabsorción se refleja en la cresta coronal del reborde alveolar en dirección horizontal, lo que se considera que refleja el 40% de pérdida de ancho del reborde debido a la reabsorción provocada (7).

El proceso de cicatrización de un alveolo presenta distintas etapas, iniciando por la formación de coágulo en el primer día, entre el 4to y 5to día el coágulo se convierte en tejido de granulación, entre 5 y 16 días se convierte en tejido conectivo, es decir que la lámina dura que recubre el alveolo se reabsorbe permitiendo la proliferación de vasos sanguíneos, entre las 3 y 6 semanas ocurre la osteogénesis, entre las 5 y 10 semanas la remodelación de hueso trabecular y corticalización del alveolo y el tejido blando supracrestal se reorganiza en mucosa continua con lo que la rodea (6).

### **5.1.3 Biocompuesto (biocompósito)**

Un biocompuesto es una mezcla de materiales conformado por distintos componentes, con la finalidad de potencializar sus propiedades (8), es considerado un biomaterial hasta pasar por etapas de investigación para evaluar sus propiedades, características físicas, químicas y mecánicas, debe ser biocompatible, identificando sus concentraciones y proporciones ideales para el andamio (8) entre muchas otras, con la finalidad de obtener un biocompósito apropiado para la ingeniería de tejidos y la

aplicación específica que se requiera (9). Estos materiales serán incorporados en un andamio que puede presentarse en forma de esponja, membrana, hidrogel, etc., para brindar soporte y proporcionar el transporte de nutrientes necesarios para promover el desarrollo e intercambio celular para lograr la osteoinducción.

#### **5.1.4 Andamios**

Un andamio es considerado como una estructura temporal que actuará como soporte, sirven como depósito para factores de crecimiento, con la finalidad de proporcionar estabilidad para impulsar a nivel celular una proliferación y diferenciación adecuada para la ingeniería de tejidos, así como acondicionar el medio de desarrollo eficaz para el intercambio de nutrientes (10).

Los materiales de elaboración de los andamios deben contar con propiedades y características favorables para cumplir con las funciones de biodegradabilidad, biocompatibilidad, resistencia mecánica y porosidad, de acuerdo con su aplicación (10,11).

#### **5.1.5 Esponjas como andamios para la ingeniería tisular**

Las esponjas son estructuras tridimensionales, altamente porosas que cuentan con la capacidad de absorber de 15-19 veces su propio peso en agua, pueden ser preparadas con distintos materiales, a partir de polímeros naturales o sintéticos (10), su estructura porosa es esencial para lograr distribución e interconexión celular para favorecer la difusión de nutrientes y de oxígeno (12). En el mercado, la mayoría de las esponjas funcionan como agentes hemostáticos o como andamio para regeneración ósea, estas estructuras tienen la capacidad de absorber aproximadamente el 45% de su propio peso (13). El método de réplica de esponja es bien conocido para la fabricación de microestructuras deseables que tienen poros interconectados y grandes áreas superficiales (14). Es aceptado que para ingeniería tisular ósea el tamaño del poro debe ser entre los 200 y 900  $\mu\text{m}$  (15). Actualmente las esponjas cada vez son más utilizadas

en la biotecnología, principalmente para ejercer como transportadoras de fármacos y matrices (10).

Las esponjas fabricadas en microondas han demostrado que son un método aceptable para la producción de estructuras porosas a base de almidón con el potencial para ser utilizadas como andamio liberador de fármaco para la aplicación en ingeniería tisular (15).

La incorporación de biomateriales a este tipo de andamio puede variar dependiendo del propósito de su uso, para la presente investigación se propone evaluar la incorporación de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP, buscando obtener un andamio osteoinductor.

### **5.1.6 Almidón**

Existen polímeros naturales y sintéticos, biodegradables y no biodegradables, los cuales se pueden describir como un material formado por macromoléculas unidas entre sí (3,16). Dentro de los polímeros naturales se encuentra el almidón, el colágeno, el fibrinógeno y el quitosano, los cuales se han utilizado para la elaboración de ingeniería tisular de andamios, esponjas, membranas e hidrogeles (17). El ALM puede obtenerse de la papa, el trigo, el camote, el maíz, el amaranto y quinoa, al ser calentado pasa por un proceso conocido como gelatinización, en el que los gránulos se hinchan, filtran amilopectina y pierden birrefringencia (15) (Figura 1).

Las microesferas de almidón son materiales biocompatibles con grandes áreas superficiales que aumentan su capacidad de absorción de agua, al absorber líquido de la sangre, aumentan la concentración de plaquetas y proteínas de coagulación, en consecuencia, se consideran un complemento biodegradable (18).

### **5.1.7 Fosfatos de calcio: $\beta$ -TCP**

Los fosfatos de calcio son biocompatibles y como parte de su proceso de degradación natural, al brindar la liberación de iones de calcio proporciona un complemento adicional para lograr la reparación ósea (20). El  $\beta$ -TCP ha sido estudiado

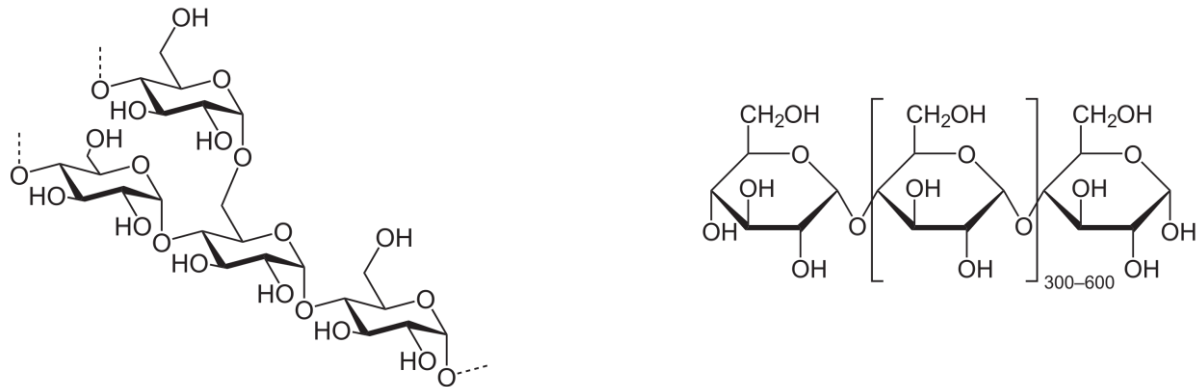


Figura 1. Estructura de ALM compuesta por la molécula de amilopectina y amilosa por Soto et al.,(19) 2001.

y utilizado ampliamente y cuenta con la capacidad de incorporarse al hueso circundante y mantener la estabilidad estructural y funcional del mismo, es un biomaterial cerámico utilizado ampliamente para injertos óseos ya que cuenta con las características de ser osteoconductor y biocompatible, se ha utilizado comúnmente dentro de la odontología ya que cuenta con las características de ser bioactivo, osteoinductor y ha demostrado una tasa de sustitución favorable en defectos óseos estandarizados (18) (Figura 2). Estos materiales permiten la migración, proliferación, diferenciación y la deposición de células de hueso progenitor en matriz extracelular (21).

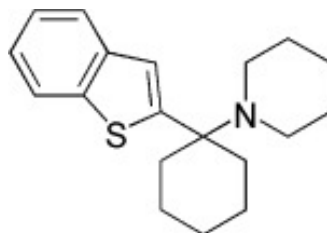


Figura 2. Estructura de  $\beta$ -TCP por Patterson et al.,(22) 2009.

El  $\beta$ -TCP posee características químicas que son similares a los minerales óseos, es un material con buena osteoinductividad y capacidad, su componente puede funcionar como un puente en el andamio para guiar el crecimiento de hueso nuevo y su integración (5). Este biomaterial ha generado gran interés en la regeneración ósea tanto en humanos como en animales, debido a su biocompatibilidad, similitud con los minerales naturales

del hueso y características restaurativas (23). Estas características permiten que actúe como puente en el andamio, guiando de esta manera el crecimiento interno de hueso nuevo y la integración ósea (2).

Como material de sustitución ósea, el  $\beta$ -TCP, es uno de los materiales primarios que se utilizan para la preparación de andamios porosos (14). A pesar de que el  $\beta$ -TCP se ha utilizado ampliamente en la preparación de andamios de reparación ósea, su capacidad osteogénica sigue siendo insuficiente, es decir, por sí solo no posee estas cualidades (24) por lo tanto, se deben agregar moléculas bioactivas para mejorar la capacidad osteogénica del andamio (2). Su capacidad osteoconductora promueve la regeneración del tejido periodontal lo que acelera la formación de hueso nuevo por parte de las células madre (24).

La inclusión de sustancias bioactivas como el  $\beta$ -TCP para mejorar el andamio de reparación de defectos, es una forma de mejorar sus capacidades osteoinductivas. Previamente ha sido estudiada la combinación de copolímeros de óxido de alquileo,  $\beta$ -TCP y microesferas de almidón, lo cual resultó simultáneamente una hemostasia rápida y una regeneración ósea mejorada (18).

### **5.1.8 Simvastatina (SVT)**

La SVT, es un fármaco comúnmente utilizado en el control del colesterol sérico (Figura 3), ha demostrado tener efectos pleiotrópicos que se relacionan con sus propiedades antiinflamatorias y proliferantes del tejido conjuntivo, las cuales han demostrado el potencial y la capacidad de osteoinducir la formación de tejido, tanto al inhibir la osteoclastogénesis como al bloquear el mevalonato y la estimulación de actividad osteoblástica por medio de la expresión de la BMP-2, del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y de la fosfatasa alcalina (25). Los efectos sistémicos y locales en el metabolismo del hueso y alivio de los defectos óseos, cuando son aplicadas localmente, afectan el alivio óseo por medio de la osteoinducción al incrementar la angiogénesis modulando proteínas, factores de crecimiento (26) y fármacos con efectos anabólicos en hueso, como la SVT, representan una alternativa osteoinductiva prometedora para la preservación del reborde alveolar y la cirugía regenerativa (27).

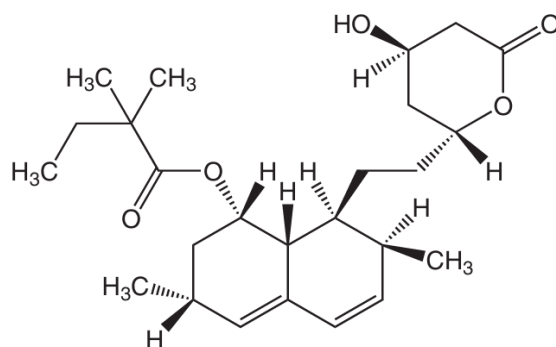


Figura 3. Estructura de SVT por Schachter et al., (28) 2004.

Cuando su administración es local se observan aún mejores resultados de formación ósea (14). El tiempo indispensable para la formación de tejido óseo corresponde a 15 días de liberación controlada del fármaco en el medio (25) (Figura 4). Se ha comprobado que la administración de fármacos para la ingeniería de tejido ósea se mejora cuando se realiza la liberación del fármaco controlada para permitir un efecto terapéutico prolongado, buscando de esta manera estimular el crecimiento óseo en el entorno local en el sitio de interés (20).

Se ha demostrado en humanos que la SVT en dosis superiores a 0,25 mg aplicadas localmente previenen la formación de hueso, mientras que este efecto también se observó para dosis inferiores a 0,1 mg, se ha observado que aumenta localmente el infiltrado inflamatorio y la formación de tejido óseo también aumenta (25). Los sistemas de administración actuales de SVT la meta principal de la liberación de dichos sistemas en ingeniería tisular de tejido óseo es estimular el hueso para que crezca en el sitio de interés. Compuestos como hueso morfogenético proteínico, factores de crecimiento y compuestos farmacéuticos comúnmente son incorporados con sistemas de liberación de fármaco, sin embargo, aún tienen una eficacia terapéutica limitada, su liberación puede controlarse con un recubrimiento exterior de apatita permitiendo una administración terapéutica más prolongada de la simvastatina (20).

