



# **BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

Facultad de estomatología

**TESINA**

## **MEMBRANAS DE COLÁGENO Y QUITOSANO PARA REGENERACIÓN ÓSEA**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADA EN ESTOMATOLOGÍA  
PRESENTA:**

**ELIZABETH BARREDA MARTÍNEZ**

**MATRÍCULA: 201423608**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**D.C. JULIA FLORES TOCHIHUITL**

**ID: 100228022**

**DIRECTOR DISCIPLINARIO:**

**DR. MARIO ALBERTO LAGUNES LÓPEZ**

**ID: 100347855**

**DIRECTOR METODOLÓGICO:**

**DRA. CAROLINA SÁMANO VALENCIA**

**ID: 100526470**

**ASESOR EXTERNO:**

**D.C. MIGUEL ÁNGEL MÉNDEZ ROJAS**

**LECTOR:**

**D.C MIGUEL ÁNGEL CASILLAS SANTANA**

**ID: 100526485**

**ABRIL 2021**





# **BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

Facultad de estomatología

**TESINA**

## **MEMBRANAS DE COLÁGENO Y QUITOSANO PARA REGENERACIÓN ÓSEA**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADA EN ESTOMATOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**ELIZABETH BARREDA MARTÍNEZ**

**MATRÍCULA: 201423608**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**D.C. JULIA FLORES TOCHIHUITL**

**ID: 100228022**

**DIRECTOR DISCIPLINARIO:**

**DR. MARIO ALBERTO LAGUNES LÓPEZ**

**ID: 100347855**

**DIRECTOR METODOLÓGICO:**

**DRA. CAROLINA SÁMANO VALENCIA**

**ID: 100526470**

**ASESOR EXTERNO:**

**D.C. MIGUEL ÁNGEL MÉNDEZ ROJAS**

**LECTOR:**

**D.C MIGUEL ÁNGEL CASILLAS SANTANA**

**ID: 100526485**

**ABRIL 2021**



**BUAP**

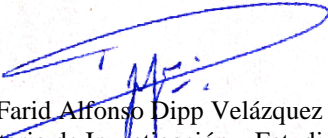
Oficio No. FESIEP/044/2021

**C. Elizabeth Barreda  
Martínez Matrícula:  
201423608  
Alumno de la Licenciatura en  
Estomatología De la Facultad de  
Estomatología  
Benemérita Universidad Autónoma  
de Puebla P R E S E N T E.**

*El que suscribe, MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez, Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por este medio me permito informara usted que esta Secretaría **aprueba la impresión de la Tesina titulada “Membranas de colágeno y quitosano para regeneración ósea”, misma que presentará para realizar su examen profesional y obtener el grado de Licenciado en Estomatología.***

*Sin más por el momento, deseándole lo mejor, le reitero mi distinguida consideración.*

A t e n t a m e n t e  
“Pensar bien, para vivir mejor”  
H. Puebla de Z., a 14 de abril de 2021.

  
MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez  
Secretario de Investigación y Estudios de  
Posgrado Facultad de Estomatología



**Fecha: 14 abril de 2021**

Facultad  
de Estomatología

31 Poniente 1304, Col. Volcanes,  
Puebla, Pue. C. P. 72410  
01 (222) 229 55 00 Ext. 6400

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
**FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA**

**SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESINA**  
**RECEPCIONAL**

Para obtener el Grado de: **Licenciada en Estomatología**  
Registro CIFE: **2021024** Fecha: **14 de abril de 2021**

Título de la Tesis: **“Membranas de colágeno y quitosano para regeneración ósea”**

Nombre del alumno: **Elizabeth Barreda Martínez**

Matrícula: **201423608**

Domicilio: **11 sur #1506 interior #301**

Tel: **221 174 82 84**

Fecha de ingreso a la Facultad: **agosto 2014**

Firma: \_\_\_\_\_

Director de tesis: **Julia Flores Tochiuhtl**  
**Químico Biológicas**

Grado académico: **Doctora en Ciencias**

Adscripción: **Facultad de Estomatología**

ID: **100228022**

Tel: **222 546 67 11**

Firma: \_\_\_\_\_

Director disciplinario: **Mario Alberto Lagunes López**  
**cirugía rinomaxilar**

Grado académico: **Alta especialidad en**

Adscripción: **Facultad de Estomatología**

ID: **100347855**

Tel: **552 335 49 07**

Firma: \_\_\_\_\_

Director metodológico: **Carolina Sámano Valencia**  
**Ciencia de Materiales**

Grado académico: **Doctora en Ingeniería y**

Adscripción: **Facultad de Estomatología**

ID: **100526470**

Tel: **444 819 18 22**

Firma: \_\_\_\_\_

Asesor externo: **Miguel Ángel Méndez Rojas**

Grado académico: **Doctor en Química (Ph.D.)**

Adscripción: **Universidad de las Américas Puebla**

ID: **n/a**

Tel: **222 674 26 07**

Firma: \_\_\_\_\_

Lector: **Miguel Ángel Casillas Santana**  
**Odontológicas**

Grado académico: **Doctor en ciencias**

Adscripción: **Facultad de Estomatología**

ID: **100526485**

Tel: **444 846 76 45**

Firma: \_\_\_\_\_

**Nombre y firma de aprobación del Presidente de la Academia de Ciencias Básicas Facultad de Estomatología B.U.A.P.**

\_\_\_\_\_  
**D.C. Miguel Ángel Casillas Santana**

**La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología autoriza la impresión de la Tesis.**

\_\_\_\_\_  
**MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez**



Sello \_\_\_\_\_

## **Con todo mi amor a mis padres**

*María de la Luz Martínez Montelongo y Rigoberto Barreda Pérez* agradezco infinitamente el amor, comprensión y paciencia que siempre me tienen, son ustedes el pilar y el ejemplo más grande a seguir. Por el apoyo y la confianza brindada hoy puedo culminar esta meta en mi vida.

## **A mis hermanos**

*Karina Gabriela, José Rigoberto, Yazmín y Juan Pablo* son ustedes mi fortaleza y mis cómplices en muchas facetas de mi vida, estoy agradecida por todos los consejos que me dieron a lo largo de mi carrera. Siempre seguirán siendo un ejemplo de profesionistas y una parte importante en mi desarrollo profesional.

## **Agradezco especialmente a mi tutora de tesis**

D.C *Julia Flores Tochiutl* por la pasión con la que desarrolla su trabajo, sus enseñanzas y el profesionalismo que siempre la ha caracterizado. Son sus ideales un ejemplo a seguir, gracias a sus conocimientos, orientación y confianza logró hacer de mí una profesional consiente y comprometida con mi formación académica.

## **A mis tutores**

Por su compromiso, apoyo y disposición durante este proceso de mi formación, Director Metodológico, *Dra. Carolina Sámano Valencia*, Asesor Externo, D.C. *Miguel Ángel Méndez Rojas*, Director Disciplinario, Dr. *Mario Alberto Lagunes López*.

## **A mi universidad**

Por darme las herramientas necesarias para forjarme como profesional, me siento muy complacida y orgullosa de pertenecer a esta casa de estudios, *Benemérita Universidad Autónoma de Puebla*.

## **A las instituciones**

Por brindarme la oportunidad de colaborar con ustedes y observar el trabajo que desarrollan con gran profesionalismo, *Universidad De las Américas Puebla*

A cada uno de los compañeros del *Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Estomatología BUAP*, somos un gran equipo.

<b>ÍNDICE</b>	
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>CAPÍTULO I. MARCO CONTEXTUAL</b> .....	4
<b>CAPITULO II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL</b> .....	5
<b>2.1.1. Ingeniería de tejidos</b> .....	5
<b>2.1.2.1 Membranas</b> .....	8
<b>2.1.3 Características biológicas, mecánicas y químicas de las membranas</b> .....	10
<b>2.1.4 Membranas de colágeno</b> .....	12
<b>2.1.4.1.1 Colágeno de pescado</b> .....	15
<b>2.1.5. Quitosano</b> .....	16
<b>2.1.6 Membranas de colágeno/quitosano</b> .....	17
<b>CAPÍTULO III. MARCO REFERENCIAL</b> .....	19
<b>CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA Y ANÁLISIS</b> .....	24
<b>CAPÍTULO V. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN</b> .....	27
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	31

## **RESUMEN**

Las membranas desempeñan un papel importante al aislar los tejidos blandos y permitir que el hueso crezca. No todas las membranas se comportan biológicamente de la misma manera, ya que se diferencian de su origen y estructura, con reflejos en sus propiedades mecánicas y en su desempeño clínico. Las membranas de colágeno (COL) se han utilizado ampliamente en medicina y odontología, debido a su alta biocompatibilidad y capacidad para promover la cicatrización de heridas. Recientemente, se han aplicado membranas de COL en la regeneración ósea guiada con resultados comparables a los de las membranas no reabsorbibles, estas requieren una segunda cirugía, debido a esto es necesario explorar otras fuentes de COL para tener más alternativas de membranas bioabsorbibles y garantizar procesos de regeneración eficientes y de menor costo.

En el mercado ya se comercializan membranas de COL de mamífero; recientemente se ha explorado la opción de las membranas de COL de piel de pescado porque presentan características adecuadas para la regeneración ósea guiada con la capacidad para permitir la adhesión celular y la proliferación de las células específicas del tejido a tratar, mayor solubilidad, capacidad de retención y mejor rendimiento de acuerdo a su aminograma; de esa manera, se busca generar un impacto significativo en el ámbito ambiental, comercial y económico, que hagan más eficaces los procedimientos de regeneración ósea y que permitan al estomatólogo brindar tratamientos más seguros.

