



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA

**ANDAMIOS ELECTROHILADOS DE POLI (ϵ -
CAPROLACTONA), FUNCIONALIZADOS CON
PARTÍCULAS DE EPICATEQUINA/ ALBÚMINA DE
SUERO BOVINO/GELATINA DE PESCADO**

T E S I S

Que para obtener el título de

Ingeniera en Sistemas Biomédicos

P R E S E N T A

Zaira Berenice Perdomo Monroy

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Alfredo Maciel Cerda



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., enero 2024

TEMA

Andamios electrohilados de poli (ϵ -caprolactona), funcionalizados con partículas de epicatequina/albúmina de suero bovino/gelatina de pescado.

ÍNDICE

TEMA.....	2
ÍNDICE	3
ABREVIATURAS.....	5
TABLAS E ILUSTRACIONES	6
1. RESUMEN	7
2. INTRODUCCIÓN	7
2.1 Antecedentes	8
2.2 Planteamiento del problema.....	9
2.3 Objetivo general	9
2.4 Objetivos específicos	9
2.5 Hipótesis	9
2.6 Alcances y limitaciones	10
3. MARCO TEÓRICO	10
3.1 Electrohilado	10
3.2 Polímeros.....	11
3.2.1 Polímeros lineales, ramificados y reticulados	12
3.2.2 Síntesis de polímeros.....	13
3.2.3 Poliéster	14
3.2.4 Poli (ϵ -caprolactona) (PCL)	16
3.3 Amidas.....	16
3.4 Proteínas	17
3.5 Colágeno.....	20
3.6 Gelatina de pescado (GELP)	20
3.7 Hidrólisis.....	21
3.8 Epicatequina (EC)	21
3.9 Albúmina de suero bovino (BSA)	23
3.10 Funcionalización de andamios	23
3.10.1 Injerto de polímeros (grafting).....	23
3.10.2 Modificación química directa.....	23
3.10.3 Reacciones de química clic (click chemistry)	24
3.10.4 Reacciones de polimerización por apertura de anillo (ROP)	24

3.10.5	Tratamiento de plasma y radiación	24
3.11	Métodos de obtención de partículas.....	25
3.11.1	Trituración y molienda	25
3.11.2	Métodos de precipitación	25
3.11.3	Atomización	25
3.11.4	Síntesis química.....	26
	Reacciones Sol-Gel	26
3.11.5	Desolvatación.....	26
3.11.6	Evaporación-condensación	27
3.12	Corazón	27
3.12.1	Cámaras cardíacas.....	29
2.12.2	Sistema de conducción eléctrica del corazón	31
3.13	Cardiomiocitos	32
3.13.1	Estructura de los cardiomiocitos	32
3.13.2	Componentes especializados de los cardiomiocitos	33
3.13.3	Función de los cardiomiocitos.....	34
3.13.4	Patologías cardíacas	35
3.13.5	Metabolismo de los cardiomiocitos	35
3.14	Cultivo Celular.....	35
3.15	Tipos de cultivo celular	36
3.16	Espectrometría de fotoelectrones inducidos por rayos X (XPS).....	36
3.17	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (ATR-FTIR).....	37
2.16	Microscopia electrónica de barrido (SEM)	39
4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
7.1	Materiales	41
4.2	Métodos	43
4.2.1	Electrohilado de andamios de PCL	43
4.2.2	Hidrolización de andamios de PCL.....	45
4.2.3	Obtención de las partículas de EC/BSA/GELP	48
4.2.4	Adhesión por inmersión de las partículas de EC/BSA/GELP en los andamios de PCL hidrolizados.....	48
4.2.5	Funcionalización de los andamios electrohilado de PCL.....	48

4.2.6	Caracterización.....	49
5.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	49
8.1	Caracterización química, espectroscopia	49
8.1.1	ATR-FTIR	49
8.1.2	XPS.....	53
5.2	Caracterización morfológica	55
5.2.1	SEM	55
5.3	Cultivo celular	57
6.	CONCLUSIONES.....	62
7.	REFERENCIAS	63

ABREVIATURAS

EC – Epicatequina

BSA – Bovine Serum Albumin (albúmina de suero bovino)

PCL – Poli (ϵ -caprolactona)

GELP – Gelatina de Pescado

FDA – Food and Drug Administration (administración de alimentos y medicamentos)

ROP– Ring-Opening Polymerization (polimerización con apertura de anillo)

XPS – X-Ray Photoelectron Spectrometry (espectrometría de fotoelectrones inducidos por rayos X)

SEM – Scanning Electron Microscope (microscopio electrónico de barrido)

ATR-FTIR – Attenuated total reflection-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Reflectancia total atenuada-Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier)

ATP – Adenosín trifosfato

TABLAS E ILUSTRACIONES

Tabla 1 Polímeros comerciales más importantes	12
Tabla 2 Propiedades de algunos poliésteres biodegradables	15
Tabla 3 Materiales utilizados 1.....	41
Tabla 4 Materiales utilizados 2.....	42
Tabla 5 Diseño de experimento de concentración de NaOH/Tiempo del andamio inmerso en NaOH ..	46
Tabla 6 Diseño de experimento de concentración de HCl/Tiempo del andamio inmerso en HCl	47
Ilustración 1. Tipo de polímeros	13
Ilustración 2. Reacción de formación de amida.....	17
Ilustración 3. Representación de una amida	17
Ilustración 4. Estructura de una proteína.....	18
Ilustración 5. Estructura de una proteína ionizada	18
Ilustración 6. Niveles organizacionales de proteínas	19
Ilustración 7. Estructura química de un flavonoide	22
Ilustración 8. Reacción por apertura de anillo.....	24
Ilustración 9. Ubicación del corazón	28
Ilustración 10. Estructura del corazón	30
Ilustración 11. Válvulas cardiacas.....	31
Ilustración 12. Células cardiacas o cardiomiocitos.....	32
Ilustración 13. Estructura de los cardiomiocitos.....	33
Ilustración 14. Estructuras involucradas en la función cardíaca	34
Ilustración 15. Ejemplo de accesorio ATR	38
Ilustración 16. Ejemplo de accesorio para reflectancia difusa.....	39
Ilustración 17. Funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido	40
Ilustración 18. Proceso de electrohilado.....	43
Ilustración 19. Disoluciones para electrohilado de PCL.....	44
Ilustración 20. Andamios electrohilados de PCL.....	45
Ilustración 21. Análisis de FTIR de andamios de PCL y partículas de EC/BSA/GELP	50
Ilustración 22. Análisis de ATR-FTIR de BSA/EC/GELP.....	52
Ilustración 23. Análisis mediante XPS.....	53
<i>Ilustración 24. Micrografías por SEM donde se muestra A: fibras de PCL. B: fibras de PCL hidrolizada. C: partículas de EC/BSA/GELP. D: partículas de EC/BSA/GELP adheridas a la superficie de los andamios de PCL</i>	<i>55</i>
Ilustración 25. Cultivo celular en andamio A de PCL funcionalizado con partículas de EC/BSA/GELP....	57
Ilustración 26. Grafica actividad cardíaca andamio A	58
Ilustración 27. Cultivo celular en andamio B de PCL funcionalizado con partículas de EC/BSA/GELP	59
Ilustración 28. Grafica actividad cardíaca andamio B	59
Ilustración 29. Cultivo celular en andamio C de PCL funcionalizado con partículas de EC/BSA/GELP	60
Ilustración 30. Grafica actividad cardíaca andamio C	61

1. RESUMEN

El infarto al miocardio es una de las principales causas de muerte en nuestro país. El corazón tiene un poder de regeneración insuficiente para la reconstrucción ante una lesión. El presente trabajo se enfoca en el desarrollo de un biomaterial que sea capaz de coadyuvar en la regeneración de tejido cardíaco, utilizando andamios electrohilados de poli (ϵ -caprolactona) (PCL) funcionalizados con partículas de epicatequina, albúmina y gelatina (EC/BSA/GEL). El andamio electrohilado de PCL fue hidrolizado para optimizar su superficie y facilitar la funcionalización con las partículas. Las partículas de EC/BSA/GEL se realizaron por el método de desolvatación. El andamio de PCL con las partículas de EC/BSA/GEL se analizaron por espectroscopía infrarroja indicando la adherencia de las partículas al andamio, así como microscopía electrónica de barrido que nos muestra la morfología de los andamios y de las partículas. Las pruebas in vitro con cardiomiocitos embrionarios de pollo mostraron una excelente adhesión celular, además de alta viabilidad y actividad cardíaca sobre el material. Estos resultados sugieren que este biomaterial puede ofrecer una alternativa prometedora a los trasplantes cardíacos, facilitando la regeneración del tejido dañado al tener la capacidad de proliferar en él las células.

Además, plantea la posibilidad de analizar a futuro el material acerca de sus propiedades mecánicas y cómo estas pueden afectar en la viabilidad de los cardiomiocitos.

2. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares, en especial el infarto al miocardio, representan un problema de salud global y son la principal causa de muerte en países como México. En 2021, estas enfermedades ocasionaron aproximadamente 177 mil decesos en el país, afectando tanto la esperanza como la calidad de vida de millones de personas y sus familias. Este problema radica principalmente en la limitada capacidad del tejido cardíaco para regenerarse después de una lesión, puesto que, a diferencia de otros tejidos, el corazón carece de mecanismos efectivos para reemplazar las células dañadas de forma rápida.

Ante este reto, la ingeniería de tejidos ha surgido como una disciplina que combina la biología, la ingeniería de materiales y la medicina, para diseñar soluciones innovadoras que permitan la reparación y regeneración de tejidos dañados. Una de las estrategias más prometedoras en este campo es el desarrollo de andamios electrohilados, estructuras de soporte fabricadas a partir de polímeros biodegradables, como la poli (ϵ -caprolactona) (PCL), que ofrecen un entorno favorable para el crecimiento celular y la formación de tejido (Woodruff & Hutmacher, 2010).

Este trabajo de investigación se enfoca en el diseño y caracterización de estos andamios funcionalizados, explorando sus propiedades físicas, químicas y biológicas, y evaluando su

potencial para facilitar la regeneración del tejido cardíaco en modelos experimentales. Con avances significativos en la tecnología de biomateriales, esta investigación no solo busca aportar conocimiento fundamental en el campo de la medicina regenerativa, sino también abrir nuevas posibilidades para el tratamiento de enfermedades cardíacas. Se invita al lector a descubrir cómo la ciencia y la tecnología se unen para ofrecer alternativas terapéuticas innovadoras que podrían, en un futuro cercano, transformar el tratamiento de patologías cardiovasculares y contribuir a la esperanza vida de miles de personas.

2.1 ANTECEDENTES

Una de las principales causas de muerte a nivel mundial son las enfermedades cardiovasculares, el riesgo de padecer estas enfermedades aumenta por los malos hábitos de salud como una alimentación poco sana y la falta de ejercicio (*Enfermedades cardiovasculares - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud, 2024*). Por esta razón, pese a la existencia de tratamientos farmacológicos y quirúrgicos, existe una necesidad urgente de desarrollar nuevas terapias regenerativas que permiten la reparación del tejido cardíaco dañado. En este sentido es necesario explorar alternativas más amables con el cuerpo y su recuperación, surgiendo la ingeniería de tejidos, cuyo punto de partida es con la publicación del artículo Tissue Engineering en la revista Science por Robert Langer y Joseph Vacanti, en 1993, que desde ese momento hasta nuestra época ya es una realidad la capacidad de poder reproducir órganos y tejidos más fácilmente, apoyándose en el diseño de andamios que promueven el crecimiento celular e integración del tejido nativo.

Los andamios electrohilados han demostrado ser herramienta efectiva en la ingeniería de tejidos gracias a su capacidad de imitar la estructura de la matriz extracelular natural. Materiales como la PCL se han utilizado ampliamente debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y propiedades mecánicas ajustables. Sin embargo, una de las desventajas que presenta este polímero es su hidrofobicidad y falta de funcionalidad bioactiva, varios estudios al abordar estas limitaciones han encontrado que el incorporar biomoléculas como gelatina, albumina y compuestos fenólicos se pueden mejorar las características de biocompatibilidad, así como la actividad antioxidante y proliferación de las células. Pese a los avances en la funcionalización de andamios electrohilados aún hay desafíos importantes como la distribución homogénea de las partículas y estabilidad para su papel dentro de la regeneración de tejidos.

Existen ya varios estudios que combinan los polímeros sintéticos con proteínas para mejorar las características de los materiales y que han sido utilizados en distintos tejidos como en los estudios de Rakesh Kumar, así mismo en trabajos previos se ha incorporado el uso de la epicatequina con la finalidad de reducir el estrés oxidativo de las células, gracias a su efecto antioxidante así como anti inflamatorio (Shariati et al., 2019). El uso de andamios electrohilados de PCL combinado con otras proteínas tiene una aplicación relativamente reciente en el tejido cardíaco, mostrando una buena compatibilidad en estudios hechos con cardiomiocitos embrionarios de pollo (Miranda-Buendia et al., 2022).

2.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El problema de la regeneración de tejido cardíaco representa un desafío crítico en la medicina e ingeniería de tejidos, debido a la limitada capacidad que posee el corazón de auto repararse tras un daño significativo. El estudio de nuevos materiales que nos permitan regenerar tejido sin la necesidad de un trasplante de todo el órgano dañado nos brinda esperanza en cuanto a los tratamientos para enfermedades cardíacas sobre todo en el uso de biomateriales que tengan el potencial de regeneración cardíaca después de un infarto al miocardio.

En la presente investigación se propone la funcionalización de la superficie de andamios electrohilados de PCL agregando partículas de EC/BSA/GELP, y utilizando genipina como agente entrecruzante, lo que supone la mejora de la bioactividad e integración con el tejido circundante evaluada mediante pruebas de cultivo celular.

El uso de técnicas de electrohilado para crear andamios de PCL ya ha sido investigado y validado en estudios previos (Jang et al., 2023), una ventaja para la viabilidad del presente trabajo, en el que esta técnica se adaptó a las necesidades propias del proyecto.

2.3 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la biocompatibilidad y viabilidad de los andamios electrohilados de PCL funcionalizados con partículas de EC/BSA/GELP con cardiomiocitos embrionarios de pollo.

2.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Electrohilar andamios de PCL a 20 cm de distancia, un diferencial de potencial 15kV y a un flujo de 0.4 mL/h para utilizar estos andamios como base.
- Realizar un diseño de experimentos factorial 2² para establecer las condiciones adecuadas que permitan hidrolizar los andamios de PCL para exponer los grupos carboxilo (-COOH) y OH.
- Funcionalizar los andamios de PCL con partículas de EC, BSA y GELP para mejorar la compatibilidad con las células
- Caracterizar los andamios por XPS, FTIR y SEM para corroborar la adhesión de las partículas de EC/BSA/GELP, así como su biocompatibilidad.
- Evaluar la biocompatibilidad y viabilidad de los andamios de PCL con partículas de EC/BSA/GELP a través del cultivo celular con cardiomiocitos embrionarios de pollo.

2.5 HIPÓTESIS

Los andamios electrohilados de PCL funcionalizados con la combinación de partículas de EC/BSA/GELP propuestas son biocompatibles y viables.

2.6 ALCANCES Y LIMITACIONES

Alcances:

- Este trabajo permite la fabricación de andamios electrohilados funcionalizados con epicatequina, gelatina y albumina de suero bovino, demostrando su biocompatibilidad con cardiomiocitos embrionarios de pollo.
- Se estableció un protocolo reproducible para la funcionalización de la superficie de los andamios, mediante inmersión y sonicación.
- La investigación contribuye a ampliar el conocimiento sobre el potencial de los andamios biofuncionalizados para aplicaciones de ingeniería de tejidos cardiacos.

Limitaciones:

- La investigación se limita al uso de cardiomiocitos embrionarios de pollo, por lo cual aun no se incluyen evaluaciones in vivo ni en modelos animales.
- Distribuir homogéneamente de las biomoléculas en la superficie de los andamios aun no se logra completamente.
- La duración del proyecto impidió realizar estudios a largo plazo sobre la degradación de los andamios a condiciones fisiológicas.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 ELECTROHILADO

Mediante el electrohilado es posible fabricar fibras con diámetros desde micras (la millonésima parte de un metro, 1×10^{-6} m) hasta nanómetros (que equivale a una mil millonésima parte de un metro, 1×10^{-9} m). Éste nos permite obtener fibras por la acción de la fuerza eléctrica suministrada por una fuente de poder ejercida sobre una solución viscoelástica.

El proceso de electrohilado en general implica lo siguiente:

1. Preparación de una solución polimérica: se realiza la disolución de un polímero en un disolvente adecuado, esta disolución se introduce en una jeringa que lo contiene.
2. Instalación de la jeringa en el equipo de electrohilado: este equipo consta de una bomba que ayuda a suministrar de manera continua el flujo del polímero que sale de la jeringa.
3. Aplicación de un diferencial de potencial de voltaje: después de colocar la jeringa, se conecta la aguja y el colector a una fuente de voltaje.

4. Formación y recolección de las fibras: al aplicar el diferencial de potencial de voltaje se forman una especie de hilos finos debido a que la solución se estira y solidifica a medida que se deposita en el colector. En este proceso se va perdiendo por evaporación el disolvente utilizado y nos queda el polímero adherido al colector (Duque Sanchez et al, 2013).

Este método nos brinda la facilidad de crear nano fibras con una técnica que es relativamente sencilla, accesible y que puede ser utilizada con diversos polímeros, dándonos como resultado andamios con una gran variedad en el tamaño de poro. Las características que podemos obtener como resultado del proceso de electrohilado varían en función de parámetros que podemos modificar. Según lo que deseamos obtener, éstos son: la distancia de la aguja al colector, el voltaje, tipo de colector, el polímero a usar, concentración y viscosidad del polímero, la conductividad. También se puede ver afectado por condiciones externas como la humedad y la temperatura ambiental («Electrospinning of nanofibres», 2024).

El electrohilado se ha usado ampliamente para producir fibras en aplicaciones como biomateriales, compuestos, catálisis y sensores. Las fibras que se obtienen varían en función de los parámetros antes mencionados, así como el tipo de solución que se utilice. Es relativamente fácil de implementar en un laboratorio. Pese a los múltiples beneficios que podemos obtener de este método, cuenta con la desventaja de ser poco eficiente si se desea producir en masa, puesto que es un procedimiento que requiere tiempo para su elaboración (Andrady & Khan, 2022).

3.2 POLÍMEROS

Un polímero es una molécula muy grande formada por muchas unidades de monómeros. Estas unidades se enlazan entre sí mediante enlaces covalentes para formar cadenas largas y, a menudo, ramificadas, la manera en la que están enlazados puede variar sus propiedades (Painter & Coleman, 2009).

Existe una gran variedad de polímeros ya sean de forma natural como las proteínas, siendo ésta un ejemplo de una poliamida natural. Es decir, es un polímero que contiene un grupo amida en la cadena principal: estos polímeros están presentes en la naturaleza (*Proteínas*, s. f.). O bien, los polímeros sintetizados por el ser humano. A diferencia de los mencionados anteriormente, los polímeros sintéticos, son producidos en un laboratorio. Entre los polímeros sintéticos más comunes encontramos: el poliestireno, el policloruro de vinilo, el polimetilmetacrilato (metacrilato de metilo), el polipropileno, por mencionar algunos (BaobabMarketing, 2022). En la tabla 1, se muestran los polímeros de alquenos comercialmente importantes, el monómero que los conforma, usos y sus nombres comerciales (McMurry, 2007):

Tabla 1 Polímeros comerciales más importantes

Monómero	Fórmula	Nombre comercial o común del polímero	Usos
Etileno	$H_2C=CH_2$	Poli(etileno)	Empaques, botellas
Propeno (propileno)	$H_2C=CHCH_3$	Polipropileno	Molduras, cuerdas, alfombras
Cloroetileno (cloruro de vinilo)	$H_2C=CHCl$	Poli(cloruro de vinilo) Tedlar	Aislante, películas, tubos
Estireno	$H_2C=CHC_6H_5$	Poli(estireno)	Espuma, molduras
Tetrafluoroetileno	$F_2C=CF_2$	Teflón	Juntas, recubrimientos
Acilonitrilo	$H_2C=CHCN$	Orlón, acrilán	Fibras
Metacrilato de metilo	$H_2C=C(CH_3)CO_2CH_3$	Plexiglás, lucita	Pintura, láminas, molduras
Acetato de vinilo	$H_2C=CHOCOCH_3$	Poli(acetato de vinilo)	Pintura, adhesivos, espumas

Los polímeros tienen una amplia variedad de aplicaciones debido a sus propiedades únicas, que pueden ser manipuladas ajustando la estructura de los monómeros y la longitud de las cadenas poliméricas. Por ejemplo, los elastómeros, que son polímeros con alta elasticidad y durabilidad, se utilizan en productos como adhesivos biológicos, electrónica portátil, entre otras aplicaciones en las que también destacan la biomedicina (Baobab Marketing, 2022; McMurry, 2007).

3.2.1 Polímeros lineales, ramificados y reticulados

- **Polímeros lineales:** son una cadena formada por unidades idénticas ordenadas en una secuencia lineal. Estas cadenas pueden estar muy empaquetadas, lo que les da una alta densidad y resistencia mecánica. Los polímeros lineales típicos incluyen el polietileno de alta densidad (PEAD) y el polipropileno. Estos polímeros suelen ser utilizados en la fabricación de fibras, películas y materiales de embalaje debido a su alta resistencia y tenacidad (Ilustración 1.a) (Painter & Coleman, 2009).
- **Polímeros ramificados:** los polímeros ramificados tienen cadenas principales con ramificaciones laterales. Existen diversas reacciones que dan lugar a ramas de cadena larga. Esta estructura reduce la densidad y puede influir en las propiedades físicas del polímero, como la viscosidad y la solubilidad. Los ejemplos comunes de polímeros ramificados incluyen el polietileno de baja densidad (PEBD) y ciertos tipos de poliestireno. Los polímeros ramificados suelen ser más flexibles y tienen puntos de fusión más bajos que los polímeros lineales, lo que los hace adecuados para aplicaciones como bolsas de plástico y aislamiento de cables (Ilustración 1.b) (Matyjaszewski & Davis, 2022; Painter & Coleman, 2009).

