

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA



**DESARROLLO DE APÓSITO DE HIDROGEL EN FORMA DE
ANDAMIO PARA TRATAMIENTO DE HERIDAS CRÓNICAS POR PIE
DIABÉTICO**

Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Biomédico

AUTOR:

Alexander Marlon Paredes Arellano

ASESOR:

Dra. Fanny Lys Casado Peña


Lima, Setiembre, 2025

INFORME DE SIMILITUD

Yo, Fanny Lys Casado Peña, profesora de la Facultad de Ciencias e Ingeniería de la Pontificia Universidad Católica del Perú, asesora de la tesis titulada: “Desarrollo de apósito de hidrogel en forma de andamio para tratamiento de heridas crónicas por pie diabético”, del autor Alexander Marlon Paredes Arellano, dejo constancia de lo siguiente:

- El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud de 11%. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software Turnitin el 20/11/2025.
- He revisado con detalle dicho reporte y la Tesis, y no se advierte indicios de plagio.
- Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las pautas académicas.

Lugar y fecha: Lima, 20 de noviembre del 2025.

Apellidos y nombres del asesor: Casado Peña, Fanny Lys	
DNI: 40444557	 Firma:
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8791-626X	

DEDICATORIA



*A mi madre y a mi padre,
quienes me apoyaron en esta travesía*

AGRADECIMIENTOS

Quiero extender un profundo agradecimiento a mi asesora Fanny Casado, quien con su experiencia y conocimientos me apoyo para lograr los resultados que esperaba. A Sara Rúa del programa de Ingeniería Biomédica PUCP-UPCH por su apoyo en etapa experimental de la Bioimpresión 3D. A Lizardo Torres del Laboratorio de Polímeros y Nanomateriales por su apoyo en la realización del ensayo de liberación y reología. A Erika Calla Quispe del Instituto de Ciencias Ómicas y Biotecnología Aplicada de la PUCP por su apoyo en la liofilización. Por último a Frank Diaz, Abraham Zavaleta y Jose Felix por acompañarme en todo este camino brindándome su apoyo constante.



RESUMEN

Las úlceras por pie diabético constituyen un grave problema de salud pública debido a su alta prevalencia y a la dificultad en lograr una cicatrización adecuada. Los apósitos convencionales presentan limitaciones, lo que ha impulsado la búsqueda de biomateriales capaces de generar un ambiente favorable para la regeneración tisular. En este contexto, los hidrogeles en forma de andamio surgen como una alternativa prometedora por su capacidad de retener agua, absorber exudados y liberar compuestos bioactivos de manera controlada.

En el presente trabajo, se desarrolló un apósito de hidrogel basado en alginato y gelatina mediante bioimpresión 3D, incorporando sangre de grado como agente terapéutico por sus reconocidas propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y cicatrizantes. Se llevaron a cabo ensayos de imprimibilidad de distintas concentraciones para encontrar la formulación óptima de alginato y gelatina. Luego de ello, se incorporó la sangre de grado y se evaluaron las propiedades viscoelásticas, capacidad de absorción y liberación controlada.

El ensayo de optimización de hidrogel mostró que la formulación óptima fue alginato 3% y gelatina 4% (A3G4). En los ensayos reológicos, esta formulación presentó estabilidad estructural y comportamiento pseudoplástico favorable para la bioimpresión. La adición de 5% de sangre de grado no alteró significativamente estas propiedades, manteniendo la capacidad de impresión y absorción. Los andamios impresos alcanzaron valores de absorción superiores al 1900% en PBS y mostraron un perfil de liberación prolongada de compuestos bioactivos, ajustándose al modelo cinético de Korsmeyer–Peppas, lo que evidenció un mecanismo difusivo tipo Fickiano.

Los resultados obtenidos demuestran que la combinación de biomateriales accesibles con un recurso fitoterapéutico tradicional genera un apósito innovador con potencial aplicación en el tratamiento de úlceras por pie diabético. Sin embargo, se reconoce la necesidad de estudios complementarios de biocompatibilidad celular, estabilidad de compuestos y ensayos in vivo que validen la seguridad y eficacia clínica de la propuesta.

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS.....	3
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos	3
MARCO TEÓRICO	4
1.1 Las heridas crónicas y sus tratamientos disponibles	4
1.2 Tecnologías para el tratamiento de heridas crónicas	6
1.2.1 Uso de los apósitos de hidrogel.....	6
1.2.2 Métodos de fabricación avanzada de apósitos de hidrogel.....	6
1.2.3. Biomateriales utilizados para los apósitos en forma de andamio	8
1.2.4 Apósitos de hidrogel en desarrollo e investigación	11
1.2.5 Uso de la sangre de grado para tratamiento de heridas.....	15
DISEÑO DE ANDAMIO E INCORPORACIÓN DE SANGRE DE GRADO	17
2.1. Materiales	17
2.2. Preparación de hidrogeles de alginato y gelatina.....	17
2.2 Optimización de los parámetros de impresión de los hidrogeles	18
2.2.2 Análisis de velocidad y presión.....	18
2.2.2 Análisis de macroporosidad	18
2.3 Preparación de hidrogel con sangre de grado	20
2.4 Caracterización reológica del hidrogel con sangre de grado.....	20
2.4.1 Barrido de temperatura.....	20
2.4.2 Test Oscilatorio: Barrido de amplitud	20
2.4.3 Test de viscosidad.....	21
2.4.4 Test de recuperación tixotrópica.....	21

	iii
2.5 Diseño e impresión del andamio	22
2.6 Caracterización de la absorción del andamio	22
2.7 Liberación de sangre de grado.....	23
2.7.1 Curva de calibración	23
2.7.2 Liberación acumulada de sangre de grado	23
2.7.3 Modelado matemático de la liberación	24
RESULTADOS	26
3.1 Preparación de hidrogeles de alginato y gelatina.....	26
3.2 Optimización de los parámetros de impresión.....	27
3.3 Preparación de hidrogel con sangre de grado	32
3.4 Caracterización reológica del hidrogel	33
3.4.1 Barrido de temperatura.....	33
3.4.2 Barrido de amplitud	34
3.4.3 Test de viscosidad	36
3.4.3 Test de recuperación tixotrópica	37
3.5 Diseño e impresión del andamio	38
3.6 Caracterización de la absorción.....	40
3.7 Caracterización de la liberación	42
3.7.1 Curva de calibración	42
3.7.2. Ensayo de liberación.....	43
3.7.2. Modelado cinético de liberación.....	44
DISCUSIÓN	46
BIBLIOGRAFÍA.....	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Biomateriales utilizados para la fabricación de apósitos de hidrogel

Tabla 2. Resumen de apósitos de hidrogel en desarrollo e investigación

Tabla 3. Parámetros de los ensayos de reología

Tabla 4. Modelos matemáticos de liberación de fármaco

Tabla 5. Inspección visual de las formulaciones de hidrogel

Tabla 6. Optimización de parámetros de impresión

Tabla 7. Parámetros seleccionados de impresión



ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Tipos de heridas
- Figura 2. Métodos de fabricación avanzada. (a) Electrohilado (b) Modelado por deposición fundida (FDM) (c) Bioimpresión 3D
- Figura 3. Código en G-code para imprimir líneas de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 y 12 mm/s
- Figura 4. Código en G-code de ensayo de macroporo.
- Figura 5. Representación del índice de impresión (Pr)
- Figura 6. Soporte para los scaffold a ser usados en el ensayo de absorción.
- Figura 7. Proceso de preparación de hidrogeles de alginato y gelatina. (a) Medición del peso de la gelatina y alginato en polvo. (b) Agitación con agua milliq de la gelatina y el alginato
- Figura 8. Análisis del ancho del filamento para A3%G3%
- Figura 9. Análisis del ancho del filamento para A3%G4%
- Figura 10. Análisis del ancho del filamento para A3%G5%
- Figura 11. Análisis del ancho del filamento para A4%G5%
- Figura 12. Resultados de test de macroporosidad
- Figura 13. Índice de impresión vs formulaciones de hidrogel
- Figura 14. Hidrogel de alginato 3%, gelatina 4% y sangre de grado 5% (A3G4SG5)
- Figura 15. Ensayo de reología utilizando el reómetro Anton Paar (a) Reómetro (b) Hidrogel de alginato y gelatina con adición de sangre de grado luego del ensayo de barrido de temperatura
- Figura 16. Ensayo de rampa de temperatura (a) Hidrogel A3G4 (b) Hidrogel A3G4 con 5% SG
- Figura 17. Ensayo de barrido de amplitud (a) Hidrogel A3G4 (b) Hidrogel A3G4 5% SG
- Figura 18. Ensayo de barrido de amplitud A3G4 5% SG con CaCl₂
- Figura 19. Ensayo de viscosidad de hidrogel A3G4 sin SG y con 5% SG
- Figura 20. Test de recuperación tixotrópica. (a) hidrogel A3G4SG5 (b) hidrogel A3G4
- Figura 21. Diseño de scaffold usando G-code (a) Vista general (b) Vista frontal
- Figura 22. (a) Proceso de impresión con impresora Allevi 3 (b) Scaffold A3G4 5% SG impreso
- Figura 23. Proceso de liofilización de muestras A3G4SG5 y A3G4 con liofilizador Telstar
- Figura 24. Scaffolds A3G4 y A3G4SG5 liofilizados en placas petri
- Figura 25. Ensayo de absorción de (a) scaffold control y (b) scaffold con SG
- Figura 26. Curva de absorción a partir de hidrogel control y hidrogel A3G4 (n=3)
- Figura 27. Curva de calibración de sangre de grado (n=3)
- Figura 28. Ensayo de liberación en placa de 12 pocillos (n=3)
- Figura 29. Curva de liberación de sangre de grado a partir de hidrogel A3G4 (n=3)
- Figura 30. Modelado matemático de la liberación de sangre de grado. (a) Orden-cero (b) Primer-orden (c) Higuchi y (d) Korsmeyer - Peppas

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad metabólica crónica que afecta a millones de personas en todo el mundo. Se caracteriza por una deficiencia en la secreción de insulina por el páncreas o por la incapacidad del organismo de utilizar de manera eficaz la insulina disponible. Esta disfunción metabólica genera complicaciones micro y macrovasculares que deterioran de manera significativa la calidad de vida de los pacientes y representan una elevada carga para los sistemas de salud.

Entre las complicaciones más graves y frecuentes de la DM se encuentran las úlceras por pie diabético (UPD), que constituyen una causa importante de morbilidad y discapacidad. Estas lesiones se desarrollan como consecuencia de la neuropatía periférica, la insuficiencia vascular y la susceptibilidad a infecciones, factores que, en conjunto, dificultan el proceso normal de cicatrización. Se estima que las UPD tienen una incidencia anual cercana al 2%, y que entre el 19 y el 34% de los pacientes con diabetes desarrollará una úlcera a lo largo de su vida (Arias-Rodríguez et al., 2023).

En el caso del Perú, la DM se reconoce como un problema de salud pública cuya prevalencia oscila entre el 4,1% y el 8,4% en la población adulta. Las UPD asociadas a esta enfermedad se manifiestan principalmente por neuropatía y por complicaciones vasculares, alcanzando cifras de entre 57% y 90% en pacientes atendidos en hospitales de referencia de tercer nivel. Estas estadísticas reflejan la magnitud del problema y la necesidad de estrategias terapéuticas más eficaces (Viadé-Julià et al., 2024).