El colágeno de pescado (COLp) y el quitosano (Qs) son biomateriales que no existen juntos como una mezcla en la naturaleza, pero las propiedades específicas de cada uno pueden usarse para producir combinaciones con características únicas; el Qs y el COL son derivados biodegradables y biocompatibles en el organismo humano además de ser abundantes en la naturaleza. El estudio de las interacciones que pueden ocurrir entre estos dos biopolímeros tiene una gran importancia, principalmente para considerar el procesamiento de nuevos biomateriales a partir de estas dos macromoléculas y la producción de biocompósitos como las membranas para regeneración ósea guiada.



## INTRODUCCIÓN

La regeneración ósea guiada (GBR, por sus siglas en inglés; *guided bone regeneration*) es uno de los enfoques más efectivos utilizados en el aumento óseo alveolar. Es un procedimiento quirúrgico que implica el uso de membranas para la regeneración ósea guiada (GBRM, por sus siglas en inglés; *guided bone regeneration membrane*) con o sin injertos óseos y sustitutos óseos. Por lo que la principal limitación del uso de procedimientos de regeneración ósea guiada (GBR) es la alta tasa de reabsorción y la contención en el espacio del defecto del material del injerto. Para superar estos problemas, las membranas de barrera se utilizan con frecuencia para estabilizar los materiales de injerto, limitar su reabsorción y servir como barrera de separación en la terapia GBR. La membrana aísla el sitio del defecto óseo del tejido blando no osteogénico, mientras que el sustituto óseo constituye un andamio tridimensional que sostiene las células osteogénicas y la promoción de la formación ósea durante la curación, así como evita que la membrana se colapse. Recientemente, las membranas de COL se han aplicado en la GBR con resultados comparables a las membranas no reabsorbibles.

El COL comercial se ha extraído tradicionalmente de mamíferos terrestres, como el ganado vacuno y porcino. Sin embargo, los brotes de encefalopatía espongiiforme bovina (EEB), encefalopatía espongiiforme transmisible (EET) y fiebre aftosa (fiebre aftosa) han aumentado los problemas de salud con respecto al uso de COL y productos derivados del COL de animales terrestres en los últimos años, su purificación es difícil y costosa. Además, el COL bovino está prohibido en el hinduismo y el COL porcino está prohibido en las culturas islámica y judía, debido a sus usos y costumbres religiosas. Por lo tanto, existe la necesidad urgente de desarrollar una fuente de COL que sea alternativa a la obtenida de los mamíferos terrestres. El COL marino ha surgido como un biomaterial prometedor para aplicaciones biomédicas debido a su origen natural y similitud estructural con el COL de mamíferos, es abundante en los tejidos vivos y es uno de los biomateriales más utilizados en la ingeniería de tejidos. Además, su biocompatibilidad, fácil extracción, hidrosolubilidad, seguridad, bajos costos de producción, así como su

biodegradabilidad, actividad antimicrobiana y funcionalidad lo convierten en un biomaterial atractivo para la ingeniería de tejidos; además, puede combinarse con otros polímeros como el Qs, estas combinaciones están en estudio para comprobar si el material compuesto reúne las características deseables de toda membrana útil para regeneración ósea.

Esta revisión se realiza para mostrar la investigación más actual de las membranas de COLp/Qs, con la meta a mediano plazo de poder sustentar futuras investigaciones y contribuir con la generación a largo plazo de productos innovadores para uso clínico en humanos, confiables, de buena calidad, a menor costo, que las haga disponibles para mejorar la calidad de vida de la población que lo requiera.

## CAPÍTULO I. MARCO CONTEXTUAL

Como profesionales en salud bucal nos enfrentamos a la pérdida ósea, esta es una característica de varias enfermedades sistémicas y periodontales, traumatismos y tumores. Para ofrecer un tratamiento con un pronóstico favorable debe existir un volumen suficiente de hueso, lo ideal es aplicar una técnica de regeneración ósea para sustituir el hueso perdido, esta es una de las técnicas más comúnmente aplicadas para la reconstrucción del hueso alveolar, para esta técnica la membrana es un componente esencial del tratamiento.

Actualmente, la mayoría de las membranas son de diferentes materiales, esto es importante al considerar la elección de la membrana ideal. El estomatólogo debe tomar en cuenta el tipo de membrana a utilizar ya que en el mercado se comercializan membranas de COL de mamífero, y actualmente varios grupos de investigación en el mundo exploran la opción de sintetizar membranas con COL de piel de pescado y otros componentes orgánicos e inorgánicos que promuevan la regeneración ósea.

La investigación en esta área genera un impacto significativo en el ámbito ambiental, comercial y económico, además, de que contribuye a proponer biocompuestos más eficaces para la regeneración ósea y permite entonces al estomatólogo brindar tratamientos más seguros. Por lo que la presente revisión sirve de sustento para futuras investigaciones acerca de la síntesis de nuevas membranas para regeneración ósea.

## **CAPITULO II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL**

### **2.1.1. Ingeniería de tejidos**

La ingeniería de tejidos es una herramienta terapéutica importante para la medicina presente y futura, es un campo interdisciplinario donde el conocimiento de la química, la ingeniería y las ciencias de la vida convergen para crear sistemas reparadores. El objetivo de la ingeniería de tejidos es restaurar, regenerar, mantener o mejorar la función del tejido defectuoso o tejido perdido debido a diferentes enfermedades (1) (2). Utiliza estrategias que se pueden clasificar en tres grupos: a) implantes de células aisladas o sustitutos celulares en el cuerpo, b) sustancias inductoras de tejidos (como factores de crecimiento) y c) células colocadas en diferentes matrices o sustratos que funcionan como un vehículo o andamio que induce la regeneración de tejidos (1).

### **2.1.2. Biocompósitos (Biocompuestos)**

Los biocompósitos se definen como compuestos biocompatibles y ecológicos. Constan de una gran variedad de componentes orgánicos e inorgánicos, como polímeros naturales, por ejemplo, polisacáridos (almidón, celulosa, alginato (Alg), Qs, proteínas (queratina, fibroína, colágeno), azúcares (glucosa) y polímeros sintéticos, por ejemplo, alcohol polivinílico (PVA), ácido poliláctico (PLA), polianilina y polipropileno, cerámicas, metales y nanocarbonos (CNT) (3).

Williams en 2009, redefinió los biomateriales de la siguiente manera: "Un biomaterial es una sustancia que ha sido diseñada para tomar una forma que, sola o como parte de un sistema complejo, se utiliza para dirigir, mediante el control de las interacciones con los componentes de los sistemas vivos, el curso de cualquier procedimiento terapéutico o diagnóstico, en medicina humana o veterinaria " (4)

Una serie de materiales naturales y sintéticos como: Qs, COL, gelatina (GL), Alg, fibroína de seda, hidroxiapatita (HAp), ácido hialurónico (HA), polietilenglicol (PEG), ácido poliláctico (PLA), ácido poli (láctico-co-glicólico) (PGLA) y la policaprolactona (PCL) se han utilizado para aplicaciones de ingeniería de tejidos (5) (6) (7). Los polímeros naturales ofrecen mayores ventajas sobre los polímeros sintéticos ya que los primeros poseen una mejor biocompatibilidad y biodegradabilidad y evitan la operación quirúrgica después de la nueva regeneración del tejido óseo (8). Sin embargo, debido a inconvenientes como la degradación incontrolada, el riesgo de infección, las propiedades mecánicas insuficientes, las dificultades en la bioacumulación de productos de degradación y los entornos ácidos locales, estos materiales aún no cumplen los requisitos para la ingeniería de tejidos (2).

La composición de los biocompósitos se seleccionan con base en combinaciones orgánico - inorgánico, orgánico - orgánico e inorgánico - inorgánico, según el propósito de la aplicación. Algunos ejemplos de biocompósitos orgánicos - inorgánicos son Qs- HAp, Alg-HAp, glucosa oxidasa (GluO)-CNT-óxido de grafeno (OG), GluO-polianilina-oro(Au)- grafeno (Gra), PVA-Gra, alginato de calcio-CNT, PVA- gelatina-arcilla, almidón-arcilla y vidrio bioactivo-PVA-alginato de sodio. Ejemplos de biocompósitos orgánicos- orgánicos incluyen almidón-lignina, PLA-fibra lignocelulósica, almidón-PVA-celulosa y Qs-celulosa de sisal. Además, los inorgánicos - inorgánicos incluyen HAp-CNT-plata (Ag), varillas de HAp-titanio, HAp-alúmina-zirconia, etc (3).

Los biocompósitos están presentes en diversas formas, como películas, membranas, molduras, revestimientos, partículas, fibras y espumas. Además, de los estudios destinados a mejorar las propiedades mecánicas básicas y las funcionalidades de los materiales, se han realizado un gran número de estudios para desarrollar biocompósitos ecológicos para usos biomédicos en las áreas de sensores, ingeniería de tejidos e implantes (3).

Los andamios de biomateriales poliméricos están atrayendo una gran atención debido a sus características únicas, como la alta relación superficie-volumen, gran porosidad en la superficie con un tamaño de poro muy pequeño, capacidad para controlar la biodegradación y propiedades mecánicas (ver tabla 1). Tienen varios beneficios de biocompatibilidad, versatilidad en la química de la superficie y propiedades biológicas que son importantes en aplicaciones en ingeniería de tejidos y el reemplazo de órganos en la medicina regenerativa (1).