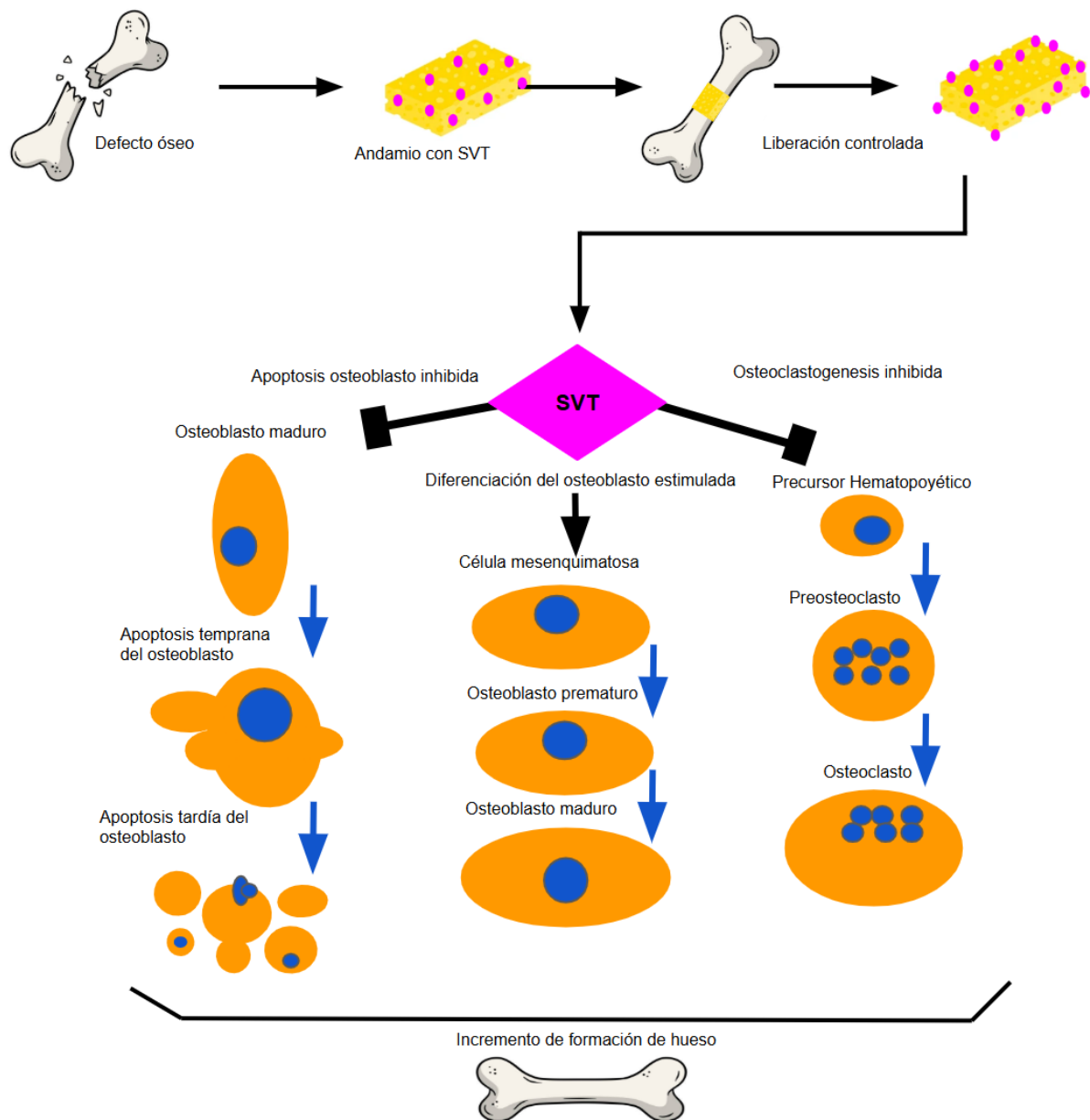


Figura 4. Mecanismo de acción de la simvastatina a nivel local sobre células óseas. Modificado de Oryan et. al., (29) 2015.

Existen diversos estudios en los cuales se ha evaluado la combinación de este fármaco con distintos biomateriales osteoconductores (hueso bovino desproteínizado (DBB), hidroxiapatita/fosfato tricálcico HA/TCP y esponjas de COL) para la formación de hueso nuevo (25).

### **5.1.9 Pruebas para caracterización de las esponjas**

Las pruebas de caracterización de las esponjas se dividen en físicas, químicas y mecánicas. Dentro de las físicas tenemos las morfológicas, que se llevan a cabo mediante un análisis morfológico por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM), el cual permite estudiar el tamaño del poro y su superficie presente en la esponja. En la ingeniería de tejidos, la estructura porosa de los andamios es fundamental, debido a que gracias a ella será viable la interconexión para la distribución de células, favoreciendo de esta manera la difusión de nutrientes y oxígeno (30). Se considera ideal una porosidad >80% para un andamio y un tamaño de poro de  $\leq 100 \mu\text{m}$  a  $200 \mu\text{m}$  para favorecer la angiogénesis y migración celular (16). La prueba de hidrofobicidad se realiza por medio de la medición del ángulo de contacto con que se crea entre la superficie de la esponja y una gota de agua una vez que cae sobre el andamio, dando como resultado que tan hidrofóbica o hidrofílica es la muestra y por último la capacidad de absorción de las esponjas se evalúa por medio de la cantidad de agua que alcanza a absorber durante un tiempo determinado.

En las pruebas químicas la composición elemental por medio de la Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier, consiste en la interacción de la radiación infrarroja con las moléculas de una muestra, proporcionando de esta manera información sobre su composición química. En cuanto al tiempo de biodegradación, esta prueba mide el porcentaje de reducción de peso neto de la esponja en función del tiempo. Finalmente, dentro de las pruebas mecánicas, se realiza la prueba de resistencia a la compresión, consisten en medir el comportamiento de la esponja ante la fuerza aplicada.

### **5.1.10 Uso de microondas para la elaboración de esponjas**

El equipo de microondas es capaz de generar calor eficaz, relativamente rápido y uniforme (31). Al calentar los materiales con el calor emitido por el microondas, se observan resultados favorables a nivel molecular el cual crea cadenas uniformes en el material polimérico, debido a la reacción de calentamiento, obteniendo un andamio para la ingeniería tisular con estructura porosa que logra obtener interconexiones (32).

Debido a los resultados y características que proporciona el uso de este equipo, puede considerarse como una tecnología prometedora que puede emplearse para aumentar la elaboración de andamios en la ingeniería de tejidos y el área de la medicina odontológica (32) (Figura 5).

Zhang et. al., (31) utilizaron microondas, para obtener esponjas con estructura porosa homogénea, las pruebas mecánicas demostraron que tienen un comportamiento en el proceso de recuperación de forma al 100%, por lo tanto, concluyeron que este método es eficaz con ventajas en la investigación científica de polímeros en el campo de biomateriales.

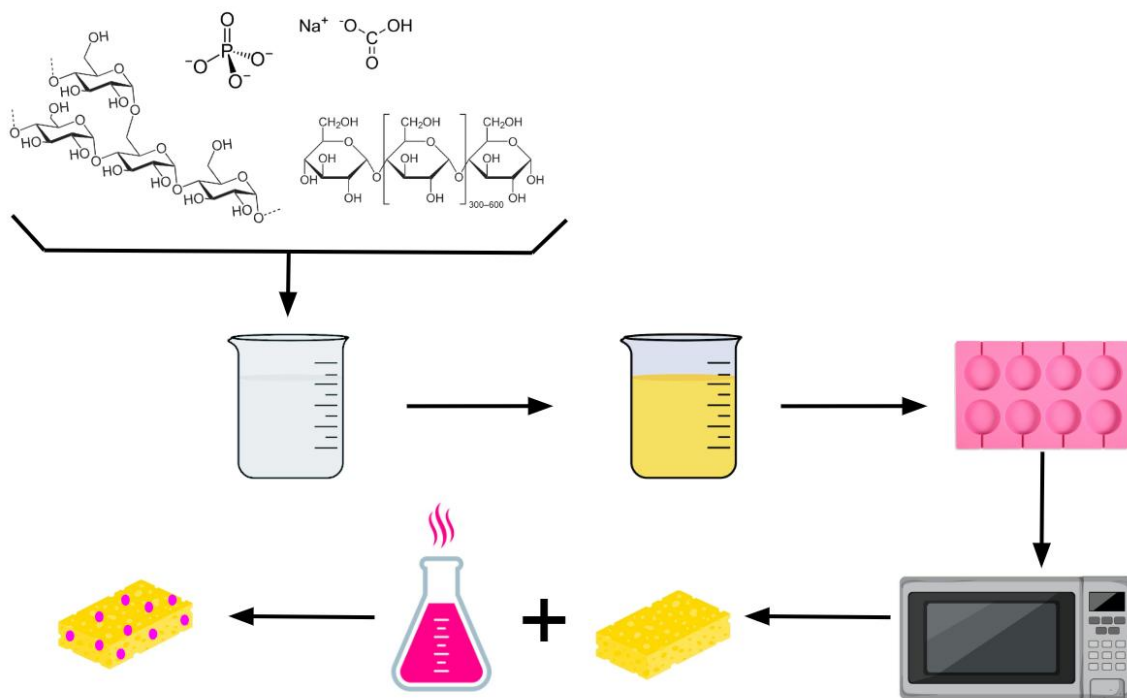


Figura 5. Metodología gráfica de la elaboración de esponjas de ALM/SVT/β-TCP. Elaboración propia.

## 5.2 Antecedentes específicos

Papadimitriou et al., (33) en 2014 investigaron la efectividad de SVT combinada con 3 diferentes acarreadores como sistema de liberación del fármaco. Crearon defectos óseos en huesos femorales de 14 conejos blancos de Nueva Zelanda. Los acarreadores fueron: 1. Injerto óseo bovino (BOS), 2. Hidroxiapatita combinada con sulfato de calcio (HACS) y 3. Esponja de COL (COS). Los defectos óseos fueron divididos para cada periodo de tiempo en 7 grupos los cuales corresponden a los siguientes BOS + SVT, BOS, HACS + SVT, HACS, COS + SVT, COS, y el grupo control. Los animales fueron sometidos a eutanasia a las 4 y 8 semanas postoperatorio, las áreas de los defectos óseos fueron preparados para examinación histológica y evaluación histomorfométrica. Encontraron que existían diferencias significativas entre grupos dependiendo el acarreador que utilizaron ( $p < 0.05$ ). A las 4 semanas BOS + SVT presentaron mayor grado de nueva formación ósea, y a las 8 semanas mayor formación de hueso se encontró en HACS + SVT. Con esto llegan a la conclusión de que la aplicación local de SVT combinada con un acarreador apropiado promueve la formación de hueso nuevo.

Macedo de Santana et al., (26) en el 2016 investigaron el efecto de la SVT local aplicada con fosfato de calcio bifásico o esponjas de COL para la formación de hueso en defectos de tamaño crítico. Crearon 30 defectos de 5 mm de diámetro bilaterales en la calota de 15 ratas Wistar, las cuales fueron divididas en 5 grupos: grupo 1 control (sin tratamiento), grupo 2 fosfato de calcio bifásico, grupo 3 fosfato de calcio bifásico + 0.1 mg SVT, grupo 4 esponja de COL y grupo 5 esponja de COL + 0.1 mg de SVT. Posterior a las 8 semanas realizaron la eutanasia y el análisis histológico e histomorfométrico. El análisis reflejó que hubo mayor cantidad de formación de hueso en el grupo 3, seguido del grupo 2, ambos grupos fueron significativamente diferentes entre sí ( $p < 0.05$ ) y el resto de los grupos tuvieron una formación mínima comparado con estos dos grupos. Los autores concluyeron que la SVT combinada con fosfato de calcio tiene un gran potencial de curar defectos óseos e inducir mayor cantidad de formación ósea.

Khurana et al., (34) en el 2020 realizaron la integración de foam inyectado con fosfato de calcio, fueron cargados de SVT, para evaluar la estabilidad, el efecto, la liberación y el desempeño biológico *in vitro* con respecto a la mineralización y vascularización del fármaco. Pudieron observar que la SVT no causó cambios en la estructura micro ni macro del foam, conservó sus características biomiméticas ( $p < 0.05$ ). El foam cargado con SVT mostró una liberación del fármaco dependiente de la dosis, con esto los autores determinaron que el uso del foam inyectable de fosfato de calcio como sistema de administración de fármacos cargado de SVT como agente promotor osteogénico y angiogénico permite la liberación del fármaco controlada en una dosis muy baja, la cual no altera las características biomiméticas de los foams de fosfato de calcio inyectables y lo convierte en una alternativa cautivadora para injertos óseos versátiles.