Desde el punto de vista económico, las UPD representan una carga considerable. Solo en los Estados Unidos, se destinan anualmente alrededor de 28 mil millones de dólares del presupuesto de Medicare para el tratamiento de heridas crónicas. A nivel global, el mercado de productos destinados a la atención de UPD se valoró en 7 mil millones de dólares en 2019, con proyecciones de alcanzar los 11 mil millones en 2027, lo que representa una tasa compuesta anual de 5,9% (Nussbaum et al., 2018; Peter-Riesch, 2016).

Los tratamientos convencionales incluyen apósitos básicos, desbridamiento quirúrgico y administración sistémica de antibióticos. Sin embargo, estas estrategias han demostrado

eficacia limitada en la aceleración del proceso de cicatrización, particularmente en pacientes diabéticos cuyo entorno fisiológico compromete la regeneración tisular (Glover et al., 2021). Frente a estas limitaciones, los apósitos de hidrogel han surgido como una alternativa avanzada y prometedora, debido a su capacidad para mantener un ambiente húmedo, absorber exudados, permitir la liberación controlada de agentes bioactivos y, en algunos casos, favorecer la regeneración del tejido mediante la incorporación de moléculas terapéuticas (Casado et al., 2020).

Para que los apósitos de hidrogel en forma de *scaffold* sean efectivos en el tratamiento de las UPD, deben cumplir con características específicas: macroporosidad, que facilite la adhesión y proliferación celular; capacidad de absorción de exudados, que favorezca la cicatrización eficiente; potencial de encapsulación y liberación de fármacos, y propiedades antioxidantes, que contrarrestan el estrés oxidativo característico de estas lesiones. Para su fabricación se emplean distintos biomateriales como el alginato, gelatina, ácido hialurónico, pectina, quitosano, polietilenglicol y poli(etilenglicol)-diacrilato, los cuales suelen combinarse para obtener un balance óptimo entre biocompatibilidad, estabilidad y funcionalidad (Zhou et al., 2024).

Los avances recientes en biofabricación han impulsado el desarrollo de apósitos personalizados mediante bioimpresión 3D, una técnica que permite construir andamios capa por capa con geometrías controladas y adaptadas a las necesidades del paciente. Asimismo, dentro los apósitos desarrollados mediante técnicas avanzadas se ha integrado fármacos, extractos de origen natural, nanopartículas e incluso células madre, con el fin de potenciar las propiedades terapéuticas de los biomateriales. Entre las alternativas naturales se encuentra la sangre de grado, una resina vegetal de origen amazónico con reconocidas propiedades cicatrizantes, inmunomoduladoras, analgésicas, antioxidantes y antiinflamatorias (Jura-Morawiec & Tulik, 2016; Namjoyan et al., 2015). Actualmente, incorporado sangre de grado en parches creados con electrohilado de quitosano y policaprolactona para el tratamiento de heridas (Irani et al., 2024); sin embargo, no se encontrado estudios donde se haya investigado la incorporación de sangre de grado en parches de hidrogel fabricados con impresión 3D, lo cual muestra un punto de innovación.

OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar un apósito de hidrogel en forma de andamio para terapia avanzada que sea eficiente y seguro para el tratamiento de úlceras por pie diabético empleando técnicas de fabricación disponibles en el contexto peruano.

Objetivos específicos

- Preparar hidrogeles utilizando materiales disponibles y optimizar la formulación junto con los parámetros de impresión.
- Diseñar e implementar un apósito o andamio para tratamiento de heridas crónicas.
- Caracterizar las propiedades reológicas del hidrogel al incluir sangre de grado.
- Caracterizar la capacidad de absorción del andamio.
- Caracterizar la liberación controlada de sangre de grado desde el andamio.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

El presente capítulo presenta una revisión de la literatura existente que sustenta la necesidad y relevancia de diseñar y desarrollar alternativas tecnológicas para el tratamiento de heridas crónicas, en particular de úlceras por pie diabético y el contexto tecnológico con los diferentes niveles de desarrollo tecnológico de estos dispositivos en la actualidad.

1.1 Las heridas crónicas y sus tratamientos disponibles

Las heridas se clasifican como agudas o crónicas; las heridas agudas pasan por los períodos normales de recuperación de la herida en el cual la reparación es usualmente un mes. A diferencia de las heridas crónicas que parecen ser más complicadas y experimentan un periodo más prolongado para curar (Radmanesh et al., 2022). Los tipos de heridas crónicas pueden ser úlceras arteriales, úlceras por presión, úlceras venosas y úlceras de pie diabético (Figura 1) (Nunan et al., 2014; Pyun et al., 2015)

La cicatrización de heridas es un proceso complejo que consta de cuatro etapas principales: hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación. La primera respuesta inmediata a la lesión es la hemostasia, el proceso en el que la pérdida de sangre se mantiene en el lugar de la herida. La segunda etapa se llama fase inflamatoria y comienza con la emisión de enzimas proteolíticas y citoquinas proinflamatorias sobre las células inmunitarias invadidas a la zona de la herida. Estas células inflamatorias generan especies reactivas de oxígeno (ROS). La tercera etapa es una proliferación en la que, por fase de epitelización, se forma un nuevo tejido de granulación y comienza a crecer en el área de la herida, formando una nueva matriz extracelular (ECM, por sus siglas en inglés). Finalmente, la última etapa de la curación es la remodelación. Durante esta fase, la composición de los cambios de la matriz y el colágeno tipo III se reemplaza por el tipo I, lo que conduce a un aumento de la nueva resistencia a la tracción del tejido (Moeini et al., 2020).

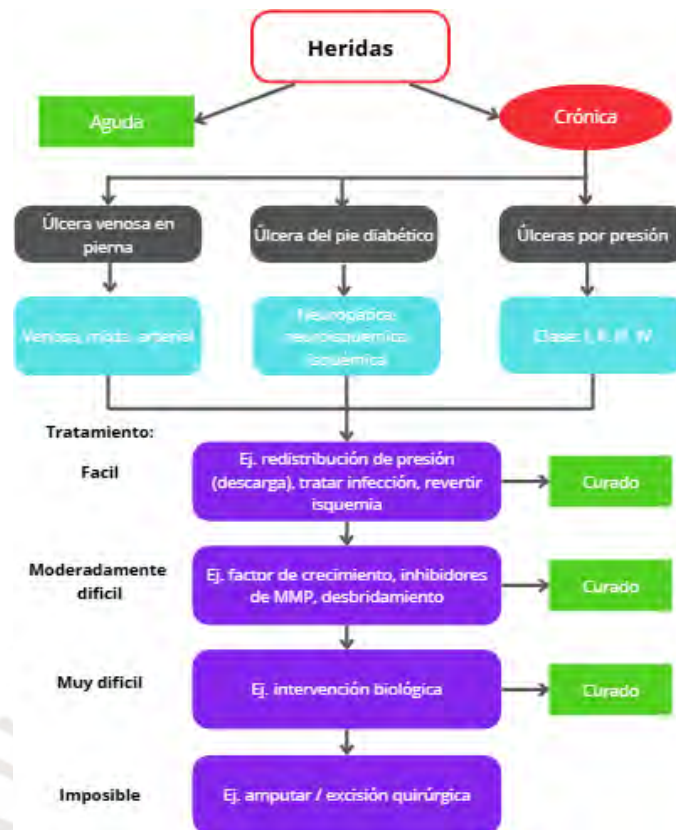


Figura 1. Tipos de heridas (Nunan et al., 2014)

En el caso de las úlceras de pie diabético, se da una reducción de antioxidantes y un aumento del estrés oxidativo (desequilibrio de ROS) que impulsan las complicaciones de las úlceras diabéticas del pie (UPD). Estos factores en conjunto contribuyen a la respuesta alterada a la cicatrización de heridas en pacientes diabéticos (Zhang et al., 2021).

Dentro de los tratamientos actuales para heridas crónicas se tiene a los tratamientos estándares y avanzados. Los tratamientos estándares incluyen el desbridamiento y la administración de fármacos. Sin embargo, las terapias estándar a menudo no son suficientes para prevenir la progresión de la herida de leve a moderada, por lo que son necesarias las terapias avanzadas. Las terapias avanzadas se administran con el propósito de disminuir el riesgo de reinfección y optimizar la eficacia del proceso de cicatrización de heridas (Glover et al., 2021). Los tratamientos avanzados para las heridas crónicas incluyen apósitos delgados, hidrocoloides, espumas e hidrogeles (Casado et al., 2020). Por lo tanto, existe una brecha tecnológica en dispositivos para el tratamiento de heridas crónicas que permitan un balance de costo-beneficio y bienestar del paciente.

1.2 Tecnologías para el tratamiento de heridas crónicas

1.2.1 Uso de los apósitos de hidrogel

Los hidrogeles se han definido como sistema de dos o múltiples componentes que consisten en una red tridimensional de cadenas de polímeros y agua que llena el espacio entre macromoléculas. Los hidrogeles tienen la capacidad de absorber agua y no se disuelve en esta. Esta capacidad de absorber se debe a la presencia de grupos funcionales hidrofílicos (Ahmed, 2015). En el caso del tratamiento de heridas UPD los hidrogeles tienen distintas ventajas. En primer lugar, los hidrogeles pueden absorber y retener el exudado de la herida, ayudando a reducir la inflamación y minimizar el crecimiento bacteriano. Otra de las ventajas es su capacidad para liberar agentes bioactivos, como factores de crecimiento para mejorar la cicatrización de heridas y agentes antimicrobianos para prevenir infecciones; así como fármacos y facilitar la curación simultáneamente para acelerar el proceso de curación (Ko & Liao, 2023).

1.2.2 Métodos de fabricación avanzada de apósitos de hidrogel

Los hidrogeles se pueden fabricar por métodos físicos, químicos, métodos de autoensamblaje y métodos híbridos. Sin embargo, nuevas tecnologías de fabricación como la bioimpresión 3D se están utilizando para la ingeniería de tejidos para proporcionar formas y estructuras personalizadas. A continuación se presenta un resumen de los métodos utilizados:

- **Electrohilado:** El electrohilado (Figura 2a) es un proceso para obtener fibras de polímero, cerámica, metales y compuestos a partir de soluciones, dispersiones o fundidos, mediante la aceleración de un chorro líquido a través de un campo eléctrico. Este método permite crear membranas fibrosas con alta porosidad, ideales para imitar la matriz extracelular (ECM) y como andamios en aplicaciones de tratamiento de UPD. Los parámetros pueden ajustarse para optimizar la reproducibilidad y las características del andamio, como la carga de fármacos y la estructura porosa (Chen et al., 2019; Glover et al., 2021).
- **Modelado por deposición fundida (FDM):** El modelado por deposición fundida (Figura 2b) es una tecnología donde se utilizan termoplásticos extruidos en filamentos para depositarlos según un patrón específico generado previamente en CAD. Esta

técnica permite fabricar andamios de diversos materiales poliméricos, con propiedades mecánicas prometedoras y sin citotoxicidad. Es escalable, permite la producción rápida y puede emplearse en combinación con otras técnicas como el espumado con gas para mejorar la resolución y las propiedades mecánicas (Gebisa & Lemu, 2018; Glover et al., 2021).