- **Polímeros Reticulados:** Se refiere a que tienen una estructura de red tridimensional debido a enlaces cruzados entre las cadenas poliméricas, lo que puede mejorar sus propiedades mecánicas y su estabilidad térmica. Estos tienen una estructura tridimensional donde las cadenas poliméricas están unidas entre sí mediante enlaces covalentes. Este tipo de estructura confiere a los polímeros reticulados una alta resistencia térmica y mecánica, así como una baja solubilidad. Los ejemplos incluyen el caucho vulcanizado y los epoxis. Los polímeros reticulados son ideales para aplicaciones que requieren materiales robustos y duraderos, como neumáticos de automóviles, revestimientos protectores y adhesivos estructurales (Ilustración 1.c) (Cornell Chronicle, s. f.; Painter & Coleman, 2009).

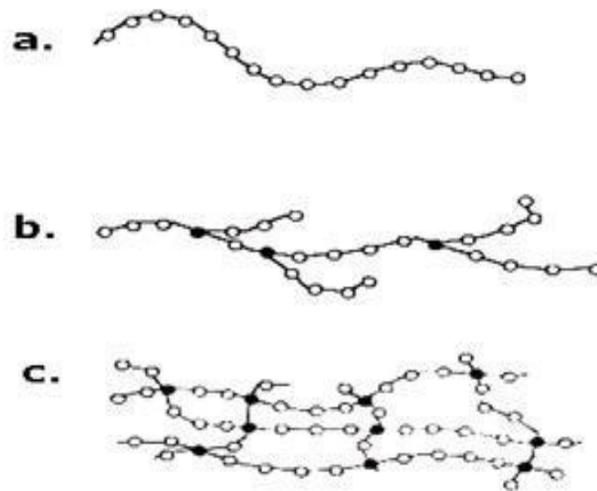


Ilustración 1. Tipo de polímeros

Polímeros. (s. f.). Clasificación de polímeros [Esquema]. Webnode.
<https://polimeros39.webnode.com.ar/propiedades-fisicas/>

3.2.2 Síntesis de polímeros

Abarca todo el proceso de creación de polímeros, desde la selección y preparación de los monómeros hasta la polimerización y posterior procesamiento del polímero obtenido. La síntesis de polímeros incluye:

- **Diseño de monómeros:** selección y preparación de los monómeros adecuados para obtener las propiedades deseadas en el polímero final.
- **Proceso de polimerización:** aplicación de técnicas de polimerización para crear la cadena de polímero.

- **Post-procesamiento:** modificación del polímero, incorporación de aditivos, y moldeo del material en formas específicas para aplicaciones finales (Billmeyer, 1984; Painter & Coleman, 2009).

A su vez existen varios procesos de polimerización; describiré a continuación los más comunes:

3.2.2.1 Polimerización por Adición: este proceso, también conocido como polimerización en cadena, implica la adición sucesiva de monómeros insaturados (como alquenos) a una cadena de polímero en crecimiento. Este tipo de polimerización es característico de polímeros como el polietileno y el poliestireno. En este proceso, los radicales libres, los cationes o los aniones actúan como iniciadores, comenzando la reacción y permitiendo que los monómeros se unan en una reacción en cadena (Kim et al., 2021; Matyjaszewski & Davis, 2022).

3.2.2.2 Polimerización por Condensación: también conocida como polimerización por etapas. Esta técnica implica la reacción de monómeros con al menos dos grupos funcionales diferentes, liberando una pequeña molécula como agua o metanol en cada paso de reacción. Este método es común en la síntesis de polímeros como los poliésteres y las poliamidas. Durante este proceso, los monómeros se enlazan formando oligómeros, que luego se combinan para formar polímeros de mayor peso molecular (*Cornell Chronicle*, s. f.).

3.2.2.3 Polimerización en Emulsión: este es un método donde los monómeros son emulsificados en agua con la ayuda de un surfactante, y la polimerización se lleva a cabo en micelas. Este método permite la formación de polímeros con alta peso molecular y baja viscosidad, siendo comúnmente utilizado para la producción de látex y otros polímeros dispersos en agua (Matyjaszewski & Davis, 2022).

3.2.2.4 Polimerización por Metátesis de Apertura de Anillo (ROMP): ROMP es un método donde los monómeros cíclicos se abren y se polimerizan para formar cadenas lineales de polímeros. Esta técnica es muy útil para la síntesis de polímeros con estructuras bien definidas y tiene aplicaciones en la creación de materiales avanzados y biopolímeros (Matyjaszewski & Davis, 2022; Painter & Coleman, 2009).

3.2.3 POLIÉSTER

“Poliéster” es un término que se puede dividir en “poli”, que significa muchos, y “éster”, un compuesto químico orgánico básico, las fibras de poliéster se forman a partir de una reacción química de un ácido y un alcohol; al reaccionar se combinan para formar una molécula grande con estructura repetitiva en toda su longitud. Las moléculas formadas son muy largas, estables y

resistentes (*Polyester* | *Encyclopedia.com*, s. f.). Su producción comenzó en el área textil, pero años más tarde se descubrió que, debido a su facilidad de hidrólisis, era útil su uso en el área especializada de los polímeros biomédicos, encontrando su primera oportunidad de aplicación a gran escala como suturas solubles. Los primeros biomateriales fueron de poliéster y hasta la fecha su uso sigue en pie no solo para suturas, ahora también son utilizados en liberación de fármacos, regeneración de tejidos y otras aplicaciones, esto gracias a que los subproductos en los que se puede degradar no son tóxicos dentro del organismo, lo que hace que su uso sea seguro dentro del cuerpo humano (MacIntyre, 2004).

A continuación, en la Tabla 2, se muestran algunos poliésteres biodegradables, así como sus propiedades, que nos dan una idea de porqué han tenido tanto impacto en su utilización como biomateriales MacIntyre, (2004).

Tabla 2 Propiedades de algunos poliésteres biodegradables

Polímero	T_m (Temperatura de fusión) y T_g (Temperatura de transición vítrea) (°C)	Modulo (GPa)	Tiempo de degradación (meses)
Poliglicolato	T _m 225-230; T _g 34-40	7.0	6-12
Poli (L ácido láctico)	T _m 173-8; T _g 60-65	2.7	Superior a 24
Pol (DL ácido láctico)	Amorfo; T _g 55-60	1.9	12-16
Poli (ε-caprolactona)	T _m 58-63; T _g -65	0.4	Superior a 24
Polidioxanona	Despolimerizado; T _g -10	1.5	6-12

Los polímeros con cadenas principales hidrolizables son susceptibles a la degradación, característica con la que cuentan los poliésteres alifáticos y han demostrado ser casi los únicos compuestos de alto peso molecular que son biodegradables (ChandraR, 1998).

3.2.4 POLI (ϵ -CAPROLACTONA) (PCL)

Fue uno de los primeros polímeros sintetizados a principios de 1930. Se comercializó gracias a los esfuerzos por identificar polímeros sintéticos degradados por microorganismos. La PCL se obtiene mediante la polimerización con apertura de anillo del monómero cíclico ϵ -caprolactona (Hayashi, 1994).

La PCL es un polímero de la familia de los poliésteres, que ha sido ampliamente estudiado y utilizado en diversas aplicaciones, tanto en el campo de la industria como para fines biomédicos. Entre sus aplicaciones biomédicas podemos resaltar su uso en suturas, apósitos, implantes anticonceptivos, dispositivos de fijación, ortodoncia, entre otros. Puede ser degradado por microorganismos, así como por otros métodos de degradación. Es insoluble en agua, pero se disuelve fácilmente en múltiples disolventes orgánicos, Es un polímero semicristalino con una alta permeabilidad, tiene una temperatura de transición vítrea (T_g) de $-60\text{ }^\circ\text{C}$ y un punto de fusión en el rango entre 59 y $64\text{ }^\circ\text{C}$ (Woodruff & Hutmacher, 2010). Este polímero es soluble a temperatura ambiente en cloroformo, diclorometano, tetracloruro de carbono, benceno, tolueno, ciclohexano y 2-nitropropano. Aunque también cuenta con baja solubilidad en acetona, 2-butanona, acetato de etilo, dimetilformamida y acetonitrilo y es insoluble en alcohol, éter de petróleo y éter dietílico (Coulembier et al., 2006).

El homopolímero de la PCL tiene una degradación total de 2 a 4 años; esto depende del peso molecular inicial del dispositivo o implante. Para las aplicaciones biomédicas es de vital importancia conocer el tiempo de degradación de los polímeros que serán utilizados porque así podemos conocer las aplicaciones que son compatibles con el polímero seleccionado y su correcto uso (Woodruff & Hutmacher, 2010).

3.3 AMIDAS

Las amidas son moléculas que contienen átomos de nitrógeno conectados al átomo de carbono de un grupo carbonilo. Estas moléculas se forman cuando los ácidos carboxílicos reaccionan con aminas o amoníaco. Se elimina una molécula de agua de la reacción y la amida se forma a partir del resto del ácido carboxílico y la amina como se puede ver en la Ilustración 2. A través de la reacción antes mencionada es que los aminoácidos se unen para formar proteínas (Flowers et al., 2022).

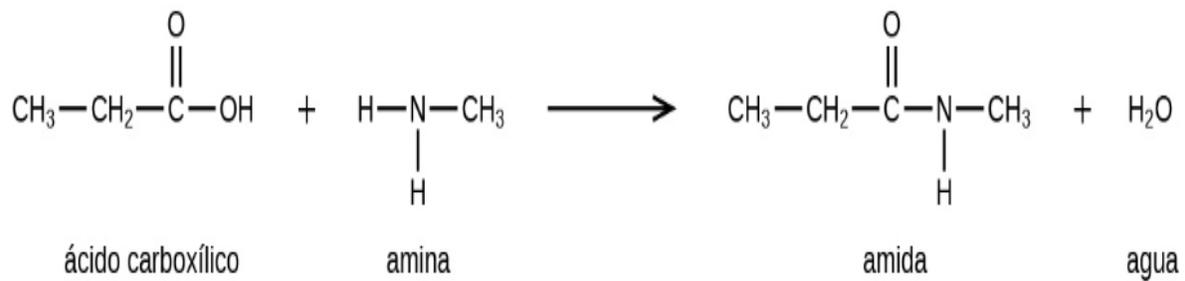


Ilustración 2. Reacción de formación de amida

Coulebrier et al., (2006). Proceso de formación de una amida [Esquema].

<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.08.004>

Este compuesto es abundante porque son las formas más estables dentro de los organismos vivos, las amidas son las menos reactivas de los compuestos derivados de ácidos carboxílicos. Hay tres tipos en los que podemos clasificar a las amidas según sea el grado de sustitución del átomo de nitrógeno, llamadas amidas primarias, secundarias o terciarias (McMurry, 2007). La estructura del compuesto y su grupo funcional (en rojo) se puede representar como en la Ilustración 3:

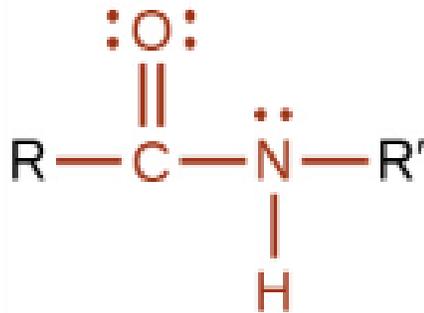


Ilustración 3. Representación de una amida

Coulebrier et al., (2006). Representación de la estructura general de una amida [Esquema].

<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.08.004>

3.4 PROTEÍNAS

Son moléculas esenciales para la vida que están formadas por cadenas de aminoácidos. Éstas desempeñan un papel crucial en la mayoría de las funciones biológicas. Las proteínas están

involucradas en las reacciones químicas, la formación de estructuras celulares, en la regulación de procesos biológicos, así como en la defensa del organismo contra patógenos externos.

En la naturaleza existen más de 100 aminoácidos, en especial en las plantas. En la mayoría de las proteínas humanas se encuentran habitualmente solamente 20 tipos de aminoácidos. La propiedad común de las moléculas proteicas es que en su mayoría están formados por α -aminoácidos, estos están unidos entre sí por enlaces entre el grupo amino ($-\text{NH}_2$) de un aminoácido y el grupo carboxilo ($-\text{COOH}$) de su vecino, la estructura general de los α -aminoácidos se muestra en la ilustración 4 y 5 (*Britannica*, s. f.):

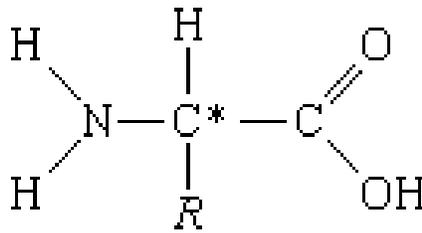


Ilustración 4. Estructura de una proteína

o

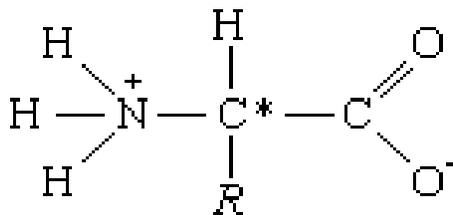


Ilustración 5. Estructura de una proteína ionizada

Britannica, (s. f.). Forma estructural que puede poseer una proteína [Esquema]. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/protein>

Estas estructuras se han investigado ampliamente en las últimas décadas, ofreciendo vastas aplicaciones para el desarrollo de biomateriales para aplicaciones biomédicas, como son los sistemas de administración de fármacos y andamios para regeneración de tejidos (Silva et al., 2014).

Las proteínas tienen distintos niveles organizacionales (Ilustración 6):

Estructura primaria: esta es considerada como una secuencia de aminoácidos.

Estructura secundaria: es la relación conformacional de los aminoácidos entre sí, existiendo dos posiciones conformacionales, la hélice α o la lámina β .

Estructura terciaria: se obtiene plegando cadenas de proteínas. Hay dos clases de estructuras de proteínas terciarias, las fibrosas y las globulares.

Las globulares son casi esféricas solubles

Las fibrosas son filamentos o cadenas alargadas e insolubles en agua.

Estructura cuaternaria: se obtiene por el estilo de organización de dos o más cadenas proteicas (Silva et al., 2014).

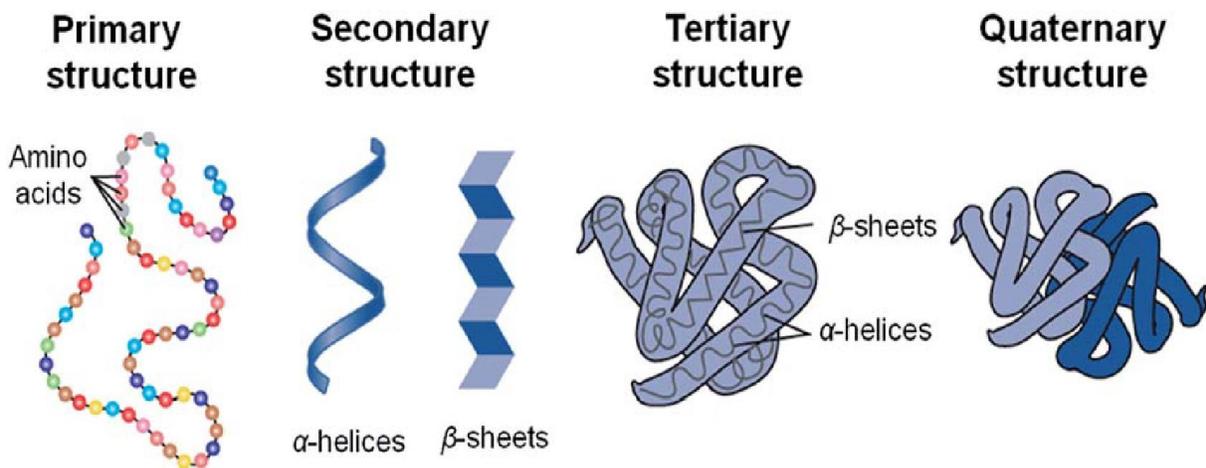


Ilustración 6. Niveles organizacionales de proteínas

Silva et al., (2014). Ejemplificación de los niveles organizacionales que pueden tener las proteínas [Esquema] <https://doi.org/10.1039/C4TB00168K>

Las proteínas pueden ser clasificadas en diferentes maneras al ser un grupo tan grande. Esto es por su forma, estructura y función. La compleja estructura de las proteínas, en particular las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria que se mantienen unidas principalmente mediante enlaces no covalentes, puede verse fuertemente afectada por varios factores como la temperatura, el pH y los disolventes orgánicos, entre otros, que pueden afectar las interacciones que determinan las estructuras secundarias a cuaternarias (Hardy et al., 2008).

3.5 COLÁGENO

El colágeno es la proteína más abundante en los animales y el mayor componente de la matriz extracelular. Está presente en la mayoría de los órganos internos, piel, tendones, cartílagos y huesos, dando soporte estructural y mecánico. Esta proteína es la más abundante en los mamíferos; representa aproximadamente el 25-35% del contenido proteico total del cuerpo (Silva et al., 2014).

Funcionalmente, el colágeno es crucial para mantener la integridad estructural de los tejidos. Está presente en la piel, huesos, tendones, cartílagos y vasos sanguíneos, proporcionando soporte y elasticidad. Esta proteína también juega un papel vital en la curación de heridas y en la formación de cicatrices, ya que ayuda a reconstruir el tejido dañado y a mantener su fuerza y estructura. Existen al menos 28 tipos diferentes de colágeno, pero los más comunes son los tipos I, II y III. El colágeno tipo I se encuentra principalmente en la piel, tendones y huesos; el tipo II es predominante en el cartílago; y el tipo III se encuentra en las paredes de los vasos sanguíneos y en los órganos huecos (Wang, 2022).

Aunque las fibras de colágeno suelen ser consideradas inelásticas debido a su extensibilidad limitada de 13 al 15%, tienen la capacidad de deformarse de manera reversible. Esto permite clasificar al colágeno también como una proteína elástica (Gosline et al, 2002). Gracias a sus múltiples cualidades, el colágeno ha sido utilizado ampliamente en el ámbito de la biomedicina, en andamios para la regeneración de tejidos, así como en aplicaciones farmacéuticas y cosméticas (Sionkowska et al., 2016).

La estructura del colágeno es principalmente en forma de triple hélice, lo que le confiere gran resistencia y flexibilidad. Cuando el colágeno se desnaturaliza, la triple hélice se desenrolla y las cadenas se separan; cuando esta masa desnaturalizada de cadenas enredadas se enfría, absorbe el agua circundante, formando gelatina. La gelatina se utiliza comúnmente como agente gelificante en alimentos, productos farmacéuticos, fotografía y fabricación de cosméticos (Silva et al., 2014; Sionkowska et al., 2016).

3.6 GELATINA DE PESCADO (GELP)

La gelatina de pescado es un biopolímero derivado del colágeno de la piel y los huesos de los peces. Esta gelatina tiene propiedades únicas que la hacen atractiva para aplicaciones en ingeniería de tejidos. Una de las propiedades más interesantes de la gelatina de pescado es su biocompatibilidad, lo que significa que tiene un alto grado de aceptabilidad biológica con tejidos vivos y no induce una respuesta inmune significativa cuando se implanta en el cuerpo humano. Además, la gelatina de pescado tiene la capacidad de formar geles a bajas concentraciones y temperaturas más bajas en comparación con la gelatina derivada de mamíferos, lo que facilita su manipulación y uso en aplicaciones biomédicas, además de la reducción del riesgo de encefalopatía espongiforme bovina (EEB) que no está presente en los subproductos a base de pescado (Al-Nimry, 2021; Cho et al., 2005; Martins, 2018). En cuanto a implicaciones religiosas

relacionadas con su uso, la gelatina de pescado es aceptable para el islam y puede usarse con restricciones mínimas en el judaísmo y el hinduismo. Además, la piel de pescado, que es un importante subproducto de la industria procesadora de pescado, que genera desechos y contaminación, podría proporcionar una valiosa fuente de gelatina (Karim & Bhat, 2009).

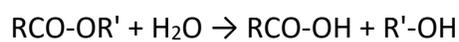
Otra característica notable de la gelatina de pescado es su capacidad para ser modificada químicamente para mejorar sus propiedades mecánicas y de degradación. Se puede aumentar la resistencia y estabilidad de los geles formados, haciéndolos más adecuados para aplicaciones en la regeneración de tejidos y la liberación controlada de fármacos. Además, la gelatina de pescado posee propiedades de adhesión celular, lo que la hace ideal para la fabricación de andamios en ingeniería de tejidos. Estos andamios pueden soportar el crecimiento y la proliferación de células, facilitando la regeneración de tejidos dañados (Ali et al., 2018; Al-Nimry, 2021).

3.7 HIDRÓLISIS

La hidrólisis es una reacción química en la que el agua reacciona con un compuesto, dividiéndolo en dos productos que generalmente incorporan partes de la molécula de agua, como un ion hidrógeno (H⁺) y un ion hidroxilo (OH⁻)

La hidrólisis que involucra compuestos orgánicos puede ilustrarse mediante la reacción del agua con un éster de un ácido carboxílico, la hidrólisis de amidas y ésteres puede ocurrir en medio ácido o básico, descomponiendo estos compuestos orgánicos. Un rasgo característico de la hidrólisis de ésteres y de la mayoría de los demás compuestos orgánicos es que una tercera sustancia, normalmente un ácido o una base, aumenta la velocidad a la que tiene lugar el cambio químico (*Britannica*, s. f.).

Las reacciones de hidrólisis orgánica implican la reacción de agua y un éster:



La primera aplicación comercial de la hidrólisis fue en la elaboración de jabón. La reacción de saponificación ocurre cuando un triglicérido se hidroliza con agua y una base (generalmente hidróxido de sodio, NaOH o hidróxido de potasio, KOH). Los ácidos grasos reaccionan con la base para producir glicerol y sales (*What Is Hydrolysis?*, s. f.).

3.8 EPICATEQUINA (EC)

La epicatequina es un flavonoide, encontrado en alimentos como el té, las manzanas, las bayas y el cacao, ha sido objeto de varios estudios debido a sus efectos beneficiosos en la salud humana. Esta molécula es especialmente destacada por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales y cardio protectoras (Prakash et al, 2019).