Tabla 1 Características que debe presentar un biomaterial para su uso en ingeniería de tejidos y medicina regenerativa (tomado de Rodríguez-Vázquez et al. 2015).

CARACTERÍSTICAS	DESCRIPCIÓN
Biocompatibilidad	Deben ser aceptadas por el receptor y no deben dar lugar a mecanismos de rechazo por su presencia.
Absorbibilidad y degradabilidad	Absorbible, con degradación controlable y tasa de reabsorción que es igual al crecimiento de células / tejidos in vitro e in vivo.
No ser tóxico ni cancerígeno	Sus productos de degradación no pueden causar efectos adversos locales o sistémicos en un sistema biológico.
Químicamente estable	Modificaciones químicas que no estén presentes en un implante de sistema biológico o biodegradables en productos no tóxicos, al menos durante el tiempo programado para regenerar tejido.
Superficie químicamente adecuada	Tener una superficie químicamente adecuada para el acceso, proliferación y diferenciación celular.
Resistencia y propiedades mecánicas adecuadas	Resistencia y propiedades mecánicas, características superficiales, tiempo de fatiga y peso, según las necesidades del tejido receptor.
El diseño, tamaño y forma adecuados del andamio	Lo cual permite tener una estructura con propiedades acorde a las necesidades del tejido receptor para regenerarse o reparar.

### **2.1.2.1 Membranas**

Las membranas utilizadas para GBR funcionan como una barrera semioclusiva porque poseen poros para la oxigenación del tejido y facilitan la adhesión celular; en el caso de su aplicación en los defectos periodontales deben excluir células provenientes del epitelio gingival y el tejido conectivo en el proceso de cicatrización (9). El uso exitoso de las membranas de barrera se ha acreditado a su potencial para mantener y estabilizar el coágulo de sangre. La investigación en los últimos 30 años ha demostrado que el éxito de las membranas de barrera radica en su capacidad para aislar las células epiteliales de defectos óseos con el principio de la regeneración tisular guiada (GTR) (10). Estas membranas son un componente esencial del tratamiento. En consecuencia, se han utilizado diferentes materiales (polímeros sintéticos, polímeros naturales, metales y compuestos inorgánicos) y modificaciones (Ver Tabla 2). Las características deseables de las membranas utilizadas para la terapia de GBR incluyen biocompatibilidad, propiedades de oclusión celular, integración por los tejidos del huésped, capacidad de administración clínica, capacidad de creación de espacio y propiedades mecánicas y físicas adecuadas. Las membranas no reabsorbibles, principalmente politetrafluoroetileno (PTFE) en su forma expandida (e-PTFE), constituyeron la primera generación de membranas de barrera (13).

**Tabla 2** Clasificación de las membranas utilizadas para regeneración ósea guiada (GBR) según el tipo de biomaterial (Tomado de Elgali et al. 2017)

<b>Grupos / materiales de membrana</b>	<b>Ventajas principales</b>	<b>Desventajas principales</b>
<p>Polímeros sintéticos</p> <p>Politetrafluoroetileno</p>	<p>Polímero inerte y estable en el sistema biológico</p>	<p>No reabsorbible</p>
<p>Poliésteres alifáticos (por ejemplo, PLA, PGA y PCL*)</p>	<p>Bio reabsorbibilidad Buena procesabilidad y manejabilidad Capacidad de encapsulación de fármacos</p>	<p>Falta de rigidez y estabilidad.</p>
<p>Polímeros naturales</p> <p>Matrices extracelulares y de colágeno derivadas de tejidos bovinos, porcinos y humanos</p> <p>Quitosano</p> <p>Alginato</p>	<p>Biorreabsorbibilidad</p> <p>Baja inmunogenicidad</p> <p>Capacidad de encapsulación de fármacos</p> <p>Incorporación de componentes biológicos</p>	
<p>Metales</p> <p>Titanio y aleación de titanio</p> <p>Aleación de cobalto-cromo</p>	<p>Alta dureza y plasticidad</p>	<p>No reabsorbible</p>
<p>Compuestos inorgánicos</p> <p>Sulfato de calcio</p> <p>Fosfato de calcio</p> <p>(por ejemplo, hidroxiapatita)</p>	<p>Biorreabsorbibilidad</p> <p>Osteoconductividad</p>	<p>Baja dureza y plasticidad</p>
<p>*PCL, poli (ε-caprolactona); PGA, poli (ácido glicólico); PLA, poli (ácido láctico).</p>		



### **2.1.3 Características biológicas, mecánicas y químicas de las membranas**

Las características deseables de las membranas utilizadas para la terapia de GBR incluyen: presentar adecuada morfología superficial (aspecto de la microestructura y homogeneidad o presencia de aglomerados) a escala macroscópica como microscópica, destacando que en los materiales no se observen fases que indiquen separación entre los biopolímeros empleados. La capacidad de absorción de humedad (ganancia de peso neto de la membrana cuando se somete a una solución acuosa) de las membranas elaboradas, dependerá significativamente de la composición estructural (identificación de los componentes químicos, grupos funcionales y orientación molecular) de cada uno de los materiales (11). La capacidad de absorción de agua es un aspecto importante para una membrana, ya que indica estabilidad durante el crecimiento celular en la ingeniería de tejidos. Esta propiedad hace alusión al agua presente en los poros pequeños y la que está unida a las cadenas hidrófilas del polímero (11).

Las propiedades mecánicas son significativas porque el material debe ser flexible; se evalúa el alargamiento a la rotura (propiedad mecánica que representa el aumento relativo de longitud) y módulo de elasticidad (propiedad mecánica que representa la rigidez), y resistencia a la tracción (resistencia de la membrana a la tensión desarrollada, sin romperse o adquirir deformaciones permanentes) (11). Sin embargo, las propiedades de la superficie que determinan la respuesta de las células después de la implantación del material son las más importantes. Una superficie hidrofílica permite la adhesión de las células y, como resultado, mejora la compatibilidad de la película con los tejidos circundantes. Además, una superficie rugosa inhibe la formación de biopelículas, que es uno de los principales problemas en la cirugía de implantación (12).

Rigidez, plasticidad y porosidad: La cantidad de hueso regenerado en el defecto óseo se reduciría si las membranas colapsan en el defecto (13), por lo tanto, la membrana ideal para GBR debe ser lo suficientemente rígida para soportar la compresión del tejido blando suprayacente. También debe poseer un grado de

plasticidad para ser fácilmente contorneada y moldearse a la forma del defecto (13). Se ha demostrado que las propiedades mecánicas de una matriz de COL y PVA mejoran después de agregar compuesto de fosfato beta tricálcico-(b-TCP)-/Qs y nano-HAp, respectivamente (14).

La porosidad es una propiedad importante de las membranas para GBR. El tamaño de poro de la membrana influye en el grado de regeneración ósea en el espacio aislado subyacente (13). Se considera estrechamente relacionado con la oclusividad del tejido y tiene una gran influencia en la invasión de las células de tejidos blandos. También se ha reportado que los poros de la membrana facilitan la difusión de fluidos, oxígeno, nutrientes y sustancias bioactivas para el crecimiento celular, que es vital para la regeneración de huesos y tejidos blandos (15).

Durante el curso de la evolución de la GBR, se ha definido un conjunto de requisitos para las membranas:

(a) *Biocompatibilidad*: puede definirse ampliamente como la compatibilidad física, química y biológica entre un biomaterial y los tejidos corporales, y la compatibilidad óptima de un biomaterial con el comportamiento mecánico del cuerpo (16). Por tanto, la interacción entre el material y los tejidos no deberá afectar negativamente a los tejidos circundantes, el resultado pretendido o la seguridad del paciente.

(b) *Propiedades oclusivas*: el material debe prevenir la invasión de tejidos blandos y proporcionar cierto grado de protección contra la invasión bacteriana si la membrana queda expuesta al ambiente oral.

(c) *Capacidad de creación de espacio*: la membrana debe proporcionar un espacio adecuado en el que pueda tener lugar la regeneración del hueso.

(d) *Fijación o integración con los tejidos circundantes*: la integración de la membrana con los tejidos estabiliza el entorno en la formación de tejido óseo y contribuye además a la creación de una barrera entre el tejido blando y el defecto óseo.

(e) *Manejabilidad*: la membrana debe ser clínicamente manejable.

#### 2.1.4 Membranas de colágeno

El colágeno (COL) es la proteína estructural con excelente biocompatibilidad, baja antigenicidad, pronunciada afinidad celular y biodegradabilidad; es la proteína más abundante en los animales y en los seres humanos representa aproximadamente el 30% del contenido total de proteínas del cuerpo (17). Se encuentra de forma ubicua en la matriz extracelular (MEC) de los tejidos, donde no solo proporciona fuerza y estabilidad estructural, sino que también realiza funciones reguladoras altamente especializadas, especialmente durante el desarrollo y la reparación (17).