- **Bioimpresión 3D:** La bioimpresión 3D (Figura 2c) utiliza biotintas para imprimir andamios capa por capa, permitiendo la creación de diseños personalizados con alta repetibilidad. Esta técnica es parte de la fabricación aditiva y puede incluir métodos basados en inyección de tinta, extrusión y láser. Ofrece ventajas como alta porosidad, soporte para la adhesión y proliferación celular, y la capacidad de cargar células y factores de crecimiento. Es particularmente adecuado para aplicaciones que requieren estructuras que imitan órganos o tejidos específicos (Glover et al., 2021; Kroyou et al., 2019).

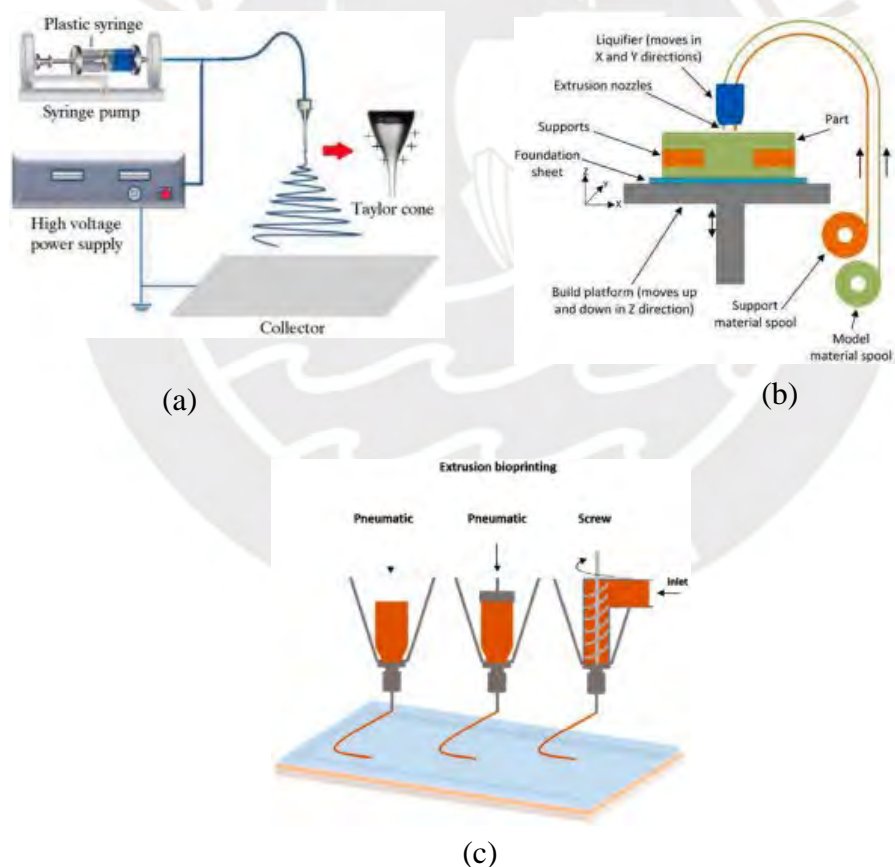


Figura 2. Métodos de fabricación avanzada. (a) Electrohilado (b) Modelado por deposición fundida (FDM) (c) Bioimpresión 3D (Glover et al., 2021)

1.2.3. Biomateriales utilizados para los apósitos en forma de andamio

El diseño de apósitos en forma de andamio requiere del uso de biomateriales capaces de reproducir, en la medida de lo posible, las funciones de la matriz extracelular y proporcionar un entorno favorable para la cicatrización de heridas crónicas como las úlceras por pie diabético. En este contexto, se han utilizado polímeros como el alginato, la gelatina, el ácido hialurónico, el quitosano, la pectina, polietilenglicol y poli(etilenglicol)-diacrilato, los cuales ofrecen distintas ventajas y limitaciones. A continuación, se describen las principales características de los biomateriales utilizados en la fabricación de apósitos de hidrogel en forma de andamio, destacando sus propiedades más relevantes para aplicaciones biomédicas y la Tabla 1 se muestra un resumen general.

Alginato de sodio:

El alginato de sodio es un biopolímero natural extraído de algas pardas. Se compone de dos unidades monoméricas, el ácido manurónico (M) y el ácido gulurónico (G), que forman largas cadenas con carga negativa (Axpe & Oyen, 2016) . Este material es ampliamente utilizado debido a su capacidad de absorber y retener agua, así como de permitir la difusión de moléculas hacia el interior del gel. Estas propiedades lo convierten en un candidato ideal para el desarrollo de biotintas en bioimpresión 3D. Cuando se combina con soluciones que contienen cationes multivalentes (como calcio o bario), el alginato se reticula de manera iónica y forma hidrogeles tridimensionales. Dichas estructuras ofrecen un ambiente similar a la matriz extracelular (ECM), además de otorgar buena capacidad de impresión, estabilidad y resistencia mecánica (Pahlevanzadeh et al., 2020) .

Ácido hialurónico:

El ácido hialurónico (HA) es un glicosaminoglicano compuesto por repeticiones de ácido glucurónico y N-acetil-D-glucosamina. Se encuentra de forma natural en la matriz extracelular y cumple funciones clave en procesos biológicos como la regulación del comportamiento celular, la reducción de la inflamación, la angiogénesis y la cicatrización de heridas. Sin embargo, una de sus limitaciones es su rápida degradación dentro del organismo. Por ello, suele modificarse químicamente o reticularse mediante sus grupos hidroxilo y

carboxilo, lo que permite mejorar su estabilidad y ampliar sus aplicaciones en ingeniería de tejidos (Zhou et al., 2024).

Quitosano:

El quitosano se obtiene a partir de la desacetilación de la quitina, presente en exoesqueletos de crustáceos, insectos y también en hongos. Su estructura está formada por unidades de glucosamina y N-acetilglucosamina unidas por enlaces β -(1-4). Gracias a sus propiedades de biocompatibilidad, biodegradabilidad, actividad antibacteriana y afinidad celular, es un material muy atractivo para la fabricación de hidrogeles aplicados en medicina regenerativa. Estos hidrogeles, además, pueden presentar capacidad de autorreparación, lo que los hace útiles en aplicaciones biomédicas avanzadas. No obstante, debido a la heterogeneidad de su estructura, los hidrogeles de quitosano suelen presentar una resistencia mecánica limitada (Naghieb et al., 2024).

Pectina:

La pectina es un polisacárido de origen vegetal presente en las paredes celulares. Está compuesta principalmente por ácidos galacturónicos con grupos carboxilo parcialmente esterificados. Su capacidad de formar geles la convierte en un biomaterial interesante para aplicaciones médicas, especialmente en el cuidado de heridas. Puede retener y transportar moléculas como proteínas, fármacos o células, y gracias a su naturaleza hidrofílica, interactúa con los exudados de las heridas formando un gel blando que facilita su eliminación y control. Además, posee propiedades antiinflamatorias que favorecen la cicatrización, lo que la hace especialmente útil en el tratamiento de heridas crónicas, como las asociadas a la diabetes (Aliyeva et al., 2024).

Gelatina:

La gelatina es un polímero peptídico natural derivado de la hidrólisis parcial del colágeno, proceso que puede realizarse mediante tratamientos ácidos, alcalinos o en agua caliente. Su estructura mantiene similitud con la del colágeno, lo que le otorga propiedades de biocompatibilidad, biodegradabilidad, baja inmunogenicidad y ausencia de citotoxicidad. Además, es un material sensible al calor que presenta una transición reversible sol-gel, característica que lo hace útil en aplicaciones biomédicas (Jiang et al., 2023). Su solubilidad

en agua se debe a la abundancia de grupos hidrófilos capaces de formar enlaces de hidrógeno, lo que le permite interactuar favorablemente con el entorno biológico (Mikhailov, 2023). Gracias a estas propiedades, la gelatina no solo compensa la rotura del tejido alrededor de una herida, sino que también actúa como un sustrato natural que favorece la formación de matriz extracelular (ECM), convirtiéndola en un material ideal para el diseño de apósitos y sistemas destinados a la cicatrización de la piel (Cao et al., 2024).

Polietilenglicol:

El polietilenglicol (PEG) es un polímero hidrofílico sintetizado a partir del óxido de etileno y es ampliamente utilizado en biomedicina debido a su biocompatibilidad, baja toxicidad y alta solubilidad en agua, características que lo hacen ideal para aplicaciones en la cicatrización de heridas. Una de sus principales ventajas es la capacidad de formar hidrogeles tridimensionales, especialmente a partir de derivados multi-ramificados (4, 6 u 8 brazos), que permiten ajustar propiedades mecánicas como rigidez, elasticidad y degradación en función de las necesidades clínicas. Estos hidrogeles mantienen un ambiente húmedo óptimo para la cicatrización, favoreciendo la migración celular y la regeneración del tejido. Además, el PEG puede funcionalizarse con grupos reactivos (catecol, dopamina, acrilato o maleimida) para conferir propiedades bioadhesivas, facilitando el cierre de heridas y la unión a tejidos biológicos. Otra propiedad destacada es su capacidad para actuar como sistema de liberación controlada, ya que los hidrogeles de PEG pueden incorporar fármacos, antibióticos o factores de crecimiento y liberarlos de forma sostenida en el sitio de la herida. Finalmente, la superficie recubierta con PEG reduce la adhesión bacteriana, disminuyendo el riesgo de infección (Hutano, 2014).

Tabla 1. Biomateriales utilizados para la fabricación de apósitos de hidrogel

Materiales	Descripción	Ventajas	Desventajas
Alginato de sodio	Polisacárido natural derivado de las paredes celulares de algas marrones.	<ul style="list-style-type: none"> - Es biocompatible y biodegradable. - Tiene propiedades de mucoadhesión. - Tiene alta absorción, lo que limita la secreción de heridas y reduce la contaminación bacteriana. 	<ul style="list-style-type: none"> -Baja fidelidad de forma y colapso estructural. -Baja proliferación celular. -Propiedades mecánicas deficientes.
Ácido hialurónico	Glicosaminoglicano aniónico no sulfatado y componente de la matriz extracelular (ECM)	<ul style="list-style-type: none"> -Material altamente biocompatible. -La degradación de este material promueve la angiogénesis. 	<ul style="list-style-type: none"> - Necesita ser modificado químicamente para ser bio imprimible.
Quitano	Polisacárido natural derivado de la N-desacetilación alcalina de la quitina y principal componente estructural del exoesqueleto de los crustáceos	<ul style="list-style-type: none"> -Efectos antimicrobianos y antifúngicos -Presenta acción homeostática. -Permite la administración de fármacos. 	<ul style="list-style-type: none"> -Por si solo tiene baja resistencia mecánica.
Pectina	Polisacárido aniónico extraído de las paredes celulares de las plantas.	<ul style="list-style-type: none"> - Es biocompatible y mucoadhesivo. -Presenta acción homeostática. -Permite la administración de fármacos. 	<ul style="list-style-type: none"> -Alta tasa de degradación. -Baja resistencia mecánica.
Gelatina	Polímero proveniente del colágeno.	<ul style="list-style-type: none"> - Degradación controlada. - Al usarse con SA, incrementa las propiedades mecánicas. - Permite la adhesión celular debido a sus secuencias RGD. 	<ul style="list-style-type: none"> - Por si solo presenta complicaciones al modificar la temperatura de impresión y la viscosidad.
Poli(etilenglicol) (PEG)	Polímero sintético a base de éter.	<ul style="list-style-type: none"> -Propiedades hidrófilas. -Al usarse con SA, incrementa las propiedades mecánicas -Biocompatible, no inmunogénico y flexible. 	<ul style="list-style-type: none"> - Baja adherencia celular.
Poli(etilenglicol)-diacrilato (PEGDA)	Compuesto derivado del PEG que contiene dos grupos acrilato en sus extremos.	<ul style="list-style-type: none"> -Buena biocompatibilidad. -Alta absorción de agua. -Fotopolimerización que se adapta a las técnicas de fabricación 3D 	<ul style="list-style-type: none"> - Baja adherencia celular.