Sus propiedades antioxidantes resultan de la capacidad de disminuir la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, mejorando así los perfiles lipídicos, así como su efecto positivo

sobre el sistema cardiovascular en la capacidad de los flavonoides para producir vasodilatación y regular los procesos apoptóticos en el endotelio. Se demostró que la epicatequina puede estimular la síntesis de óxido nítrico (NO) en células endoteliales humanas, lo cual es crucial para la vasodilatación y la salud endotelial. Además, la epicatequina también puede influir en factores relacionados con la inflamación, la adhesión de leucocitos y la coagulación (Shariati et al., 2019). Aunque estos efectos están menos estudiados en humanos, también se ha descubierto que disminuye la rigidez miocárdica en ratas con miocardiopatía hipertrófica. (Ciumărnean, 2020; Esser et al., 2018; Iqbal et al., 2023).

Los polifenoles, incluyendo la EC, pueden actuar como moduladores del sistema inmunológico, vasodilatadores y antioxidantes. Estos compuestos ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares al reducir el estrés oxidativo, mejorar la función endotelial y disminuir la inflamación en los tejidos cardíacos (Iqbal et al., 2023).

Los flavonoides son una clase importante de sustancias naturales, con estructura polifenólica, caracterizada por una estructura general formada por dos anillos de benceno (dos anillos de fenilo y un anillo heterocíclico) (S. Kumar & Pandey, 2013). Su estructura química puede representarse en general en la Ilustración 7 de la siguiente manera:

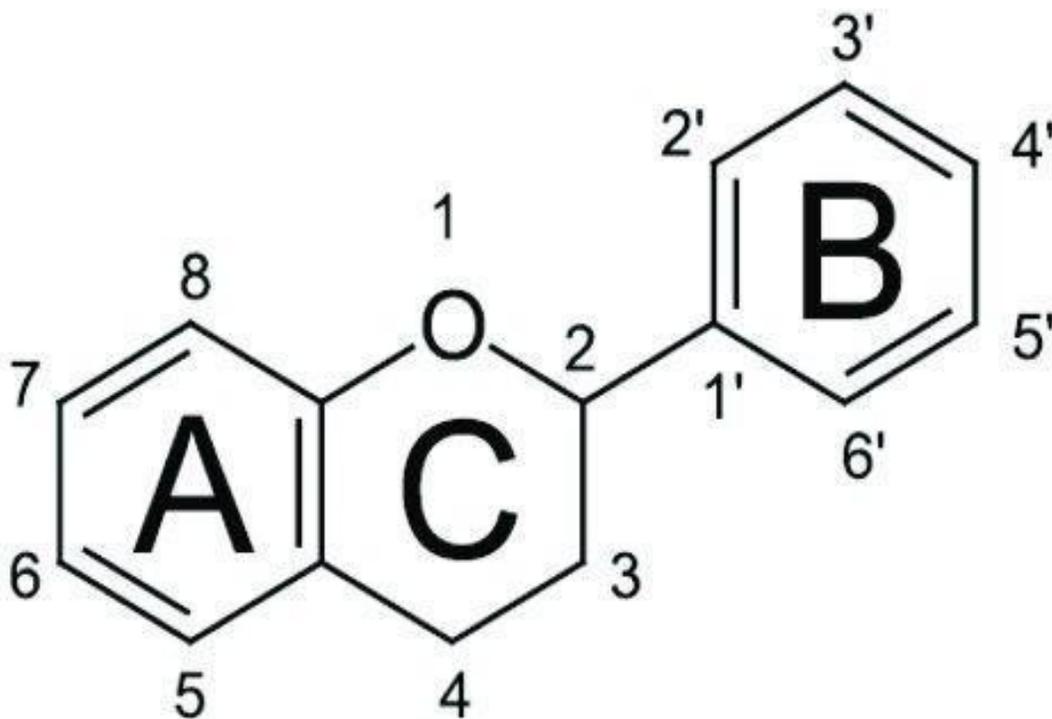


Ilustración 7. Estructura química de un flavonoide

Espinosa Trujillo, (2012). Estructura química general de los flavonoides. A y B son anillos aromáticos [Esquema].

3.9 ALBÚMINA DE SUERO BOVINO (BSA)

La albumina de suero bovino, es una proteína de suero derivada de la sangre de vacas. Es una de las proteínas más estudiadas y utilizadas en biología y bioquímica, debido a sus propiedades únicas y su alta disponibilidad. Indicado como material de bio recubrimiento para aumentar la adhesión y proliferación celular, al tiempo que disminuye la adsorción de proteínas inespecíficas. Los recubrimientos de albúmina sérica pueden mejorar la biocompatibilidad e inmunocompatibilidad del material, promover la formación de tejido, mejorar la resistencia a la corrosión del material y exhibir propiedades antimicrobianas. (X. Xu et al., 2023a).

La albúmina de suero bovino tiene múltiples funciones en la supervivencia celular y la regeneración de tejidos. Los andamios compuestos a base de albúmina sérica pueden reclutar células madre, absorber nutrientes, facilitar el crecimiento y la proliferación celular. Por lo tanto, se utilizan con frecuencia en ingeniería de tejidos y medicina regenerativa. Aunque en aplicaciones biomédicas, la utilización de BSA conlleva riesgos de bioseguridad inherentes, que abarcan en particular la posible transmisión de agentes patológicos graves, incluidas enfermedades priónicas y virales (Lantigua et al., 2020; X. Xu et al., 2023b).

3.10 FUNCIONALIZACIÓN DE ANDAMIOS

La funcionalización de una superficie de biomateriales, como lo son los andamios electrohilados de PCL, es una parte importante de la ingeniería de tejidos, así como de la ciencia de los materiales, porque permite modificar de forma controlada las propiedades de un material con el que estamos trabajando, para así adaptarlo para aplicaciones específicas. La PCL es un polímero biodegradable y biocompatible utilizado ampliamente, con superficie funcionalizada mediante métodos físicos o químicos (Woodruff & Hutmacher, 2010). A continuación, algunos de los métodos más comunes:

3.10.1 Injerto de polímeros (grafting)

Injerto por polimerización radical: se pueden injertar cadenas de polímeros sobre la superficie de PCL para mejorar su biocompatibilidad y funcionalidad superficial.

Injerto con Polímeros de Plasma: Utiliza plasma para crear sitios reactivos en la superficie de PCL para la posterior injertación de polímeros (Fragneaud, 2006).

3.10.2 Modificación química directa

Funcionalización con grupos funcionales: introducción de grupos funcionales como carboxilos, amino o hidroxilos mediante reacciones químicas directas, como la aminólisis o la hidrólisis (Woodruff & Hutmacher, 2010).

3.10.3 Reacciones de química clic (click chemistry)

Es un conjunto de reacciones que nos permite obtener productos después de aplicar técnicas de purificación, como una de sus reacciones más relevantes se encuentra la ciclo adición de azida-alquino, para ligar moléculas bioactivas a la superficie del andamio de PCL de manera específica y eficiente (Acosta et al., 2023; Lancuški et al., 2012).

3.10.4 Reacciones de polimerización por apertura de anillo (ROP)

Mediante este método, se abren ésteres cíclicos o amidas para formar estructuras de cadena extendida, un ejemplo de esto es la caprolactona, se abre el anillo para producir la policaprolactona (Ilustración 8). Se utiliza para incorporar monómeros funcionales durante la síntesis del PCL, permitiendo la inclusión de grupos funcionales en la cadena polimérica. (Chen & Su, 2011).

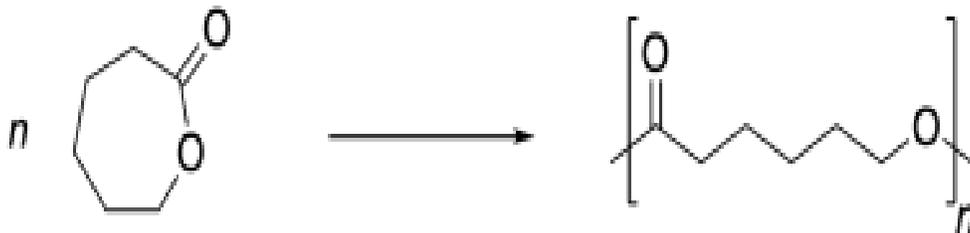


Ilustración 8. Reacción por apertura de anillo

Chen & Su, (2011). Ejemplo de una reacción por apertura de anillo [Esquema].

<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.08.015>

3.10.5 Tratamiento de plasma y radiación

Tratamiento con Plasma: el plasma es un estado similar al gaseoso, compuesto por átomos ionizados donde los electrones circulan libremente, su uso modifica la superficie del PCL para mejorar la adhesión celular o para facilitar la posterior funcionalización química (Chen & Su, 2011) [58].

Radiación gamma o UV: la exposición de la PCL a irradiación gamma produce una ruptura de la cadena polimérica, así como la pérdida de peso molecular; esto dependiendo de la dosis de radiación recibida, este tratamiento se utiliza para crear radicales libres en la superficie del PCL que pueden reaccionar con otras moléculas funcionales. (Woodruff & Hutmacher, 2010).

3.11 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE PARTÍCULAS

La obtención de partículas hace referencia a los métodos y técnicas utilizados para obtener, separar o generar partículas dependiendo de las propiedades deseadas (como tamaño, forma, composición). Estas partículas pueden ser sólidas, líquidas o gaseosas y son utilizadas en diversas aplicaciones científicas, industriales y tecnológicas. Entre los métodos de obtención podemos encontrar:

3.11.1 Trituración y molienda

Estos métodos son utilizados para reducir el tamaño de materiales sólidos mediante fuerzas mecánicas de compresión en el caso de la trituración, y en la molienda se obtienen partículas más finas, mediante molinos de bolas, molinos de rodillos, entre otros. Este método es particularmente útil para la producción de polvos finos y nanopartículas en diversas industrias, incluyendo la minería, la farmacéutica, la cerámica y la metalurgia. (A. Kumar et al., 2023; McMurry, 2007).

3.11.2 Métodos de precipitación

Los métodos de precipitación se basan en la sobresaturación de una solución, un estado en el cual la concentración de soluto excede su solubilidad bajo ciertas condiciones. Este estado se puede inducir mediante varios mecanismos, tales como cambios en el pH, temperatura, fuerza iónica, o mediante la adición de agentes precipitantes específicos. La sobresaturación lleva a la nucleación y el crecimiento de partículas sólidas que se separan de la solución como un precipitado.

Nucleación: El primer paso en la formación de un precipitado, donde pequeños grupos de átomos o moléculas se agrupan para formar núcleos estables.

Crecimiento de Cristales: una vez que los núcleos se han formado, las partículas continúan creciendo a medida que más átomos o moléculas se adhieren a los núcleos.

Maduración del Precipitado: el precipitado puede sufrir cambios en su estructura cristalina para alcanzar una forma más estable termodinámicamente (McMurry, 2007).

3.11.3 Atomización

Un proceso en el que un líquido es transformado en pequeñas gotas mediante la aplicación de energía, seguido de la solidificación de estas gotas en partículas finas, generalmente de metales, cerámicas, o polímeros. Los principales pasos involucrados en el proceso son:

Fusión del Material: el material de partida se funde en un horno.

Descomposición en Gotas: El material fundido se expulsa a través de una boquilla y se rompe en pequeñas gotas mediante diferentes métodos de atomización.

Solidificación: las gotas se enfrían y solidifican rápidamente en partículas finas (Diaz et al., 2017; Mondragon et al, 2013).

3.11.4 Síntesis química

Reacciones Sol-Gel

Es un proceso de síntesis mediante el cual se produce un esqueleto del óxido mediante reacciones de hidrólisis y polimerización a baja temperatura. Se parte de una solución química o que actúa como precursor de una red integrada. Los soles son dispersiones de partículas coloidales en un líquido y un gel es una red interconectada con poros de dimensiones submicrométricas y cadenas poliméricas largas.

Existen 3 enfoques para realizar los monolitos sol-gel:

1. Gelificación de una solución de polvos coloidales.
2. Hidrólisis y policondensación de precursores de alcóxido o nitrato continuando de un secado hiper crítico de geles.
3. Hidrólisis y policondensación de precursores de alcóxido seguido de envejecimiento y secado en atmósferas ambientales (Hench & West, 1990; Luisa, 2012).

Los materiales obtenidos, ya sean hidrogeles o xerogeles, cuentan con estructuras que pueden ir desde la nano a la microestructura con puentes de oxígeno dentro de los cuales hay componentes biológicos confinados, permeados por redes de poros (Gill & Ballesteros, 2000; Zanella, 2012).

Hidrotermal/Solvotermal

Se involucran una serie de técnicas en las que un precursor metálico es disuelto en un líquido dentro de un recipiente cerrado. La síntesis hidrotermal es un método de síntesis en una solución acuosa mediante reacciones químicas justo encima del punto de ebullición del agua. Por otro lado, la reacción solvotermal se hace en soluciones acuosas (tales como disolventes orgánicos, amoniaco líquido, hidracina, etc.), a altas temperaturas. Este proceso promueve la formación de cristales de tamaño nanométrico (Zanella, 2012).

3.11.5 Desolvatación

Este método consiste en la eliminación de solventes que rodean una molécula o ion, mediante la disociación de disolventes de una disolución. Las partículas son obtenidas al añadir gota a gota

un agente desolvatante (puede ser: alcohol, acetona) a una solución acuosa de proteína bajo agitación para así lograr deshidratar la proteína. Esto nos da como resultado de un cambio en la estructura de estirada a espiral.

Puede ser ventajoso en ciertos contextos debido a la simplicidad de su proceso y que no requiere equipo complejos o costosos; nos permite un control razonable sobre el tamaño de las partículas mediante las condiciones de secado y concentración inicial de los solutos (Elzoghby et al., 2015; Yadav et al, 2014).

3.11.6 Evaporación-condensación

El método de obtención de partículas consiste en la evaporación de un material de partida y su posterior condensación en partículas sólidas. Es ampliamente utilizado en la síntesis de nanopartículas metálicas, cerámicas y semiconductoras.

El proceso consiste en un material de partida que se coloca en un horno o cámara de vacío. Este material se calienta hasta su punto de evaporación (haciendo uso de técnicas como la calefacción resistiva, por láser o por arco eléctrico) a medida que se evapora, los átomos o moléculas del material se subliman o se evaporan. En algunos casos se utiliza un gas inerte para transportar el vapor a una región de condensación y en otros casos se realiza en una cámara de vacío, donde el vapor se expande y enfría. El vapor se enfría y los átomos o moléculas se condensan en partículas sólidas. El tamaño y forma puede ser controlado ajustando las condiciones de evaporación y condensación (McMurry, 2007; Ramakrishnan, 2004).

3.12 CORAZÓN

El corazón está situado en el tórax por detrás del esternón y delante del esófago, la aorta y la columna vertebral. A ambos lados de él, están los pulmones. Su ápice más puntiagudo descansa sobre el diafragma, músculo que separa las cavidades torácica y abdominal y la parte superior y más ancha es de donde emergen los grandes vasos del cuerpo humano, este señala hacia el hombro derecho y se apoya debajo de la segunda costilla, como se ve en la Ilustración 9 (Marieb, 2008).



Ilustración 9. Ubicación del corazón

Marieb, (2008). Posición del corazón en el cuerpo humano [Imagen].

El pericardio es un saco que cubre el corazón, lo protege y lo mantiene en su posición y le otorga la posibilidad de moverse para el proceso de contracción. Éste cubre las tres capas del corazón:

Epicardio: es la capa más externa, este contiene los vasos sanguíneos, linfáticos, así como los vasos que irrigan el miocardio y también contribuye en la producción de líquido pericárdico.

Miocardio: confiere volumen al corazón y es el responsable de la acción de bombeo. Éste representa el 95% de la pared cardiaca.

Endocardio: esta es la capa más interna, reviste las cámaras cardiacas, así como las válvulas cardiacas (Tortora & Derrickson, 2018).

Una de las principales enfermedades cardiovasculares es el infarto al miocardio: Se puede producir por la obstrucción de una arteria. Esto provoca una disminución del oxígeno a las células del corazón, provocando la muerte de estas y haciendo que se destruya parte del músculo cardiaco (Sepulveda Saavedra, 2014).

3.12.1 Cámaras cardíacas

El corazón tiene cuatro cámaras, los dos superiores son las aurículas (atrios) y las dos inferiores son los ventrículos. Las características de las cámaras cardíacas pueden describirse con base en su estructura y función:

Aurículas (derecha e izquierda)

Las aurículas son las cámaras superiores del corazón que reciben la sangre que llega a él. La aurícula derecha recibe sangre desoxigenada de tres venas: la vena cava superior, la vena cava inferior y el seno coronario. Por otra parte, la aurícula izquierda forma la mayor parte de la base del corazón y recibe sangre oxigenada de los pulmones a través de las venas pulmonares (Tortora & Derrickson, 2018).

Ventrículos (derecho e izquierdo)

Los ventrículos son las cámaras inferiores del corazón y son responsables de eyectar la sangre fuera del corazón hacia los vasos que la distribuyen. Ambos están separados por un tabique ventricular, como se muestra en la Ilustración 10. El ventrículo derecho bombea sangre desoxigenada hacia los pulmones a través de la arteria pulmonar. En su interior contiene unos relieves constituidos por haces de fibras musculares cardíacas denominadas trabéculas carnosas, algunas de estas trabéculas contienen fibras que forman parte del sistema de conducción cardíaca. Así mismo, el ventrículo izquierdo tiene la pared más gruesa de las cuatro cámaras y bombea sangre oxigenada al resto del cuerpo a través de la aorta. (Marieb, 2008; Tortora & Derrickson, 2018).

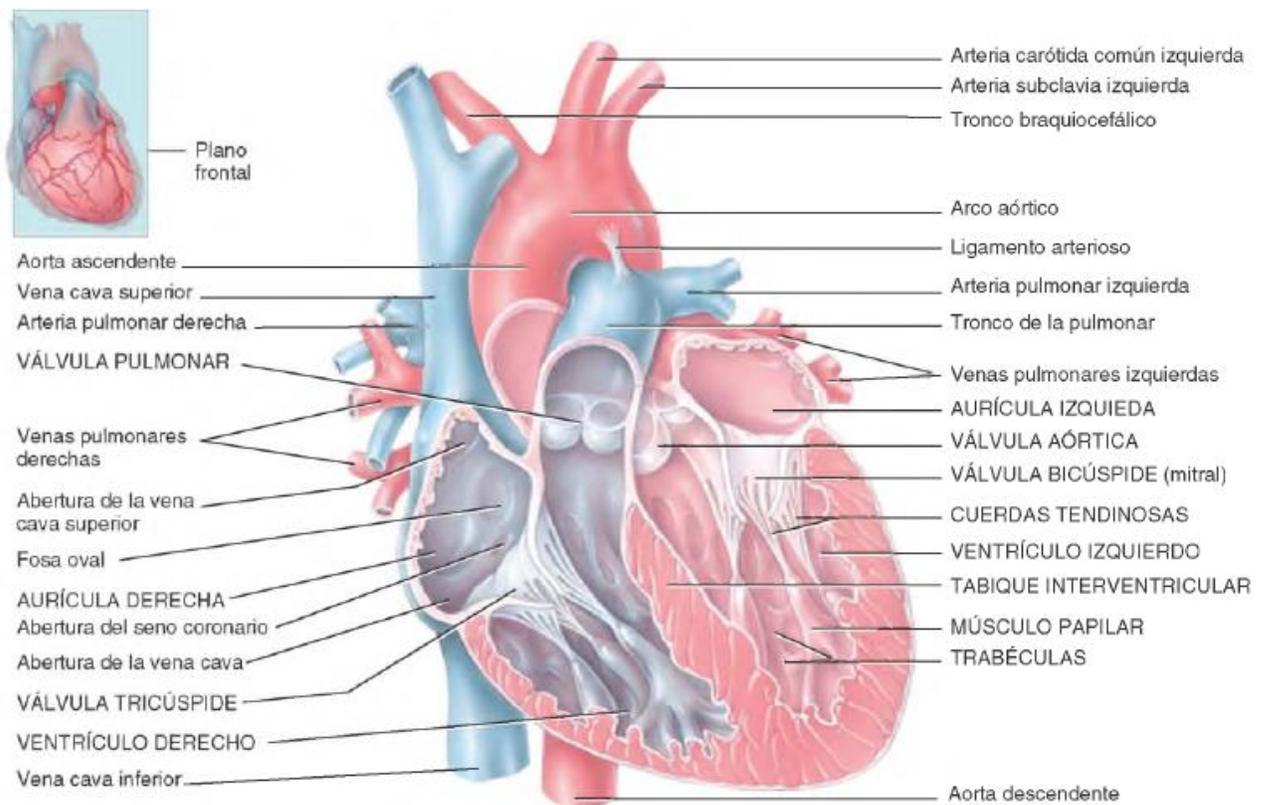


Ilustración 10. Estructura del corazón

Tortora & Derrickson, (2018). Estructura de los elementos que componen al corazón [Imagen].

En la Ilustración 10, se muestra de manera más detallada la estructura del corazón, mostrando las aurículas y ventrículos antes descritos, vistos desde un plano frontal en el que también podemos observar otros componentes funcionales.

Válvulas cardiacas

Entre las aurículas y los ventrículos se encuentran las válvulas auriculoventriculares (tricúspide en el lado derecho y mitral en el lado izquierdo), que evitan el retroceso de sangre hacia las aurículas cuando los ventrículos se contraen.

Entre los ventrículos y las arterias principales (pulmonar y aorta) se encuentran las válvulas semilunares (pulmonar y aórtica), que evitan el retroceso de sangre hacia los ventrículos después de que se contraen (Tortora & Derrickson, 2018).

En la Ilustración 11 mostramos desde una vista superior del corazón las válvulas antes mencionadas.