Sousa et al., (25) en 2020 evaluaron 36 defectos óseos bilaterales de tamaño crítico de 5 mm en 18 ratas hembras de la cepa Wistar, fueron divididas en 6 grupos a los cuales se les colocó en el defecto el siguiente relleno: grupo 1 hueso bovino desproteinizado, grupo 2 hidroxiapatita/fosfato tricálcico, grupo 3 esponja de COL, grupo 4 hueso bovino desproteinizado + SVT (0.1 mg) grupo 5 hidroxiapatita/fosfato tricálcico + SVT 0.1 mg, grupo 6 esponjas de COL + SVT 0.1 mg. Posterior a las 8 semanas, los grupos se sometieron a eutanasia para realizar el análisis histomorfométrico. El análisis mostró que el uso de SVT incrementó la formación de hueso en estos defectos cuando fueron combinados con todos los sustitutos de hueso ( $p < 0.05$ ). Cabe resaltar que a los defectos que se les colocó esponjas de COL con SVT, se observó que redujo la reabsorción de partículas de hidroxiapatita y fosfato tricálcico, induciendo de esta manera mayor formación de tejido óseo. Los autores encontraron mejores resultados en la combinación de esponjas de COL con fosfato tricálcico, hidroxiapatita y SVT. La mayor formación de hueso se observó dentro de los grupos con SVT comparado a los grupos sin SVT.

Gao et al., (35) en el 2022 desarrollaron unas esponjas de gelatina modificada con galato de epigallocatequina (EGCG) como un nuevo biomaterial para la regeneración ósea. Demostraron que el tratamiento de calentamiento al vacío indujo la reticulación térmica en esponjas de gelatina modificada con EGCG e incorporando gránulos de  $\beta$ -

TCP (vhEc-GS- $\beta$ ) para que los hidrogeles preparados de vhEc-GS- $\beta$  dieran alta estabilidad, retención, operabilidad y citocompatibilidad. Los resultados en la morfometría de microTC reveló que los hidrogeles de vhEc-GS- $\beta$  tenían una capacidad de formación de hueso significativamente mayor que el  $\beta$ -TCP solo ( $p < 0.01$  o  $0.05$ ). La tinción de fosfatasa ácida tartrato resistente demostró que el número de osteoclastos aumentó a las tres semanas en los defectos tratados con los hidrogeles de vhEc-GS- $\beta$  en comparación con los de  $\beta$ -TCP solo. Los resultados generales indican que el tratamiento de reticulación térmica para la preparación de esponjas puede ser un proceso prometedor para mejorar la capacidad de formación de hueso, con esto concluyen que este estudio debe poner a disposición una base para el avance de materiales innovadores con buena operatividad y capacidad de formación de hueso para la medicina regenerativa.

Duan et al., (18) en el 2022 diseñaron una cera ósea reabsorbible con copolímeros de óxido de alquileno, microesferas de almidón y  $\beta$ -TCP para mejorar la regeneración ósea y la capacidad hemostática. Evaluaron 24 conejos machos divididos en 3 grupos, 8 conejos en cada grupo recibieron un implante de cera ósea reabsorbible en un defecto circular de 4.2 mm, 3 cm por debajo de la articulación de la rodilla en las extremidades traseras derechas. El primer grupo corresponde al grupo control, el cual no contenía sustancias adicionales en la cera, el segundo grupo corresponde a la cera comercial no absorbible de Braun y el tercer grupo la cera reabsorbible con polímeros de óxido de alquileno, microesferas de almidón y  $\beta$ -TCP. Cuatro conejos de cada grupo fueron sacrificados a las 6 y 12 semanas posteriores a la cirugía, se extrajeron las tibias de las extremidades traseras derechas para observación macroscópica y se escanearon con una microtomografía computarizada. Estudios *in vitro* e *in vivo* confirman que las microesferas de almidón y  $\beta$ -TCP son biodegradables, biocompatibles y hemostáticamente efectivas, el  $\beta$ -TCP puede crear un potencial negativo en la superficie de la microesfera lo que acelera el tiempo de coagulación, por lo tanto, la integración de estos 2 materiales mejora la biocompatibilidad y la presentación hemostática de la cera ósea reabsorbible. Observaron que la cera ósea reabsorbible puede ser reabsorbida en 6 semanas, evitando residuos. La micro CT y el estudio histológico indicaron que la cera

ósea no reabsorbible no afecta la tasa de regeneración ósea después del sellado. Este grupo de investigación llegó a la conclusión de que el sangrado óseo puede ser detenido inmediatamente después de la aplicación de cera ósea, la cual puede ser reabsorbida en 6 semanas.

## 6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

La capacidad del cuerpo humano para autorregenerar tejido óseo puede verse limitada dependiendo del padecimiento, por lo que es necesaria la generación de biocompósitos que cumplan con las características ideales para contribuir a nuevas alternativas que brinden un estímulo ideal para la formación ósea satisfactoria. En el mercado de la ingeniería tisular, existen esponjas enfocadas en brindar un control hemostático, las cuales presentan una rápida absorción y pierden capacidad de mantenerse dentro del espacio que se busca recuperar; sin embargo, no tienen un enfoque dirigido a crear un estímulo óseo que dé como resultado la formación de tejido óseo nuevo. Hoy en día, un procedimiento regenerativo puede ser costoso y llegar a ser invasivo en muchas de las ocasiones, por lo cual requiere de habilidades por parte del profesional en el área de rehabilitación oral, para realizar el tratamiento de la manera adecuada. Sin embargo, la evidencia científica es escasa sobre esponjas de almidón con  $\beta$ -TCP y SVT para ser utilizadas como andamios que cumplan con las características favorables para la osteoinducción.

Lo anterior lleva a plantear la siguiente pregunta de investigación:

¿Las características físicas, químicas y mecánicas de esponjas de almidón con simvastatina y beta fosfato tricálcico son ideales para un andamio que promueva osteoinducción?

## 7. JUSTIFICACIÓN

Existen distintos materiales probados que brindan buenas características biomecánicas y biológicas, en este estudio se propone la síntesis de una esponja a partir de un polímero y principios activos la cual resultaría ser más económica, con la posibilidad de contar con biocompatibilidad adecuada, componentes que no presenten riesgo tóxico, patológico, se espera que sea ambientalmente segura, que por su composición no presente limitaciones religiosas o éticas y desando que sea de rápida elaboración a comparación de otros materiales. Los andamios como esponjas cada vez son más utilizados dentro del área de la ingeniería de tejidos, debido a que puede adaptarse al tamaño del defecto del paciente, siendo funcional como una estructura de soporte que mejore la adhesión celular, proliferación celular, angiogénesis, intercambio de nutrientes para el crecimiento y mantenimiento de tejidos.

Estudios experimentales han demostrado que tanto el fosfato tricálcico como la SVT pueden incorporarse a distintos andamios, sin embargo, por sí solo, no poseen las capacidades adecuadas para soportar la regeneración ósea de gran extensión y duración, por lo tanto, lo que se busca es integrarlo con distintos materiales como la esponja fabricada a partir del almidón para proporcionar ventajas adicionales.

La presente investigación busca probar la metodología ideal para elaborar un biocompósito en forma de esponja obtenidas a partir de polímeros adicionados de principios activos, logrando su caracterización física, química y mecánica en vías de obtener biocompósitos que favorezcan la mayor biocompatibilidad, baja toxicidad y cumpla con las características de propiciar el proceso osteogénico. Teniendo como meta a mediano plazo poder contribuir a la generación de productos innovadores para el uso clínico. Su uso quirúrgico en el tratamiento dental puede potencializar su respuesta regenerativa en casos donde el paciente no cuente con los recursos económicos para utilizar materiales regenerativos como un injerto óseo, ofreciendo un material que potencialice al máximo el espacio perdido a un menor costo ya que los materiales utilizados para la elaboración de esta esponjas son sumamente económicos en

comparación con los demás productos del mercado, además que su técnica de elaboración la hace accesible, rápida y sencilla de utilizar durante un procedimiento quirúrgico.

## **8. HIPÓTESIS**

**8. 1 Hipótesis Científica:** Las esponjas de almidón con simvastatina y beta fosfato tricálcico presentan las características físicas, químicas y mecánicas que se requieren en un andamio osteoinductor.

**8. 2 Hipótesis Nula:** Las esponjas de almidón con simvastatina y beta fosfato tricálcico no presentan las características físicas, químicas y mecánicas que se requieren en un andamio osteoinductor.

## **9. OBJETIVOS**

### **9.1 Objetivo General**

Elaborar esponjas de ALM con SVT y  $\beta$ -TCP y realizar su caracterización física, química y mecánica.

### **9.2 Objetivos Específicos**

- Utilizar la técnica de microondas para elaborar esponjas de ALM con SVT y  $\beta$ -TCP.
- Mostrar la caracterización física de las esponjas mediante: morfología superficial con microscopía electrónica de barrido (SEM), hidrofobicidad con ángulo de contacto, capacidad de absorción (hinchamiento) y porosidad.
- Analizar la composición química estructural de las esponjas mediante: composición elemental con Espectroscopía Infrarroja Transformada de Fourier (FTIR) y biodegradación.
- Realizar la caracterización mecánica de las esponjas mediante: Máquina Universal de Pruebas (Instron) para resistencia a la compresión.

## 10. MATERIALES Y MÉTODOS

### 10.1 Diseño del estudio

De acuerdo con la intervención del investigador: Experimental, *in vitro*

De acuerdo con el número de las mediciones: longitudinal (capacidad de absorción y degradación).

Transversal para las variables FTIR, microscopía SEM, porosidad, y resistencia a la compresión.

De acuerdo con la interpretación del fenómeno: analítico.

### 10.2 Población y muestra

Se desarrollaron esponjas para los distintos grupos (Tabla 1) realizando las pruebas de caracterización descritas en el apartado de procedimientos.

**Muestreo:** no probabilístico, por conveniencia o intencional.

Esponjas de almidón (Grupo control)	ALM
Esponjas de almidón con simvastatina	ALM y SVT
Esponjas de almidón con $\beta$ -fosfato tricálcico	ALM y $\beta$ TCP
Esponjas de almidón con simvastatina y $\beta$ -fosfato tricálcico	ALM, SVT y $\beta$ TCP

### 10.3 Criterios de selección

**10.3.1 Criterios de Inclusión:** Esponjas en estado íntegro y completas.

**10.3.2 Criterios de Exclusión:** Esponjas rotas sin las dimensiones apropiadas para el estudio.

**10.3.3 Criterios de Eliminación:** Esponjas contaminadas.

#### 10.4 Variables

<b>TABLA 2. Variables</b>				
Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo de variable	Unidad escala
<b>CATEGORIA INDEPENDIENTE</b>				
<b>Esponja de almidón con simvastatina y <math>\beta</math>-fosfato tricálcico</b>	Masa elástica y porosa a base de polisacáridos incorporada con fármacos.	Material poroso constituido de almidón, SVT, $\beta$ -TCP.	Cualitativa, Nominal, Policotómica	Sin unidad
<b>CATEGORIA DEPENDIENTE</b>				
<b>Porosidad</b>	Espacios que se encuentran en una estructura sólida.	Porcentaje de porosidad presente en la esponja de almidón, SVT, $\beta$ -TCP.	Cuantitativa, razón continua	Porcentaje
<b>Morfología superficial (SEM)</b>	Forma o estructura del aspecto externo.	Morfología de superficie de la esponja observada mediante Microscopía Electrónica de Barrido	Cualitativa	Sin unidad
<b>Hidrofobicidad</b>	Capacidad que tiene el material de repeler el agua de su superficie.	Evaluar la hidrofobicidad de la esponja con el ángulo que forma un líquido al tener contacto con un sólido, medido por un goniómetro.	Cuantitativa, razón continua	Grados

<b>Capacidad de absorción</b>	Capacidad de retener un líquido.	Medir la capacidad de absorción de la esponja (hinchamiento), por medio de ganancia de peso neto de la esponja después de sumergirse en solución.	Cuantitativa, razón, continua	Porcentaje
<b>Biodegradación</b>	Transformar una sustancia compleja en otra más sencilla, pérdida de integridad estructural.	Medir los puntos de degradación que se causen en la esponja al sumergirse en solución PBS.	Cuantitativa, razón, continua	Porcentaje
<b>Resistencia a la compresión</b>	Efecto de una fuerza estática o dinámica aplicada sobre el material.	Medir el nivel de resistencia que soporta la esponja ante el impacto de una fuerza ejercida.	Cuantitativa, razón, continua	MPa
<b>Composición elemental. Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)</b>	Composición estructural de las esponjas.	Analizar la composición elemental de las esponjas mediante la Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier.	Cualitativa	cm <sup>-1</sup>

## 10.5 Concordancia y Fiabilidad

Los equipos que se utilizaron se encontraban en buen estado y calibrados. Los reactivos utilizados fueron de grado analítico y medidos con instrumentos de laboratorio precisos y calibrados.