1.2.4 Apósitos de hidrogel en desarrollo e investigación

Se han desarrollado diversos apósitos de hidrogel en forma de andamio utilizando una variedad de polímeros fabricados con tecnologías de fabricación avanzada para el tratamiento de úlceras por pie diabético; por ello, se han revisado un total de 9 artículos y se analizarán en base a la microestructura, propiedades mecánicas, absorción, degradación y viabilidad celular. En la tabla 2, se menciona un resumen de los resultados encontrados.

Tabla 2. Resumen de apósitos de hidrogel en desarrollo e investigación

Material	Aditivo	Preparación	Microestructura	Propiedades mecánicas	Hinchazón y absorción de agua	Degradación	Autor
Pectina + quitosano	LDC	Bioimpresión 3D	No específica	No específica	No específica	No específica	(Long et al., 2019)
AS + PEG	SC	Bioimpresión 3D	Tamaño de poro: 136,12 μm	T: 14,6 a 6,16 MPa.	ESR: 240% en 7 días	30% en 5 días	(Ilhan et al., 2020)
Quitosano	-	FDM	Espaciado de filamento: 200 μm	No específica	No específica	No específica	(Intini et al., 2018)
GelMA + PHBV	EGF	Electrohilado	Diámetro: 3,5 \pm 1,8 μm	T: 2,46 \pm 0,3 MPa YM: 14,84 \pm 2,52 MPa	ESR: 280% en 5 días	No específica	(Augustine et al., 2021)
PLGA + AS	-	Bioimpresión 3D + Electrohilado	No específica	T: 2753,58 \pm 92,25 kPa YM: 531,11 \pm 12,6 kPa	No específica	20% en 4 semanas	(Wang et al., 2019)
Gel	MH	Bioimpresión 3D	Área de porosidad: 0,26 \pm 0,09 mm^2	No específica	No específica	No específica	(Brites et al., 2023)
AS + Gel + OSA	CaCO ₃ microesf.	Bioimpresión 3D	No específica	T: 7,678 \pm 1,108 kPa	Índice de hinchazón: 2046 \pm 21 %	No específica	(Lin et al., 2023)
AS + Gel	SAB	Bioimpresión 3D	Área de porosidad: 17,39 \pm 2,04 mm^2	T: 2,13 \pm 0,23 MPa	Índice de hinchazón: >400%	No específica	(Lihao et al., 2024)
HA-MA+ HA-SH	Nafcilina	Bioimpresión 3D	Tamaño de poro: 30 - 50 μm	No específica	ESR: 94,86 % \pm 1,26 % en 6h	>55% en 3 días	(Si et al., 2019)

*Siglas: AS: alginato de sodio; PEG: polietilenglicol; GelMA: gelatina metacrilada; PHBV: poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato); OSA: alginato de sodio oxidado; PEGDA: polietilenglicol diacrilato; Gel: gelatina; HA: ácido hialurónico; HA-MA: ácido hialurónico metacrilado; HA-SH: ácido hialurónico modificado con tiol; PECL: policaprolactona-polietilenglicol; LDC: lidocaína; SC: satureja coneifolia; EGF: Factor de crecimiento epidérmico; MH: Miel de manuka; CaCO₃ microesf.: microesferas de CaCO₃; SAB: Ácido Salvinólico tipo B; YM: módulo de Young; T: resistencia a la tracción.

Una estructura tridimensional que cuente con poros proporciona una mejor adhesión y proliferación celular. En el caso de los apósitos para heridas, una estructura porosa facilita el movimiento celular. Se ha analizado que el mejor rango de tamaño de poro al que pueden unirse las células de fibroblastos es de 40 a 150 μm . Los estudios analizados en la mayoría de

los casos incorporan aditivos y estos pueden afectar la microestructura; por ejemplo, Long et al. (2019) encontraron que al encapsular LDC el tamaño de poro de los apósitos se redujo. Asimismo, Ilhan et al. (2020) obtuvieron un tamaño de poro 136,12 μm al utilizar 1% de SC, el cual fue el más próximo al rango recomendado; mientras que, Si et al. (2019) obtuvieron tamaños de poro entre 30 y 50 μm al modificar químicamente el HA. Otro estudio realizado por Augustine et al. (2021), encontró que al añadir GelMA modificó las fibras de PHBV mostrando un diámetro de $3,5 \pm 1,8 \mu\text{m}$. A parte del tamaño de poro, se han analizado el área de porosidad como el caso de Brites et al. (2023), quienes obtuvieron mejores resultados en la calidad de los apósitos al incrementar MH con un área de porosidad de $0.26 \pm 0.09 \text{ mm}^2$. (Lihao et al., 2024) obtuvo un tamaño de poro uniforme y mencionan que el área de vacío con 1,5 % de SAB fue $17,28 \pm 1,78 \text{ mm}^2$.

Las propiedades mecánicas de un apósito son importantes para proporcionar resistencia al área afectada y prevenir eventos adversos durante los movimientos musculares. Si el apósito tiene un módulo de Young similar al de la piel, puede adaptarse eficazmente a la herida. Por ejemplo, Intini et al. (2018) obtuvieron como resultado un módulo de Young de 105 kPa, el cual cumple con lo mencionado. Dentro de los artículos revisados, se han combinado materiales para mejorar las propiedades mecánicas; por ejemplo, Augustine et al. (2021) adicionaron GelMA a PHBV, el cual mejoró la resistencia a la tracción y el módulo de Young obteniendo como resultado $2,46 \pm 0,3 \text{ MPa}$ y $14,84 \pm 2,52 \text{ MPa}$, respectivamente. Asimismo, Wang et al. (2019) adicionaron PLGA a alginato para obtener mejores propiedades mecánicas.

Los exudados de las heridas contienen enzimas que degradan los tejidos y pueden obstruir la proliferación de las células y descomponer los materiales de la matriz extracelular. Una alta absorción promueve la eliminación de estos exudados propiciando la cicatrización. La absorción de los apósitos se ha calculado mediante la relación de hinchamiento en equilibrio (ESR, por sus siglas en inglés). Long et al. (2019) obtuvo andamios con un ESR de 2832%, el cual disminuyó al incrementar la cantidad de LDC (2265 %). Sin embargo, en el estudio realizado por Ilhan et al. (2020), la absorción se incrementó al usar SC. Lin et al. (2023) y Lihao et al. (2024), utilizaron alginato en sus apósitos; sin embargo, este material por sí solo no mantiene su estructura estable en la absorción; por ello, utilizaron gelatina para mejorar esta propiedad. La degradación es una propiedad importante para la regeneración del tejido, ya que una degradación controlada permite una regeneración eficiente. En los estudios

analizados, se han sumergido los andamos en PBS para evaluar la degradación. Wang et al. (Wang et al., 2019) diseñaron un apósito bicapa, el cual tiene distintas tasas de degradación en cada capa: la capa de alginato se degradó en 4 semanas y la capa de PGLA se degradó un 20% en 4 semanas; el resultado obtenido es ideal puesto que la herida estará en contacto con la capa de alginato. La degradación también está ligada con la absorción, ya que a una mayor absorción produce que las cadenas de polímeros se muevan libremente y haya mayor probabilidad de ruptura (Ilhan et al., 2020).

La liberación de fármacos en los apósitos es una propiedad fundamental para promover la cicatrización, ya que permite una liberación controlada y sostenida del agente terapéutico en el sitio de la herida. En el estudio de Long et al. (2019), al encapsular clorhidrato de lidocaína (LDC) en hidrogeles de quitosano y pectina mediante bioimpresión 3D, se observó una liberación rápida en la primera hora, seguida de una liberación sostenida durante las 4 horas posteriores, alcanzando valores acumulativos de 88, 91 y 94 % para las formulaciones LDC-2, LDC-5 y LDC-10, respectivamente. Esta liberación se atribuye a la naturaleza termosensible del sistema pectina–quitosano, lo cual favorece la difusión del fármaco. Por otro lado, Ilhan et al. (2020) incorporaron extracto metanólico de *Satureja cuneifolia* (SC) en hidrogeles de alginato de sodio y polietilenglicol preparados por bioimpresión 3D, obteniendo una liberación rápida durante los primeros 30 minutos, con valores acumulativos de 59,08 %, 79,23 % y 50,07 % para concentraciones de 0,5, 1 y 2 % (p/v) de SC, respectivamente. Los autores resaltan que esta rápida disponibilidad del compuesto bioactivo resulta beneficiosa en la fase inflamatoria del proceso de cicatrización, debido a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas.

La viabilidad celular es un factor crítico en los apósitos para heridas, ya que las células como los fibroblastos deben de sobrevivir y proliferar al estar en contacto con este apósito. En los estudios revisados se han realizado diversos métodos para evaluar la viabilidad celular. Por ejemplo, Ilhan et al. (2020) utilizaron el ensayo MTT para evaluar la viabilidad del apósito en fibroblasto de ratón L929 obteniendo valores de absorbancia máximos en el tercer día. Intini et al. (2018) también utilizó el mismo ensayo para evaluar la viabilidad en fibroblastos Nhdf y queratinocitos HaCaT. En el caso de Augustine et al. (2021), también se realizó el ensayo vivo/ muerto usando Calceína AM y yoduro de propidio (PI) y los ensayos mostraron un incremento en la viabilidad de los apósitos que utilizaron EGF. Si et al. (2019) también observaron un incremento de la viabilidad al utilizar el fármaco nafcilina. Otros estudios

emplearon el ensayo CCK-8 para evaluar la proliferación celular. Por ejemplo, Wang et al. (2019) y Lin et al. (2023) reportaron valores de proliferación significativamente más altos al utilizar combinaciones de los materiales seleccionados, en comparación con el uso de estos materiales de forma individual. En resumen, existen diferentes soluciones tecnológicas que han sido o pueden proponerse para tratar las úlceras por pie diabético. Sin embargo, aquellas que se encuentran a niveles de madurez tecnológica mayores no son tan eficientes ni costo-efectivas como las de niveles de madurez tecnológica menores. Por lo tanto, es importante continuar estos desarrollos para poder atender esta importante fuente de morbilidad y discapacidad entre nuestros adultos mayores.