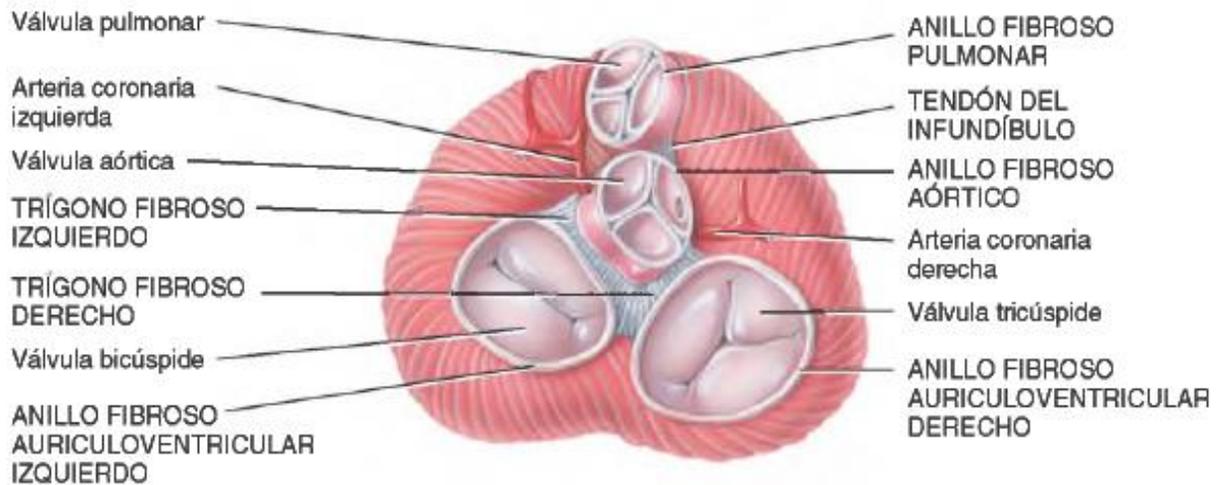


Ilustración 11. Válvulas cardiacas

Tortora & Derrickson, (2018). Vista superior de las válvulas del corazón [Imagen].

2.12.2 Sistema de conducción eléctrica del corazón

El sistema de conducción eléctrica del corazón es clave para coordinar las contracciones cardíacas y garantizar que la sangre se bombee de manera eficiente a través del cuerpo. Este sistema incluye varias estructuras clave:

Nódulo Sinoauricular (SA): el nódulo SA, conocido como el marcapasos natural del corazón, está ubicado en la pared superior de la aurícula derecha. Genera impulsos eléctricos que inician cada latido cardíaco. Estos impulsos se propagan a través de las aurículas, causando su contracción y empujando la sangre hacia los ventrículos (Marieb, 2008).

Nódulo Auriculoventricular (AV): el nódulo AV se encuentra en la parte inferior de la aurícula derecha, cerca del tabique auriculoventricular. Actúa como una estación de relevo que retarda el impulso eléctrico antes de pasarlo a los ventrículos, permitiendo que las aurículas terminen de contraerse antes de que los ventrículos comiencen su contracción (Tortora & Derrickson, 2018).

Haz de His y Fibras de Purkinje: el impulso eléctrico viaja desde el nódulo AV a través del haz de His, que se divide en ramas derecha e izquierda y se extiende a lo largo del tabique interventricular. Las ramas del haz de His se ramifican en las fibras de Purkinje, que se extienden a lo largo de las paredes ventriculares, provocando la contracción coordinada de los ventrículos y el bombeo de sangre a los pulmones y al resto del cuerpo (Marieb, 2008).

Células Marcapasos y Miocitos de Conducción: las células marcapasos en el nódulo SA y las células de conducción en el nódulo AV, el haz de His y las fibras de Purkinje tienen la capacidad de generar

y propagar impulsos eléctricos. Estas células tienen un potencial de acción único que permite la despolarización y la repolarización rítmica, manteniendo el ritmo cardíaco.

Este conjunto asegura la correcta distribución de la sangre a través del sistema cardiovascular del cuerpo humano (Marieb, 2008; Sepulveda Saavedra, 2014; Tortora & Derrickson, 2018).

3.13 CARDIOMIOCITOS

Los cardiomiocitos, también conocidos como células musculares cardíacas o miocitos cardíacos, son las células principales del tejido muscular del corazón, encontrándolos en las paredes cardíacas. Son responsables de la contracción que impulsa la sangre a través del sistema circulatorio mediante su contracción y relajación, lo que se ve reflejado en la sístole y diástole del corazón estas células se pueden ver ejemplificadas en la Ilustración 12, si hiciéramos un acercamiento de la microscopia del corazón.

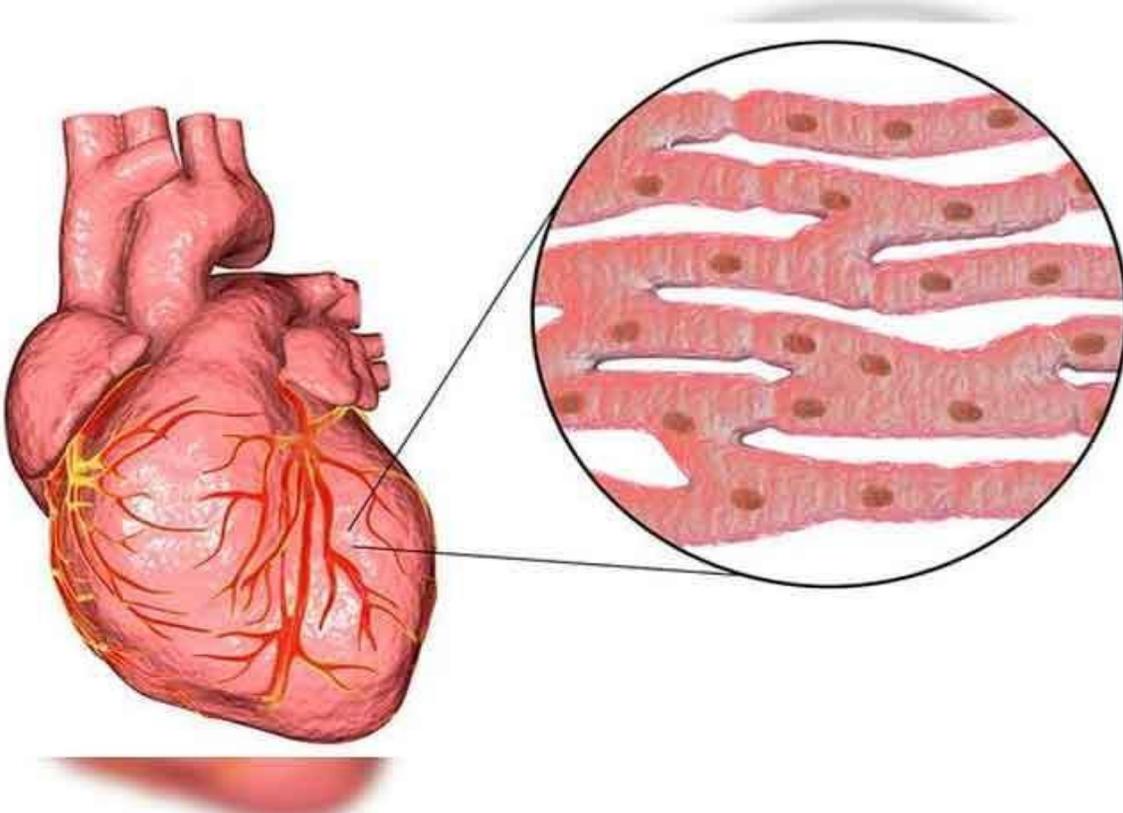


Ilustración 12. Células cardíacas o cardiomiocitos

Sepúlveda, (2014). Células que componen al corazón [Imagen]. AccessMedicina.

<https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1506>

3.13.1 Estructura de los cardiomiocitos

Los cardiomiocitos tienen una forma cilíndrica alargada y suelen medir entre 50 y 100 micrómetros de longitud y aproximadamente 10-25 micrómetros de diámetro. Son

mononucleares (un solo núcleo), aunque algunos pueden ser binucleares (dos núcleos), tiene los mismos tipos y misma organización de los filamentos contráctiles que el músculo esquelético. El núcleo está situado centralmente dentro de la célula. Cuentan también con sarcolema, que es la membrana celular de los cardiomiocitos. Presenta invaginaciones conocidas como túbulos T, que son cruciales para la propagación del potencial de acción y la regulación del calcio. El citoplasma de los cardiomiocitos (llamado sarcoplasma), contiene numerosas mitocondrias (hasta el 40% del volumen celular) debido a la alta demanda energética del corazón. También cuenta con un retículo sarcoplásmico, que es un sistema de membranas internas que almacena y regula el calcio esencial para la contracción muscular, como podemos ver en la Ilustración 13 (Sepulveda Saavedra, 2014; Ross & Pawlina, 2016).

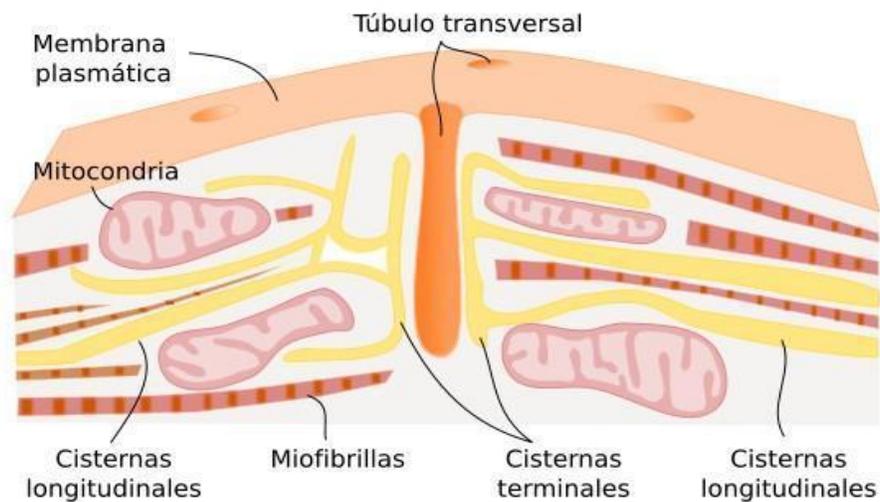


Ilustración 13. Estructura de los cardiomiocitos

Atlas de Histología Vegetal y Animal., (s. f.) Elementos que participan en la transmisión de la información desde la membrana plasmática hasta las miofibrillas en un cardiomiocito [Imagen].

<https://mmegias.webs.uvigo.es/8-tipos-celulares/cardiomiocito.php>

3.13.2 Componentes especializados de los cardiomiocitos

Sarcómero: es la unidad funcional de contracción del músculo cardíaco. Este está compuesto por filamentos de actina (finos) y miosina (gruesos) organizados en una estructura repetitiva. Los sarcómeros están alineados a lo largo de la célula.

Discos Intercalares: son uniones especializadas entre los cardiomiocitos que contienen desmosomas (para la adhesión mecánica) y uniones gap (para la comunicación eléctrica). Estas estructuras permiten la sincronización de la contracción a través del tejido cardíaco. La Ilustración 14 muestra algunas de las estructuras antes mencionadas que componen los cardiomiocitos (Ross & Pawlina, 2016).

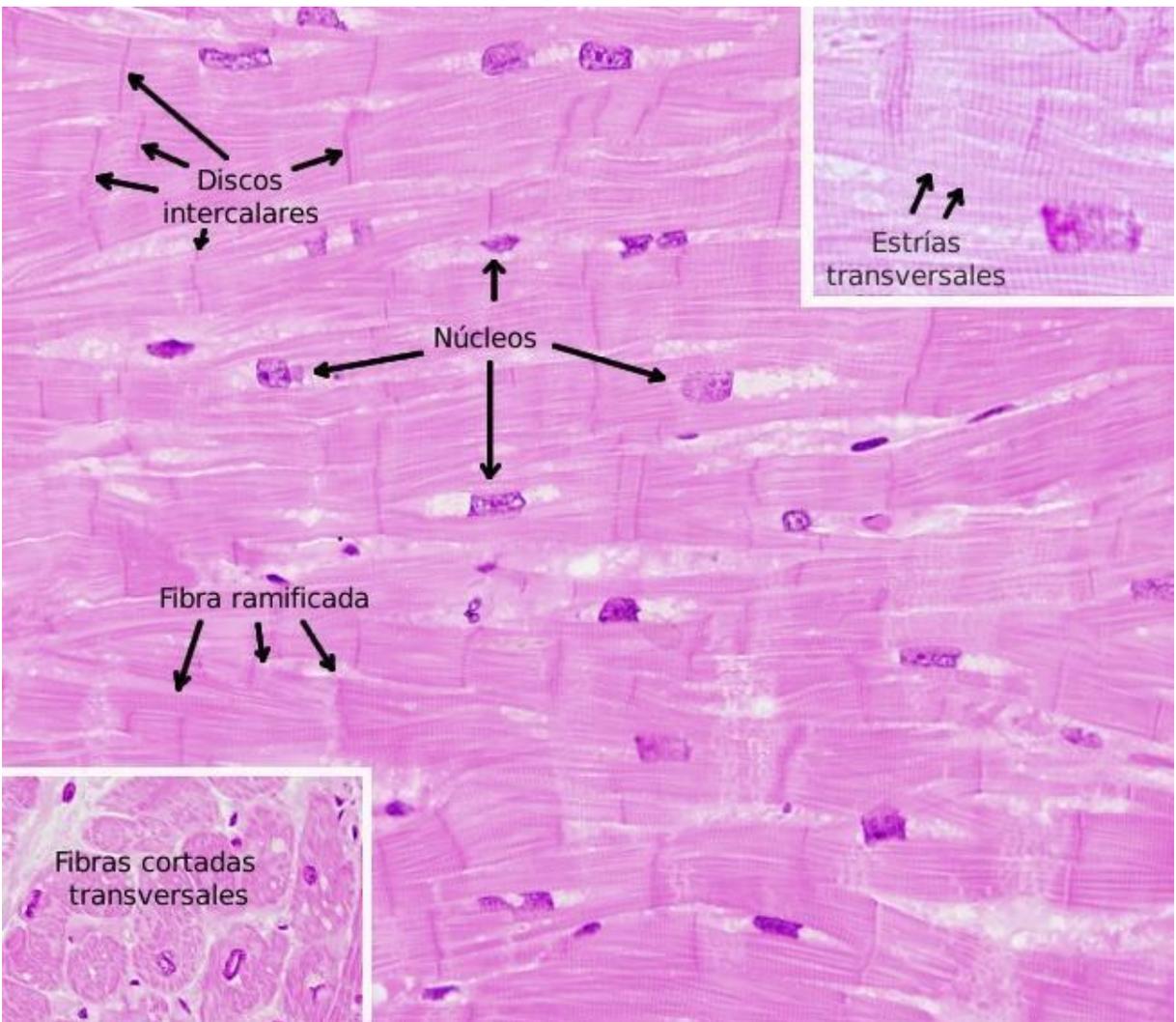


Ilustración 14. Estructuras involucradas en la función cardíaca

Atlas de Histología Vegetal y Animal., (s. f.) Cardiomiocitos de la pared ventricular de un corazón de rata [Imagen]. <https://mmegias.webs.uvigo.es/8-tipos-celulares/cardiomiocito.php>

3.13.3 Función de los cardiomiocitos

Contracción Coordinada: los cardiomiocitos se contraen de manera rítmica y coordinada gracias a la propagación de potenciales de acción, a través de las uniones gap en los discos intercalares.

Excitación-Contracción Acoplada: el proceso comienza con un potencial de acción que se propaga a lo largo del sarcolema y a través de los túbulos T, desencadenando la liberación de calcio del

retículo sarcoplasmático. El aumento de calcio intracelular permite la interacción entre la actina y la miosina, resultando en la contracción muscular (Gartner & Hiatt, 2007; Ross & Pawlina, 2016).

3.13.4 Patologías cardiacas

Infarto de Miocardio: la falta de oxígeno (isquemia) puede causar la muerte de los cardiomiocitos, lo que lleva a la formación de tejido cicatricial y una reducción en la capacidad contráctil del corazón.

Cardiomiopatías: enfermedades que afectan la estructura y función de los cardiomiocitos, pudiendo llevar a insuficiencia cardíaca y arritmias (Gartner & Hiatt, 2007; Ross & Pawlina, 2016).

Resumiendo, los cardiomiocitos son células especializadas del músculo cardíaco con una estructura y función adaptadas para la contracción rítmica y continua del corazón; esto es esencial para la circulación sanguínea. Su alta demanda energética y su capacidad para resistir la fatiga son características clave que permiten el funcionamiento eficiente del corazón a lo largo de toda la existencia del ser humano y al haber fallas en ellos pueden atentar contra la calidad de vida.

3.13.5 Metabolismo de los cardiomiocitos

Alta Demanda Energética: los cardiomiocitos dependen principalmente del metabolismo aeróbico y tienen una alta densidad de mitocondrias para producir adenosín trifosfato (ATP) a partir de ácidos grasos, glucosa y lactato.

Resistencia a la Fatiga: debido a su continuo funcionamiento, los cardiomiocitos están adaptados para ser altamente eficientes y resistentes a la fatiga (Gartner & Hiatt, 2007; Ross & Pawlina, 2016).

3.14 CULTIVO CELULAR

El cultivo celular es una técnica de laboratorio que consiste en mantener y proliferar células en un entorno artificial controlado, que implica el crecimiento de células fuera de su organismo original. Esta técnica es fundamental en la investigación biomédica, la biotecnología y muchas otras áreas de la ciencia. Los primeros cultivos celulares de los que se tiene información fueron realizados en el año de 1907 con Harrison (Alves & Guimarães, 2010).

Es de utilidad para el desarrollo científico y tecnológico porque nos permite estudiar la biología celular, así como los mecanismos de respuesta de las células entre diversos estímulos. También nos sirve para probar la toxicidad y eficacia de nuevos fármacos, siendo muy útil en la ingeniería

de tejidos porque nos permite observar la viabilidad y compatibilidad con los materiales desarrollados («Culture Vessels and Substrates», 2010; Vargas & Elsy, 2016).

3.15 Tipos de cultivo celular

Cultivo primario: los cultivos primarios son células tomadas directamente de un organismo, obtenidas a partir de un fragmento de tejido por medio de desagregación mecánica o enzimática. Una de sus características es que poseen una vida útil limitada pero la ventaja es que mantienen presente sus características fenotípicas y genotípicas. Esta es una de las formas de cultivo más utilizada para la observación de células *in vitro* (Alves & Guimarães, 2010; «Culture Vessels and Substrates», 2010).

Líneas celulares: son células que se han adaptado para propagarse y subcultivar varias veces, se caracterizan por ser células resistentes y de proliferación rápida; son células que lograron su diferenciación genética y morfológica de las células que se derivaron, manteniéndose en cultivos continuos y estos pueden crecer de forma indefinida. Son utilizados en experimentos prolongados, su importancia práctica radica en la facilidad de propagación, caracterización y almacenaje (Vargas & Elsy, 2016).

Cultivo de células madre: estos cultivos implican el crecimiento de células madre que por su estado evolutivo, pueden ser clasificadas en embrionarias y adultas. Tienen potencial terapéutico por su capacidad de diferenciarse en diversos tipos celulares, siendo esenciales para la investigación en terapias celulares y regeneración (Hernandez Ramirez, 2009).

3.16 ESPECTROMETRÍA DE FOTOELECTRONES INDUCIDOS POR RAYOS X (XPS)

El XPS es una técnica analítica utilizada para estudiar la composición elemental y la estructura química de materiales. Usamos la modificación de superficie para alterar o mejorar las características de un material, siendo este el punto de interacción con su entorno y otros materiales, influyendo en las tasas de corrosión, propiedades catalíticas, propiedades adhesivas, de biocompatibilidad, entre otras; ahí la importancia en conocer la química de la superficie de un material. La técnica de XPS nos es útil para medir la composición elemental, estado químico y electrónico de los átomos dentro del material (*Thermo Fisher Scientific - MX*, s. f.).

Los espectros de XPS son obtenidos irradiando una superficie con un haz de rayos X, para posteriormente medir la energía cinética de los electrones emitidos. Los espectros por XPS de fotoelectrones se producen contando los electrones expulsados con un detector, en un rango de energía cinética, esa energía e intensidad de los picos permiten la identificación y cuantificación de los elementos existentes en la muestra. Además, que los desplazamientos químicos se pueden

determinar también. Esto se debe a que la energía de enlace no solo depende de la capa del electrón, sino también del entorno. Es decir, de los enlaces en los que participa el átomo en cuestión. Esta técnica es capaz de obtener la composición química de varias superficies de materiales hasta 1-10 nm de profundidad (*Chemistry LibreTexts*, s. f.).

3.17 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (ATR-FTIR)

En el ATR-FTIR, cuando la radiación de infrarrojo pasa a través de una muestra. Una parte de la radiación es absorbida por la muestra y la otra se transmite. Esta es una técnica óptica, analítica y no invasiva, utilizada para obtener el espectro infrarrojo de absorción o emisión de una sustancia sólida, líquida o gaseosa. Esta técnica se basa en la medición de cómo la muestra absorbe la luz infrarroja en diferentes longitudes de onda. El resultado es un espectro que representa la huella molecular de la muestra, permitiendo la identificación de grupos funcionales y la determinación de la composición química de la muestra. Las bandas espectrales en los espectros vibracionales son específicas de cada molécula y brindan información directa acerca de la composición bioquímica (Smith, 2011; Zanyar Movasaghi & Rehman, 2008).

La transformada de Fourier convierte la salida del detector en un espectro interpretable, ésta utiliza la interferometría para así lograr un registro de información del material que fue colocado bajo el haz. Existen cuatro técnicas de muestreo principales para el FTIR:

Transmisión: esta técnica no requiere accesorios independientes, se coloca una muestra bajo el haz de infrarrojo, se mide la energía transmitida y se genera un espectro. Se puede obtener un espectro de polvos orgánicos en gránulos o suspensión espesa, polvos termoplásticos, polímeros solubles, películas finas de polímeros, etc. Entre sus ventajas están el precio accesible, su eficacia, la excelente información espectral y su óptima función para procesos cuantitativos (*Academia de espectroscopía FTIR*, s. f.-a; Socrates, 2001).

Reflectancia total atenuada (ATR): un accesorio ATR funciona mediante la medida de los cambios producidos en un haz infrarrojo reflejado internamente cuando el haz entra en contacto con la muestra. El haz de infrarrojos es dirigido a un cristal con un índice alto de refracción a cierto ángulo. La reflectancia interna crea una onda evanescente que se extiende más allá de la superficie del cristal hasta la muestra en contacto con el cristal. El haz entra por un extremo y sale por el otro para dirigirse al detector del espectrómetro de infrarrojos, como se muestra en la Ilustración 15.