El tesista adquirió las capacitaciones y certificaciones correspondientes por especialistas en el área de física y química, para el manejo de equipo de microondas, balanza analítica, parrilla de agitación y dominio de todas las técnicas para la elaboración del andamio y así poder determinar la confiabilidad, reproducibilidad y concordancia entre las mediciones.

Las pruebas SEM, FTIR y resistencia a la compresión se llevaron a cabo por el investigador a cargo del equipo.

### **10.6 Ubicación espacio-temporal**

- Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Laboratorio de Pruebas Analíticas No Destructivas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Laboratorio de Biomateriales y Materiales Dentales de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Laboratorio de Investigación en Nanotecnología, Universidad de las Américas Puebla.

En el periodo comprendido de **enero 2023 - diciembre 2024**

### **10.7 Procedimientos, Técnicas, Fuentes de recolección**

#### **10.7.1 Reactivos**

De acuerdo con la técnica modificada de Torres et. al., (15) en el 2006, para llevar a cabo la elaboración de las esponjas se utilizó Almidón de trigo de la marca Sigma-Aldrich CAS No.: 9005-25-8,  $\beta$ -TCP de la marca Sigma-Aldrich CAS No.: 7758-87-4 peso molecular 310.18, SVT de la marca Sigma-Aldrich Número de CAS No.: 79902-63-9, butanol de la marca Sigma-Aldrich, agua destilada, bicarbonato de sodio marca Medimart, solución salina tamponada con fosfato (PBS).

Los equipos utilizados fueron Microondas marca Panasonic, modelo no. NN-759W, parrilla de agitación (Ohaus), balanza analítica (Ohaus), Espectrofotómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR) (Bruker), Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) (JEOL), máquina de pruebas universales (INSTRON 4465), esterilizador UV American Medical Systems, modelo CO1013, caja de observación con cámara adaptada.

### 10.7.2 Técnica de elaboración de esponjas de ALM, SVT y $\beta$ -TCP.

Con una espátula se mezclaron los ingredientes de ALM, SVT y  $\beta$ -TCP con agua destilada, bicarbonato de sodio y butanol hasta lograr una mezcla homogénea. Una vez obtenida la masa se colocó en molde de silicón para microondas y se introdujeron en dicho equipo durante 45 segundos a una potencia de 50W (31). Una vez obtenida la muestra fueron inyectados los andamios con SVT. La composición de los controles fue ALM, ALM/SVT, ALM/ $\beta$ -TCP, ALM/SVT/ $\beta$ -TCP.

Todas las esponjas obtenidas fueron acondicionadas conforme a las proporciones requeridas en cuanto a medida y forma para cada estudio, la esterilización final se llevó a cabo mediante UV visible.

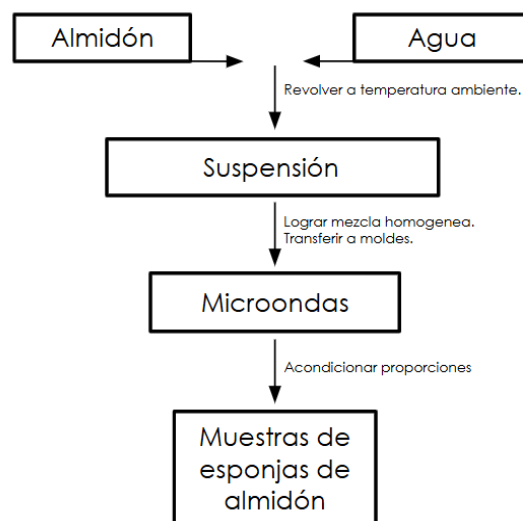


Figura 6. Ruta de manufacturación para la preparación de andamios de almidón en microondas. (Fuente propia).

### **10.7.3 Pruebas de caracterización fisicoquímica**

#### **Análisis morfológico.**

Por medio de la inspección por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), se llevó a cabo con un microscopio electrónico de barrido de alta resolución de emisión de campo (FE-HRSEM) MAIA 3 (Tescan, Brno-Kohutovice/Czech Republic), operando a 10 keV y equipado con un detector de energía dispersa de rayos X (EDS). Las muestras se montaron en cinta conductiva de grafito en pines de aluminio para investigar la estructura superficial, su morfología porosa, microestructura, homogeneidad y aglomeración de las esponjas realizadas por triplicado (36,37).

#### **Análisis estructural mediante Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).**

Se llevó a cabo el análisis químico de la composición elemental de las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP para determinar su estructura química, grupos funcionales de superficie y orientación molecular, mediante la técnica Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) se empleó un espectrofotómetro de infrarrojo Carey 630 (Agilent Technologies), con un detector de reflectancia total atenuada (ATR) con ventana de diamante (38) para observar las interacciones entre los componentes de la esponja (ALM, SVT y  $\beta$ -TCP). La prueba se realizó por triplicado y se graficó un espectro por cada una (36).

#### **Hidrofobicidad.**

La hidrofobicidad se determinó por medio de la medición del ángulo de contacto creado entre la superficie de la muestra y la gota de agua desionizada colocada sobre la muestra (Figura 7). La prueba fue realizada con una cámara Nikon D3500 18-55 VR II KIT y un lente NIKKOR LENS AF-5 Micro 85 mm F/3.5 g ED RV. Las pruebas fueron realizadas por triplicado para cada uno de los grupos y se obtuvieron 3 mediciones por muestra para obtener un promedio (39), las imágenes obtenidas fueron analizadas a través de Plugin Contact, de la extensión FIJI del software Image J.

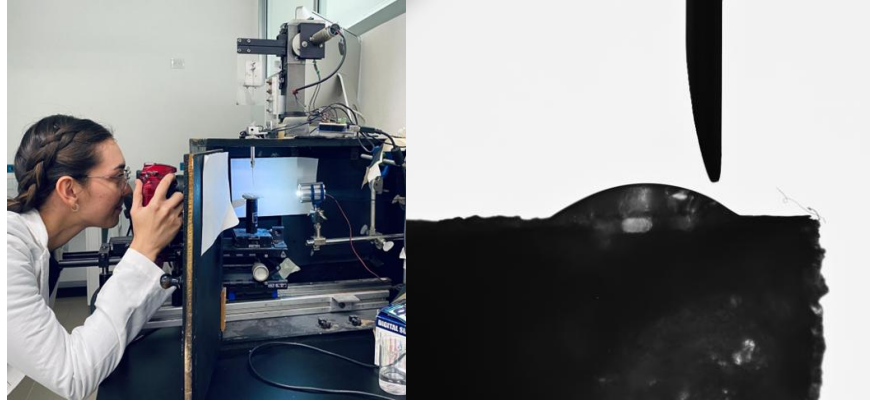


Figura 7. Equipo Hidrofobicidad utilizado para analizar el ángulo de contacto que se crea entre la esponja y la gota de agua capturado a través de una fotografía (Fuente propia).

### **Capacidad de absorción (hinchamiento).**

La capacidad de absorción (hinchamiento) de agua de las esponjas fue evaluada por la medición del peso de las esponjas secas las cuales fueron registradas como  $W_i$ , después fueron sumergidas las esponjas en agua a temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos, posteriormente para absorber el exceso de agua se colocaron las esponjas en papel filtro y se registró su peso como  $W_f$  (40). Cada grupo de esponjas fue evaluado por triplicado, según la metodología Poonguzhali (2018) (41), Di Martino (2019) (42), Oguz et. al., (2019) (43) para calcular la capacidad de absorción de agua, la cual se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Relación de hinchamiento (\%)} = \frac{(W_f - W_i)}{(W_i)} \times 100$$

Donde  $W_i$  registra el peso inicial y  $W_f$  el peso final de las esponjas, lo que corresponde a un antes y después de la inmersión en agua.

### **Biodegradación.**

La prueba de biodegradación fue realizada por triplicado (44). La evaluación se llevó a cabo mediante la colocación de 10 mL de solución PBS (pH 7.4) bajo condiciones estériles a  $37^{\circ}\text{C}$ . Las muestras de las esponjas se registraron como  $W_i$  con un peso

inicial aproximado de 0.100 g. Posteriormente se colocaron las muestras en el vial con la solución de PBS, asegurando su cierre con una tapa de rosca hermética para mantener libre de contaminación la muestra (45). Los viales fueron colocados en una parrilla de agitación con una temperatura permanente de 37°C. Las esponjas permanecieron durante 47 días en los cuales se realizaron cambios de solución PBS (44) para registrar el peso después de cada cambio, y así medir el tiempo de deformación del material en las esponjas. Las mediciones se realizaron en intervalos de tiempo predeterminados, a las primeras 24 horas 5, 12, 22, 32, y 47 días, considerando el peso de las esponjas antes y después de sumergirse utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Pérdida de masa (\%)} = \frac{(Wf - Wi)}{(Wi)} \times 100$$

$Wi$  y  $Wf$  representan el peso inicial y final de las muestras (43,46).

### **Porosidad.**

Basado en el método descrito por Anbazhagan (47) (2018) y Poonguzhali (41) (2018). Se utilizó un vernier para medir las dimensiones de las esponjas para calcular el volumen ( $V$ ), fueron colocadas las muestras a secado al vacío durante 30 a 35 minutos. Después se pesó con precisión cada una de las esponjas registrando el peso inicial ( $Wi$ ), posteriormente fueron sumergiendo en 15 mL de etanol absoluto en un vaso graduado durante 24 horas completamente sellado, el peso final ( $Wf$ ) fue registrado posterior a la inmersión en etanol será registrado. Las pruebas fueron realizadas por triplicado y la porosidad se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$P(\%) = \frac{(Wf - Wi)}{(pV)} \times 100\%$$

Donde  $Wi$  y  $Wf$  representarán el peso de las esponjas antes y después de su inmersión en etanol,  $V$  representa el volumen de la esponja antes de su inmersión y  $p$  es la densidad del etanol(36,40,47).

## Resistencia a la compresión.

Se llevó a cabo con la máquina de ensayo universal electrónica controlada por microordenador (Instron) (Figura 10), diseñada para ensayos de tracción, compresión, flexión y cizalladura de alta capacidad en donde se harán las pruebas de compresión en andamios húmedos y secos. Las esponjas se acondicionaron a forma cilíndrica con un diámetro aproximado de 20 mm x 10 de altura. Cada grupo de esponjas se comprimió de manera individual tanto en seco como en húmedo una vez colocadas en saliva artificial previamente acondicionada a una temperatura de 37°C en una estufa de incubación durante 15 min (38,48). Las muestras se comprimieron a una velocidad de 5 mm/min hasta un 90% de su altura original, con una carga de 100N y se registró la relación entre la tensión (MPa) y la deformación (%) de las muestras (48). Se registró la medida del diámetro y altura con ayuda de un venier antes y después de su compresión.



Figura 8. Máquina Universal Instron utilizada para prueba de compresión.

## 10.8 Análisis Estadístico

Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado como mínimo ( $n \geq 3$ ), Los datos fueron vaciados en una tabla de Excel y se llevaron al programa Graph Pad.

Se realizó estadística descriptiva para las variables cualitativas se utilizaron porcentajes y gráficos correspondientes.

Se analizaron en el programa estadístico SPSS, se obtuvo la estadística descriptiva mediante media y desviación estándar (DE), estadística inferencial para las

comparaciones la prueba T y ANOVA de una sola vía, con valor de  $p < 0.05$  e intervalo de confianza al 95%.

## 11. BIOÉTICA

Para el control del manejo de los **residuos peligrosos biológico - infecciosos** nos basamos en la norma oficial mexicana: **NOM-087-ECOL-SSA1-2002**, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

## **12. RESULTADOS**

El grupo esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP presentaron, una mezcla homogénea, su apariencia macroscópica destaca una estructura porosa, su consistencia es uniforme, de superficie y textura rugosa, al parecer la absorción del fármaco mejora la apariencia y manipulación de la esponja.

En este sentido las esponjas de ALM mostraron una homogeneidad muy uniforme, textura rugosa de consistencia firme, sin embargo, bajo presión manual forzada las esponjas lograban desintegrarse, la característica principal de este grupo es que su mezcla resulta más integrada, los poros visiblemente son más pequeños en comparación a los otros grupos y son más fáciles de manipular, siendo ligeramente más suaves. Al agregar la SVT a las esponjas de almidón (ALM/SVT) adquieren mejor apariencia y bajo ligera presión manual, recupera su forma.