Esta proteína está compuesta por tres cadenas polipeptídicas levógiras (llamadas hélices  $\alpha$ ), que se autoensamblan para formar al menos un dominio de triple hélice dextrógiro (17). Hasta la fecha, se han identificado y descrito 28 tipos de COL (18), denominados del tipo I al tipo XXVIII según el orden cronológico de su descubrimiento. A pesar de su disposición común de triple hélice, los tipos de COL difieren mucho en términos de composición molecular (por ejemplo; composición de aminoácidos, identidad de las tres cadenas  $\alpha$ ), organización molecular y supramolecular (por ejemplo; presencia y longitud de dominios de triple hélice, empaquetamiento de la triple hélice), así como la función y distribución en los tejidos. El COL tipo I formador de fibrillas representa aproximadamente el 70% de toda la familia del COL, siendo la subespecie más abundante en los tejidos conectivos, como huesos, piel, tendones, ligamentos, córnea y vasos sanguíneos (17).

Cada cadena  $\alpha$  está compuesta por aproximadamente 1000 residuos de aminoácidos y se caracteriza por la repetición del triplete Gly-XY (figura 1), donde las posiciones X y Y generalmente están ocupadas por prolina e hidroxiprolina. La glicina juega un papel crucial en el empaquetamiento de las tres hélices  $\alpha$  (19), mientras que la prolina y la hidroxiprolina, tienen un papel fundamental en la estabilización de la estructura de triple hélice en condiciones fisiológicas, mediante la formación de enlaces de hidrógeno que evitan la rotación libre (20) (21). Sin

embargo, los enlaces de hidrógeno que estabilizan la triple hélice se pueden romper con la desnaturalización, un proceso (activado por tratamientos térmicos o químicos) que transforma el COL en una forma de espiral aleatoria conocida como gelatina. La alta concentración de residuos de hidroxiprolina es una característica única del COL de tipo I y, por tanto, se utiliza habitualmente para el reconocimiento y cuantificación de esta proteína específica (17).

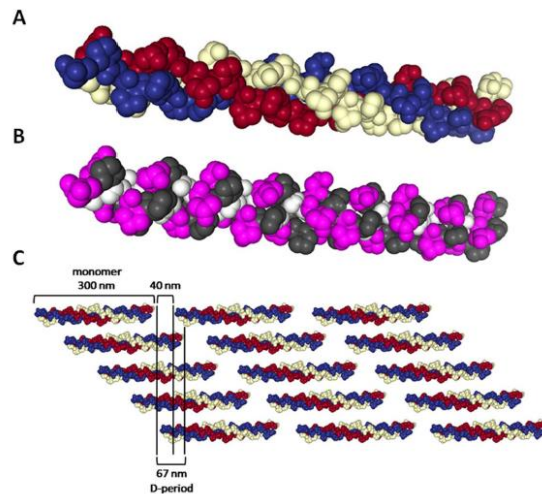


Figura 1. Estructura del colágeno tipo I, tomado de Salvatore et al. 2020

El COL se deriva de diferentes tejidos bovinos y porcinos (por ejemplo, tendón, dermis e intestino delgado), y su degradación varía según la fuente animal (17); sin embargo, el empleo de COL de origen animal se asocia con un alto riesgo de contagio de encefalopatía espongiforme bovina o a restricciones de uso por problemas religiosos (17). Las membranas de COL han recibido gran atención en virtud de que el COL es el componente principal de los tejidos conectivos y tiene papeles importantes con respecto al soporte estructural y es un componente importante en la comunicación celular-matriz (22) (13). Actualmente, la mayoría de las membranas reabsorbibles están hechas de COL de mamífero y hay una variedad de membranas disponibles comercialmente (ver tabla 3) (22).

**Tabla 3** Lista no exhaustiva de membranas de COL disponibles para uso clínico (n.d = no declarado) (tomado de Sbricoli et al. 2020).

<b>NOMBRE COMERCIAL</b>	<b>PRODUCIDO POR / PARA</b>	<b>ORIGEN</b>	<b>ENTRECRUZADO (CROSS-LINKED)</b>	<b>EFECTO DE BARRERA (SEMANAS)</b>
<b>Biomend</b>	Collagen Matrix Inc.	Tendón de bovino	Si	8
<b>Biomend Extend</b>	Collagen Matrix Inc.	Tendón de bovino	Si	18
<b>Copios Extend</b>	Collagen Matrix Inc.	Dermis porcina	No	24- 36
<b>Osseoguard</b>	Collagen Matrix Inc.	Tendón de bovino	Si	26-38
<b>Bio Gide</b>	Geistlich Pharma Ag	Dermis porcina	No	24
<b>Mem- Lok RCM</b>	Collagen Matrix Inc.	Tendón de bovino	Si	26-38
<b>Mem- Lo Pliable</b>	Collagen Matrix Inc.	Peritoneo porcino	Si	12-16
<b>Ossix Plus</b>	Datum Dental Ltd.	Tendón de porcino	si	16-24
<b>Creos Xenoprotect</b>	Nobel Biocare	Porcino	No	12-16
<b>Biocollagen</b>	Bioteck S.P.A.	Tendón de equino colágeno tipo I	no	4-6
<b>Heart</b>	Bioteck S.P.A.	Prericardio de equino	no	12-16
<b>Cytoplast</b>	Collagen Matrix Inc.	Tendón de bovino tipo I	si	26-38
<b>Collatape</b>	Zimmer- Biomet	Colágeno de bovino	no	1-2
<b>Jason</b>	MBP Gmbh - BotissBiomaterials	Pericardio de porcino	no	8-12
<b>Collprotect</b>	Botiss Biomaterials	Dermis porcina	si	4-8
<b>Dynamatrix</b>	Keystone Dental	Submucosa porcina	no	n. d
<b>Ez Cure</b>	Biomatlante	colágeno purificado tipo I y III a base de porcino	si	12
<b>Conform</b>	Ace Surgical Supply Company	Colágeno de bovino tipo I	si	12-16

#### **2.1.4.1.1 Colágeno de pescado**

El COL derivado de organismos marinos como peces, algas marinas, esponjas y medusas ofrece ventajas sobre el COL de los mamíferos, ya que se puede extraer fácilmente, es soluble en agua y es seguro porque está libre de riesgos de enfermedades de origen animal y patógenos como los mencionados anteriormente, tiene una mejor durabilidad química y física, y está disponible en cantidades abundantes (23) (24). Así, recientemente, el COL marino ha atraído mucha atención como sustituto del COL de mamíferos, desde su empleo en investigaciones biomédicas hasta su uso en la industria cosmética, alimentaria y nutracéutica (25) (26) debido a su solubilidad en agua, seguridad, biocompatibilidad, alta biodegradabilidad, baja inmunogenicidad, fácil extracción que resulta en un alto rendimiento y bajos costos de producción (27). El COL marino tipo I es único en términos de su solubilidad extremadamente alta en ácido diluido en comparación con el COL de los animales terrestres (28) (17). En general, el contenido de aminoácidos, incluida la prolina y la hidroxiprolina, es más bajo en el COL marino que el del COL de los mamíferos (22), pero contiene más residuos de serina y treonina, particularmente en el COLp derivado de especies de agua fría (29). Estas diferencias en la composición de aminoácidos, especialmente en términos de contenido de hidroxiprolina, son generalmente responsables de las diferencias en propiedades como la rigidez y la temperatura de desnaturalización (30) (28).

Recientemente, diversos grupos de investigación han demostrado un creciente interés en la creación de materiales compuestos de una combinación de dos o más fases diferentes de biomateriales, para mejorar sus propiedades mecánicas o biológicas y superar los problemas que existen en los andamios fabricados a partir de un biomaterial monofásico (31). Por lo tanto, se ha dedicado un gran número de investigaciones al desarrollo de biocompósitos que comprenden una serie de características apropiadas para aplicaciones biomédicas (32), que incorporen el COLp a una variedad de compuestos bioactivos, incluidos materiales biocerámicos, de carbono y poliméricos, para preparar andamios compuestos en

los que se mejora la porosidad, la estabilidad estructural, la osteoinductividad y la osteogenicidad (33).

### 2.1.5. Quitosano

El Qs es un derivado biodegradable y biocompatible de la quitina, uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza (34). Debido a sus peculiaridades el Qs se utiliza en las industrias farmacéutica, cosmética, alimentaria y agrícola. La reactividad química y bioquímica del Qs está fuertemente relacionada con el número de grupos amino libres distribuidos a lo largo del esqueleto, lo que permite personalizar su funcionalidad dependiendo del peso molecular (figura 2) (14). Posee una serie de propiedades interesantes que incluyen biocompatibilidad, biodegradabilidad y solubilidad en medios acuosos (34) (14). Ocupa una posición distinta entre otros biomateriales debido a su abundancia, versatilidad y propiedades únicas que incluyen no toxicidad, hidrofilia, propiedades antibacterianas y antifúngicas, y efectos de curación de heridas, flexibilidad y una respuesta inflamatoria más baja (14). Además, la existencia de enlaces glucosídicos  $\beta$ - (1,4) entre D-glucosamina y N acetil-D-glucosamina hace que el Qs sea fácil de modificar mediante reacciones químicas (35). En combinación con materiales naturales y sintéticos producen andamios para aplicaciones de ingeniería de tejidos. Se han realizado muchos intentos para aumentar la resistencia mecánica y la integridad estructural de los biomateriales a base de Qs agregando biopolímeros como quitina, seda, Alg, GL, PCL, PLA, HAp y nanocerámicas bioactivas como HAp, SiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>, ZrO<sub>2</sub>, etc. (14) (36) (37) (15) (38).