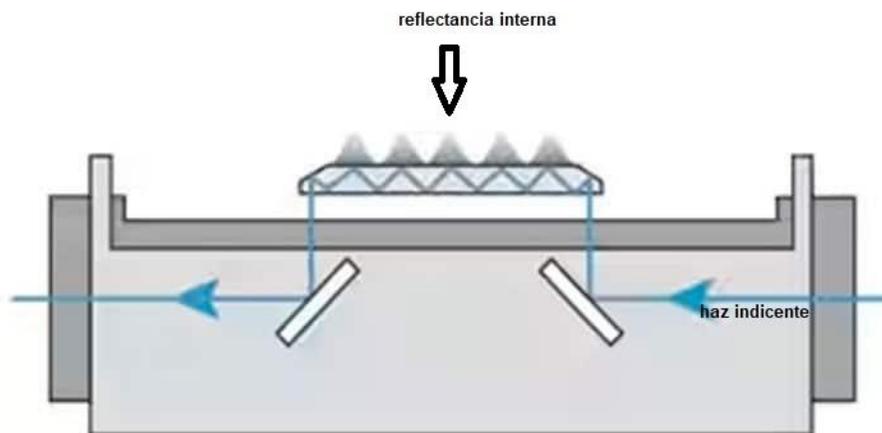


Ilustración 15. Ejemplo de accesorio ATR

Academia de espectroscopía FTIR, (s. f.). Visualización de la estructura de un accesorio ATR [Imagen]. Thermofisher

<https://www.thermofisher.com/mx/es/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/molecular-spectroscopy/fourier-transform-infrared-spectroscopy/resources/ftir-spectroscopy-academy.html>

Esta técnica es útil para muestras muy absorbentes o gruesas que producirían picos muy intensos si se midieran mediante transmisión, como son laminados, pinturas, cauchos, revestimientos. Tiene como ventaja la preparación mínima de la muestra, una limpieza fácil, poder analizar las muestras en su estado natural y un excelente manejo para muestra en su estado natural (*Academia de espectroscopía FTIR, s. f.-b*).

Reflexión especular: la reflectancia especular es una técnica que usa el principio de eficacia de la reflexión, el cual establece que todas las muestras tienen un índice de refracción que varía según la frecuencia de luz a la que se expone. Se mide la energía que se refleja en la superficie de la muestra o su índice de refracción. Es útil para superficies metálicas, películas finas, obleas de silicio y materiales laminados sobre metales. Entre sus ventajas están la sensibilidad a muestras monocapa. Es un análisis no destructivo y una amplia variedad de accesorios disponibles (*Academia de espectroscopía FTIR, s. f.-b*).

Reflectancia difusa: un haz de infrarrojo es dirigido a un material compuesto por partículas finas y el haz incidente interactúa con la partícula de diferentes formas. Primero, la radiación puede

ser reflejada por la superficie superior de la partícula sin penetrar en ella, segundo, la luz sufre múltiples reflexiones de las superficies sin penetrar en ella. La reflectancia difusa es el resultado de la penetración de la radiación en una o varias partículas de la muestra y su dispersión, podemos observar cómo funciona este efecto en la Ilustración 16.

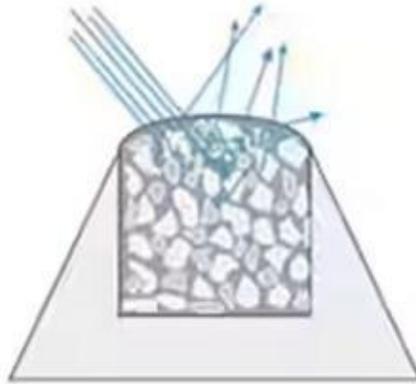


Ilustración 16. Ejemplo de accesorio para reflectancia difusa

*Academia de espectroscopía FTIR, (s. f.). Visualización de la estructura de un accesorio para reflectancia difusa [Imagen]. Thermofisher
<https://www.thermofisher.com/mx/es/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/molecular-spectroscopy/fourier-transform-infrared-spectroscopy/resources/ftir-spectroscopy-academy.html>*

Un accesorio para reflectancia difusa dirige la energía a un recipiente que contiene la muestra y una matriz transparente infrarroja. La radiación interactúa y el detector registra el haz generando un espectro. Con ello se pueden analizar polvos y mezclas de polvos, comprimidos y polímeros rígidos. No es necesaria una preparación de la muestra, su limpieza es rápida y fácil (*Academia de espectroscopía FTIR, s. f.-b*).

2.16 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Este método utiliza un haz de electrones que son emitidos de manera focalizada para formar una imagen detallada de la superficie de una muestra. Es ampliamente utilizada en ciencias de materiales, biología, química y otros campos para observar la morfología y topografía a nivel micro y nano (*Microscopios electrónicos de barrido de ZEISS, s. f.*).

Esta técnica de microscopía opera generando un haz fino de electrones que se “mueve” en la superficie de una muestra mediante un barrido en los ejes X e Y. Para la generación de imágenes

se registra la interacción de ese haz de electrones con la superficie del material con el que entra en contacto. Este haz de electrones es enfocado y dirigido por medio de lentes electromagnéticas y electrostáticas. Al golpear la muestra se generan electrones secundarios y retro dispersados; estos primeros nos brindan una imagen detallada de la superficie y los retro dispersados nos dan información del contraste de los materiales. También se producen rayos X característicos que nos permiten lograr un análisis químico elemental (*Microscopio Electrónico de Barrido (SEM)*, s. f.)

En la Ilustración 17 podemos observar las partes que componen un microscopio electrónico de barrido, se muestra la fuente que emite los electrones, así como los distintos detectores respecto a los electrones que emite el material después que los electrones que vienen de la fuente impactan con la muestra que vamos a analizar.

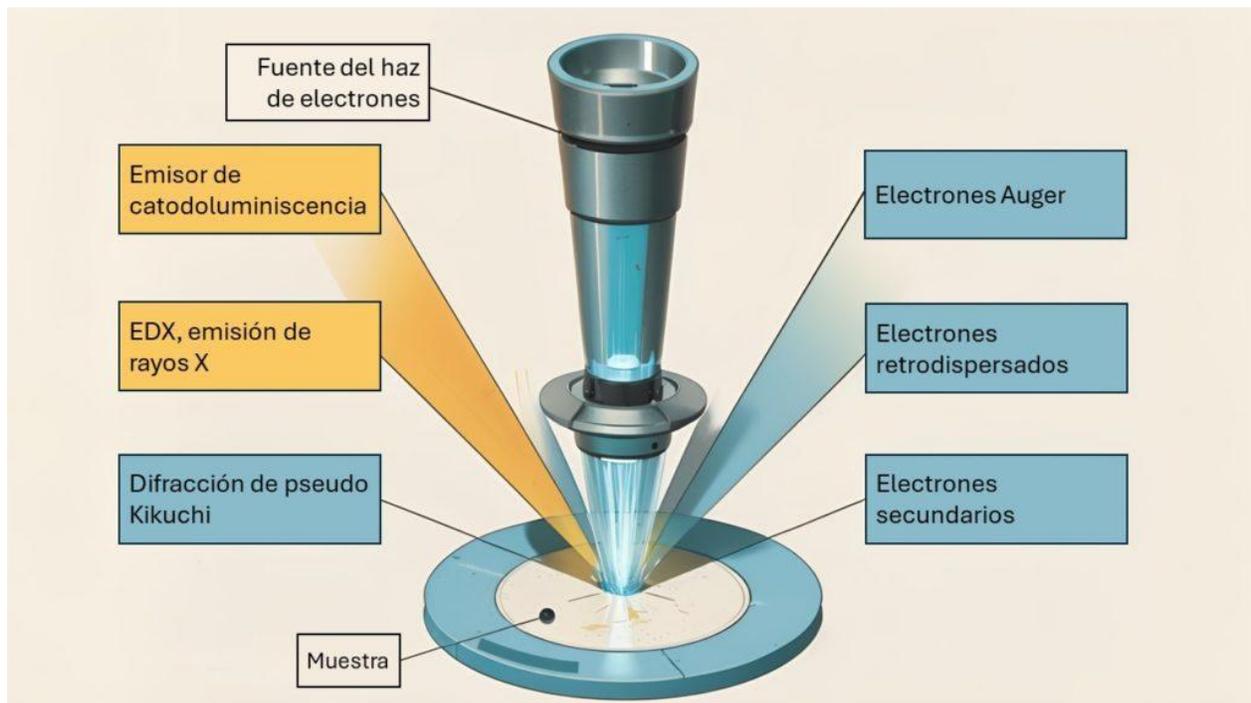


Ilustración 17. Funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido

Microscopio Electrónico de Barrido (SEM), (s. f.). Ejemplificación de funcionamiento de un SEM [Imagen]. Infiniaresearch. <https://www.infinitiaresearch.com/noticias/microscopio-electronico->

Mediante este análisis podemos obtener imágenes de alta resolución, mapeo de elementos químicos presentes en la muestra, análisis de fases en el caso de los materiales metálicos así como las posibilidades de fractura en las superficies para una mejora de diseño de materiales y procesos de fabricación (*Microscopio Electrónico de Barrido (SEM)*, s. f.).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 MATERIALES

A continuación, se muestran (Tabla 3 y Tabla 4) los materiales utilizados, así como sus especificaciones para el trabajo.

Tabla 3 Materiales utilizados 1

	PCL	Epicatequina	Gelatina de pescado	Genipina	BSA
Nombre completo	Policaprolactona	Epicatequina	Gelatina de piel de pescado de agua fría	Genipina	Albúmina de Suero Bovino
Marca	ALDRICH CHEMISTRY 	SIGMA 	SIGMA 	SIGMA-ALDRICH Sigma-Aldrich.	Sigma-Aldrich.
País	Reino Unido	China	Canadá	Estados Unidos	Estados Unidos
Peso molecular	80,000 g/mol	290.27 g/mol	-	226.23 g/mol	-
Fórmula química	$(C_6H_{10}O_2)_n$	$C_{15}H_{14}O_6$	-	$C_{11}H_{14}O_3$	-

Tabla 4 Materiales utilizados 2

	HCl	NaOH	Etanol Absoluto	Cloroformo	TFE
Nombre completo	Acido clorhídrico	Hidróxido de Sodio	Alcohol Etílico Absoluto	Cloroformo	Trifluoretanol
Marca	J. T. BAKER 	SIGMA-ALDRICH 	J. T. BAKER 	J. T. BAKER 	ALDRICH CHEMISTRY 
País	Estados Unidos	Estados Unidos	Estados Unidos	Estados Unidos	Reino Unido
Peso molecular	36.458 g/mol	40 g/mol	46.07 g/mol	119.37 g/mol	100.04 g/mol
Fórmula química	HCl	HNaO	C ₂ H ₅ OH	CHCl ₃	C ₂ H ₃ F ₃ O

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Electrohilado de andamios de PCL

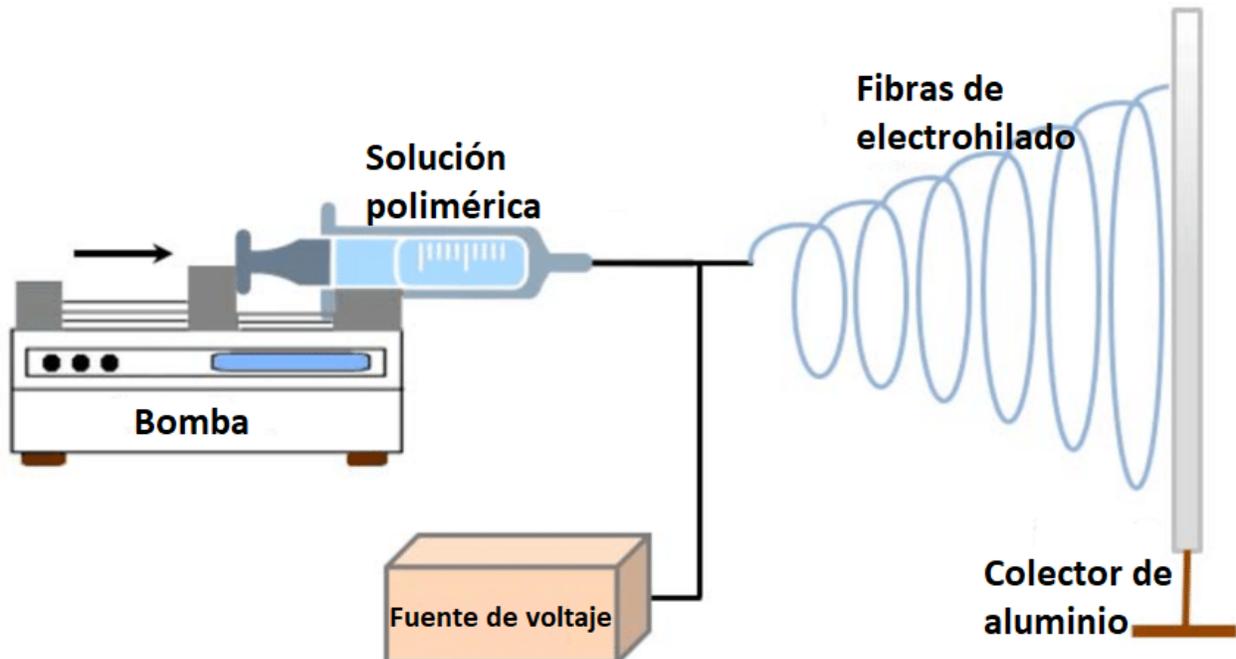


Ilustración 18. Proceso de electrohilado

Estos andamios fueron creados por el método de electrohilado (Ilustración 18) explicado anteriormente dentro del marco teórico. En primer lugar, se elaboró una disolución de PCL en cloroformo al 20% [m/v], después la disolución de PCL se precipitó en metanol; el precipitado que se obtuvo se filtró y se dejó secar en la campana de extracción, ya que de esta forma se puede purificar el biopolímero. Posterior a su solidificación, se disolvió nuevamente en trifluoroetanol, a una concentración de 13% [m/v] y es la disolución que se utiliza para electrohilar (mostrada en la Ilustración 19) (Miranda-Buendía et al., 2022).



Ilustración 19. Disoluciones para electrohilado de PCL

Los parámetros preestablecidos para el electrohilado fueron tomados del artículo “Activity patterns of cardiomyocytes in electrospun scaffolds of poly (ϵ -caprolactone), collagen, and epicatechin”, con las condiciones siguientes:

- 20 cm de distancia entre la aguja y el colector.
- Un diferencial de potencial 15[kV].
- Un flujo de 0.4 mL/h.

Por cada andamio se depositó 1 mL de PCL en cada andamio en un colector redondo de aluminio, obteniendo así andamios circulares con fibras depositadas aleatoriamente, en la Ilustración 20 se muestra cómo es el equipo de electrohilado en funcionamiento, con un andamio en proceso. (Miranda-Buendia et al., 2022).

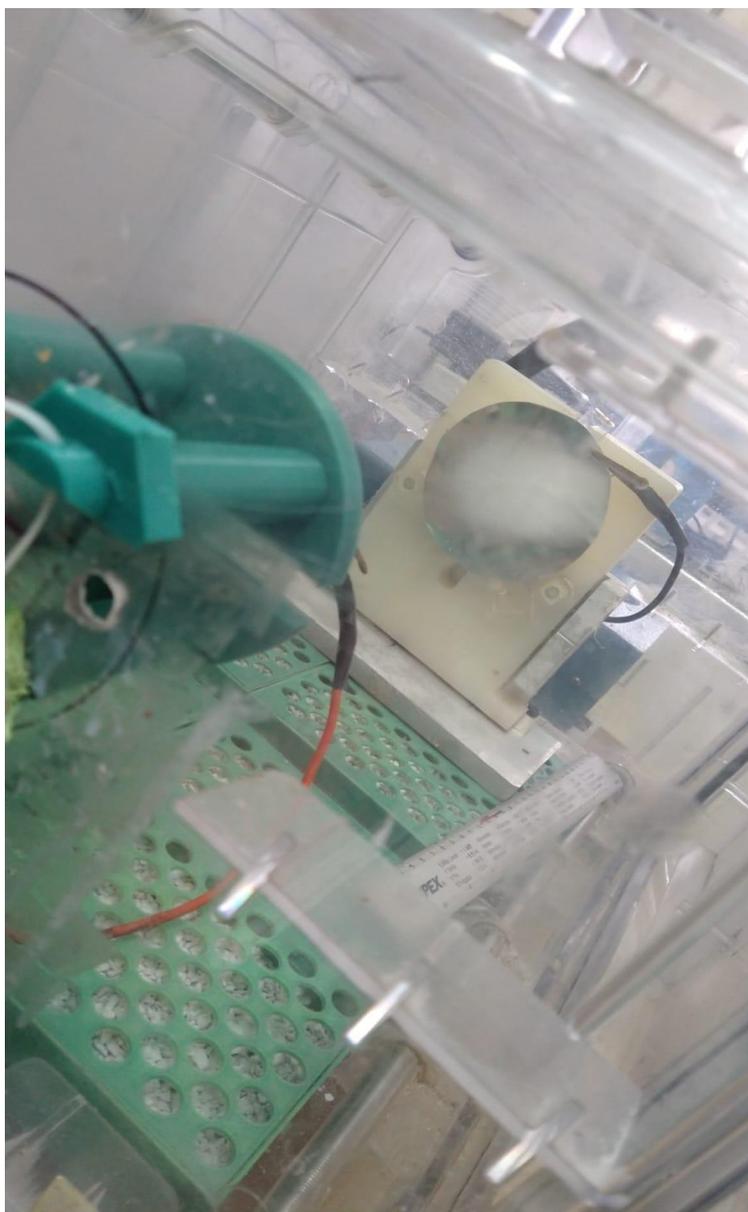


Ilustración 20. Andamios electrohilados de PCL

4.2.2 Hidrolización de andamios de PCL

En este proceso se realizó un diseño experimental para la hidrolización en el que se buscaban las mejores condiciones de tiempo del andamio dentro de la disolución y concentración molar [M] tanto de NaOH, así como de HCl, para lograr observar un cambio liberando los enlaces -COOH y -OH de los andamios de PCL. Fue utilizado un diseño factorial de dos niveles considerando las variables concentración y tiempo, realizando los experimentos por triplicado. Las condiciones para la hidrolisis de muestran en las tablas 5 y 6.

Tabla 5 Diseño de experimento de concentración de NaOH/Tiempo del andamio inmerso en NaOH

Tiempo de inmersión [minutos]	Concentración NaOH [M]
15	4
30	2
45	1
15	2
30	1
30	4
45	2
15	4
30	2
45	1
45	4
15	1
30	4
45	2
15	2
30	1
45	4
15	1

Tabla 6 Diseño de experimento de concentración de HCl/Tiempo del andamio inmerso en HCl

Tiempo de inmersión [minutos]	Concentración HCl [M]
15	0.1
30	0.5
45	0.1
15	0.5
30	0.1
30	1
45	0.5
15	1
30	0.5
45	0.1
45	1
15	0.1
30	1
41	0.5
15	0.5
30	0.1
41	1
15	0.1

Los cambios favorables en los andamios con las siguientes características:

- 15 minutos en NaOH 4M
- Con 3 lavados en agua desionizada para remover el disolvente restante en el andamio
- 15 minutos en HCl 0.1 M
- Con 3 lavados en agua desionizada para remover el disolvente restante en el andamio
- Dejándolo secar

Posterior a este procedimiento se realizó la observación de los andamios de PCL mediante FTIR antes y después de ser hidrolizados, viendo cambios en los enlaces OH y COOH a las condiciones anteriormente descritas, que se pueden observar en la ilustración 21.

4.2.3 Obtención de las partículas de EC/BSA/GELP

Para la obtención de las partículas de EC/BSA/GELP se realizan dos disoluciones, la primera en la que disolvemos 0.5 g de gelatina de pescado en 10 mL de agua desionizada, la segunda disolución consta de 14.6 mg de epicatequina en 10 mL de etanol absoluto.

La primera disolución con la gelatina se coloca en un matraz bola a 40°C durante 3 horas, en agitación mecánica a 125 rpm, posterior a ello se agrega 0.05 g de BSA, dejando en agitación una hora más, para finalizar se agrega la epicatequina por goteo lento y finalmente se agrega 1 mg de genipina.

La disolución se dejó por un día en agitación a 125 rpm, para posteriormente realizar tres centrifugados a 5000 rpm usando como disolvente el etanol absoluto descritos en el artículo "Encapsulation of catechin and epicatechin on BSA NPS improved their stability and antioxidant potential" (Yadav, Kumar, Kumari, & Yadav, 2014).

4.2.4 Adhesión por inmersión de las partículas de EC/BSA/GELP en los andamios de PCL hidrolizados

Después de hidrolizar los andamios de PCL, se obtuvo una superficie óptima para adherir en ella las partículas de EC/BSA/GELP, previamente descritas.

Para optimizar el proceso se realizó un diseño de experimento basado en variaciones de tiempo dentro del sonicador a 3, 6 y 9 horas, esto con la finalidad de encontrar una adhesión uniforme de las partículas de EC/BSA/EC en los andamios de PCL. En cada prueba se sumergieron los andamios hidrolizados en una solución de 5 mL de agua destilada con una concentración de 1000 µL de las partículas, en un sonicador.

Analizando por SEM los resultados de las variables ya descritas se encontró que a 6 horas había una mayor adhesión además de observar que las partículas se distribuían de manera más uniforme por el efecto mecánico de las vibraciones durante el proceso y se logró una mayor cobertura del andamio de PCL con las partículas de EC/BSA/GELP.

4.2.5 Funcionalización de los andamios electrohilado de PCL

La funcionalización o modificación de la superficie de los andamios de PCL nos ayuda adaptar el biomaterial para promover un entorno más adecuado las células. Así se agregan a elementos sintéticos moléculas bioactivas para mejorar sus propiedades. Cuando los biomateriales funcionalizados entran en contacto por primera vez con los tejidos, el tipo y cantidad de moléculas bioactivas de superficie son de gran importancia para la adhesión, proliferación y diferenciación celular. Un ejemplo es mantener los cardiomiocitos vivos en nuestros andamios de PCL funcionalizados con partículas de EC/BSA/GELP.