1.2.5 Uso de la sangre de grado para tratamiento de heridas

Durante la evolución de las plantas, la adaptación a condiciones adversas ha implicado la aparición de diversos mecanismos de defensa frente a estreses bióticos y abióticos. Entre estos mecanismos se encuentra la secreción de exudados, como resinas y látex, que cumplen funciones protectoras contra infecciones por patógenos, ataques de insectos y daños mecánicos. Dentro de este contexto, existe un grupo reducido de especies vegetales que producen una sustancia rojiza conocida como sangre de grado o *dragon's blood*, la cual ha sido utilizada desde la antigüedad por sus notables propiedades medicinales.

La sangre de grado es una secreción roja producida por plantas de los géneros *Croton*, *Daemonorops*, *Dracaena* y *Pterocarpus*, las cuales son endémicas de regiones tropicales de Asia, África, América Central y del Sur. Esta sustancia puede clasificarse como resina o látex, según su modo de secreción y composición química, siendo esta última específica de cada especie. La sangre de grado puede producirse de manera constitutiva, almacenándose en estructuras anatómicas preformadas como laticíferos o canales secretores, o bien por inducción, en respuesta a estímulos como heridas, infecciones o presencia de insectos. En *Dracaena spp.*, por ejemplo, la producción de sangre de grado ocurre tras eventos traumáticos que inducen la síntesis y acumulación del exudado en las células adyacentes al tejido dañado, cumpliendo así un papel de defensa inducida. En contraste, en *Croton spp.* y *Pterocarpus spp.*, esta secreción tiene un rol defensivo constitutivo, fluyendo con facilidad al corte del tallo o corteza.

Desde el punto de vista fitoquímico, la sangre de grado posee una composición compleja y variable. Las secreciones de *Croton spp.* son consideradas látex y están compuestas principalmente por protoantocianidinas poliméricas, acompañadas de diterpenos y fenoles simples. En el caso de *Dracaena* y *Daemonorops*, la sangre de grado se clasifica como una resina fenólica con alto contenido de compuestos bioactivos. Estas sustancias tienen funciones protectoras no sólo frente a organismos externos, sino también frente a condiciones ambientales extremas como la desecación o temperaturas elevadas.

Además de su importancia ecológica, la sangre de grado constituye un recurso natural de gran valor medicinal. En la medicina tradicional latinoamericana y asiática, se ha empleado por siglos para tratar heridas, infecciones y trastornos inflamatorios. Diversos estudios científicos modernos han confirmado sus efectos cicatrizantes, inmunomoduladores, analgésicos, antibacterianos, antiinflamatorios, antioxidantes y anticancerígenos, así como su potencial citotóxico frente a ciertas líneas celulares tumorales. Su eficacia terapéutica se atribuye a compuestos como las protoantocianidinas, taspina, alcaloides, catequinas, epigalocatequinas y terpenoides (Jura-Morawiec & Tulik, 2016; Namjoyan et al., 2015).



CAPÍTULO 2

DISEÑO DE ANDAMIO E INCORPORACIÓN DE SANGRE DE GRADO

En este capítulo, se presentan los detalles metodológicos que permitieron diseñar e implementar el andamio con sangre de grado, así como la evaluación de sus características físicas y de liberación controlada.

2.1. Materiales

En este estudio se utilizaron diferentes materiales biocompatibles. Se utilizó alginato de sodio de la marca Allevi® (Estados Unidos), que sirvió como biopolímero base con capacidad de formar enlaces entrecruzados en presencia de iones calcio. Asimismo, se utilizó gelatina tipo A, extraída de piel porcina, de la marca Sigma-Aldrich® (Estados Unidos) por sus propiedades estructurantes y gelificantes, especialmente útiles en aplicaciones de bioimpresión debido a su sensibilidad térmica. Por último se utilizó sangre de grado de la marca Sahena.

2.2. Preparación de hidrogeles de alginato y gelatina.

Se optó por utilizar cinco formulaciones que contienen alginato (Alg) y gelatina (Gel): Alg 3% - Gel 0% (A3G0), Alg 3% - Gel 2% (A3G2), Alg 3% - Gel 3% (A3G3), Alg 3% - Gel 5% (A3G5) y Alg 4% - Gel 5% (A4G5). El alginato se mantuvo a 3% en casi todas las concentraciones puesto que este actuará solo como un material que formará enlaces entrecruzados al interactuar con cloruro de calcio. La gelatina es un material que proporciona estabilidad mecánica y a temperaturas bajas puede comportarse como un sólido permitiendo la impresión en 3D. Al analizar estas concentraciones, se verá la influencia de la gelatina y el alginato en las propiedades mecánicas como la viscosidad.

Todas estas formulaciones fueron disueltas en agua ultrapura Milli Q a 1M en un agitador magnético con calefacción y sensor, ISOLAB® modelo 613.01.001. Se agitaron las mezclas durante 30 minutos a 60 °C y a una velocidad de 550 RPM. Asimismo, con la ayuda de una espátula se agilizo el proceso de mezcla.

2.2 Optimización de los parámetros de impresión de los hidrogeles.

2.2.2 Análisis de velocidad y presión

Los ensayos de bioimpresión fueron realizados utilizando la Bioimpresora Allevi 3. En primer lugar, se buscó encontrar la velocidad de impresión (en mm) y la presión (en psi) adecuadas para una impresión homogénea. Para ello, se utilizó un código en G-code (Figura 3) donde se dibujan líneas a distintas velocidades. Por cada formulación se utilizó el código para distintas presiones en el rango de 15 psi a 40 psi obteniendo líneas impresas de hidrogel de distinta velocidad y presión.

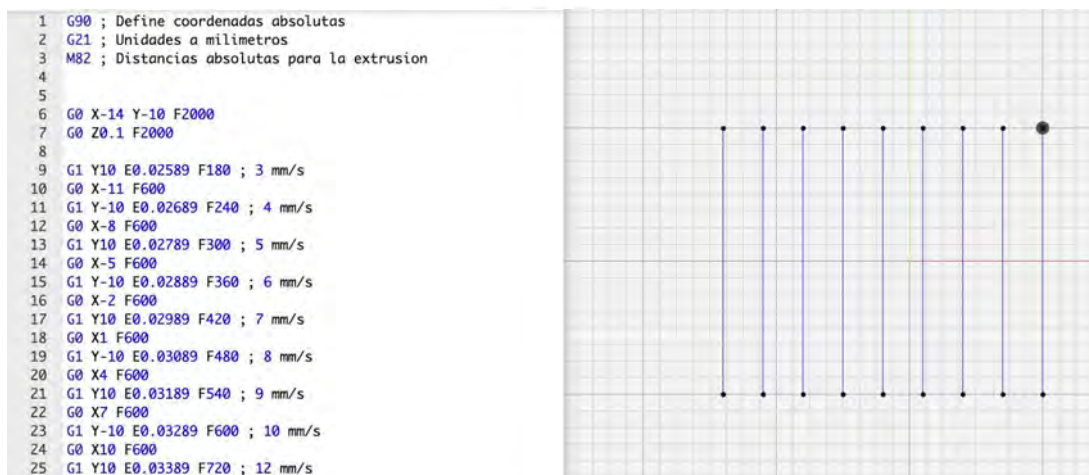


Figura 3. Código en G-code para imprimir líneas de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 y 12 mm/s

2.2.2 Análisis de macroporosidad

Una vez, se hallaron las velocidades y presiones requeridas por cada formulación se procedió a realizar un análisis de macroporo. Para lograr este ensayo se utilizó un código en G-code (Figura 4) en forma de rejilla en el cual la longitud de cada macroporo va incrementando desde 1 mm a 5 mm. La métrica de este análisis consiste en calcular el factor de poro (Ecuación 1).

```

1 M107
2 M104 S30 ; set temperature
3 G28 ; home all axes
4 G1 Z5 F5000 ; lift nozzle
5 M109 S30 ; set temperature and wait for it to be reached
6 G21 ; set units to millimeters
7 G90 ; use absolute coordinates
8 M82 ; use absolute distances for extrusion
9 G92 E0
10 G1 Z0.2 F720.000
11 G0 X15.000 Y15.000 F720.000
12 G1 X15 Y0 F720.000 E0.02689
13 G1 X14 Y0 F720.000 E0.02789
14 G1 X14 Y15 F720.000 E0.02889
15 G1 X12 Y15 F720.000 E0.02989
16 G1 X12 Y0 F720.000 E0.03089
17 G1 X9 Y0 F720.000 E0.03189
18 G1 X9 Y15 F720.000 E0.03289
19 G1 X5 Y15 F720.000 E0.03389
20 G1 X5 Y0 F720.000 E0.03489
21 G1 X0 Y0 F720.000 E0.03589
22 G1 X0 Y15 F720.000 E0.03689
23
24 G1 X0 Y15 Z0.4 F720.000
25
26 G1 X15 Y15 F720.000
27 G1 X0 Y15 F720.000 E0.02689
28 G1 X0 Y14 F720.000 E0.02789
29 G1 X15 Y14 F720.000 E0.02889
30 G1 X15 Y12 F720.000 E0.02989
31 G1 X0 Y12 F720.000 E0.03089
32 G1 X0 Y9 F720.000 E0.03189
33 G1 X15 Y9 F720.000 E0.03289
34 G1 X15 Y5 F720.000 E0.03389
35 G1 X0 Y5 F720.000 E0.03489
36 G1 X0 Y0 F720.000 E0.03589
37 G1 X15 Y0 F720.000 E0.03689

```

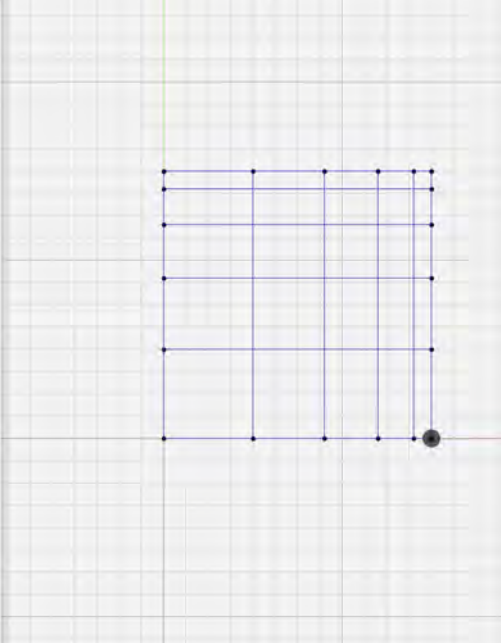


Figura 4. Código en G-code de ensayo de macroporo.

$$Pr = \frac{L^2}{16A}$$

Ecuación 1. Cálculo del índice de impresión

Las siglas Pr significan índice de impresión, L es el perímetro y A es el área de cada macroporo impreso. El valor de Pr es un indicador de la fidelidad de forma donde un valor de $Pr > 1$ y $Pr < 1$ indican formas redondeadas y no definidas respectivamente (Figura 5); por el otro lado, un valor de $Pr = 1$ implica un forma altamente definida (Ahmadi Soufivand et al., 2023); la representación gráfica del índice de impresión se puede observar en la Figura 3. Para el análisis de las dimensiones de los filamentos impresos y el tamaño de los macroporos se utilizó el software ImageJ® (versión 1.53k, National Institutes of Health, Bethesda, MD).