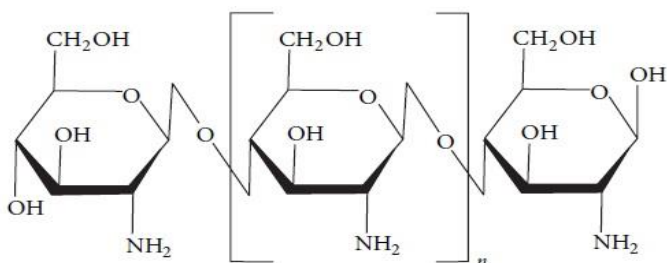


Figura 2. Estructura química de Qs, tomado de Rodríguez-Vázquez et al. 2015

### 2.1.6 Membranas de colágeno/quitosano

El COL y el Qs son biomateriales que no existen juntos como una mezcla en la naturaleza, pero las propiedades específicas de cada uno pueden usarse para producir combinaciones con características únicas (39). El estudio de las interacciones que pueden ocurrir entre estos dos biopolímeros tiene una gran importancia, principalmente para considerar el procesamiento de nuevos materiales a partir de estas dos macromoléculas (40).

Los andamios basados en mezclas Qs-COL se han experimentado como membranas para la liberación controlada en cultivos *in vitro* de células de carcinoma humano, así como membranas para la liberación controlada de sustancias y como fibras de implante (41). En el campo de liberación controlada de fármacos, el interés en la preparación de películas solubles ha ido en aumento, y la mezcla Qs-COL podría representar un material atractivo para la liberación de distintos compuestos bioactivos individualmente y en combinación, por ejemplo, la liberación de anestésicos (42). Albarracín et al. 2014, concluyen que la inclusión de compuestos químicos como: plastificantes, emulsificantes y antioxidantes, además de otras sustancias como carbohidratos, proteínas, lípidos, polímeros, minerales y antibióticos modifican las propiedades físicas, químicas y antimicrobianas de las películas de Qs, debido a las interacciones moleculares entre estos compuestos y la matriz polimérica, así como otros factores involucrados (43).

El éxito de la integración de estos dos componentes poliméricos COL-Qs depende de las interacciones intermoleculares, que darán como resultado la calidad mejorada de las propiedades mecánicas de la aleación. La resistencia a la tracción y el alargamiento a la rotura indican la resistencia y la elasticidad de la membrana que son un parámetro físico importante en el apoyo a la aplicación clínica de la membrana (figura 3 y 4) (44).





Figura 3. Membrana de colágeno (1%) y quitosano (2%) con un grosor de 0.6 mm, sintetizadas por Susanto et al. 2021, mediante la técnica de evaporación.

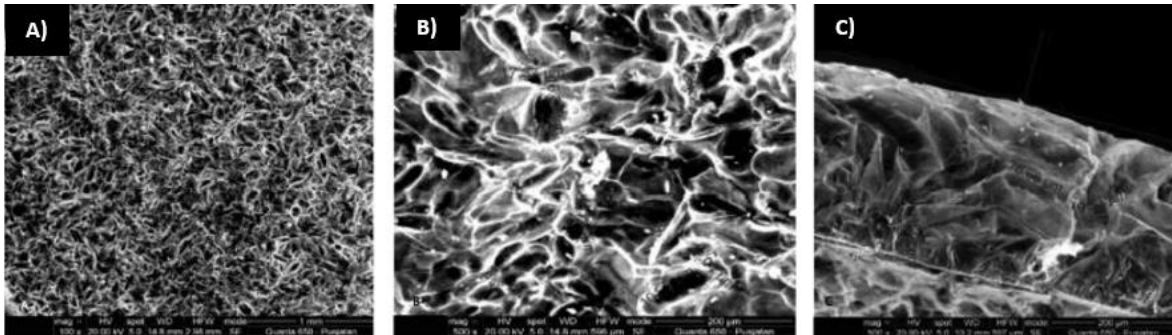


Figura 4. Micrografía de una membrana de colágeno con un aumento de 100x (A) y 500x (B) tomado de Susanto et al. 2019, se observa la homogeneidad y porosidad de la superficie de la membrana. (C) corte transversal de una membrana de colágeno con un aumento de 500x, se observa la porosidad de la superficie de la membrana mediante Microscopio electrónico de Barrido (SEM por sus siglas en inglés *Scanning Electron Microscope*).

### **CAPÍTULO III. MARCO REFERENCIAL.**

El grupo de Chen et al. en 2015 elaboraron una membrana de COLp /Qs que contenía nanopartículas de glicol y Qs modificado con colesterol biotinilado (Bio-CHGC) cargadas con doxorubicina (DOX) para la administración localizada de fármacos. Mostró que las nanopartículas de DBC con forma esférica se distribuyeron uniformemente en las películas, analizadas con SEM. Las películas de fármaco mantienen su estabilidad morfológica después del hinchamiento. Los resultados de hinchamiento, degradación y liberación sugirieron que la tasa de liberación de DOX podría controlarse mediante una variación en la proporción de COL a Qs y el contenido de carga de fármaco de las nanopartículas de DBC. Además, la liberación de DOX de las películas o nanopartículas de Bio-CHGC fue sensible al valor de pH del medio de liberación, y las películas del fármaco tuvieron un doble efecto sostenido sobre la liberación del fármaco. Todos los datos se expresaron como medias estándar y se analizaron mediante un análisis de varianza unidireccional, el nivel de significancia fue de  $p < 0.05$ . Concluyeron que este nuevo sistema de membranas puede ser útil en la administración localizada de fármacos antitumorales hidrófobos (41).

Kaczmarek et al. en 2018 elaboraron membranas delgadas a base de Qs, COL y glicosaminoglicanos (GAG) aislados de la piel del pescado por evaporación del disolvente. Las membranas se caracterizaron mediante: determinación de energía libre superficial, ensayos de hinchamiento, las diferencias en la pérdida de peso de ese tipo de muestras están en el rango de desviación estándar. Por tanto, la adición de GAG no muestra una influencia significativa sobre la degradación de las películas por colagenasa; sin embargo, en la mezcla con quitosano, reduce los cambios de peso de la película. La presencia de GAG reduce la energía libre de la superficie de la membrana y mejora su rugosidad, en las películas después de la implantación. Dichos materiales también son más estables en una solución de PBS y resistentes a la degradación por colagenasa. Se puede suponer que las propiedades de las películas mejoraron en comparación con las propiedades exhibidas por muestras sin GAG. Concluyen que los materiales propuestos se pueden aplicar como

cubiertas delgadas biocompatibles; sin embargo, se espera que en un futuro próximo se lleven a cabo estudios más detallados y avanzados de las células y de la adhesión de bacterias en su superficie (45).

De acuerdo con Slimane et al. 2018 realizaron una película bioactiva compuesta de subproductos de COLp adicionada con Qs. El COLp solubilizado en ácido (ASC) y el COLp solubilizado en pepsina (PSC) lo extrajeron de los subproductos de piel de pez *Mustelus mustelus*. Se caracterizó por medio de Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas ingles *Fourier-transform infrared spectroscopy*), la pepsina no alteró la estructura de triple hélice PSC. Basado en los diversos tipos de rendimiento de COL, solo se usó PSC en combinación con Qs para producir una película compuesta. El análisis de la película mostró la aparición de interacción COLp-Qs que resulta en una modificación de la estructura secundaria del COLp. El valor de espesor más alto se observó en la película de Qs puro (17.15  $\mu\text{m}$ ) y disminuyó cuando se aumentó la proporción de COL en la solución de Qs, similar a lo reportado para las películas compuestas que usan Qs y COL de la piel del pez unicornio. Ahmad et al. 2016 (46). Midieron las propiedades de tensión-deformación, resistencia a la tracción y alargamiento en el punto de rotura, encontraron que la película de COLp-Qs tenía menor resistencia a la tracción, pero mayor alargamiento a la rotura en comparación con la película de Qs; y menor solubilidad en agua y una apariencia óptica de un color más claro en comparación con la película de COLp, los resultados se presentaron como desviación estándar media. La interpretación estadística de los resultados se realizó mediante pruebas ANOVA de una vía y LSD (diferencias mínimas significativas) (utilizando un nivel de significación  $p < 0,05$  para comparar los valores medios) (33).

El grupo de Di Martino et al. 2019 realizaron una película a base de COL y Qs para la administración controlada de una combinación de anestésicos de corta duración. Las películas se prepararon y cargaron en un solo paso usando Qs a una relación en peso de COL. Realizaron pruebas de hinchamiento a diferente pH a una temperatura controlada, los resultados muestran que la presencia de los fármacos no afectó la hinchazón ya que no se observan diferencias estadísticas entre las

formulaciones libres y cargadas de fármaco, ya sea en condiciones ácidas o alcalinas suaves. El efecto positivo de COL en las propiedades mecánicas de la película Qs se evaluó junto con el impacto de los fármacos cargados, no observaron variación relevante en la resistencia a la tracción y elongación, por lo cual concluyen que la presencia de los fármacos afecta solo a la morfología de la superficie de las películas, mientras que otras propiedades probadas, como la permeabilidad al vapor de agua (no se observaron diferencias estadísticas en la permeabilidad a la humedad en presencia de un solo fármaco o de cualquier combinación) y la mecánica, no se vieron afectadas. Los patrones de liberación bifásica dependientes del pH basados en dos mecanismos, la difusión en la fase inicial y la difusión-erosión en la segunda fase, permiten una liberación de los fármacos en 24 h. Las pruebas de proliferación y citotoxicidad in vitro demuestran la no toxicidad de las formulaciones en fibroblastos dérmicos humanos (42).