La funcionalización de los andamios electrohilado de PCL se realizó en dos etapas:

1. Activación de la superficie de PCL mediante hidrólisis descrito anteriormente
2. Inmersión de los andamios en una solución de EC, GELP y BSA para la funcionalización de la superficie de PCL

4.2.6 Caracterización

Para caracterizar los materiales de origen y los andamios de PCL funcionalizados con las partículas de BSA/EPI/GELP fueron caracterizados antes y después del proceso con el propósito de seleccionar los parámetros adecuados posteriores al diseño experimental. Las técnicas que se utilizaron fueron ATR-FTIR para conocer los enlaces y grupos involucrados; SEM para observar la morfología de los andamios y verificar la adhesión de las partículas de EC/BSA/GELP en los andamios de PCL; XPS para conocer los elementos presentes en las muestras y el cultivo celular para verificar la viabilidad y biocompatibilidad.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

8.1 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA, ESPECTROSCOPIA

8.1.1 ATR-FTIR

A través del análisis de ATR-FTIR es posible conocer las vibraciones de los enlaces químicos, grupos funcionales y átomos que están presentes en los compuestos analizados para identificarlos y caracterizarlos. En la Ilustración 21, se muestra la transmitancia de los andamios electrohilados e hidrolizados de PCL, así como los andamios de PCL después de ser hidrolizados con la adhesión de las partículas de EC/GELP/BSA. Además, se muestra el espectro ATR-FTIR de las partículas de EC/BSA/GELP sin PCL. Como se puede observar en la Ilustración 21, la GELP muestra una banda a 1623 cm^{-1} debido a la amida I (estiramiento de C=O), en 1523 cm^{-1} para amida II, también en 3282 cm^{-1} ; aparecen estos picos debido al estiramiento en N-H (Socrates, 2001).

En la Ilustración 21 se puede ver que la diferencia entre la PCL y la PCL hidrolizada es una disminución en la intensidad de los picos característicos, como lo es el que se encuentra alrededor de 1724 cm^{-1} , que se atribuye a la vibración de estiramiento del grupo carbonilo (C=O). Alrededor de $2865\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$ se encuentra el estiramiento de CH_3 y CH_2 . Por otro lado, también en 1241 cm^{-1} encontramos un estiramiento de C-O (Smith, 2011; Socrates, 2001; Zanyar Movasaghi & Rehman, 2008).

Se puede observar también que las partículas de EC/GELP/BSA sí se funcionalizaron a los andamios hidrolizados de PCL, puesto que se presenta una banda a 3293 cm^{-1} , que indica un enlazamiento del grupo NH (estiramiento), señal que proviene de la interacción entre grupos funcionales -NH de las partículas con -OH con el andamio hidrolizado de PCL (Choi et al., 2018; Javaid et al., 2021). Por otro lado, hubo un desplazamiento de 1650 cm^{-1} en las partículas a 1631 cm^{-1} , relacionado al estiramiento C=O y enlaces de hidrógeno acoplados con COO. La banda a 879 cm^{-1} desapareció y la de 1040 cm^{-1} casi no se nota, lo que puede indicar también una interacción de la EC con el andamio hidrolizado de la PCL (Choi et al., 2018; Mosallanezhad et al., 2022), por último, se presentó una disminución en la intensidad del pico característico de la PCL en 1724 cm^{-1} (Ilustración 20) (Socrates, 2001).

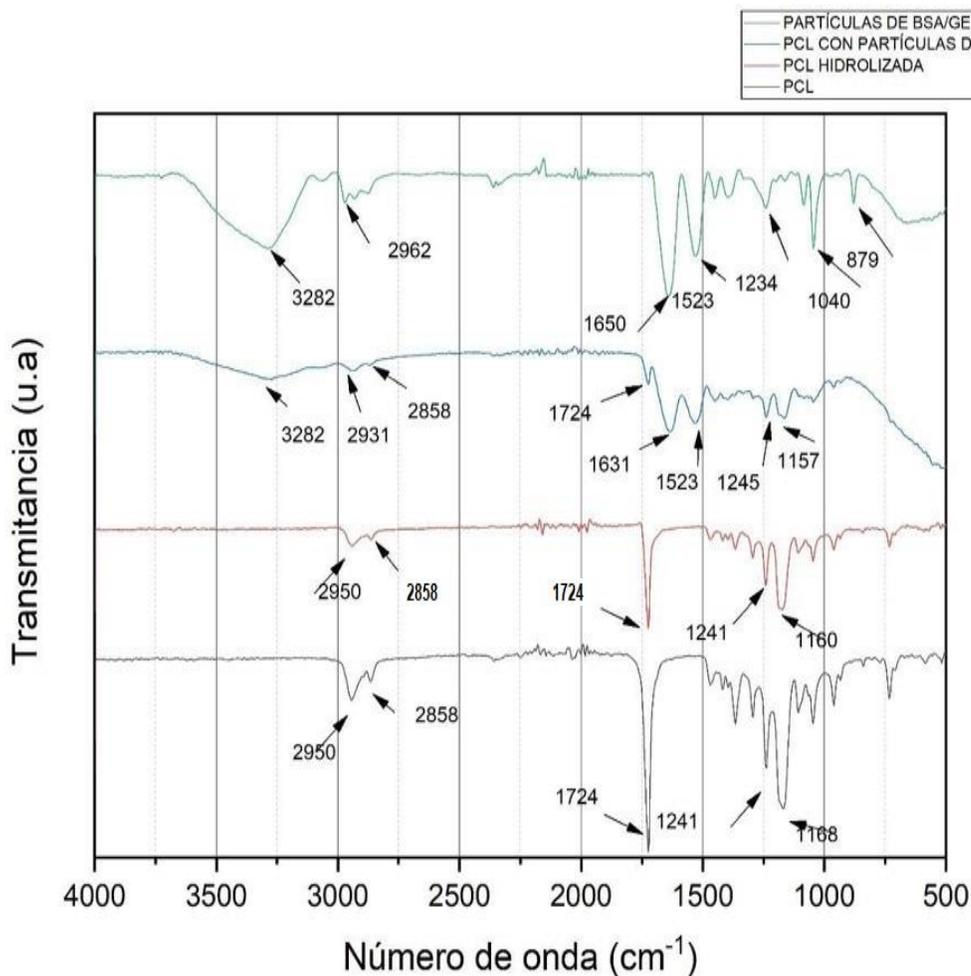


Ilustración 21. Análisis de FTIR de andamios de PCL y partículas de EC/BSA/GELP

La EC muestra picos característicos alrededor de 2931 cm^{-1} y 3455 cm^{-1} . Estas bandas corresponden a las vibraciones de estiramiento C-H y O-H, respectivamente, que son indicativas

de los grupos hidroxilo fenólicos y alifáticos presentes en la EC (Ilustración 22) [(Socrates, 2001; Yadav et al, 2014).

El BSA muestra picos a 1643 cm^{-1} para la amida I (estiramiento C=O) y alrededor de 1538 cm^{-1} para la amida II (N-H) (Lu et al., 2015; Socrates, 2001; Yadav & Yadav, 2021).

Por otro lado, las partículas de EC/GELP/BSA obtenidas presentan posibles bandas de estiramiento C-H fuera del plano o vibraciones asociadas con estructuras de anillos en 879 y 979 cm^{-1} , que pueden ser debido a la interacción con la EC. Alrededor de 1000 cm^{-1} y 1100 cm^{-1} se indica vibración de estiramiento C-N y C-O que se le atribuyen a la interacción con la EC. También tenemos presencia de Amida I y Amida II, a 1650 cm^{-1} y 1523 cm^{-1} , respectivamente. En 2961 cm^{-1} se presenta una banda ancha, debido a un estiramiento simétrico del grupo metilo debido a la interacción con la genipina mostrando interacciones O-H y finalmente, a 3282 cm^{-1} un estiramiento N-H por la interacción del anillo bencénico C de la EC (Yadav, Kumar, Kumari, & Yadav, 2014). El incremento en la intensidad de las bandas en las partículas de EC/GELP/BSA se le atribuye al incremento de los grupos aminos disponibles, que se promueven al reaccionar con la genipina para incrementar el entrecruzamiento de los grupos funcionales, debido a los enlaces amida, como podemos observar en la Ilustración 22 (Lu et al., 2015; C. Wang et al., 2021).

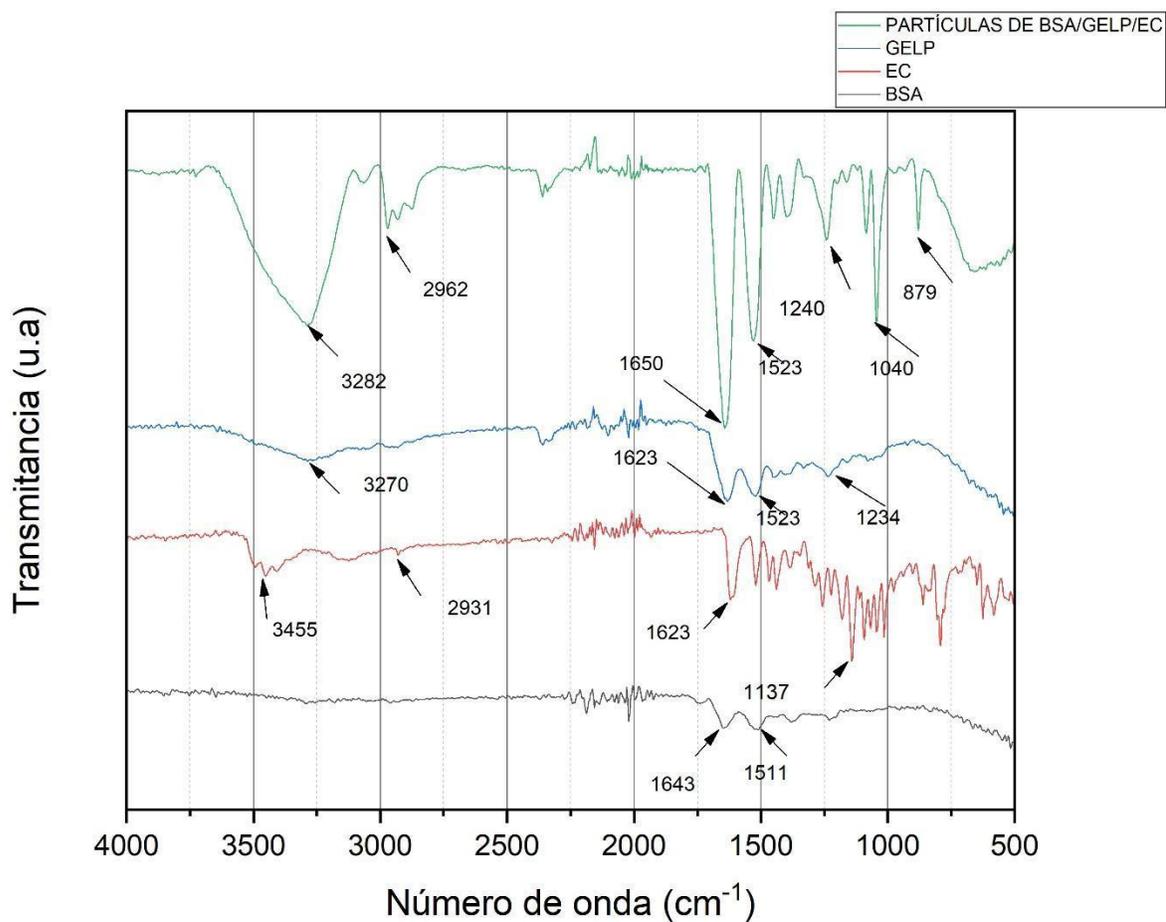


Ilustración 22. Análisis de ATR-FTIR de BSA/EC/GELP

8.1.2 XPS

Los picos en una espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS) representan los elementos presentes en la superficie de una muestra. La Ilustración 23 muestra los espectros obtenidos de XPS de la PCL, PCL hidrolizada y la PCL con las partículas adheridas de BSA/GELP/EC. Los picos de XPS indican la composición química de la superficie de estos materiales y cómo están distribuidos los diferentes elementos.

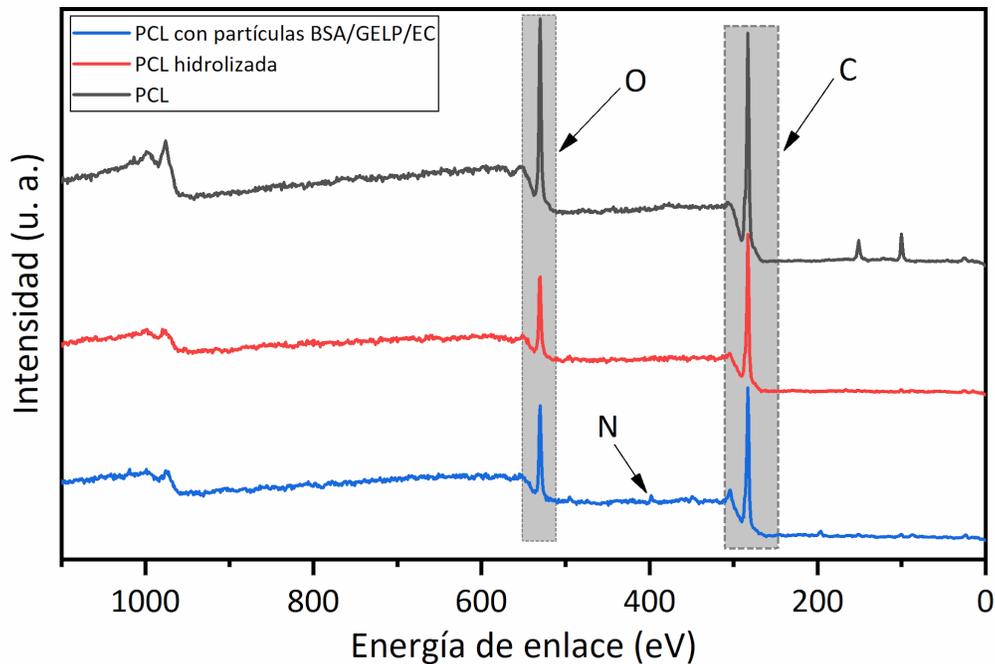


Ilustración 23. Análisis mediante XPS

Pico O (Oxígeno): refleja la presencia de oxígeno en la muestra, va de 528 – 535 eV, dependiendo de las interacciones o enlaces que forme.

- 532 eV: se puede asociar con oxígenos en enlaces C=O (carbonilos), típicos de ésteres en la PCL.
- 533.5 eV: indica la presencia de oxígeno en grupos hidroxilos (-OH) o en enlaces C-O.

Pico C (Carbono): este es uno de los picos más comunes en XPS, y representa los átomos de carbono en diferentes entornos químicos, apareciendo de 285 – 291 eV. Por ejemplo, en materiales como PCL, puede aparecer en diferentes posiciones dependiendo del tipo de enlace químico:

- 285 eV: indica átomos de carbono en enlaces simples C-C o C-H.
- 286.5 eV: indica átomos de carbono en un enlace con oxígeno (C-O).

- 288.5 eV: se relaciona con carbonos en enlaces ésteres (C=O)(Y. Wang et al., 2020).

Pico N (Nitrógeno): si la muestra ha sido modificada con moléculas que contienen nitrógeno, como el BSA y GELP, el pico aparece en los enlaces amida o amino generalmente alrededor de 398 – 401 eV. Pico que aparece en la PCL con las partículas de EC/BSA/GELP.

De nuevo, tomando en cuenta la composición química de las partículas y la presencia de un cambio en los intervalos donde encontramos a el nitrógeno, podemos afirmar que las partículas están adheridas en la superficie de nuestro polímero (Czwartos et al., 2024; F. Xu et al., 2022).

5.2 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

5.2.1 SEM

La Ilustración 24 muestra las micrografías de la estructura de fibras de PCL y partículas de EC/GELP/BSA adheridas.

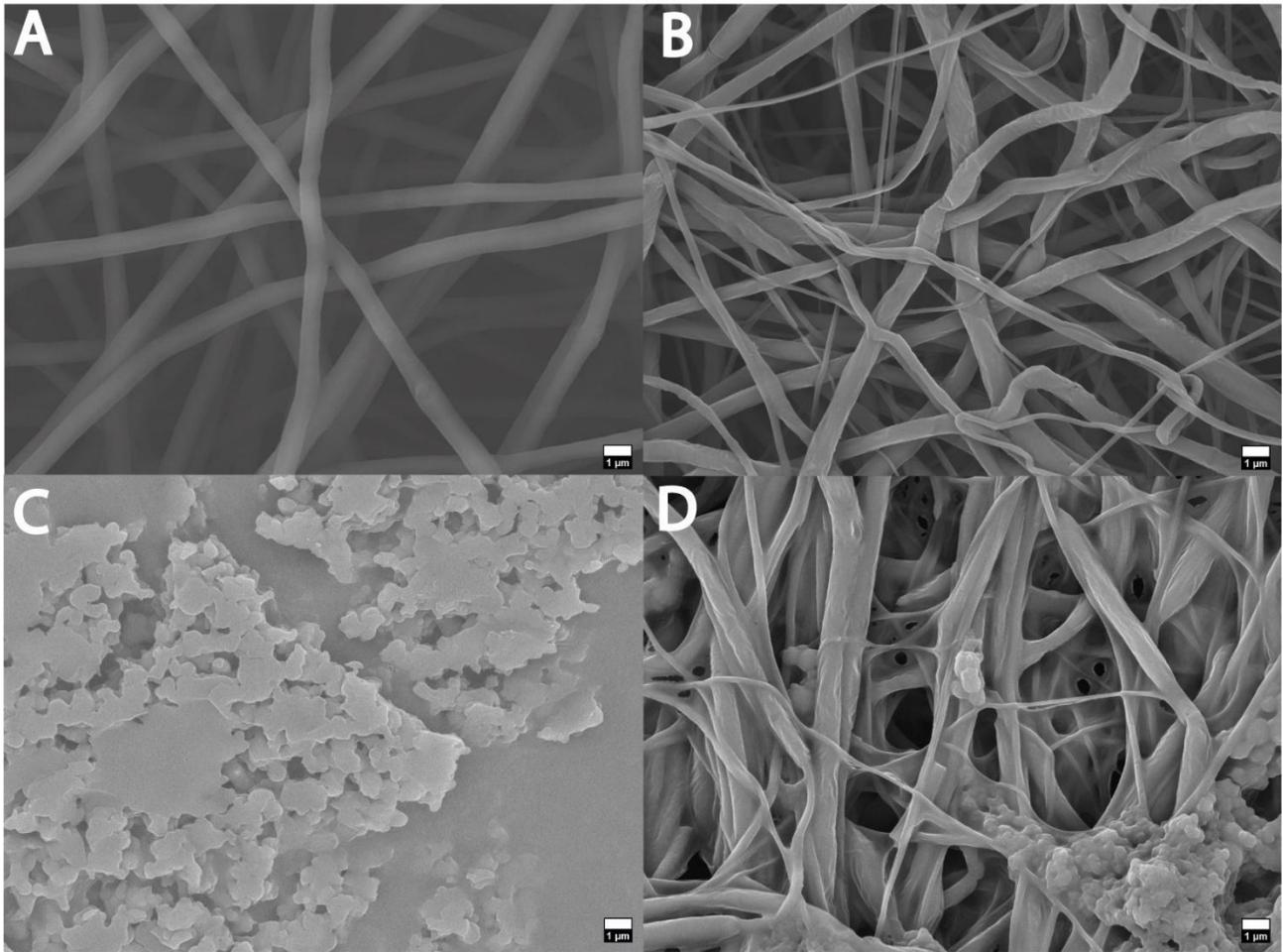


Ilustración 24. Micrografías por SEM donde se muestra A: fibras de PCL. B: fibras de PCL hidrolizada. C: partículas de EC/BSA/GELP. D: partículas de EC/BSA/GELP adheridas a la superficie de los andamios de PCL

Las fibras de PCL (Ilustración 24 A) muestran una estructura fibrosa y entrelazada, tienen un diámetro uniforme cerca de $1.627 \mu\text{m} \pm 0.365 \mu\text{m}$ (medido con el programa ImageJ), no se observan fracturas o daños significativos en las fibras, visualmente se nota diferencia entre la PCL hidrolizada (Ilustración 24 B) y la que no lo está (Ilustración 24 A). Estas imágenes pueden ser usadas para estudiar la morfología y el arreglo de las fibras en una red, lo cual es relevante en aplicaciones biomédicas como andamios para ingeniería de tejidos (Mosallanezhad et al., 2022). Las partículas adheridas a los andamios se muestran con una estructura irregular, formando aglomerados que se trataron de distribuir uniformemente por medio del sonicador, cuyo diámetro promedio es de $0.7235 \mu\text{m} \pm 0.0863 \mu\text{m}$ (Ilustración 24 C y D).

Por lo tanto, la caracterización con MEB permitió observar la adhesión de las partículas de EC/GELP/BSA dispersas en las fibras electrohiladas de la PCL. Las micrografías muestran la funcionalización de las partículas (Ilustración 24 D), que va acorde a los resultados obtenidos con los espectros de ATR-FTIR. Esto que sugiere una buena interacción entre los biomateriales, encontrando las partículas adheridas a las fibras de PCL. Las partículas solas se muestran en la Ilustración 24 C. La morfología rugosa de las partículas podría aumentar la superficie de contacto y la estructura fibrosa de los andamios por lo que resultaría es ideal para aplicaciones de ingeniería de tejidos, proporcionando una matriz que provee adhesión y promueve la proliferación celular.

5.3 CULTIVO CELULAR

Para comprobar la viabilidad de las células cardiacas en los andamios obtenidos, se realizaron cultivos celulares primarios de cardiomiocitos de pollo. Las células utilizadas se extrajeron de la parte ventricular del corazón del pollo; se extraen los cardiomiocitos utilizando tripsina, para posteriormente ser cultivados en un medio de cultivo con los andamios inmersos en ellos, el cultivo se realizó a 37°C, con una atmósfera de 5% de CO₂, durante un día, antes de la observación del latido. Se observan bajo el microscopio óptico, agregando al medio de cultivo un fluoróforo indicador de calcio. Este fluoróforo presenta un aumento en la fluorescencia al unirse a Ca²⁺, liberado en la contracción o fase de sístole de los cardiomiocitos y esto nos permite observar si hay actividad en ellos (Guía de selección de fluoróforos - MX, s. f.).