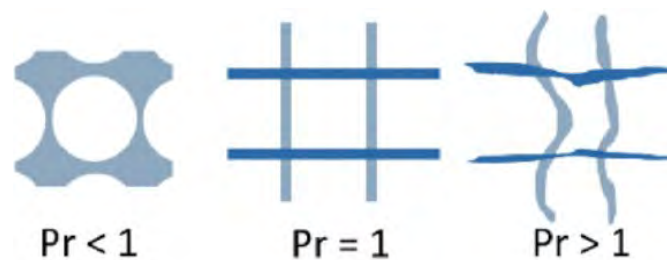


Figura 5. Representación del índice de impresión Pr (Jongprasitkul et al., 2022)

2.3 Preparación de hidrogel con sangre de grado

La preparación de los hidrogeles de alginato y sangre de grado se llevó a cabo la formulación que presentó mejores métricas de macroporo. El hidrogel se preparó mezclando el alginato y gelatina en polvo con agua ultrapura milli Q, luego se añadió 5% de sangre de grado utilizando una micropipeta. Se dejó mezclar por 30 minutos a una velocidad de 550 RPM a temperatura de 40 °C.

2.4 Caracterización reológica del hidrogel con sangre de grado:

Se realizaron ensayos de reología para evaluar las propiedades viscoelásticas y la viscosidad de los hidrogeles desarrollados, utilizando el reómetro Anton Paar Dynamic Mechanical Analyzer MCR 702e, ubicado en el laboratorio de Bioimpresión en Fabcore de la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP).

Se llevaron a cabo cuatro ensayos reológicos (Tabla 3) para comparar el comportamiento del hidrogel A3G4 sin y con sangre de grado que se mencionan a continuación:

2.4.1 Barrido de temperatura

El barrido de temperatura se realizó con el objetivo de determinar la transición sol-gel de los hidrogeles. Durante este ensayo se midieron los módulos viscoelásticos, módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdida (G''), en función de la variación de la temperatura. El procedimiento se realizó en el rango de 25 °C a 5 °C, aplicando una fuerza constante de 1 N. Esta prueba permitió identificar el punto crítico en el cual el hidrogel cambia de un comportamiento predominantemente líquido ($G'' > G'$) a uno sólido ($G' > G''$), lo que define la región de gelificación y brinda información sobre la estabilidad térmica de la formulación.

2.4.2 Test Oscilatorio: Barrido de amplitud

El ensayo de barrido de amplitud tuvo como finalidad identificar la región viscoelástica lineal (LVER), en la cual los módulos G' y G'' permanecen constantes a pesar del incremento progresivo en la deformación aplicada. Para ello, los hidrogeles se sometieron a una deformación entre 0,1 % y 100 %, a una frecuencia fija de 1 Hz y a una temperatura de 15 °C. Este análisis permitió establecer el rango en el que los materiales conservan su estructura interna sin que se produzcan daños significativos en su red polimérica, información

fundamental para determinar su resistencia mecánica y su potencial aplicación en procesos de bioimpresión.

2.4.3 Test de viscosidad

El ensayo de viscosidad se llevó a cabo con el fin de analizar la relación entre el esfuerzo cortante aplicado y la viscosidad aparente del hidrogel. Para ello, se evaluó el comportamiento reológico en un rango de tasas de corte entre $0,1 \text{ s}^{-1}$ y 100 s^{-1} , manteniendo una temperatura de $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Este estudio permitió determinar si el material presentaba un comportamiento pseudoplástico, caracterizado por la disminución de la viscosidad conforme aumenta el esfuerzo cortante. Dicho comportamiento resulta especialmente relevante para aplicaciones biomédicas, ya que facilita la extrusión del hidrogel durante la bioimpresión y asegura su posterior recuperación en reposo.

2.4.4 Test de recuperación tixotrópica

El ensayo de recuperación tixotrópica se ejecutó con el objetivo de evaluar la capacidad del hidrogel para recuperar su estructura interna después de ser sometido a un esfuerzo cortante elevado. Para ello, se alternaron intervalos de bajas y altas tasas de corte: en la primera etapa se aplicó un esfuerzo bajo para registrar la viscosidad inicial; posteriormente se sometió a un esfuerzo elevado que provoca la ruptura parcial de la red polimérica; y finalmente, se redujo nuevamente la tasa de corte para analizar el grado de recuperación de la viscosidad y de las propiedades viscoelásticas (G' y G''). Esta metodología permitió determinar la resiliencia estructural del hidrogel y evaluar si la incorporación de sangre de grado influye en su capacidad de autorrecuperación, aspecto crucial para su desempeño como apósito biofuncional o como material en procesos de impresión 3D.

Los parámetros de los ensayos de reología se resumen en la Tabla 3:

Tabla 3. Parámetros de los ensayos de reología

Tipo de ensayo	Parámetros
Barrido de temperatura	Rango de temperatura: 25 °C - 5 °C Fuerza: 1 N
Barrido de amplitud	Deformación de corte: 0,1 -100 % Frecuencia : 1Hz Temperatura: 15 °C
Ensayo de viscosidad	Tasa de corte: 0,1 s ⁻¹ - 100 s ⁻¹ Temperatura: 15 °C
Ensayo de recuperación tixotrópica	Temperatura: 15 °C Etapa descanso: - Deformación de corte: 0.01% - Frecuencia : 1Hz - Tiempo: 100 s Etapa de carga: - Deformación de corte: 200 % - Frecuencia : 1Hz - Tiempo: 100 s Etapa de recuperación: - Deformación de corte: 0.01% - Frecuencia : 1Hz - Tiempo: 100 s

2.5 Diseño e impresión del andamio.

El diseño detallado se realizó usando G-code. El diseño se desarrolló en base al valor del tamaño de macroporo de 2 mm. La impresión del andamio se realizó utilizando la impresora Allevi 3D. Los parámetros de velocidad se colocaron en el archivo de G-code y el valor de presión fue 25 psi.

2.6 Caracterización de la absorción del andamio.

El cálculo de absorción de líquido a partir del hidrogel se obtuvo a partir de un método gravimétrico. Para evitar la ruptura de los andamios se utilizó un soporte para los andamios (SPP) como se observa en la Figura 6. Este soporte se fabricó con PLA utilizando impresión 3D con un ancho de rejilla de 2 mm. En primer lugar, se imprimieron las muestras control y con sangre de grado; luego, estas muestras se liofilizaron utilizando el liofilizador Telstar LyoQuest. Posteriormente, se midieron los pesos de las muestras (W1). Cada muestra fue colocada en el SPP y llevada a la incubadora a 37 C, donde se colocaron en un recipiente con

PBS. Cada 1min, 5min, 10 min, 20 min, 30 min, 40 min y 1h se retiró el SPP y se calculó su peso (W2) y se realizó el cálculo de la capacidad de absorción del hidrogel (Ecuación 2).

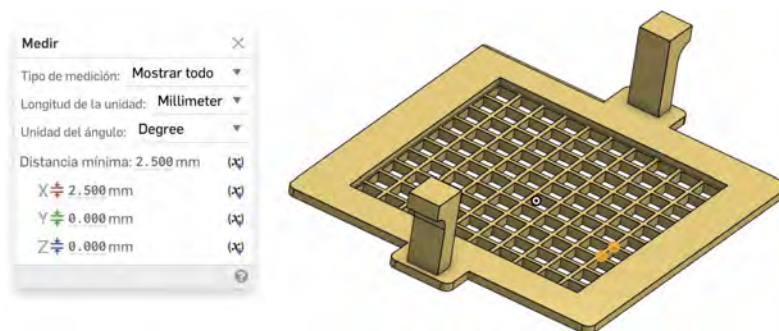


Figura 6. Soporte para los andamios a ser usados en el ensayo de absorción.

$$ESR = \frac{(W2 - W1)}{W1} \times 100$$

Ecuación 2. Capacidad de absorción del hidrogel

2.7 Liberación de sangre de grado

2.7.1 Curva de calibración

Para permitir la cuantificación de la liberación de sangre de grado, se realizó una curva de calibración de la sangre de grado disuelta en PBS. Esta curva de calibración se realizó en porcentajes de 1% hasta 0,005% de sangre de grado por triplicado. La absorbancia fue medida usando el espectrofotómetro UV-VIS de la marca PEAK Instruments serie T-9100 a una longitud de onda de 290 nm, donde se presenta la absorbancia máxima de la sangre de grado.

2.7.2 Liberación acumulada de sangre de grado

Para el ensayo de liberación de sangre de grado a partir del hidrogel de formulación Al3Gel4, se cortaron andamio de peso de 0.25 g. Se utilizaron andamios sin sangre de grado y andamio con sangre de grado. En los pocillos se añadió 2 ml de PBS como medio de liberación y se colocó la placa en la incubadora a 37 C. Cada 10 min, 20 min, 30 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h y 24 h se retiró los 2 ml de PBS de cada pocillo para la medición de la absorbancia usando el

espectrofotómetro y se reemplazó con PBS fresco. Usando los valores de absorbancia se calculó la cantidad de sangre de grado liberada en los tiempos mencionados y se graficó una curva de liberación acumulada.

2.7.3 Modelado matemático de la liberación

Para determinar el mecanismo de liberación del principio activo desde la forma farmacéutica, se aplicaron distintos modelos cinéticos dependientes de funciones matemáticas. Los modelos seleccionados fueron: orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer-Peppas descritos en la Tabla 4 (Dash et al., 2010), los cuales se ajustaron a los datos experimentales obtenidos en los estudios de liberación in vitro. Se hizo uso del valor de la correlación (R^2) para seleccionar cual de los modelos se ajustaba mejor a la liberación de sangre de grado.

Tabla 4. Modelos matemáticos de liberación de fármaco

Modelo	Ecuación	Descripción
Orden - cero	$Qt = Qo + Ko \cdot t$ <p> Qt: Cantidad de fármaco liberado Qo: Cantidad inicial de fármaco Ko: Constante de liberación </p>	Este modelo describe un proceso en el cual la velocidad de liberación del fármaco es constante, independientemente de su concentración inicial en el sistema. Este modelo es aplicable a sistemas de liberación que no se desintegran.
Primer-orden	$\log(Qt) = \log(Qo) - \frac{k1 \cdot t}{2.303}$ <p> Qt: Cantidad de fármaco liberado Qo: Cantidad inicial de fármaco $K1$: Constante de liberación </p>	El modelo de primer orden considera que la velocidad de liberación es proporcional a la cantidad de fármaco restante en el sistema. Este modelo es adecuado para describir sistemas en los que el fármaco se libera desde matrices porosas con fármacos hidrosolubles o donde la liberación ocurre por mecanismos de disolución proporcional.