Guo et al. 2019, construyeron una membrana basada en una aleación de magnesio (Mg) recubierta de Qs, evaluaron su biocompatibilidad y actividad osteogénica para regeneración ósea guiada. La caracterización de la superficie morfológica y medición del espesor del recubrimiento fue realizada mediante microscopía electrónica de barrido-espectrometría de energía dispersiva (SEM-EDS) antes y después de la inmersión, el Qs se adhirió firmemente a la superficie de Qs-Mg y formó una capa externa rugosa. En la prueba de degradación, después de la inmersión durante 14 días, el Qs se removió de la superficie de Qs-Mg al cambiar el medio. Después de 30 días de inmersión, observaron grandes cantidades de agujeros y productos de degradación en la superficie de Qs-Mg, lo que indicó que la corrosión por picadura es predominante durante la degradación. Sus resultados mostraron que el Qs-Mg fue degradado por hidrólisis y que su degradación continuó lentamente durante las primeras etapas de inmersión, Todos los datos se expresaron como valor medio  $\pm$  desviación estándar. Los datos de pérdida de peso se analizaron mediante ANOVA de una vía. Los resultados del micro-CT se analizaron mediante la prueba t de Student, se consideraron estadísticamente significativo con un valor de  $p < 0.05$ , por lo que concluyen que

muestra un potencial prometedor para su aplicación como GBRM. Se espera que las modificaciones adicionales (9).

De acuerdo a la investigación de Susanto et al. 2019 fabricaron mediante la técnica de evaporación del disolvente una membrana de COL de pescado y Qs para GTR, identificaron los grupos funcionales de la mezcla COLp-Qs mediante FTIR, el espectro mostró el pico típico de la mezcla de Qs y COL, la caracterización de la superficie morfológica mediante SEM mostró una superficie de membrana porosa con un tamaño que variaba entre 16 y 100  $\mu\text{m}$ , la evaluación de resistencia a la tracción y el alargamiento a la rotura de la membrana en estado seco fue de 0,28 MPa y 8,53%, respectivamente, mientras que en estado húmedo fueron 0,12 MPa y 25,6%. La porosidad de la membrana fue del 38,8%, concluyen que las membranas de Qs-COL mostraron una superficie de membrana fibrosa, tamaño poroso ideal recomendado como membrana GTR; aunque muestra una menor resistencia mecánica, esta membrana tiene el potencial de desarrollarse como una barrera de membrana alternativa para GTR. Se esperan más investigaciones para mejorar la resistencia mecánica de las membranas de Qs-COL (44).

Acorde al grupo de Susanto et al. 2021, sintetizaron una membrana de COL-Qs y evaluaron histológicamente su efecto en el proceso de cicatrización de heridas en el defecto mandibular de rata mediante el conteo del número de fibroblastos y vasos sanguíneos nuevos. El examen histológico se realizó mediante observación ciega para determinar el número de fibroblastos alrededor de los defectos óseos en cinco campos de visión con un aumento de microscopio  $\times 1000$ . El número de vasos sanguíneos se observó en cinco campos de visión con un aumento de microscopio de  $\times 400$ . El resultado fue que el número promedio de fibroblastos y vasos sanguíneos en el grupo con aplicación de membrana de COL-Qs fue mayor que en el grupo de control por lo que concluyeron que la membrana aumentó el número de fibroblastos y nuevos vasos sanguíneos en el proceso de cicatrización de heridas y también ofreció la posibilidad de usarse como membrana de barrera, los datos se presentaron en la desviación estándar media, se utilizó el análisis de la prueba de varianza para comparar en cuatro intervalos de tiempo en cada grupo. Las

diferencias en el número de fibroblastos y vasos sanguíneos entre los grupos de tratamiento y control se analizaron estadísticamente utilizando la prueba t para datos no apareados, con un nivel de significación  $p < 0.05$ , por lo cual concluyen que la membrana de Qs-COL pudo aumentar el número de fibroblastos y nuevos vasos sanguíneos en el proceso de cicatrización de heridas y también ofreció la posibilidad de usarse como membrana de barrera (11).

## CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA Y ANÁLISIS

Se desarrolló un protocolo de búsqueda bibliográfica basado en la estrategia PICO (figura 5.) para realizar la revisión seguido una serie de etapas:

1. problemática a resolver.
2. Intervención.
  - a) especificación de los criterios de inclusión: artículos publicados en idioma inglés y español que describieran estudios *in vitro*, *in vivo*, experimentales, ensayos clínicos, revisiones bibliográficas; publicaciones desde 2013 hasta enero 2021.
  - b) exclusión: artículos científicos que no presentes análisis estadístico de los resultados
3. Análisis de la información.
4. Resultados.

Propiedades físicas y químicas de membranas con la combinación de COL pescado y Qs.

El método de selección lo realizó el tesista a cargo, mediante la búsqueda en la base de datos PubMed. Se incluyeron las combinaciones de los siguientes términos MeSH: *composite*, *membrane*, *collagen*, *chitosan*, *guided tissue*, *regeneration*, *guided bone regeneration* (figura 6.)