Usando el programa ImageJ, se seleccionaron 10 puntos arbitrarios de los andamios de PCL funcionalizados con EC/BSA/GELP en los que se realizó el cultivo celular (Ilustración 25, 27 y 29).

En estos puntos se analizó una serie de 1000 imágenes capturadas por el microscopio para observar cambios entre cada imagen, se esperaba un cambio por la interacción del fluoróforo con calcio en la contracción de los cardiomiocitos.

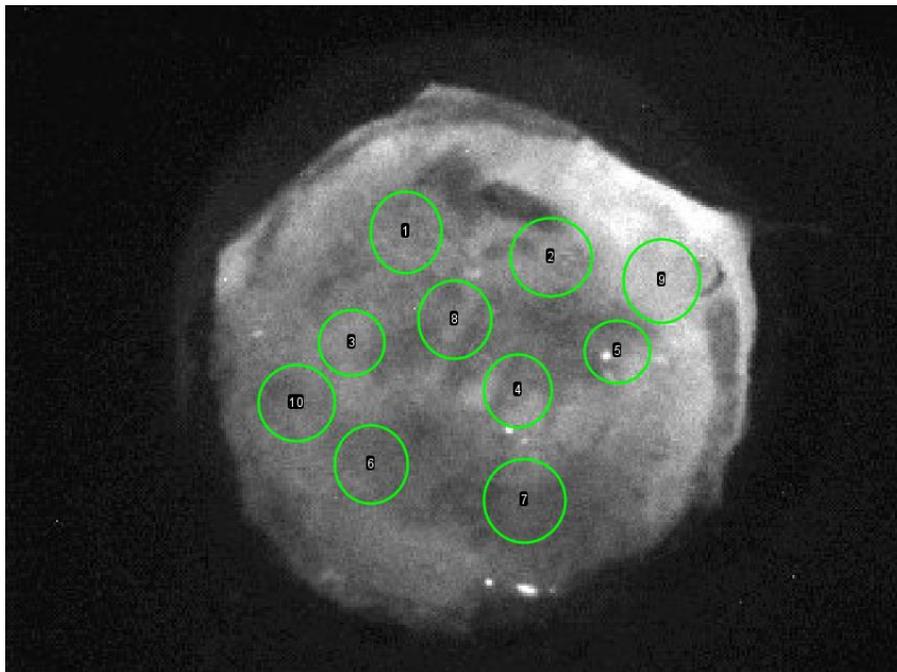


Ilustración 25. Cultivo celular en andamio A de PCL funcionalizado con partículas de EC/BSA/GELP

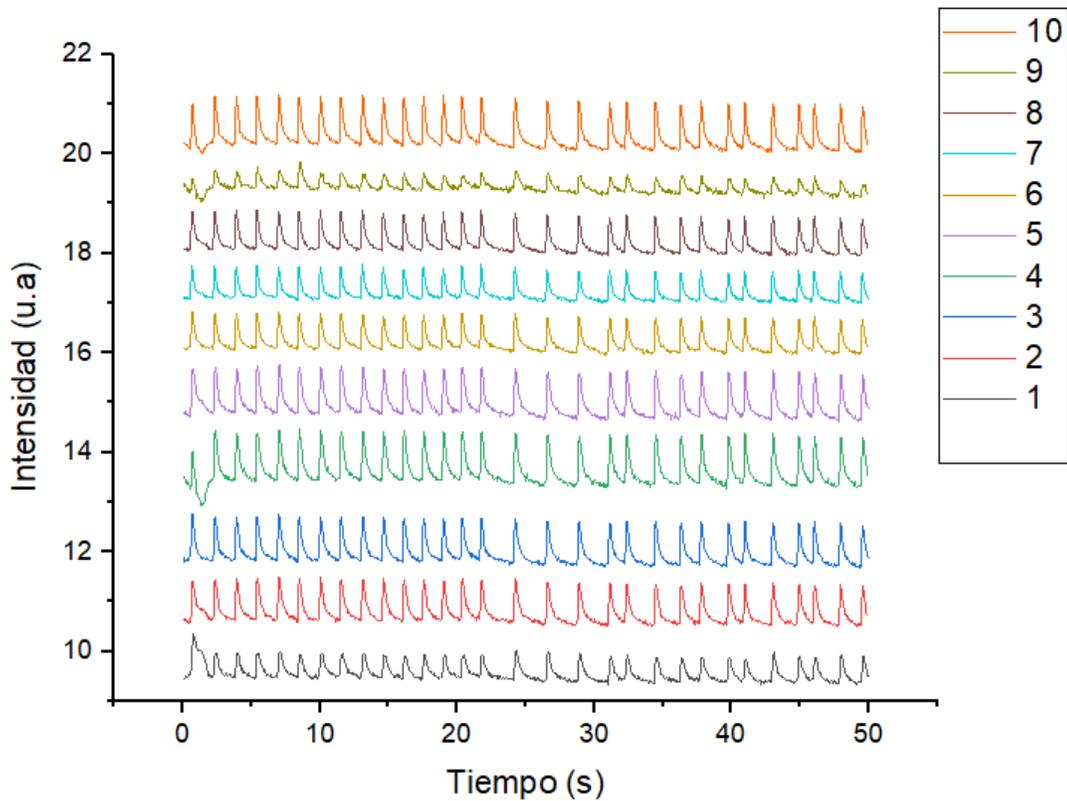


Ilustración 26. Grafica actividad cardíaca andamio A

Posterior al análisis de las imágenes en función del tiempo, ~~obtuvimos-se obtuvo~~ la gráfica (Ilustración 26) que nos muestra la actividad de los cardiomiocitos, la intensidad tiene unidades arbitrarias ~~pero-sin embargo podemos-se~~ observar que existe un cambio en el tiempo, que ~~nos~~ indica que existe un pulso, tomando en cuenta cada pico, ~~podemos-se obtiene-f~~ la frecuencia del andamio A, ~~tenemos-con~~ 30 picos que se repiten en un intervalo de 50 segundos, que es el tiempo en el que se obtuvieron las imágenes, ~~así-obtenemos-determinando~~ la frecuencia de los cardiomiocitos alrededor de 0.6 [Hz] en todo el andamio.

También de esta grafica (Ilustración 26) ~~podemos-se~~ observar que hay un latido uniforme, pero hay una disminución de la frecuencia entre los 20-30 segundos del intervalo.

Comparando los picos más sobresalientes en el intervalo de 10-20 segundos, ~~podemos-se~~ ~~encueontra-f~~ la frecuencia relativa basándonos en el número de picos por segundo. En el intervalo de 10-20 segundos hay 7 picos prominentes en 10 segundos, por otro lado, en el intervalo de 20-30 segundos hay 5. ~~Podemos Notablemente-notar que~~ en el intervalo de 10-20 segundos la frecuencia está en 0.7 Hz, pero en el intervalo de 20-30 segundos disminuye a 0.5 Hz.

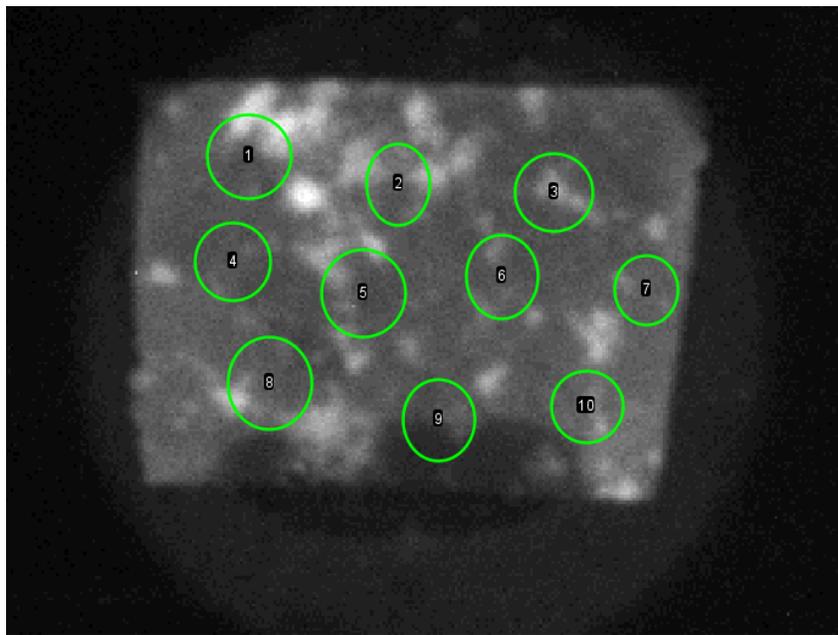


Ilustración 27. Cultivo celular en andamio B de PCL funcionalizado con partículas de EC/BSA/GELP

Como se explicó anteriormente, la Ilustración 27 nos muestra los 10 puntos que se tomaron arbitrariamente en este caso para realizar las gráficas y analizar la actividad en los cardiomiocitos.

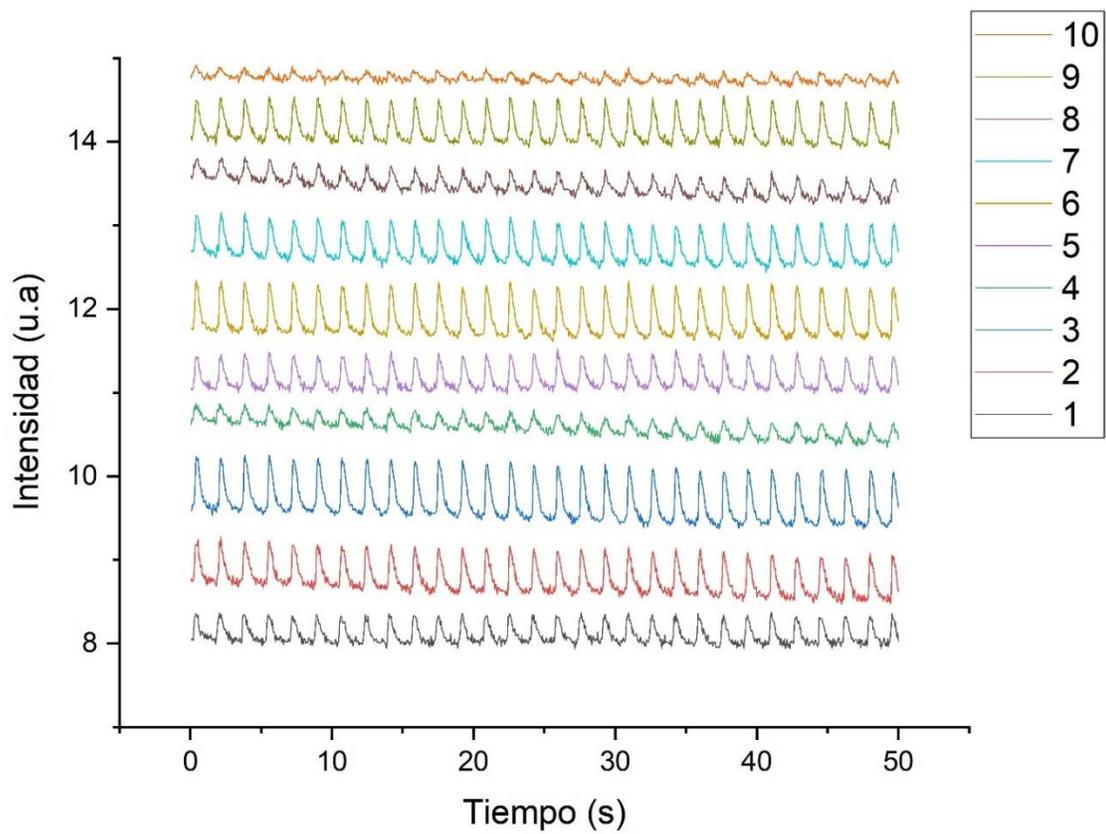


Ilustración 28. Grafica actividad cardiaca andamio B

En la Ilustración 28 se muestra la gráfica de la actividad contráctil de los cardiomiocitos embrionarios de pollo en el andamio B, tomado de los puntos arbitrarios de la Ilustración 27, observamos una contracción-relajación más uniforme a diferencia del andamio A, donde ~~la~~ el promedio de la frecuencia al tomar los picos más prominentes es de 0.6 Hz en todo el andamio, al coincidir los picos nos damos cuenta que hay ciertos puntos donde si hay comunicación entre las células, pese a que algunas zonas cuentan con actividad menor, que puede ser por varios factores como la distribución de las células durante el cultivo.

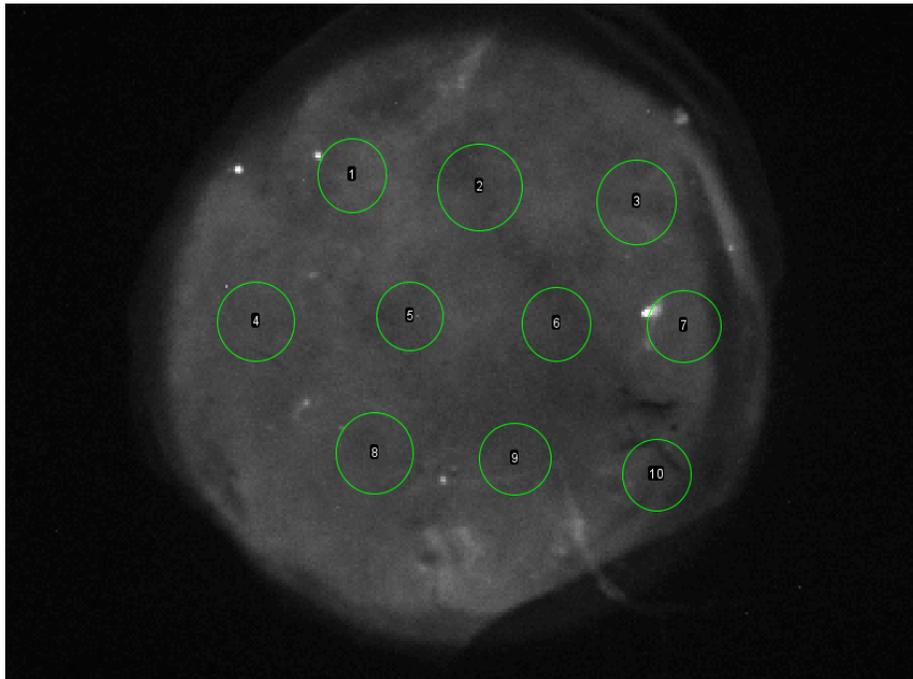


Ilustración 29. Cultivo celular en andamio C de PCL funcionalizado con partículas de EC/BSA/GELP

En la Ilustración 29 analizando por ImageJ el conjunto de imágenes obtenemos de nuevo la grafica con la actividad de los cardiomiocitos (Ilustración 30)

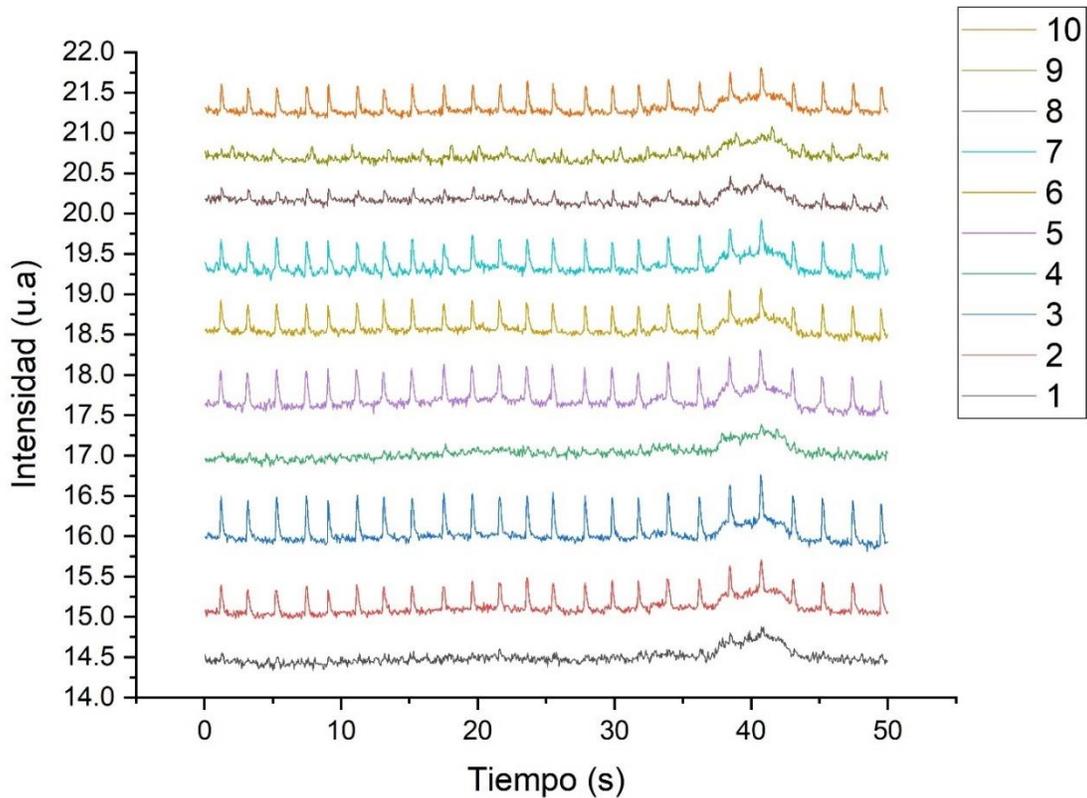


Ilustración 30. Grafica actividad cardiaca andamio C

En la Ilustración 30 podemos observar que en los puntos arbitrarios 1, 4, 8 y 9 no podemos decir con claridad cuáles son los picos más prominentes para obtener la frecuencia de los cardiomiocitos, puesto que, éstos no cuentan con sincronización, dándonos indicios que no hay comunicación celular.

Se observaron latidos uniformes en la mayoría de los puntos 2, 3, 5, 6, 7 y 10, las células se encuentran sincronizadas, la frecuencia de los latidos fue medida mediante los picos más prominentes obteniendo en promedio de los tres andamios una frecuencia de 0.56 [Hz] dando aproximadamente 33.6 latidos por minuto. Los cardiomiocitos demostraron una actividad contráctil y espontánea, demostrando así capacidad de mantener la viabilidad de las células, así como la función cardiaca. Aunque la frecuencia está por debajo de lo que se esperaría para los cardiomiocitos de pollo (1-3 Hz), esto abre las puertas a analizar qué es lo que está disminuyendo esa frecuencia cardiaca para poder modificar esos parámetros y así mejorar el biomaterial (Engler et al., 2008).

La disminución en la frecuencia de los cardiomiocitos puede deberse al uso de la EC en la superficie del andamio, pero de esta caracterización podemos afirmar que los andamios son biocompatibles porque lograron mantener los cardiomiocitos en condiciones y con un latido, lo

que nos muestra que también mantienen la funcionalidad. También podemos rescatar que existe comunicación en el andamio porque al tomar puntos arbitrarios se observa sincronía en la frecuencia de latido de los cardiomiocitos.

6. CONCLUSIONES

Este estudio de los andamios de Poli(ϵ -caprolactona) (PCL) funcionalizados con partículas de epicatéquina (EC), gelatina de pescado (GELP) y albumina de suero bovino (BSA) ha demostrado la posibilidad de adherir a la superficie de nuestro andamio hidrolizado las partículas de EC/BSA/GELP, sin comprometer su estructura general dotando al andamio de efectividad para aplicaciones en la regeneración de tejido cardíaco al ser biocompatibles y viables para los cardiomiocitos embrionarios de pollo.

Como se planteó en los objetivos de este trabajo, se logró electrohilar los andamios de PCL a las condiciones de 20 cm de distancia, un diferencial de potencial 15kV y a un flujo de 0.4 mL/h, así como a través del diseño de experimentos se consiguió hidrolizar su superficie al realizar una inmersión de los andamios en NaOH con una concentración de 4M durante 15 minutos, para posteriormente realizar 3 lavados en agua desionizada para remover el disolvente restante en el andamio, seguido de 15 minutos en HCl 0.1 M, posterior a otros 3 lavados para remover de nuevo el disolvente, logrando así la hidrolización de la superficie donde se consiguieron adherir con éxito las partículas de BSA/EC/GELP.

Mediante la caracterización del material podemos observar que efectivamente se obtuvieron los cambios esperados en cada etapa del proceso. Los resultados de FTIR nos muestran una disminución en los picos característicos de la PCL debido a la hidrolización, así como la presencia de nuevos picos por los elementos que interactúan en los andamios con las partículas. Así mismo en la caracterización de SEM podemos observar que, aunque visiblemente no hay una diferencia muy notable entre las fibras sin hidrolizar y las que ya lo están, se logra apreciar la adhesión de las partículas con el andamio, lo que nos permite inferir que la superficie sí se modificó para lograr adherir las partículas. Por otro lado, los resultados en XPS nos sugieren que la presencia de las partículas de EC/GELP/BSA por la presencia de N presente en los grupos amino.

Se logra demostrar la viabilidad y biocompatibilidad al realizar el cultivo celular, notando la presencia de actividad contráctil en los cardiomiocitos cultivados en los andamios de PCL funcionalizados con EC/GELP/BSA, en el análisis de microscopia se observa una actividad promedio de 0.56 Hz en los andamios.

Como resultado a este trabajo podemos afirmar que se cumplieron los objetivos de obtener un material que es capaz de mantener la integridad de las células cardíacas, abriendo camino a ampliar las investigaciones en esta área, así como, dejando un antecedente de la

biocompatibilidad de este polímero y partículas para futuras investigaciones dentro del desarrollo de materiales que hagan posible la regeneración de tejido cardíaco.