En cuanto al grupo de esponjas de ALM/ $\beta$ -TCP presentaron la apariencia más deshidratada en comparación a los demás grupos, con textura y superficie rugosa, con poros más dispersos y/o grandes, sin embargo, en comparación con los otros grupos presentan mayor fragilidad y una apariencia más seca, conservando un aspecto poroso, las cuales bajo presión manual demuestran mayor fragilidad y facilidad de desintegrarse.

### **12.1 Análisis Morfológico**

En la prueba de análisis estructural por medio de SEM, se obtuvieron micrografías para observar la morfología superficial de las esponjas y comparar los 4 grupos entre sí. Se observó con mayor precisión las diferencias en los poros, homogeneidad en su estructura y textura a la amplificación de 2500x (Figura 9).

Las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP presentaron mayor uniformidad en su superficie, en comparación con los grupos de ALM, ALM/SVT, ALM/ $\beta$ -TCP.

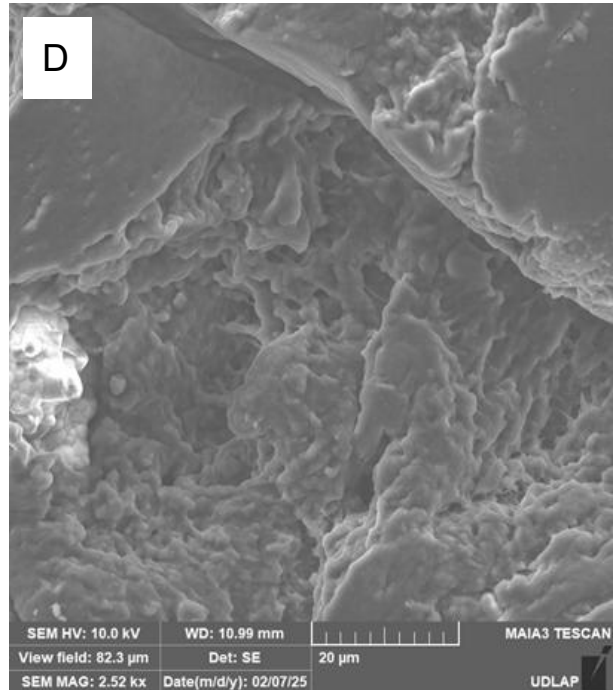
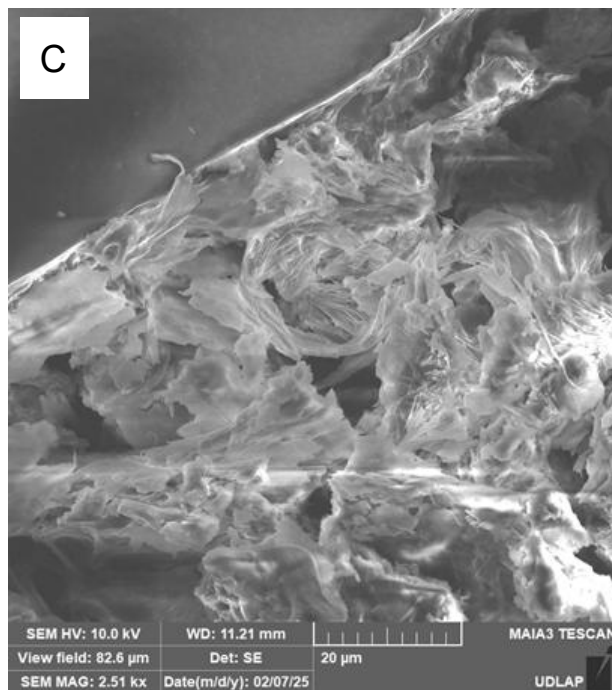
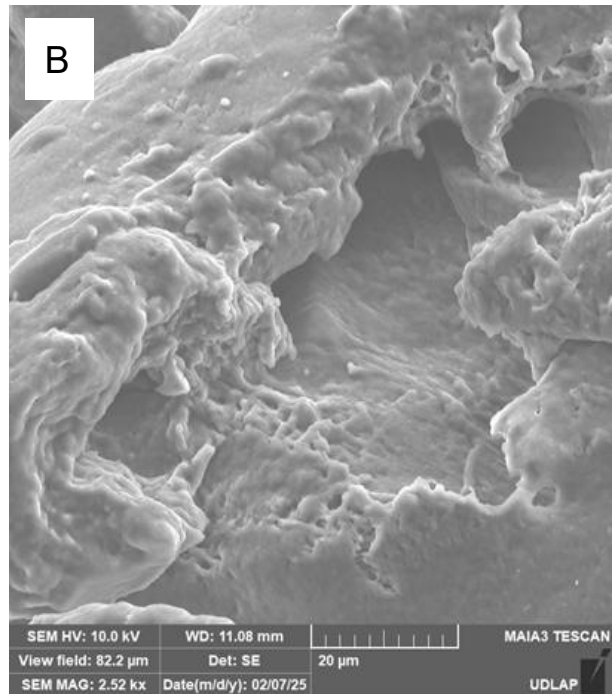
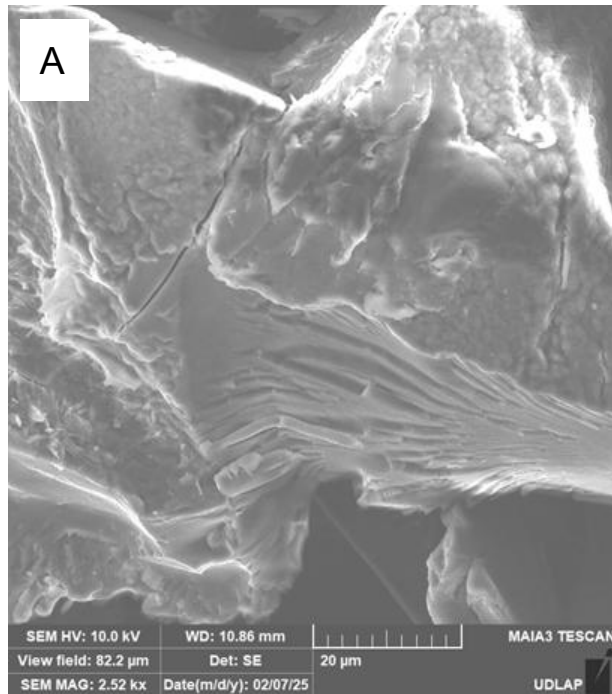


Figura 9. Micrografías obtenidas mediante SEM de las esponjas de (A) ALM, (B) ALM/SVT, (C) ALM/ $\beta$ -TCP, (D) ALM/SVT/BTCP a 2500x, La escala corresponde a 20  $\mu$ m (Fuente propia).

En las micrografías obtenidas se determinó el diámetro de poro por medio del software Image J. Los grupos de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP presentaron una media de diámetro de  $0.78 \pm 0.06 \mu$ m, mientras que los grupos de ALM y ALM/SVT no presentaron poros

definidos. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP y ALM/ $\beta$ -TCP contra los grupos de ALM y ALM/SVT (análisis ANOVA y post hoc de Tukey, valor de  $p \leq 0.001$ ) (Figura 10).

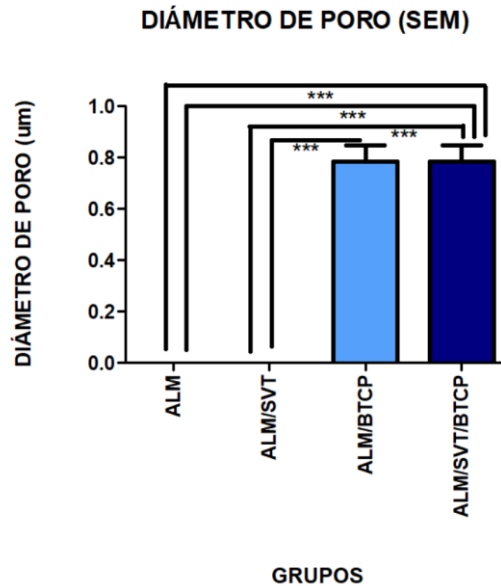


Figura 10. Diámetro de poro de las esponjas de ALM, ALM/SVT, ALM/ $\beta$ -TCP, ALM/SVT/ $\beta$ -TCP (ANOVA de una vía y Tukey, \*\*\* $p < 0.001$ ).

## 12.2 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Para identificar los grupos funcionales de los componentes de las esponjas elaboradas se realizó la prueba FTIR. Las esponjas de ALM/SVT/BTCP presentan espectros característicos en  $3550 \text{ cm}^{-1}$  (O-H),  $1043 \text{ cm}^{-1}$  (C=O),  $1011 \text{ cm}^{-1}$  (C=O) que corresponden a la SVT, el  $\beta$ -TCP identificado principalmente por el grupo funcional fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) con banda de estiramiento en  $1041 \text{ cm}^{-1}$  y picos en 544 y 607, 945 y  $1087 \text{ cm}^{-1}$ . El ALM es representado con los grupos funcionales carbonilo (C=O) y carboxilo (COOH) entre  $1720$  y  $1680 \text{ cm}^{-1}$  respectivamente, así como estiramiento de enlaces C-H entre  $2900$  y  $2800 \text{ cm}^{-1}$  y O-H entre  $3600$  y  $3200 \text{ cm}^{-1}$  (Figura 11).

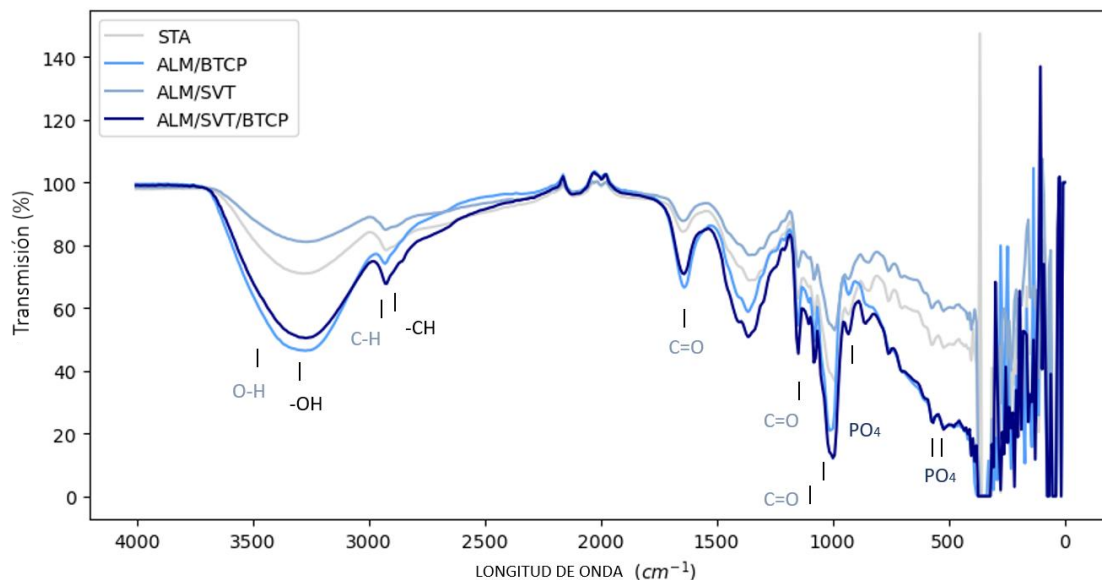


Figura 11. Espectros de los grupos de esponjas obtenidos mediante FTIR.

### 12.3 Porcentaje de porosidad

El porcentaje de porosidad en el grupo de esponjas ALM/SVT/ $\beta$ -TCP obtuvo un promedio de  $100.20 \pm 4.80$ , siendo este grupo el segundo más alto después del grupo de ALM/ $\beta$ -TCP ( $106.40 \pm 3.56$ ), seguido del grupo de ALM ( $96.73 \pm 1.01$ ) y por último el grupo de ALM/SVT ( $93.89 \pm 1.38$ ), sin embargo, el análisis no presenta diferencia significativa (ANOVA de una vía, valor de  $p < 0.05$ ) (Figura 12).

### 12.4 Capacidad de absorción

Para la prueba de capacidad de absorción de agua, el grupo de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP presentó un promedio de  $586.33 \pm 6.17$ , siendo el grupo que obtuvo el menor porcentaje de absorción (ANOVA de una vía, post-ANOVA Tukey), el grupo que obtuvo el mayor resultado de absorción corresponde al grupo de ALM/SVT ( $734.33 \pm 5.92$ ) seguido del grupo de ALM ( $729.00 \pm 2.64$ ), y por último ALM/ $\beta$ -TCP (promedio de  $602.33 \pm 11.67$ ). Al aplicar el análisis estadístico se obtuvieron diferencias significativas al comparar el grupo de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP contra ALM y ALM/SVT ( $p = 0.001$ ) para ambos y al comparar ALM/ $\beta$ -TCP contra ALM y ALM/SVT ( $p = 0.001$ ) (Figura 13).