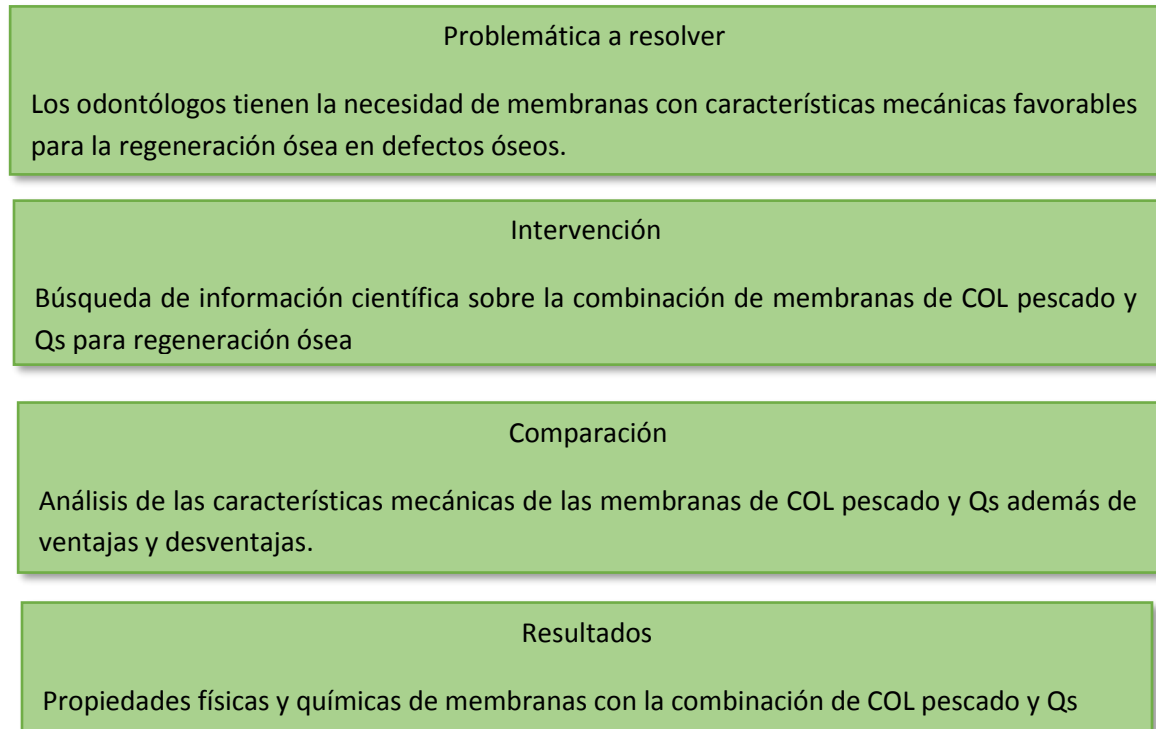


Figura 5. Estrategia PICO



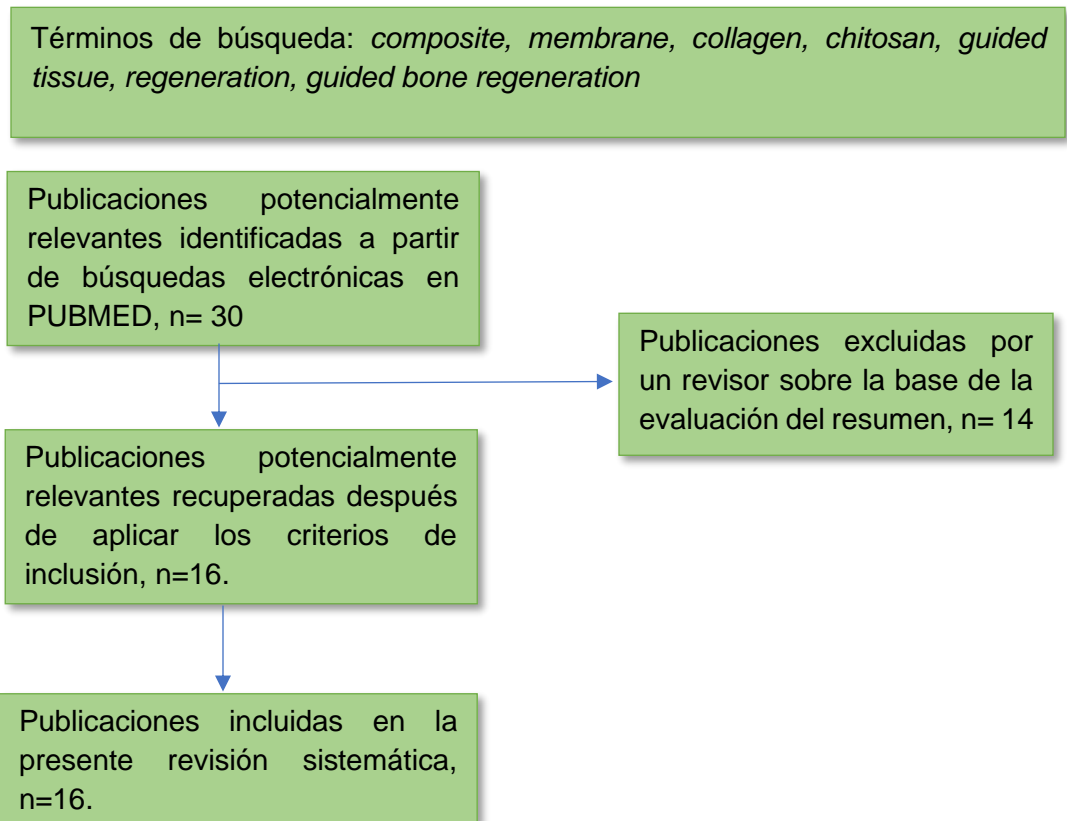


Figura 6. Diagrama de trabajo para la búsqueda electrónica en PUBMED

## CAPÍTULO V. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La combinación de biomateriales de origen natural amplía el panorama para la elaboración de alternativas de membranas, ya que favorecen las características mecánicas y químicas, se debe profundizar en la combinación de dos o más biomateriales y variar las concentraciones para potenciar sus características individuales, además de evaluar la interacción de las mismas

De acuerdo a Sbricoli et al. 2020 la GBR representa un procedimiento bien establecido para el aumento óseo y se puede llevar a cabo utilizando varios tipos de membranas e injertos. Las membranas deben elegirse para cada caso clínico de acuerdo con las características de biodegradación deseadas. Las membranas reabsorbibles y no reabsorbibles difieren en cuanto al manejo clínico y técnico, la tasa de complicaciones y los resultados esperados a largo plazo. Entre las diferentes membranas reabsorbibles disponibles, las membranas de COL tienen una base científica muy sólida y un empleo clínico ampliamente validado (22).

En la presente revisión analizamos estudios relacionados con la elaboración de membranas para GBR con biopolímeros alternativos como el COL de pescado y el Qs. La variedad de aplicaciones del COL y sus funciones en la ingeniería de tejidos lo convierten en el biopolímero ideal para la utilización en regeneración ósea. El COL es uno de los biomateriales más utilizados gracias a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja antigenicidad (Carvalho et al. 2018 y Jafari et al. 2020), desempeña un papel primordial en el mantenimiento de la integridad biológica y estructural de los tejidos contribuyendo a la arquitectura molecular, el objetivo de muchos grupos de investigación es buscar nuevas alternativas en biomateriales para la elaboración de biocompuestos para apoyo en GBR.

El COL de pescado y el Qs presentan ventajas para ser utilizados como materiales para la elaboración de membranas ya que son polímeros naturales con propiedades como: biodegradabilidad, estabilidad estructural, osteoconductividad, osteogenicidad que mejora la porosidad, estabilidad estructural, osteoconductividad y osteogenicidad para una membrana.

Diversas investigaciones (Aguilar et al. 2019, Huang et al. 2020, Islam et al. 2020) reportan que se puede producir membranas de Qs con baja capacidad de tensión o limitada resistencia térmica por lo cual cuando se mezcla Qs con otros polímeros y/o biomateriales naturales o sintéticos se puede controlar de manera eficiente la porosidad y retención de agua de estos biocompuestos, y de esta manera reducir su tasa de biodegradación, mejorar su bioactividad y biocompatibilidad y aumentar sus propiedades mecánicas.

Para la elección de una membrana es importante tomar en cuenta lo que resaltan Jafari et al. 2020, “es conveniente cambiar a alternativas ecológicas para seguir lidiando con los problemas ambientales y económicos que enfrentamos actualmente” (28). Por lo que, el buscar fuentes alternativas al COL de mamífero es de suma importancia para realmente promover un desarrollo sostenible, debido a que como hemos mencionado, las escamas, huesos, piel, etc. de peces para la industria pesquera son considerados desechos, pero resultan ser una fuente importante de COL.

Las membranas para regeneración ósea deben tener características físicas y químicas para comportarse como una barrera en la regeneración ósea. El buscar la “membrana ideal” depende mucho de las características del defecto óseo. Diferentes grupos de investigación (Chen et al. 2015, Ramasamy et al. 2015, Kaczmarek et al. 2018, Di Martino et al. 2019, Susanto et al. 2019, Susanto et al. 2021) construyeron membranas con mezclas de COL de pescado y Qs con porcentajes que van de los rangos de 0.1% - 5% y 1% - 2% respectivamente, con las siguientes características favorables: buena estabilidad, resistencia mecánica, degradabilidad, lo que las hacen prometedoras para utilizarse en GBR. Caballe-Serrano et al. 2018 analizaron los principales criterios que deben cumplir las membranas de barrera y corroboraron las propiedades ideales de las membranas para alcanzar la regeneración necesaria; las cuales son: ser una barrera biocompatible, mantener espacio, oclusividad, integración de tejidos y facilidad de manejo. Entre los hallazgos más recientes destacan los presentados por Susanto

et al. 2019 y Susanto et al. 2021 quienes construyeron membranas que cuentan con estas características.

Por lo anterior es importante continuar con el apoyo y promoción de investigaciones que generen mejores membranas para la GBR y fomentar el desarrollo de mejores técnicas de producción ya que existen membranas de COL pescado y Qs con diferentes procesos de elaboración, pero estos suelen ser costosos con un acceso limitado para su elaboración, entonces es de suma importancia el encontrar un proceso sencillo y de bajo costo que no modifique las características de los materiales utilizados. La mayoría de estudios encontrados en esta revisión son *in vitro* y muestran resultados favorables (Chen et al. 2015, Ramasamy et al. 2015, Kaczmarek et al. 2018, Di Martino et al. 2019), por lo que es recomendable dar el siguiente paso que es probar estas membranas en modelos animales, para conocer las ventajas y desventajas en el modelo vivo, para que finalmente se incentive la investigación clínica y la promoción de estas membranas como alternativa para la regeneración ósea en humanos.

La búsqueda de información se realizó en un solo buscador, PUBMED, es necesario ampliar a otros buscadores para complementar la información antes mencionada.

En el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de estomatología de la BUAP, nos interesa la investigación de nuevos biomateriales para regeneración ósea, tomando como referencia a las investigaciones previas que se mencionan en esta revisión, se elaboraron membranas de COLp y Qs mediante la síntesis de evaporación y electrohilado con una concentración de: quitosano 1.5%-colágeno de pescado <3.5%, finalmente se realizaron pruebas de caracterización como SEM, FTIR, donde se encontraron resultados favorables en la elaboración de nanofibras homogéneas y con un grosor que va de los 90nm a 60nm, en comparación con la síntesis por evaporación también mostró ser una mezcla homogénea, la composición estructural fue constante en ambos polímeros. Aún se debe analizar y comparar la información obtenida de las pruebas de caracterización realizadas a las membranas obtenidas por ambas técnicas de síntesis. Los resultados de la

síntesis de nanofibras de COLp y Qs fueron presentados en el congreso “Encuentro internacional iberoamericano de investigación en odontología” ENIO 2019.

Finalmente, se concluye que se debe investigar aún más sobre las concentraciones ideales de estos polímeros y nuevas combinaciones que sirvan para sintetizar membranas eficaces con las mejores propiedades para la regeneración ósea guiada.

## BIBLIOGRAFÍA

1. 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. *BioMed Res Int*. 2015; 2015:1- 15.
2. Islam MM, Shahruzzaman M, Biswasa S, Sakiba NM, Rashid TU. Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications-A review. *Bioact Mater*. 2020;5(1):164–183.
3. Haraguchi K. Biocomposites. En Kobayashi S., Müllen K. *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*. Vol 2. Berlin. Heidelberg: Ed Springer-Verlag; 2014: 1-8.
4. Balgová Z, Palou M, Wasserbauer J, Kozánková J. Synthesis of poly(vinyl alcohol) - hydroxyapatite composites and characterization of their bioactivity. *Cent Eur J. Chem*. 2013; 11(09):1403-1411.
5. Coakley DN, Shaikh FM, O'Sullivan K, Kavanagh EG, Grace PA, McGloughlin TM. In vitro evaluation of acellular porcine urinary bladder extracellular matrix—A potential scaffold in tissue engineered skin. *Wound Med*. 2015; 10(11): 9–16.
6. Venkatesan J, Jayakumar R, Anil S, Chalisserry EP, Pallela R, Kim SK. Development of alginate-chitosan-collagen based hydrogels for tissue engineering. *J. Biomater. Tissue Eng*. 2015; 5(6): 458–464.
7. Al-Mamun A, Haque P, Debnath T, Rahman MF, Islam JM, Rahman MM, et al.  $\gamma$ -Irradiated gelatin and polyvinyl alcohol films as artificial articular cartilage. *J. Thermoplast. Compos. Mater*. 2018;33(5): 614-627.
8. Asti A, Gioglio L. Natural and synthetic biodegradable polymers: different scaffolds for cell expansion and tissue formation. *Int J Artif Organs*. 2014;37(3):187–205.
9. Guo Y, Yu Y, Han L, Ma S, Zhao J, Chen H, et al. Biocompatibility and osteogenic activity of guided bone regeneration membrane based on chitosan-coated magnesium alloy. *Mater. Sci. Eng. C*. 2019; 03(100): 226–235.
10. Sheikh Z, Qureshi J, Alshahrani AM, Nassar H, Ikeda Y, Glogauer M, et al. Collagen based barrier membranes for periodontal guided bone regeneration applications. *Odontology*. 2017; 105(1):1-12.
11. Susanto S, Susanah S, Priosoeryanto BP, Satari MH, Komara I. The effect of the chitosan-collagen membrane on wound healing process in rat mandibular defect. *J. Indian. Soc. Periodontol*. 2021; 23(2): 113-118.