Higuchi	$Qt = k_H \cdot t^{1/2}$ <p>Qt: Cantidad de fármaco liberado k_H: Constante de Higuchi</p>	Este modelo fue desarrollado para describir la liberación del fármaco desde sistemas matriciales, este modelo considera que el proceso de difusión es el principal mecanismo de liberación.
Korsmeyer-Peppas	$\frac{Qt}{Q_\infty} = k_{kp} \cdot t^n$ <p>Qt: Cantidad de fármaco liberado k_{kp}: Constante cinética del sistema n: exponente de liberación</p>	Este modelo empírico se aplica principalmente cuando el mecanismo de liberación no está completamente elucidado o cuando se presenta una combinación de mecanismos. Este modelo se ajusta con datos experimentales hasta un 60% de liberación. El valor del exponente n permite interpretar el mecanismo de liberación



CAPÍTULO 3

RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en la implementación del andamio diseñado y su evaluación mediante diferentes estrategias de caracterización físico-química.

3.1 Preparación de hidrogeles de alginato y gelatina

Se prepararon los hidrogeles con las concentraciones mencionadas utilizando el agitador magnético (Figura 4 b) y con la ayuda de la balanza analítica (Figura 4 a). Realizando una extrusión manual se verificó cuáles de los hidrogeles mantenían su forma al presionar el pistón. Se observó que el alginato solo no proporciona una forma definida y se comporta como un líquido. Al añadir la gelatina, se observó una mejor fidelidad de forma al extruir manualmente.



Figura 7. Proceso de preparación de hidrogeles de alginato y gelatina. (a) Medición del peso de la gelatina y alginato en polvo. (b) Agitación con agua milliq de la gelatina y el alginato



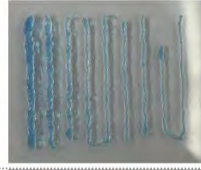


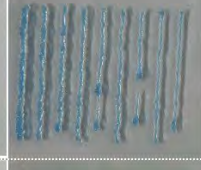
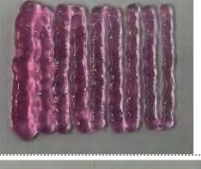
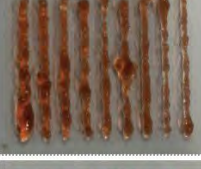
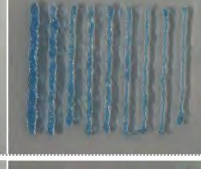


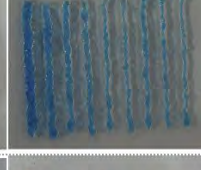


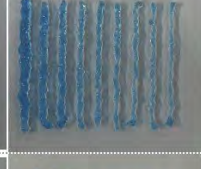
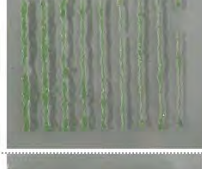



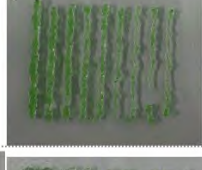

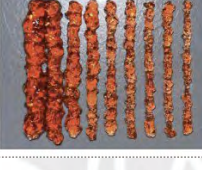



Tabla 5. Inspección visual de las formulaciones de hidrogel

Alg (%)	Gel (%)	Resultado
3	0	No imprimible
3	2	Imprimible
3	3	Imprimible
3	4	Imprimible
3	5	Imprimible

3.2 Optimización de los parámetros de impresión

Se realizó un análisis del ancho del filamento al variar la velocidad de impresión y la presión ejercida utilizando una aguja de 0,2 mm (Tabla 6). En todas las formulaciones de los hidrogeles de alginato con gelatina se observó un incremento del ancho de filamento a incrementar la presión. Asimismo, al incrementar la velocidad de impresión el ancho de filamento se redujo como se puede evidenciar en las Figuras 8, 9, 10 y 11 Para cada formulación, se seleccionaron los parámetros de velocidad y presión adecuados para garantizar una impresión homogénea y con menor ancho de filamento (Tabla 7).

Tabla 6. Optimización de parámetros de impresión

Presión	3% Alg 2% Gel	3% Alg 3% Gel	3% Alg 4% Gel	3% Alg 5% Gel	4% Alg 5% Gel
15 psi				NO EXTRUYE	NO EXTRUYE
17 psi				NO EXTRUYE	NO EXTRUYE
20 psi				NO EXTRUYE	NO EXTRUYE
23 psi					NO EXTRUYE
25 psi	EXTRUSION EXCESIVA				
30 psi	EXTRUSION EXCESIVA				
40 psi	EXTRUSION EXCESIVA				