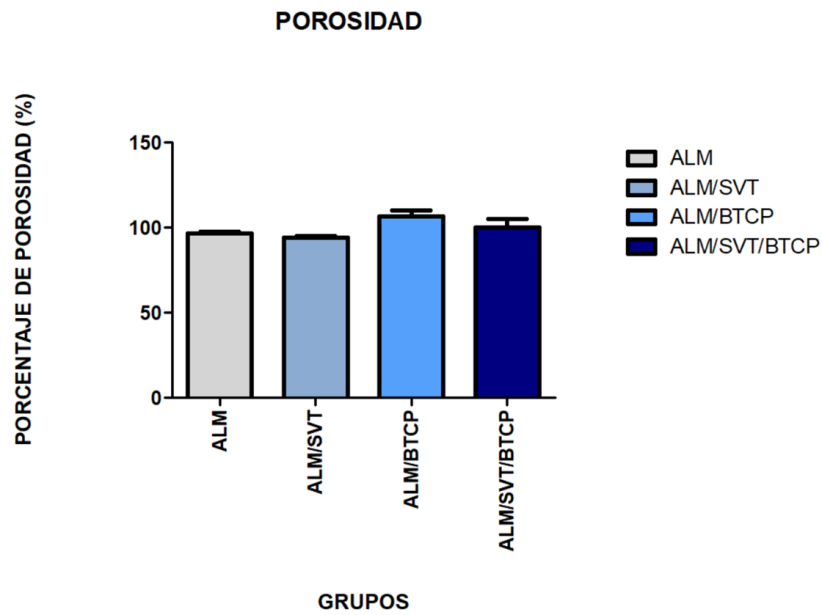


Figura 12. Porcentaje de porosidad en los grupos de esponjas ALM, ALM/SVT, ALM/ $\beta$ -TCP, ALM/SVT/ $\beta$ -TCP (ANOVA de una vía, posANOVA Tukey).

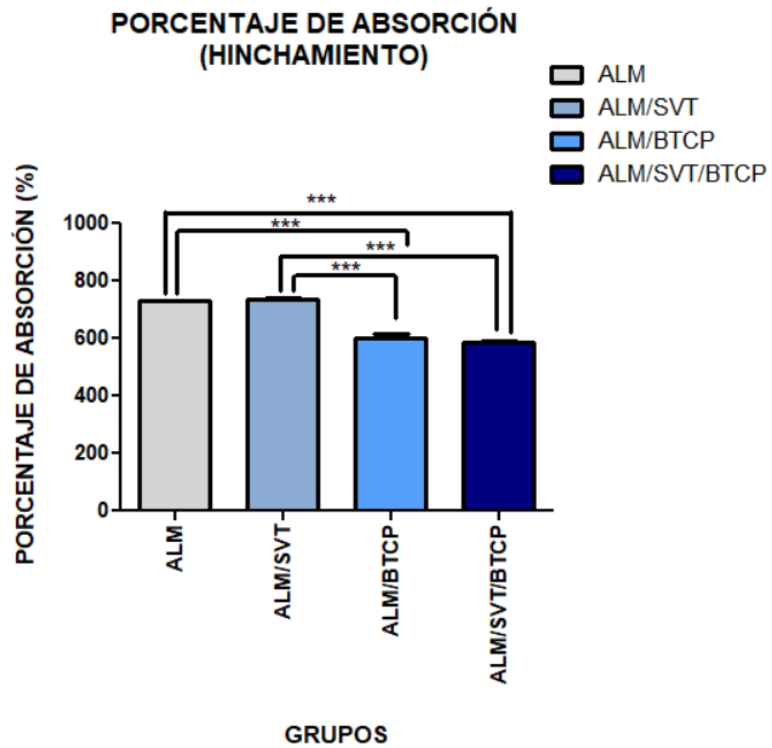


Figura 13. Porcentaje de capacidad de absorción de las esponjas de ALM, ALM/SVT, ALM/ $\beta$ -TCP, ALM/SVT/ $\beta$ -TCP (ANOVA de una vía, post-ANOVA Tukey. \*\*\*  $p < 0.001$ )

## 12.5 Hidrofobicidad

Los resultados obtenidos en la prueba de hidrofobicidad, con el análisis ANOVA de una vía, post-ANOVA Tukey con valor de  $p < 0.05$  muestra diferencias significativas en el grupo de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP contra ALM/ $\beta$ -TCP ( $p < 0.05$ ) ALM ( $p < 0.001$ ) y ALM/SVT ( $p < 0.001$ ). El grupo de ALM/ $\beta$ -TCP contra ALM/SVT y ALM presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$  para ambos), mientras que el grupo de ALM/SVT contra ALM no presentan diferencias significativas.

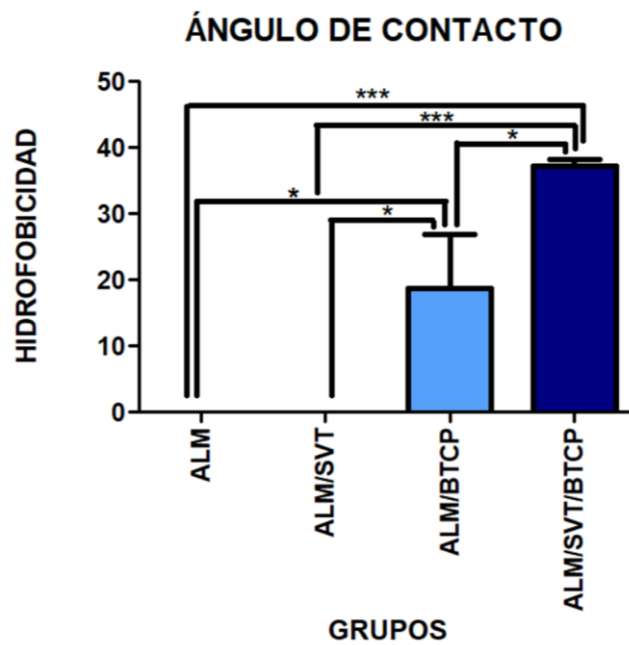


Figura 14. Hidrofobicidad (ángulo de contacto). Prueba ANOVA de una vía y Tukey (\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.0001$ ).

## 12.6 Biodegradación

La pérdida de masa fue evaluada en porcentaje conforme al paso del tiempo a las 24hrs, 5 días, 12, 19, 29, y 43 días (Figura 15). Las esponjas de ALM y ALM/ $\beta$ -TCP fueron los primeros grupos en degradarse (29 días), seguido del grupo de ALM/SVT y ALM/SVT/ $\beta$ -TCP que culminaron su proceso de biodegradación a los 43 días. En el

análisis de porcentaje de masa por medio de ANOVA de una vía no mostraron diferencias significativas.

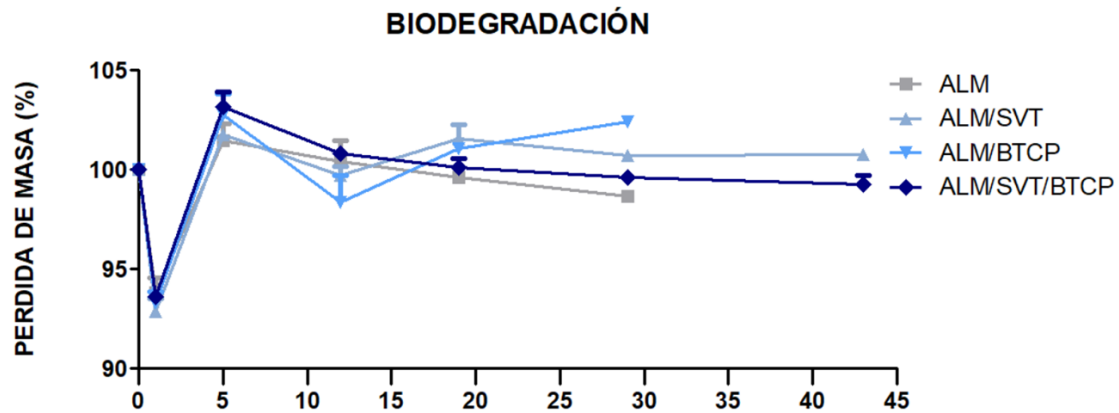


Figura 15. Porcentaje de la pérdida de masa de las esponjas de ALM, ALM/SVT, ALM/ $\beta$ -TCP, ALM/SVT/ $\beta$ -TCP conforme al paso del tiempo.

### 12.7 Resistencia a la compresión

La evaluación de la resistencia a la compresión se realizó introduciendo las muestras en saliva artificial y posteriormente fueron colocadas en la máquina de ensayo universal electrónica controlada por microordenador (Instron) en donde se realizó la compresión del 90% de su tamaño original (Figura 16). Posterior a la aplicación de fuerza ninguno de los grupos de esponjas recuperó su forma original, es decir, permanecieron completamente compactas. De acuerdo con el análisis ANOVA de una vía, no existen diferencias significativas (Figura 17).

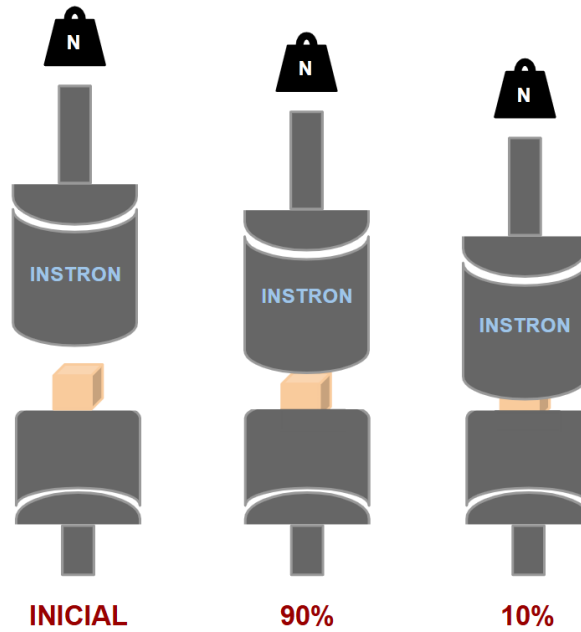


Figura 16. Esquema de la máquina Instron, antes (inicial), durante (90%) y después (10%) de ejercer fuerza sobre las esponjas. (Fuete propia)

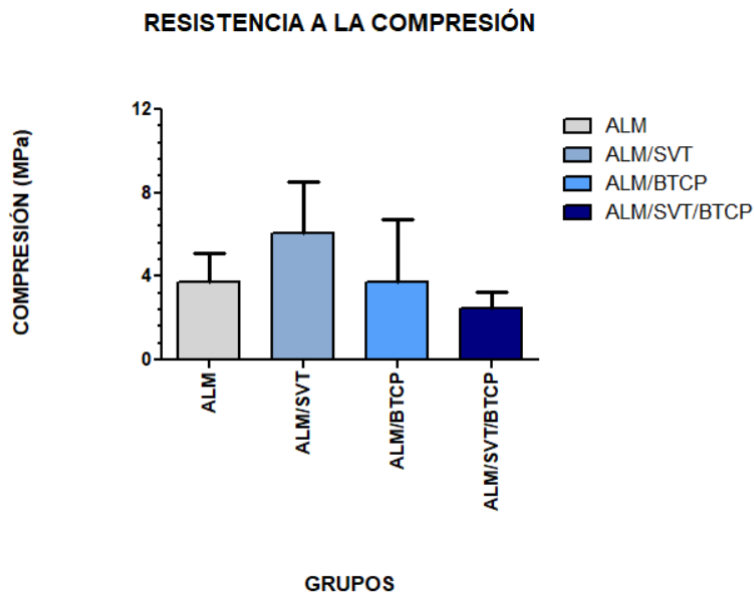


Figura 17. Prueba de resistencia a la compresión de las esponjas de los cuatro grupos (ALM, ALM/SVT, ALM/ $\beta$ -TCP, ALM/SVT/ $\beta$ -TCP), realizado en la máquina de pruebas universales Instron. ANOVA de una vía.

### 13. DISCUSIÓN

El propósito de la presente investigación fue determinar el procedimiento para la elaboración de esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP bajo el uso de la técnica de microondas y realizar su posterior caracterización química, física y mecánica.