7. REFERENCIAS

2.8: Polimerización con apertura de anillo. (2022, octubre 30). LibreTexts Español. [https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica%20Org%C3%A1nica/Libro%3A%20Qu%C3%ADmica%20de%20Pol%C3%ADmeros%20\(Schaller\)/02%3A%20M%C3%A9todos%20sint%C3%A9ticos%20en%20qu%C3%ADmica%20de%20pol%C3%ADmeros/2.08%3A%20Polimerizaci%C3%B3n%20con%20apertura%20de%20anillo](https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica%20Org%C3%A1nica/Libro%3A%20Qu%C3%ADmica%20de%20Pol%C3%ADmeros%20(Schaller)/02%3A%20M%C3%A9todos%20sint%C3%A9ticos%20en%20qu%C3%ADmica%20de%20pol%C3%ADmeros/2.08%3A%20Polimerizaci%C3%B3n%20con%20apertura%20de%20anillo)

Acosta, P. G., López-Méndez, L. J., Cabrera-Quiñones, N. C., & Cruz-Hernández, C. A. (2023). Versátil como ninguna, la química clic y su trascendencia en áreas diversas: De la ciencia de materiales a la investigación farmacéutica. *Educación Química*, 34(1), Article 1. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2023.1.84649>

Ali, A. M. M., Kishimura, H., & Benjakul, S. (2018). Physicochemical and molecular properties of gelatin from skin of golden carp (*Probarbus Jullieni*) as influenced by acid pretreatment and prior-ultrasonication. *Food Hydrocolloids*, 82, 164-172. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.052>

Al-Nimry, S., Dayah, A. A., Hasan, I., & Daghmash, R. (2021). Cosmetic, Biomedical and Pharmaceutical Applications of Fish Gelatin/Hydrolysates. *Marine drugs*, 19(3), 145. <https://doi.org/10.3390/md19030145>

Alves, E. A., & Guimarães, A. C. R. (2010). Cultivo celular. In E. M. Molinaro, L. F. G. Caputo, & M. R. R. Amendoeira (Eds.), *Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde* (Vol. 2, pp. 215-253). Rio de Janeiro: EPSJV.

Andrady, A. L., & Khan, S. A. (2022). Applications of polymer nanofibers. John Wiley & Sons.

Arechaga Ocampo, E., & Gonzalez de la Rosa, C. H. (2015). Cultivo primario de cardiomiocitos embrionarios. En Avances de las Mujeres en las Ciencias, las Humanidades y todas las Disciplinas. Libro Científico Vol. II Ciencias Biológicas y de la Salud y Ciencias Sociales y Humanidades. Universidad Autónoma Metropolitana. <http://ilitia.cua.uam.mx:8080/jspui/handle/123456789/136>

BaobabMarketing. (2022, 19 de julio). Conoce la diferencia entre polímeros sintéticos y naturales. Sector. Recuperado de <https://bsdi.es/diferencia-polimeros-sinteticos-y-naturales/>

Biblioteca en línea de SVCA: Anatomía del corazón—Svca.mx. (s. f.). Recuperado 1 de agosto de 2024, de <https://svca.mx/biblioteca-en-l%C3%ADnea-de-svca-anatom%C3%ADa-del-coraz%C3%B3n>

Billmeyer, F. W., Jr. (1984). Textbook of Polymer Science (3rd ed.). John Wiley & Sons.

Cerón, A. (s. f.). De los biomateriales a la ingeniería de tejidos. México Ciencia y Tecnología. Recuperado 8 de octubre de 2023, de <http://www.cienciamx.com/index.php/tecnologia/materiales/6079-de-los-biomateriales-a-la-ingenieria-de-tejidos-reportaje>

ChandraR, Rustgi R. Biodegradablepolymers. Progr PolymSci 1998;23:1273–335.

Chasin, M., & Langer, R. S. (Eds.). (1990). Biodegradable polymers as drug delivery systems. M. Dekker.

Chen, J.-P., & Su, C.-H. (2011). Surface modification of electrospun PLLA nanofibers by plasma treatment and cationized gelatin immobilization for cartilage tissue engineering. Acta Biomaterialia, 7(1), 234-243. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.08.015>

Cho, S. M., Gu, Y. S., & Kim, S. B. (2005). Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. Food Hydrocolloids, 19(2), 221-229. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.05.005>

Choi, I., Lee, S. E., Chang, Y., Lacroix, M., & Han, J. (2018). Effect of oxidized phenolic compounds on cross-linking and properties of biodegradable active packaging film composed of turmeric and gelatin. LWT, 93, 427-433. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.065>

Ciumărnean, L., Milaciu, M. V., Runcan, O., Vesa, Ștefan C., Răchișan, A. L., Negrean, V., Perné, M.-G., Donca, V. I., Alexescu, T.-G., Para, I., & Dogaru, G. (2020). The Effects of Flavonoids in Cardiovascular Diseases. Molecules, 25(18), Article 18. <https://doi.org/10.3390/molecules25184320>

Cornell Chronicle. (2021). Polymer enables tougher recyclable thermoplastics. Recuperado de <https://news.cornell.edu/stories/2021/08/polymer-enables-tougher-recyclable-thermoplastics>

Czwartos, J., Nowak-Stępniewska, A., Budner, B., Fok, T., Bartnik, A., Wachulak, P., & Fiedorowicz, H. (2024). Polycaprolactone scaffold surface modification with soft X-ray/extreme ultraviolet (SXR/EUV) radiation and low-temperature oxygen and nitrogen plasma for biomedical applications. *Journal of Materials Science*, 59(26), 11937-11951. <https://doi.org/10.1007/s10853-024-09876-y>

Diaz, Yessica L, Torres, Laura S, Serna, Johanna A, & Sotelo, Luz I. (2017). Efecto de la Encapsulación en Secado por Atomización de Biocomponentes de Pitahaya Amarilla con Interés Funcional. *Información tecnológica*, 28(6), 23-34. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000600004>

Duque Sanchez, L., Rodriguez, L., & Lopez, M. (2013). Electrospinning: la era de las nanofibras. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 14(1), 10-27.

Electrospinning of nanofibres. (2024). *Nature Reviews Methods Primers*, 4(1), 2. <https://doi.org/10.1038/s43586-023-00289-w>

Elzoghby, A. O., Elgohary, M. M., & Kamel, N. M. (2015). Chapter Six—Implications of Protein- and Peptide-Based Nanoparticles as Potential Vehicles for Anticancer Drugs. En R. Donev (Ed.), *Protein and Peptide Nanoparticles for Drug Delivery* (Vol. 98, pp. 169-221). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2014.12.002>

Enfermedades cardiovasculares—OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. (2024, noviembre 27). <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-cardiovasculares>

Engler, A. J., Carag-Krieger, C., Johnson, C. P., Raab, M., Tang, H.-Y., Speicher, D. W., Sanger, J. W., Sanger, J. M., & Discher, D. E. (2008). Embryonic cardiomyocytes beat best on a matrix with heart-like elasticity: Scar-like rigidity inhibits beating. *Journal of Cell Science*, 121(22), 3794-3802. <https://doi.org/10.1242/jcs.029678>

Espinosa-Trujillo, E. (2012). *Bioquímica y Genética de las Antocianinas del Grano de Maíz*. 2012. INIFAP. MEXICO.

Esser, D., Geleijnse, J. M., Matualatupaw, J. C., Dower, J. I., Kromhout, D., Hollman, P. C. H., & Afman, L. A. (2018). Pure flavonoid epicatechin and whole genome gene expression profiles in circulating immune cells in adults with elevated blood pressure: A randomised double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *PLOS ONE*, 13(4), e0194229. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194229>

Fragneaud, B. (2006). Síntesis y caracterización de materiales compuestos polímero/nanotubos de carbono: Impacto de injerto de polímero a la superficie de los CNx MWNTs sobre las propiedades eléctricas y mecánicas de los nano-compuestos. [doctoralThesis]. <https://repositorio.ipicyt.edu.mx//handle/11627/270>

Freshney, R. I. (2010). Culture of Animal Cells. <https://doi.org/10.1002/9780470649367>

FTIR | Academia de espectroscopía FTIR - MX. (s. f.). Recuperado 13 de agosto de 2024, de <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/molecular-spectroscopy/fourier-transform-infrared-spectroscopy/resources/ftir-spectroscopy-academy.html>

Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2007). *Histología* (4ta ed.). Editorial Médica Panamericana.

Gill, I., & Ballesteros, A. (2000). Bioencapsulation within synthetic polymers (Part 1): Sol-gel encapsulated biologicals. *Trends in Biotechnology*, 18(7), 282-296. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(00\)01457-8](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(00)01457-8)

Gosline, J., Lillie, M., Carrington, E., Guerette, P., Ortlepp, C., & Savage, K. (2002). Elastic proteins: biological roles and mechanical properties. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 357(1418), 121–132. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.1022>

Guía de selección de fluoróforos—MX. (s. f.). Recuperado 9 de septiembre de 2024, de <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/life-science/cell-analysis/fluorophores.html>

Hardy, J. G., Römer, L. M., & Scheibel, T. R. (2008). Polymeric materials based on silk proteins. *Polymer*, 49(20), 4309-4327. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.08.006>

Harvard John A. Paulson School of Engineering and Applied Sciences. (2023). Elastic polymer that is both stiff and tough, resolves long-standing quandary. Recuperado de <https://seas.harvard.edu/news/2021/10/elastic-polymer-both-stiff-and-tough-resolves-long-standing-quandary>

Helmenstine, Anne Marie, Ph.D. (2020, August 27). Hydrolysis: Definition and Examples. Retrieved from <https://www.thoughtco.com/definition-of-hydrolysis-605225>

Hench, L. L., & West, J. K. (1990). The sol-gel process. *Chemical Reviews*, 90(1), 33-72. <https://doi.org/10.1021/cr00099a003>

Hernández Ramírez, Porfirio. (2009). Medicina regenerativa y células madre. Mecanismos de acción de las células madre adultas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 25(1) Recuperado en 05 de agosto de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892009000100002&lng=es&tlng=es.

Hydrolysis | Definition, Examples, & Facts | Britannica. (2024, junio 6). <https://www.britannica.com/science/hydrolysis>

Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa. (s. f.). National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering. Recuperado 8 de octubre de 2023, de <https://www.nibib.nih.gov/espanol/temas-cientificos/ingenier%C3%ADa-de-tejidos-y-medicina-regenerativa-0>
ISSN 0079-6700, <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.08.004>.

Javaid, S., Ahmad, N. M., Mahmood, A., Nasir, H., Iqbal, M., Ahmad, N., & Irshad, S. (2021). Cefotaxime Loaded Polycaprolactone Based Polymeric Nanoparticles with Antifouling Properties for In-Vitro Drug Release Applications. *Polymers*, 13(13). <https://doi.org/10.3390/polym13132180>

Karim, A. A., & Bhat, R. (2009). Fish gelatin: Properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 563-576. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.002>

Koshland, D. E. and Haurowitz, . Felix (2024, June 11). protein. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/protein>

Krapp, Kristine "Polyester ." How Products Are Made. . Retrieved January 08, 2024 from Encyclopedia.com: <https://www.encyclopedia.com/manufacturing/news-wires-white-papers-and-books/polyester>

Kumar, A., Sahu, R., & Tripathy, S. K. (2023). Energy-Efficient Advanced Ultrafine Grinding of Particles Using Stirred Mills—A Review. *Energies*, 16(14). <https://doi.org/10.3390/en16145277>

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *TheScientificWorldJournal*, 2013, 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>

Lancuški, A., Fort, S., & Bossard, F. (2012). Electrospun azido-PCL nanofibers for enhanced surface functionalization by click chemistry. *ACS applied materials & interfaces*, 4(12), 6499–6504. <https://doi.org/10.1021/am301458y>

Lantigua, D., Nguyen, M. A., Wu, X., Suvarnapathaki, S., Kwon, S., Gavin, W., & Camci-Unal, G. (2020). Synthesis and characterization of photocrosslinkable albumin-based hydrogels for biomedical applications. *Soft Matter*, 16(40), 9242-9252. <https://doi.org/10.1039/D0SM00977F>

Luisa, R. C. M. (2012). Diseño y síntesis de materiales «a medida» mediante el método SOL-GEL. Editorial UNED.

MacIntyre, J. E. (2004). *Synthetic fibres: Nylon, Polyester, Acrylic, Polyolefin*. CRC Press.

Marieb, E. N. (2008). *Anatomía y fisiología humana*. Pearson Educación.

Martins, M. E. O., Sousa, J. R., Claudino, R. L., Lino, S. C. O., Vale, D. A. do, Silva, A. L. C., ... De Souza, B. W. S. (2018). Thermal and Chemical Properties of Gelatin from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Scale. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27(10), 1120–1133. <https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1535530>

Matyjaszewski, K., & Davis, T. P. (2022). *Polymer Science: A Comprehensive Reference*. Elsevier.

McMurry, J. (2007). *Organic Chemistry* (7ª ed.). Belmont, CA: Thomson Brooks/Cole.

Microscopio Electrónico de Barrido (SEM). (2024, mayo 24). <https://www.infinitiaresearch.com/noticias/microscopio-electronico-de-barrido/>

Microscopios electrónicos de barrido de ZEISS. (s. f.). Recuperado 19 de agosto de 2024, de <https://www.zeiss.com/microscopy/es/productos/sem-fib-sem/sem.html>

Miranda-Buendia, E., González-Gómez, G. H., Falcón-Neri, M. A., Durán-Pastén, M. L., Jiménez-Martínez, C., Vera-Graziano, R., Ospina-Orejarena, A., Rivera-Torres, F., Prado-Villegas, G., & Maciel-Cerda, A. (2022). Activity patterns of cardiomyocytes in electrospun scaffolds of poly (ϵ -caprolactone), collagen, and epicatechin. *Materials Today Communications*, 31, 103405. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.103405>

Molecules | Free Full-Text | Plant Polyphenols and Their Potential Benefits on Cardiovascular Health: A Review. (s. f.). Recuperado 22 de junio de 2024, de <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/17/6403>

Mondal D, Tiwari A. (2012) *Biomedical materials and diagnostic devices*.

Mondragón, R., Julia, J. E., Barba, A., & Jarque, J. C. (2013). El proceso de secado por atomización: formación de gránulos y cinética de secado de gotas. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 52(4), 159-168.

Mosallanezhad, P., Nazockdast, H., Ahmadi, Z., & Rostami, A. (2022). Fabrication and characterization of polycaprolactone/chitosan nanofibers containing antibacterial agents of curcumin and ZnO nanoparticles for use as wound dressing. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 10, 1027351. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1027351>

Nguyen, T. H., & Nandy, K. (2021). Probing the secondary structure of bovine serum albumin during heat-induced denaturation using mid-infrared fiberoptic sensors. *Analyst*, 146(2), 304-312. <https://doi.org/10.1039/C4AN01495B>

O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3), 88-95. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70058-X](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X)

Olivier Coulembier, Philippe Degée, James L. Hedrick, Philippe Dubois, From controlled ring-opening polymerization to biodegradable aliphatic polyester: Especially poly(β -malic acid) derivatives, *Progress in Polymer Science*, Volume 31, Issue 8, 2006, Pages 723-747,

OpenStax. (2024). *Aminas y amidas*. En *Química* (2ª ed.). Recuperado de <https://openstax.org/books/qu%C3%ADmica-2ed/pages/20-4-aminas-y-amidas>

Painter, P. C., & Coleman, M. M. (2009). *Fundamentals of polymer science: An introductory text* (2nd ed.). CRC Press.

Polymer Science Learning Center. (n.d.). Proteínas: Polímeros naturales. Polymer Science Learning Center. <https://pslc.ws/spanish/protein.htm>

Prakash, M., Basavaraj, B. V., & Chidambara Murthy, K. N. (2019). Biological functions of epicatechin: Plant cell to human cell health. *Journal of Functional Foods*, 52, 14-24. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.021>

Propiedades Físicas: Polimeros. (s. f.). Recuperado 25 de junio de 2024, de <https://polimeros39.webnode.com.ar/propiedades-fisicas/>

Quijano-Mendoza, José & Hernández-Sánchez, Fernando & Cervantes-Uc, Jose & Fuentes, Nayeli. (2021). Andamios electrohilados de gelatina con potencial aplicación en ingeniería tisular dérmica.

Rao, C. N. R., Müller, A., & Cheetham, A. K. (Eds.). (2004). *The Chemistry of Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*. Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/352760247X>

Ross, M. H., & Pawlina, W. (2016). *Histología: Texto y atlas con biología celular y molecular* (7ma ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

Salud, S. de. (s. f.). 490. Cada año, 220 mil personas fallecen debido a enfermedades del corazón. gov.mx. Recuperado 8 de octubre de 2023, de <http://www.gob.mx/salud/prensa/490-cada-ano-220-mil-personas-fallecen-debido-a-enfermedades-del-corazon>

Silva, N. H. C. S., Vilela, C., Marrucho, I. M., Freire, C. S. R., Pascoal Neto, C., & Silvestre, A. J. D. (2014). Protein-based materials: From sources to innovative sustainable materials for biomedical applications. *J. Mater. Chem. B*, 2(24), 3715-3740. <https://doi.org/10.1039/C4TB00168K>

Sionkowska, A., Kaczmarek-Szczepańska, B., Trokowska, P., & Antoniac, I. (2016). Properties and Characterization of Chitosan/Collagen/PMMA Composites Containing Hydroxyapatite. *Key Engineering Materials*, 672, 247-256. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.672.247>

Shariati, S., Kalantar, H., Pashmforoosh, M., Mansouri, E., & Khodayar, M. J. (2019). Epicatechin protective effects on bleomycin-induced pulmonary oxidative stress and fibrosis in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 114, 108776. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108776>

Smith, B. C. (2011). *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy* (2nd ed.). CRC Press. <https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/b10777/fundamentals-fourier-transform-infrared-spectroscopy-brian-smith>

Socrates, G. (2001). *Infrared and Raman characteristic group frequencies: Tables and charts* (3rd ed.). John Wiley & Sons.

Texto Atlas de Histología. Biología celular y tisular, 2e | AccessMedicina | McGraw Hill Medical. (s. f.). Recuperado 1 de agosto de 2024, de <https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1506>

Tipos celulares. Cardiomiocito. Atlas de Histología Vegetal y Animal. (s. f.). Recuperado 8 de octubre de 2023, de <https://mmegias.webs.uvigo.es/8-tipos-celulares/cardiomiocito.php>

Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2018). *Principles of anatomy and physiology* (15th ed.). Wiley.

Toshio Hayashi, Biodegradable polymers for biomedical uses, *Progress in Polymer Science*, Volume 19, Issue 4, 1994, Pages 663-702, ISSN 0079-6700, [https://doi.org/10.1016/0079-6700\(94\)90030-2](https://doi.org/10.1016/0079-6700(94)90030-2).

Valera, K. (2022, noviembre 8). ¿Qué es la hidrólisis? - Tipos, proceso y ejemplos. Enciclopedia Iberoamericana. <https://enciclopediaiberoamericana.com/hidrolisis/>

Valmikinathan, C. M., Defroda, S., & Yu, X. (2009). Polycaprolactone and bovine serum albumin based nanofibers for controlled release of nerve growth factor. *Biomacromolecules*, 10(5), 1084–1089. <https://doi.org/10.1021/bm8012499>

Vargas, B., & Elsy, N. (2016). Técnicas de cultivos celulares e ingeniería de tejidos. <http://ilitia.cua.uam.mx:8080/jspui/handle/123456789/143>

Wang, C., Chen, P. X., Xiao, Q., Yang, Q. M., Weng, H. F., Zhang, Y. H., & Xiao, A. F. (2021). Chitosan Activated with Genipin: A Nontoxic Natural Carrier for Tannase Immobilization and Its Application in Enhancing Biological Activities of Tea Extract. *Marine drugs*, 19(3), 166. <https://doi.org/10.3390/md19030166>

Wang, F. (2022). *Collagen-Derived Materials: Synthesis and Applications in Electrochemical Energy Storage and Conversion*. Wiley-VCH.

Wang, Y., Ma, B., Yin, A., Zhang, B., Luo, R., Pan, J., & Wang, Y. (2020). Polycaprolactone vascular graft with epigallocatechin gallate embedded sandwiched layer-by-layer functionalization for enhanced antithrombogenicity and anti-inflammation. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 320, 226–238. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.01.043>

Woodruff, M. A., & Hutmacher, D. W. (2010). The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science*, 35(10), 1217-1256. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002>

Xin, M., Olson, E. N., & Bassel-Duby, R. (2013). Mending broken hearts: cardiac development as a basis for adult heart regeneration and repair. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 14(8), 529–541. <https://doi.org/10.1038/nrm3619>

X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS). (2019, marzo 13). Chemistry LibreTexts. [https://chem.libretexts.org/Courses/Franklin_and_Marshall_College/Introduction_to_Materials_Characterization_CHM_412_Collaborative_Text/Spectroscopy/X-ray_Photoelectron_Spectroscopy_\(XPS\)](https://chem.libretexts.org/Courses/Franklin_and_Marshall_College/Introduction_to_Materials_Characterization_CHM_412_Collaborative_Text/Spectroscopy/X-ray_Photoelectron_Spectroscopy_(XPS))

Xu, F., Wang, H., Zhang, J., Jiang, L., Zhang, W., & Hu, Y. (2022). A facile design of EGF conjugated PLA/gelatin electrospun nanofibers for nursing care of in vivo wound healing applications. *Journal of Industrial Textiles*, 51(1_suppl), 420S-440S. <https://doi.org/10.1177/1528083720976348>

Xu, X., Hu, J., Xue, H., Hu, Y., Liu, Y., Lin, G., Liu, L., & Xu, R. (2023). Applications of human and bovine serum albumins in biomedical engineering: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 126914. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126914>

Yadav, P., & Yadav, A. B. (2021). Preparation and characterization of BSA as a model protein loaded chitosan nanoparticles for the development of protein-/peptide-based drug delivery system. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 200. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00345-w>

Yadav, R., Kumar, D., Kumari, A., & Yadav, S. K. (2014). Encapsulation of catechin and epicatechin on BSA NPS improved their stability and antioxidant potential. *EXCLI Journal*, 13, 331-346.

Zanella, Rodolfo. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 5(1), 69-81. Epub 30 de agosto de 2021. Recuperado en 08 de octubre de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-56912012000100069&lng=es&tlng=es.

Zanyar Movasaghi, S. R., & Rehman, D. I. ur. (2008). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134-179. <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>