12. Gentleman MM, Gentleman E. The role of surface free energy in osteoblast biomaterial interactions. *Int. Mater. Rev.* 2014; 59(8):417-429.
13. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur. J. Oral. Sci.* 2017;125(5):315–337.
14. Balagangadhara K, Dhivya S, Selvamurugan N. Chitosan based nanofibers in bone tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* 2017; 104 (Pt B):1372–1382.
15. Deepthi S, Venkatesan J, Kim SK, Bumgardner JD, Jayakumar R. An overview of chitin or chitosan/nano ceramic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* 2016; 93 (Pt B): 1338–1353.
16. Özyol P, Özyol E, Karel F. Biocompatibilidad de lentes intraoculares. *Turk J Ophthalmol.* 2017; 47(4): 221-225.
17. Salvatore L, Gallo N, Natali ML, Campaa L, Lunettib P, Madaghie M, et al. Marine collagen and its derivatives: Versatile and sustainable bio-resources for healthcare. *Mater. Sci. Eng. C.* 2020; 113:4928-4931.
18. Bou-Gharios G, Abraham D, De Crombrughe B. Type I collagen structure, synthesis, and regulation. En Bilezikian, J y Martin, TJ y Rosen, C. *Principles of Bone Biology*. Vol 2. Leiden, Países Bajos: Elsevier. 2020; 295-337.
19. Fidler AL, Boudko SP, Rokas A, Hudson BG. The triple helix of collagens - an ancient protein structure that enabled animal multicellularity and tissue evolution. *J. Cell. Sci.* 2018; 131(7): 1-15.
20. Soroushanova A, Delgado LM, Wu Z, Shologu N, Kshirsagar A, Raghunath R, et al. The collagen suprafamily: from biosynthesis to advanced biomaterial development. *Adv. Mater.* 2019; 31(1): 1-39.
21. Bella J. Collagen structure: new tricks from a very old dog. *Biochem. J.* 2016; 437(8): 1001–1025.
22. Sbricoli L, Guazzo R, Annunziata M, Gobbato L, Bressan E, Natri L. Selection of Collagen Membranes for Bone Regeneration: A Literature Review. *Mater.* 2020; 13(3): 1-6.
23. Yamada S, Yamamoto K, Ikeda T, Yanagiguchi K, Hayashi Y. Potency of fish collagen as a scaregenerative medicine. *BioMed. Res. Int.* 2014;2014: 1-8.
24. Yamamoto K, Igawa K, Sugimoto K, Yoshizawa Y, Yanagiguchi K, Ikeda T, et al. Biological safety of fish (tilapia) collagen. *BioMed. Res. Int.* 2014; 2014: 1-4.

25. Krishnamoorthi J, Ramasamy P, Shanmugam V, Shanmugam A. Isolation and partial characterization of collagen from outer skin of *Sepia pharaonis* (Ehrenberg, 1831) from Puducherry coast. *Biochem. Biophys. Rep.* 2017; 10: 39–45.
26. Cicciù M, Cervino G, Herford HS, Famà F, Bramanti E, Fiorillo L, et al. Facial Bone Reconstruction Using both Marine or Non-Marine Bone Substitutes: Evaluation of Current Outcomes in a Systematic Literature Review. *Mar. Drugs.* 2018; 16(27): 42-53.
27. Cho JK, Jin YG, Rha SJ, Kim SJ, Hwang JH. Biochemical characteristics of four marine fish skins in Korea. *Food Chem.* 2014; 159: 200–207.
28. Jafari H, Lista A, Mafosso Siekapen M, Ghaffari-Bohlouli P, Nie L, Alimoradi H, et al. Fish Collagen: Extraction, Characterization, and Applications for Biomaterials Engineering. *Polym. J.* 2020; 12(10):2230-2267.
29. Muralidharan N, Jeya Shakila R, Sukumar D, Jeyasekaran G. Skin, bone and muscle collagen extraction from the trash fish, leather jacket (*Odonus niger*) and their characterization. *J. Food Sci. Technol.* 2013; 50(6):1106–1113.
30. Yamamoto K, Yoshizawa Y, Yanagiguchi K, Ikeda T, Yamada S, Hayashi Y. The characterization of fish (tilapia) collagen sponge as a biomaterial. *Int. J. Polym. Sci.* 2015;2015; 1-5.
31. Gandhimathi C, Muthukumar P, Srinivasan DK. Nanofiber Composites in Cardiac Tissue Engineering. Matthew Deans: Chennai. 2017; 411–453.
32. Sionkowska A, Lewandowska K, Planecka A, Szarszewska P, Krasinska K, Kaczmarek B, Kozłowska B. Biopolymer Blends as Potential Biomaterials and Cosmetic Materials. *Key. Eng. Mater.* 2013; 583: 95-100.
33. Slimane EB, Sadok S. Collagen from Cartilaginous Fish By-Products for a Potential Application in Bioactive Film Composite. *Mar drugs.* 2018;16(16): 211-230.
34. Aranaz I, Harris R, Navarro G F, Heras A, Acosta N. Chitosan based films as supports for dual antimicrobial release. *Carbohydr Polym.* 2016; 146: 402-410.
35. Gu Z, Xie H, Huang C, Li L, Yu X. Preparation of chitosan/silk fibroin blending membrane fixed with alginate dialdehyde for wound dressing. *Int. J. Biol. Macromol.* 2013; 58: 121–126.
36. Saravanan S, Leena R, Selvamurugan N. Chitosan based biocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* 2016; 93: 1354–1365.



37. Leena R, Vairamani M, Selvamurugan N. Alginate/Gelatin scaffolds incorporated with Silibinin-loaded Chitosan nanoparticles for bone formation in vitro, *Colloids. Surf. B. Biointerfaces*. 2017; 158:308–318.
38. Arun Kumar R, Sivashanmugam A, Deepthi S, Iseki S, Chennazhi K, Nair SV, et al. Injectable chitin-poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/nanohydroxyapatite composite microgels prepared by simple regeneration technique for bone tissue engineering. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2015; 7(18): 9399–9409.
39. Sionkowska A, Kowalonek J. The influence of UV-irradiation on chitosan modified by the tannic acid addition. *J. Photochem. Photobiol. B*. 2015;148: 333-339.
40. Ramasamy P, Shanmugam A. Characterization and wound healing property of collagen–chitosan film from *Sepia kobeensis* (Hoyle, 1885). *Int. J. Biol. Macromol.* 2015;74: 93-102.
41. Chen MM, Huang YQ, Cao H, Liu Y, Guo H, Chen LS, et al. Title: Collagen/chitosan film containing biotinylated glycol chitosan nanoparticles for localized drug delivery. *Colloids Surf B: Biointerfaces*. 2015;128: 229-346.
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: 1183–1193.
43. Albarracín W, Valderrama N. chemical compounds inclusion in chitosan polymeric matrices and their effect on film properties. *Vitae*[Internet]. 2014 [ citado feb 2020]; 21(1):49-59. Disponible en:[http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042014000100006&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042014000100006&script=sci_abstract&tlng=es) .
44. Susanto A, Satari MH, Abba B, Koesoemowidodo SA, Cahyanto A. Fabrication and Characterization of Chitosan-Collagen Membrane from Barramundi (*Lates Calcarifer*) Scales for Guided Tissue Regeneration. *Eur. J. Dent.* 2019; 13(3): 370-375.
45. Kaczmarek B, Sionkowska A, Skopinska- Wisniewska J. Influence of glycosaminoglycans on the properties of thin films based on chitosan/collagen blends. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2018; 80:189-193.
46. Ahmad M, Nirmal NP, Danish M, Chuprom J, Jafarzedeh S. Characterisation of composite films fabricated from collagen/chitosan and collagen/soy protein isolate for food packaging applications. *J. RSC Adv.* 2016; 6(85): 82191–82204.



La Universidad Autónoma de Guadalajara  
a través de la  
Facultad de Odontología

otorga el presente

# Reconocimiento

Elizabeth Barrera Martínez, Cristian Jesús Andraca Hernández, Eric Reyes Cervantes, Felipe Córdova Lozano, Julia Flores Tochiuitl.

por su **presentación cartel** del tema:

## NANOFIBRAS DE COLÁGENO DE PESCADO ADICIONADAS CON QUITOSAN PARA LA REGENERACION ÓSEA GUIADA

durante el marco del XXVII Encuentro Nacional y XVIII Iberoamericano de Investigación en Odontología.

Zapopan, Jalisco, 6, 7 y 8 de noviembre de 2019.

C.D.E. Alberto Rafael Arriola Valdés  
Director de la Facultad de Odontología

Dr. Amaury de Jesús Pozos Guillén  
Presidente de la Sociedad Nacional de Investigadores en Odontología