La composición de las esponjas se eligió considerando que el ALM es un material biodegradable y biocompatible con alta capacidad de absorción que da como resultado una concentración a nivel celular, lo que concuerda con los siguientes autores; Duan et al., (18) en el 2023, al evaluar el comportamiento del ALM con BTCP para acelerar la hemostasia y promover la regeneración; Torres et al., (15) en el 2007, evaluaron el comportamiento del almidón al ser procesado con técnica de microondas para ingeniería de tejidos. La Organización Mundial de la Salud (49) no ha reportado un porcentaje específico de alergia al almidón, refieren que es la menos común dentro de las alergias alimentarias en general y se estima que entre el 2% y el 8% de la población son alérgicos a algún alimento.

La SVT es un fármaco que ha sido estudiado por grupos que han encontrado resultados de formación de tejido óseo al administrarlos de manera local, como el de Santana et al., (26) 2016, con esponjas para probar el efecto local de la SVT; Papadimitriou et al., (33) 2015 que probaron la efectividad de la SVT con distintos acarreadores; Khurana et al., (34) 2020 con foams para evaluar la liberación del fármaco, estabilidad y efecto biológico de la SVT; y Sousa et al., (25) 2020 que colocaron rellenos en defectos óseos acompañados de SVT. Otros investigadores han reportado que al ser combinado con otros materiales osteoconductores como el BTCP, observan mejores resultados. Cabe resaltar que la incorporación de BTCP en andamios mejora sus características, al ser biocompatible, biodegradable, y osteoconductor respaldada la idea de que promueve la regeneración de tejidos periodontales como lo menciona Uchikawa et al., (24) en el 2021 quienes colocaron andamios con BTCP para acelerar la formación de tejido óseo y regenerar tejidos periodontales. Por lo que la incorporación de

estos 3 biomateriales a una esponja elaborada mediante una técnica innovadora es una propuesta alentadora para formar nuevos biocompuestos.

La literatura señala distintas metodologías para la elaboración de esponjas como la liofilización (50), impresión 3D (3), interacción electrostática (51) y el proceso de microondas (31), esta última técnica modificada de Torres et al.,(15) 2007 se eligió debido a la evidencia de su rápida elaboración y practicidad y se adaptó para lograr la elaboración de las esponjas de este estudio.

El análisis microscópico mediante SEM de las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP y sus grupos controles muestran que las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP presentan distribución de poros homogénea. Algunos autores reportan que el rango promedio abarca entre los 200-900 nm (15) para la ingeniería de tejidos para la ingeniería de tejidos, para facilitar la proliferación y diferenciación celular (15,16,37) así como la difusión de nutrientes, oxígeno, diferenciación celular para acelerar la cicatrización de tejidos confirmado por Yan et al., (38) 2022, el proceso de angiogénesis, vascularización y regular el impacto del biomaterial a nivel celular (Bryers et al., (52) 2012; Sussman et al., (53) 2014; Tylek et al., (54) 2020; Jiang et al., (40) 2023; y Yan et al., (38) 2022. El promedio de diámetro de poro obtenido en la esponja de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP se observa menor con comparación a Wang et al. (37) en 2023, quienes hicieron esponjas por medio de la técnica de interacción electrostática para mejorar la hemostasia y la osteogénesis para la prevención del alvéolo seco, mientras que las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP se sometieron a proceso de microondas.

La porosidad en el andamio es necesario para proporcionar a la superficie el espacio suficiente para el crecimiento de las células para la regeneración ósea y reparación de tejido (37,40). Chi et al., (12) 2022, describen que andamios con diámetro de 0.5 – 2 micrones pueden inducir una disposición paralela de osteoblastos y diferenciación de células oste progenitoras en osteoblastos.

El análisis estructural mediante FTIR de las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP permite observar los grupos funcionales representativos de estos componentes, los espectros obtenidos muestran principalmente los grupos fosfato, carbonilo, carboxilo que corresponden a  $\beta$ -TCP, ALM Y SVT, lo que sugiere que los componentes no se modificaron por la acción de las microondas, similar a los resultados por Bonthagarala (55) 2013 para la SVT; Al-Qahtani (56) 2022 con el BTCP; Xidaki (57) 2018 con partículas de BTCP; y Abdullah (58) 2018 para las propiedades químicas del ALM.

Los resultados obtenidos del porcentaje de porosidad para el grupo de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP presentan un rango de 93.69 a 109.54%, diferente a los resultados obtenidos por Wang et al., (37) 2023, quienes presentaron un promedio mayor de 65.51%, ellos elaboraron esponjas de alginato para hemostasis y osteogénesis mediante la técnica de liofilización. Rodríguez Vázquez et. al., (59) 2015, sugieren la importancia de que la estructura de un andamio contenga un 80 a 90% de porosidad para el desempeño de propiedades de reparación de tejido y paso de nutrientes. En andamios esponjosos, la capacidad de absorción de agua es de gran importancia para la caracterización del andamio, debido a que ayuda a mantener la hidratación del andamio y el defecto y a promover la difusión de nutrientes (11,40,60). Por lo que las esponjas fabricadas en este estudio alcanzan en la capacidad de absorción de hasta 6 veces su propio peso, lo cual representa la capacidad del andamio de absorber fluidos como la sangre siendo prometedor para su futura aplicación.

La mayoría de las investigaciones previas no realizan la prueba de hidrofobicidad debido a que la característica principal de las esponjas es su alta capacidad de absorción, por lo cual los resultados obtenidos presentan limitantes al momento de realizar la comparación. Se debe resaltar que un valor adecuado de hidrofobicidad influye en la unión, proliferación y diferenciación celular, influenciado la respuesta biológica de las células mesenquimales, para liberar señales que promuevan la regeneración y/o formación de tejido óseo (29,61,62). Las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP presentaron un ángulo de contacto de 37.22°, seguido del grupo de ALM/ $\beta$ -TCP con 18.77° y 0° para los grupos de ALM y ALM/SVT. En este sentido, teniendo en cuenta que el almidón es un

material altamente absorbente y es altamente hidrofílico, también presenta cierto grado de hidrofobicidad ( $37.22^\circ$ ). Sin embargo, también se ha informado que las células se adhieren y proliferan más en superficies con hidrofiliidad moderada en el caso de andamios elaborados con la técnica de electrohilado (46), recordando que las esponjas en este estudio fueron realizadas bajo la técnica de microondas.

Una de las propiedades más importantes de un biomaterial es la degradación y las características mecánicas adecuadas, 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., (63) 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 recién formado ocupe gradualmente el lugar del andamio colocado, lo que dará como resultado la reparación de tejido sin material residual (64). El análisis de los resultados de biodegradación muestra que el punto máximo de absorción ocurrió entre los 4 a 6 días para todos los grupos, la literatura indica que la SVT debe permanecer en el sitio localizado durante 15 días para considerar la liberación controlada del fármaco y los demás agentes bioactivos y mantener su integridad hasta obtener resultados adecuados de formación de tejidos, favorablemente las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP alcanzaron su degradación completa a los 43 días cumpliendo con el tiempo indicado para mantener un andamio en el defecto óseo como lo reportan Sousa et.al., (25) en el 2020 donde confirman que andamios poliméricos permiten la liberación d SVT durante más de 15 días lo cual corresponde al tiempo esencial para formación de tejido óseo.

En cuanto a la resistencia a la compresión, se observa que las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP no presentan memoria de forma, la cual consiste en la habilidad de ciertos materiales como los polímeros de recuperar su forma original después de ejercer fuerzas que distorsionen o la deformen favorablemente, pueden presentar el potencial y la capacidad de adaptarse a la forma del defecto o sitio anatómico, sin romperse o

desgarrarse, sin embargo, Song et. al., (48) 2023, describen la importancia de que el andamio pueda contar con memoria de forma para brindar una adecuada capacidad de soporte en su estructura. Por lo que, se considera necesario aumentar el número de pruebas para comprobar estos resultados y/o sumar otro biomaterial para mejorar esta característica.

En este sentido la caracterización de estas esponjas realizada hasta el momento es alentadora porque reúne varias de las características esenciales para andamios utilizados para la ingeniería de tejidos.

## 14. CONCLUSIÓN

La técnica de microondas empleada para la elaboración de las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP es rápida, sencilla, económica, replicable y accesible. Por lo que se considera una técnica con gran potencial y es viable de aplicación.

Las esponjas de ALM/SVT/ $\beta$ -TCP elaboradas con la técnica de microondas cumplen con las características de morfología, hidrofobicidad, absorción, hidrofobicidad, porosidad y biodegradación.

De acuerdo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) lo integra el objetivo no. 3 que corresponde a "*Salud y bienestar*" el cual tiene como meta garantizar y brindar acceso universal a los servicios de salud y promover el bienestar de todos a todas las edades. Al continuar con la investigación necesaria para continuar con este estudio para salir al mercado como un producto innovador mexicano, logramos trabajar a la par de las características necesarias para que sea sostenible y accesible gracias a los materiales que lo conforman.

Los resultados obtenidos son prometedores para continuar con los estudios de liberación controlada del fármaco, viabilidad celular y biocompatibilidad *in vitro* e *in vivo* en modelos animales. De esta manera lograr a corto o mediano plazo la innovación de productos sostenibles mexicanos.

## 15. BIBLIOGRAFÍA

1. Vargas, Yáñez, Monteagudo. *Periodontología e Implantología*. 2da ed. México: Médica Panamericana; 2022
2. Dimitriou R, Jones E, McGonagle D, Giannoudis P V. Bone regeneration: Current concepts and future directions. *BMC Med* [Internet]. 2011;9(66).
3. Wu DT, Munguia-Lopez JG, Cho YW, Ma X, Song V, Zhu Z, et al. Polymeric scaffolds for dental, oral, and craniofacial regenerative medicine. Vol. 26, *Molecules*. MDPI; 2021.
4. Liu J, Kerns DG. Mechanisms of guided bone regeneration: a review. *The Open Dentistry Journal. Abra Dent J* 2014; 8(1):56–65.
5. Xu Z, Sun Y, Dai H, Ma Y, Bing H. Engineered 3D-Printed Polyvinyl Alcohol Scaffolds Incorporating  $\beta$ -Tricalcium Phosphate and Icariin Induce Bone Regeneration in Rat Skull Defect Model. *Molecules*. 2022; 27(14).
6. Kalsi AS, Kalsi JS, Bassi S. Alveolar ridge preservation: why, when and how. *Br Dent J*. 2019;227(4):264–74.
7. Barootchi S, Tavelli L, Majzoub J, Stefanini M, Wang HL, Avila-Ortiz G. Alveolar ridge preservation: Complications and cost-effectiveness. Vol. 92, *Periodontology 2000*. 2023; p. 235–62.
8. Rudin A, Choi P. Chapter 13 – Biopolymers. Alfred Rudin, Phillip Choi. *The Elements of Polymer Science & Engineering (Third Edition)*. Academic Press, 2013; p. 521-535.
9. Zwawi M. A review on natural fiber bio-composites, surface modifications and applications. *Molecules*. 2021. 14;26(2):404
10. Atia GAN, Shalaby HK, Zehravi M, Ghobashy MM, Attia HAN, Ahmad Z, et al. Drug-Loaded Chitosan Scaffolds for Periodontal Tissue Regeneration. *Polymers*. 2022; 14(15):3192.
11. Grzybek P, Jakubski Ł, Dudek G. Neat Chitosan Porous Materials: A Review of Preparation, Structure Characterization and Application. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(17):9932.
12. Chi J, Wang M, Chen J, Hu L, Chen Z, Backman LJ, et al. Topographic Orientation of Scaffolds for Tissue Regeneration: Recent Advances in Biomaterial Design and Applications. Vol. 7, *Biomimetics*. MDPI; 2022. 12;7 (3): 131
13. Uribe F, Vásquez B, Alister JP, Olate S. Comparison of rhBMP-2 in Combination with Different Biomaterials for Regeneration in Rat Calvaria Critical-Size Defects. *Biomed Res Int*. 2022;2022.
14. Nath SD, Linh NTB, Sadiasa A, Lee BT. Encapsulation of simvastatin in PLGA microspheres loaded into hydrogel loaded BCP porous spongy scaffold as a controlled drug delivery system for bone tissue regeneration. *J Biomater Appl*. 2014;28(8):1151–63.
15. Torres FG, Boccaccini AR, Troncoso OP. Microwave processing of starch-based porous structures for tissue engineering scaffolds. *J Appl Polym Sci*. 2007;103(2):1332–9.

16. Deng R, Xie Y, Chan U, Xu T, Huang Y. Biomaterials and biotechnology for periodontal tissue regeneration: Recent advances and perspectives. Vol. 16, *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*. Tabriz University of Medical Sciences; 2022. p. 1–10.
17. Prasad S, Wong RCW. Unraveling the mechanical strength of biomaterials used as a bone scaffold in oral and maxillofacial defects. Vol. 15, *Oral Science International*. Japanese Stomatological Society; 2018. p. 48–55.
18. Duan Q, Liu H, Zheng L, Cai D, Huang G, Liu Y, et al. Novel resorbable bone wax containing  $\beta$ -TCP and starch microspheres for accelerating bone hemostasis and promoting regeneration. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023;11.
19. Soto D, Oliva H. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales: (RLMM)*. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales* [Internet]. 2001 [cited 2025 Apr 27];32(2):154–75. Available from: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0255-69522012000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0255-69522012000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
20. Chou J, Ito T, Bishop D, Otsuka M, Ben-Nissan B, Milthorpe B. Controlled Release of Simvastatin from Biomimetic  $\beta$ -TCP Drug Delivery System. *PLoS One*. 2013;8(1).
21. Nakagiri R, Watanabe S, Takabatake K, Tsujigiwa H, Watanabe T, Matsumoto H, et al. Long-term effect of honeycomb  $\beta$ -tricalcium phosphate on zygomatic bone regeneration in rats. *Materials*. 2020;13(23):1–14.
22. Patterson S, Jones DC, Shanks EJ, Frearson JA, Gilbert IH, Wyatt PG, et al. Synthesis and evaluation of 1-(1-(benzo[b]thiophen-2-yl)cyclohexyl) piperidine (BTCP) analogues as inhibitors of trypanothione reductase. *ChemMedChem*. 2009;4(8):1341–53.
23. Badwelan M, Alkindi M, Alghamdi O, Ahmed A, Ramalingam S, Alrahlah A. Bone regeneration using PEVAV/ $\beta$ -tricalcium phosphate composite scaffolds in standardized calvarial defects: Micro-computed tomographic experiment in rats. *Materials*. 2021;14(9).
24. Uchikawa E, Yoshizawa M, Li X, Matsumura N, Li N, Chen K, et al. Tooth transplantation with a  $\beta$ -tricalcium phosphate scaffold accelerates bone formation and periodontal tissue regeneration. *Oral Dis*. 2021;27(5):1226–37.
25. de Sousa DN, Roriz VM, de Oliveira GJPL, Duarte WR, Pinto LNMP, Vianna LM de S, et al. Local effect of simvastatin combined with different osteoconductive biomaterials and collagen sponge on new bone formation in critical defects in rat calvaria. *Acta Cir Bras*. 2020;35(1).
26. de Santana WM, de Sousa DN, Ferreira VM, Duarte WR. Simvastatin and biphasic calcium phosphate affects bone formation in critical-sized rat calvarial defects. *Acta Cir Bras*. 2016;31(5):300–7.
27. Diniz JA, Barbirato D da S, do Nascimento EHL, Pontual A dos A, Dourado ACAG, Laureano Filho JR. Tomographic evaluation of the effect of simvastatin topical use on alveolar bone microarchitecture, pain and swelling after mandibular third molar extraction: a randomized controlled trial. *Clin Oral Investig*. 2022;26(4):3533–45.
28. Schachter M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: An update. Vol. 19, *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 2005. p. 117–25.

29. Oryan A, Kamali A, Moshiri A. Potential mechanisms and applications of statins on osteogenesis: Current modalities, conflicts and future directions. Vol. 215, *Journal of Controlled Release*. Elsevier B.V.; 2015. p. 12–24.
30. Zhang H, Cheng J, Ao Q, Zhang H, Cheng J, Ao Q, et al. marine drugs Preparation of Alginate-Based Biomaterials and Their Applications in Biomedicine. 2021; Available from: <https://doi.org/10.3390/md>
31. Zhang F, Zhou T, Liu Y, Leng J. Microwave synthesis and actuation of shape memory polycaprolactone foams with high speed. *Sci Rep*. 2015;5.
32. Zhang X, Teng Z, Huang R, Catchmark JM. Biodegradable starch/chitosan foam via microwave assisted preparation: Morphology and performance properties. *Polymers (Basel)*. 2020;12(11):1–17.
33. Papadimitriou K, Karkavelas G, Vouros I, Kessopoulou E, Konstantinidis A. Effects of local application of simvastatin on bone regeneration in femoral bone defects in rabbit. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2015;43(2):232–7.
34. Khurana K, Guillem-Marti J, Soldera F, Mücklich F, Canal C, Ginebra MP. Injectable calcium phosphate foams for the delivery of Pitavastatin as osteogenic and angiogenic agent. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2020;108(3):760–70.
35. Gao B, Honda Y, Yamada Y, Tanaka T, Takeda Y, Nambu T, et al. Utility of thermal cross-linking in stabilizing hydrogels with beta-tricalcium phosphate and/or epigallocatechin gallate for use in bone regeneration therapy. *Polymers (Basel)*. 2022;14(1).
36. Quan W, Li P, Wei J, Jiang Y, Liang Y, Zhang W, et al. Bio-Multifunctional Sponges Containing Alginate/Chitosan/Sargassum Polysaccharides Promote the Healing of Full-Thickness Wounds. *Biomolecules*. 2022;12(11).
37. Wang D, Sun Y, Zhang D, Kong X, Wang S, Lu J, et al. Root-shaped antibacterial alginate sponges with enhanced hemostasis and osteogenesis for the prevention of dry socket. *Carbohydr Polym*. 2023;299.
38. Yan M, Pan Y, Lu S, Li X, Wang D, Shao T, et al. Chitosan-CaP microflowers and metronidazole loaded calcium alginate sponges with enhanced antibacterial, hemostatic and osteogenic properties for the prevention of dry socket after tooth removal. *Int J Biol Macromol*. 2022;212:134–45.
39. Eduardo Maldonado López L, Alonso Escobar Barrios San Luis Potosí V. Predicción de parámetros estructurales para membranas de Polisulfona, mediante modelos de Diseño de Experimentos y Aprendizaje de Máquina. IPICYT. 2022.
40. Jiang M, Li S, Ming P, Guo Y, Yuan L, Jiang X, et al. Rational design of porous structure-based sodium alginate/chitosan sponges loaded with green synthesized hybrid antibacterial agents for infected wound healing. *Int J Biol Macromol*. 2023;237.
41. Poonguzhali R, Khaleel Basha S, Sugantha Kumari V. Fabrication of asymmetric nanostarch reinforced Chitosan/PVP membrane and its evaluation as an antibacterial patch for in vivo wound healing application. *Int J Biol Macromol*. 2018;114:204–13.

42. Di Martino A, Drannikov A, Surgutskaia NS, Ozaltin K, Postnikov PS, Marina TE, et al. Chitosan-collagen based film for controlled delivery of a combination of short life anesthetics. *Int J Biol Macromol.* 2019;140:1183–93.
43. Demir Oğuz Ö, Ege D. Preparation of graphene oxide-reinforced calcium phosphate/calcium sulfate/methylcellulose-based injectable bone substitutes. *MRS Commun.* 2019;9(4):1174–80.
44. Gil-Castell O, Badia JD, Bou J, Ribes-Greus A. Performance of polyester-based electrospun scaffolds under in vitro hydrolytic conditions: From short-term to long-term applications. *Nanomaterials.* 2019;9(5).
45. Carbajal-De la Torre G, Zurita-Méndez NN, Ballesteros-Almanza M de L, Ortiz-Ortiz J, Estévez M, Espinosa-Medina MA. Characterization and Evaluation of Composite Biomaterial Bioactive Glass–Polylactic Acid for Bone Tissue Engineering Applications. *Polymers (Basel).* 2022;14(15).
46. Aidun A, Safaei Firoozabady A, Moharrami M, Ahmadi A, Haghhighipour N, Bonakdar S, Faghihi S. Graphene oxide incorporated polycaprolactone/chitosan/collagen electrospun scaffold: Enhanced osteogenic properties for bone tissue engineering. *Artif Organs.* 2019; 43(10):E264-E281.
47. Anbazhagan S, Thangavelu KP. Application of tetracycline hydrochloride loaded-fungal chitosan and Aloe vera extract based composite sponges for wound dressing. *J Adv Res.* 2018; 14;14:63-71
48. Song Y, Li S, Chen H, Han X, Duns GJ, Dessie W, et al. Kaolin-loaded carboxymethyl chitosan/sodium alginate composite sponges for rapid hemostasis. *Int J Biol Macromol.* 2023;233.
49. In brief: priority food allergens [Internet]. World Health Organization; 2024. Available from: <https://iris.who.int/handle/10665/378476>
50. Katrilaka C, Karipidou N, Petrou N, Manglaris C, Katrilakas G, Tzavellas AN, et al. Freeze-Drying Process for the Fabrication of Collagen-Based Sponges as Medical Devices in Biomedical Engineering. Vol. 16, *Materials.* MDPI; 2023.
51. Pereira HF, Cengiz IF, Silva FS, Reis RL, Oliveira JM. Scaffolds and coatings for bone regeneration. Vol. 31, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* Springer; 2020.
52. Bryers JD, Giachelli CM, Ratner BD. Engineering biomaterials to integrate and heal: The biocompatibility paradigm shifts. Vol. 109, *Biotechnology and Bioengineering.* 2012. p. 1898–911.
53. Sussman EM, Halpin MC, Muster J, Moon RT, Ratner BD. Porous implants modulate healing and induce shifts in local macrophage polarization in the foreign body reaction. *Ann Biomed Eng.* 2014;42(7):1508–16.
54. Tylek T, Blum C, Hrynevich A, Schlegelmilch K, Schilling T, Dalton PD, et al. Precisely defined fiber scaffolds with 40 µm porosity induce elongation driven M2-like polarization of human macrophages. *Biofabrication.* 2020;12(2).
55. Bonthagarala B, Brahmaiah B, Desu K, Nama S, Khalilullah S, Satish Babu S. Formulation and evaluation of extended release mucoadhesive microspheres of simvastatin Sreekanth Nama. *Dr Rescisco Global Regulatory Consultants International Journal of PHARMACEUTICAL AND BIOMEDICAL RESEARCH*

Formulation and evaluation of extended release mucoadhesive microspheres of simvastatin. 2013; Available from: [www.pharmscidirect.com](http://www.pharmscidirect.com)

56. Al-Qahtani AS, Tulbah HI, Binhasan M, Shabib S, Al-Aali KA, Alhamdan MM, et al. Influence of Concentration Levels of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate on the Physical Properties of a Dental Adhesive. *Nanomaterials*. 2022 Mar;12(5).
57. Xidaki D, Agrafioti P, Diomatari D, Kaminari A, Tsalavoutas-Psarras E, Alexiou P, et al. Synthesis of hydroxyapatite,  $\beta$ -Tricalcium phosphate and biphasic calcium phosphate particles to act as local delivery carriers of curcumin: Loading, release and in vitro studies. *Materials*. 2018;11(4).
58. Abdullah AHD, Chalimah S, Primadona I, Hanantyo MHG. Physical and chemical properties of corn, cassava, and potato starches. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Institute of Physics Publishing; 2018.
59. Rodríguez-Vázquez M, Vega-Ruiz B, Ramos-Zúñiga R, Saldaña-Koppel DA, Quiñones-Olvera LF. Chitosan and Its Potential Use as a Scaffold for Tissue Engineering in Regenerative Medicine. Vol. 2015, *BioMed Research International*. Hindawi Limited; 2015.
60. Soares JP, Santos JE, Chierice GO, G Cavalheiro ET. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt [Internet]. Vol. 29. 2004. Available from: [www.scielo.br/eq](http://www.scielo.br/eq)
61. Bächle M, Kohal RJ. A systematic review of the influence of different titanium surfaces on proliferation, differentiation and protein synthesis of osteoblast-like MG63 cells. Vol. 15, *Clinical Oral Implants Research*. 2004. p. 683–92.
62. Boyan BD, Lotz EM, Schwartz Z. Roughness and hydrophilicity as osteogenic biomimetic surface properties. *Tissue Eng Part A*. 2017;23(23–24):1479–89.
63. Oleksy M, Dynarowicz K, Aebischer D. Advances in Biodegradable Polymers and Biomaterials for Medical Applications—A Review. Vol. 28, *Molecules*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
64. Li M, Li J. Biodegradation behavior of silk biomaterials. In: *Silk Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. Elsevier Ltd.; 2014. p. 330–48.