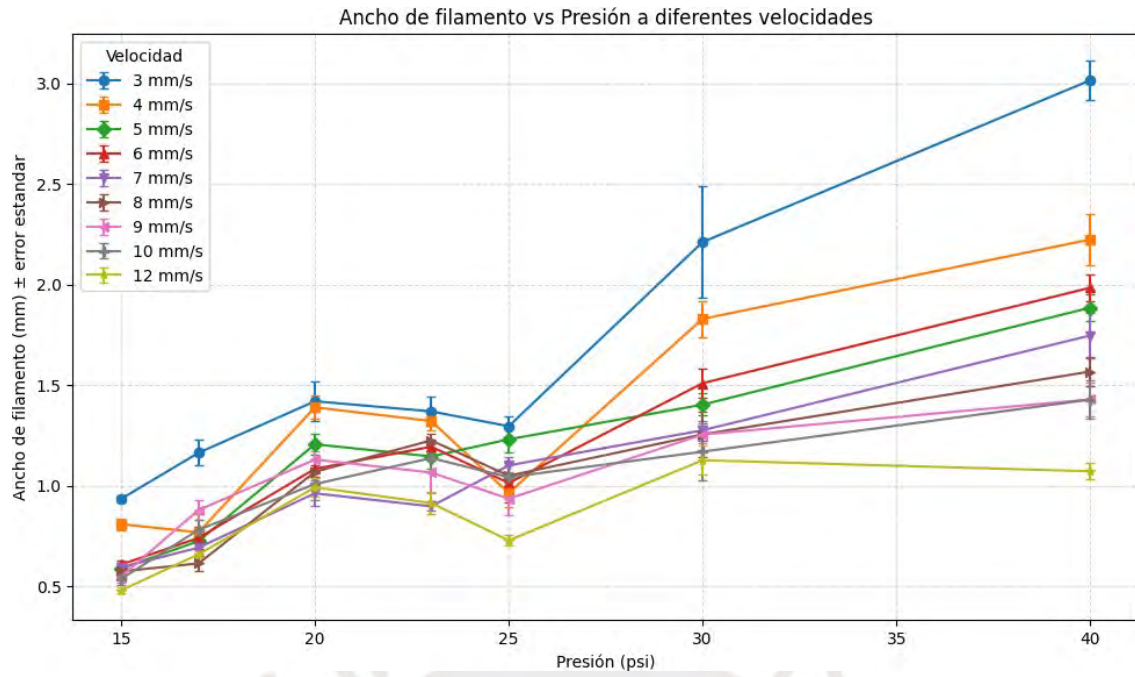


Figura 8. Análisis del ancho del filamento para A3%G3%

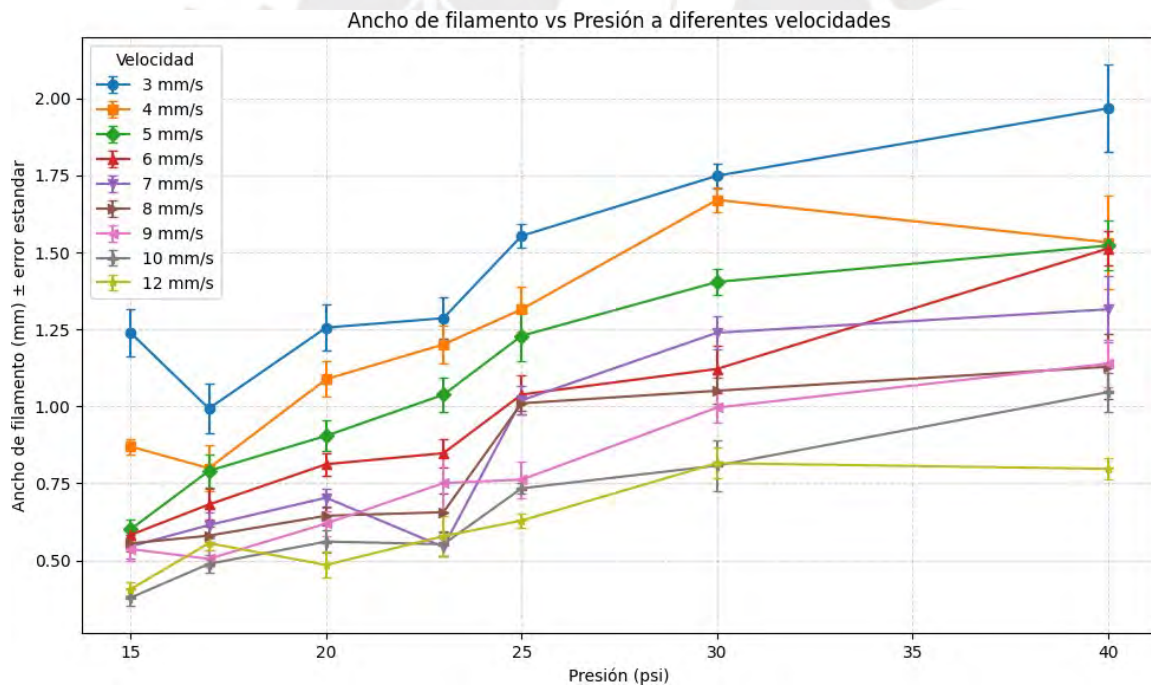


Figura 9. Análisis del ancho del filamento para A3%G4%

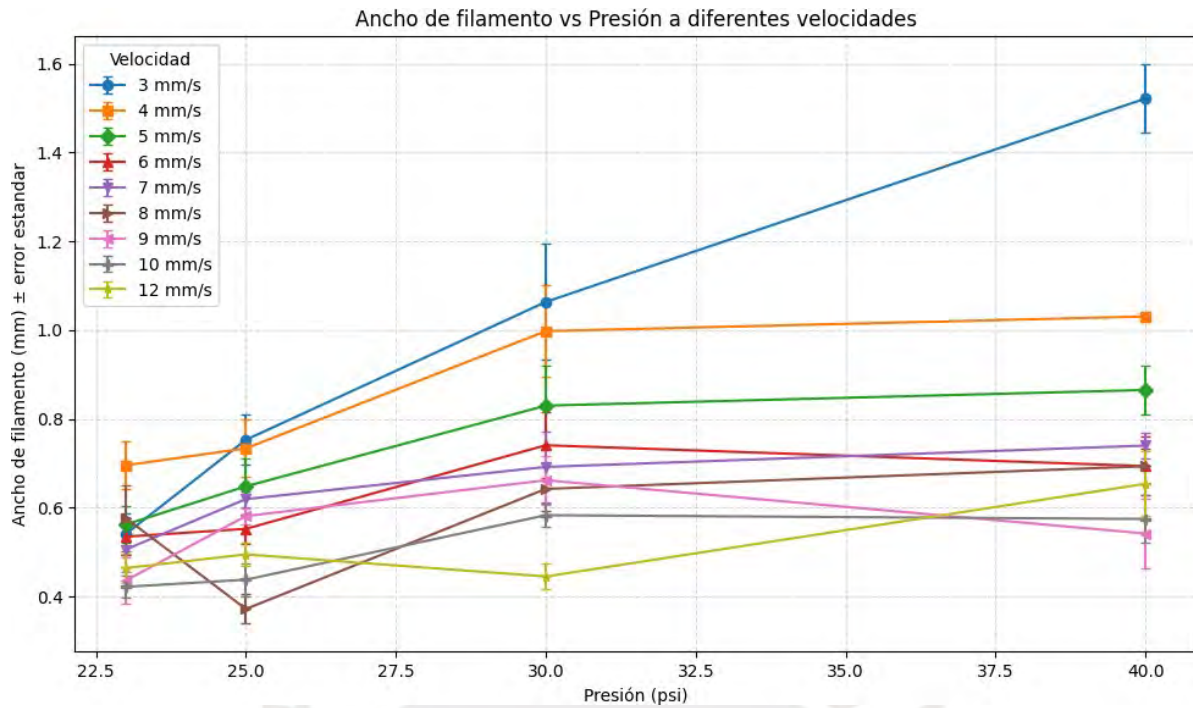


Figura 10. Análisis del ancho del filamento para A3%G5%

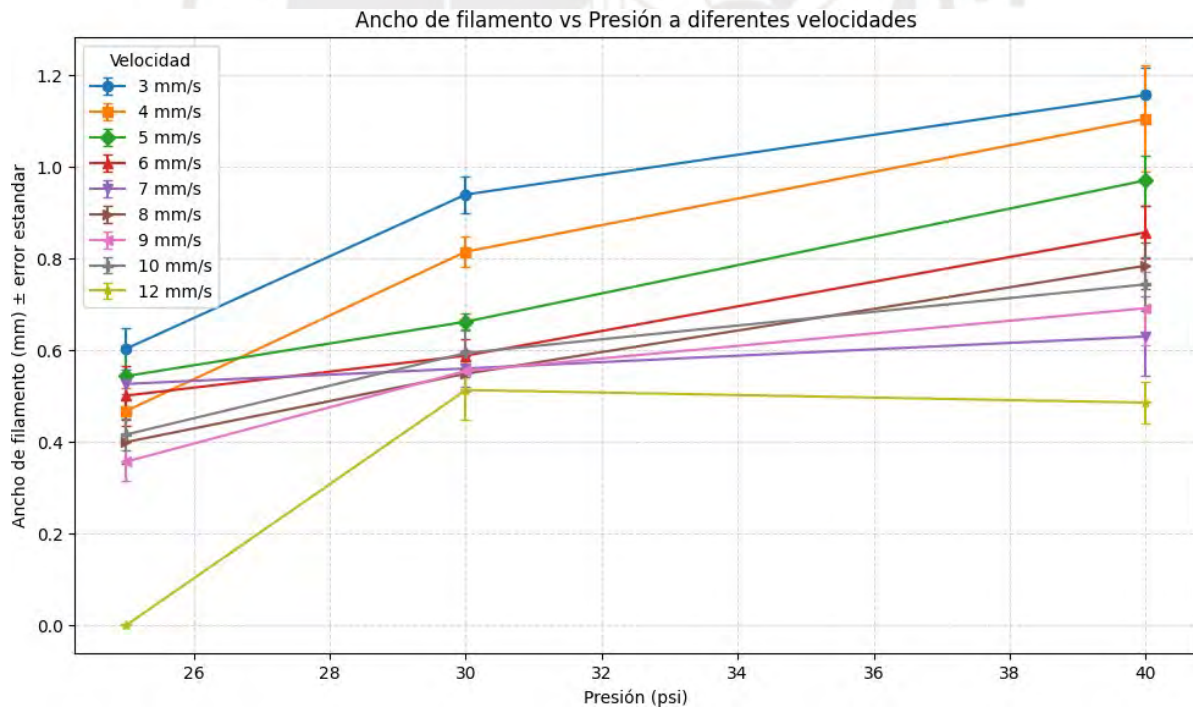


Figura 11. Análisis del ancho del filamento para A4%G5%

Tabla 7. Parámetros de impresión seleccionados

	Velocidad y presión seleccionada por cada formulación				
	3% Alg 2% Gel	3% Alg 3% Gel	3% Alg 4% Gel	3% Alg 5% Gel	4% Alg 5% Gel
Velocidad	12 mm/s	6 mm/s	7 mm/s	6 mm/s	9 mm/s
Presión	15 psi	17 psi	20 psi	30 psi	40 psi

Usando los valores seleccionados de presión y velocidad para cada formulación se realizó la prueba de macroporosidad. Con esta prueba, se calculó el índice de imprimibilidad que indica que el mejor tamaño de poro de 2x2 mm se obtiene con la formulación de 3% Alginato y 4% Gelatina (Figura 12).

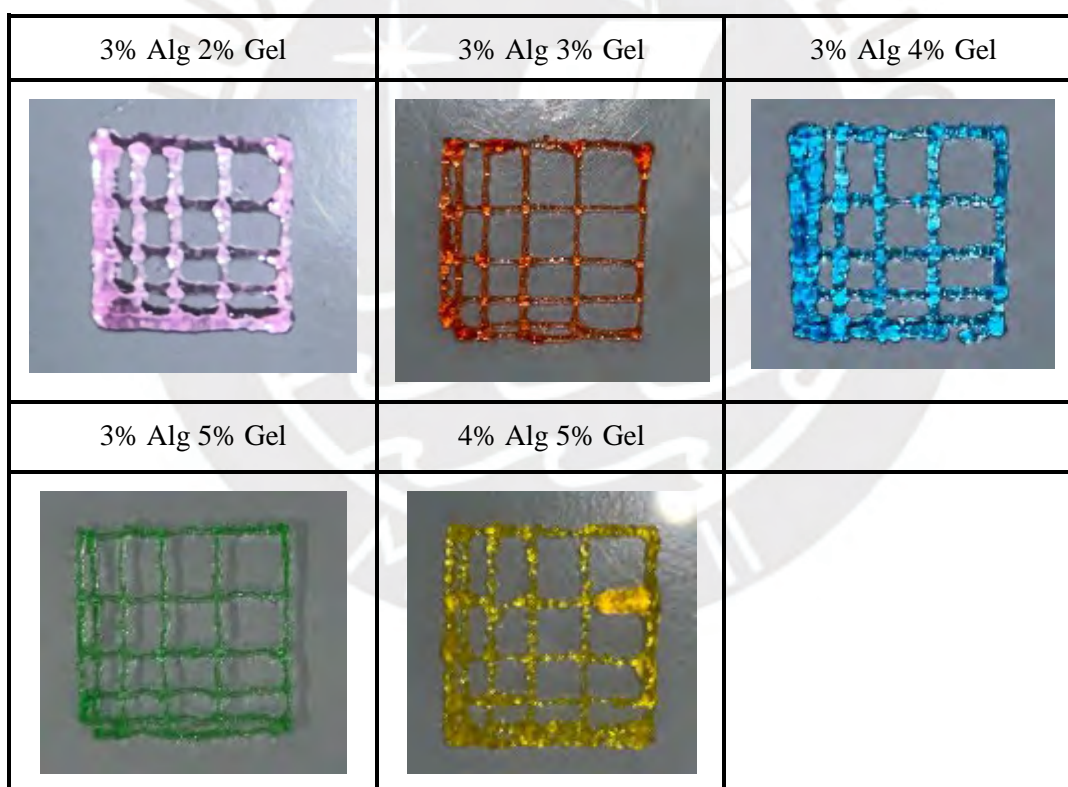


Figura 12. Resultados de test de macroporosidad

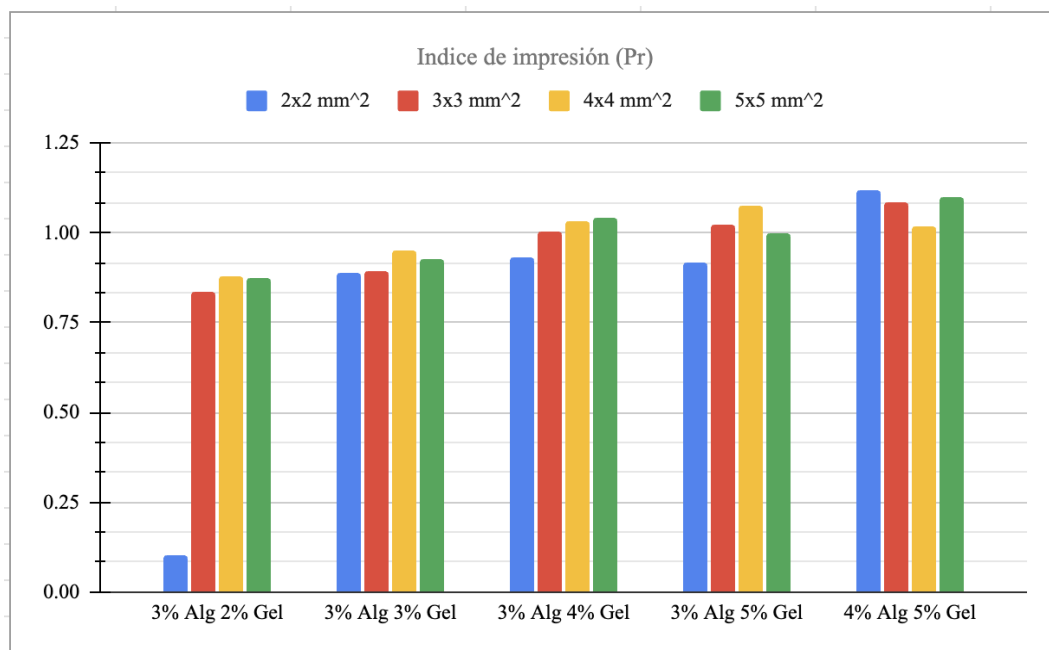


Figura 13. Índice de impresión vs formulaciones de hidrogel

3.3 Preparación de hidrogel con sangre de grado

A la formulación de alginato 3% y gelatina 4% (A3G4) se le añadió 5% de sangre de grado (A3G4SG5). Tras la incorporación de sangre de grado se mantuvo una agitación constante hasta llegar a una mezcla homogénea. En la Figura 13, se observa la mezcla; sin embargo, se formaron ciertas suspensiones que tuvieron que ser filtradas mediante un filtro de jeringa de 0,22 μm .



Figura 14. Hidrogel de alginato 3%, gelatina 4% y sangre de grado 5% (A3G4SG5)

3.4 Caracterización reológica del hidrogel

Para cada ensayo reológico se depositaron 2 mL de hidrogel sobre la geometría plana del reómetro. Una vez colocada la muestra, se descendió cuidadosamente la placa PP50, asegurando el contacto adecuado entre la superficie de la muestra y la geometría (Figura 14a). Al finalizar cada medición, el hidrogel analizado fue retirado (Figura 14b) y se colocó una nueva muestra fresca con el fin de garantizar la reproducibilidad de los resultados y evitar posibles alteraciones derivadas del uso repetido de la misma muestra. En los apartados siguientes se presentan los resultados obtenidos para cada una de las pruebas realizadas.

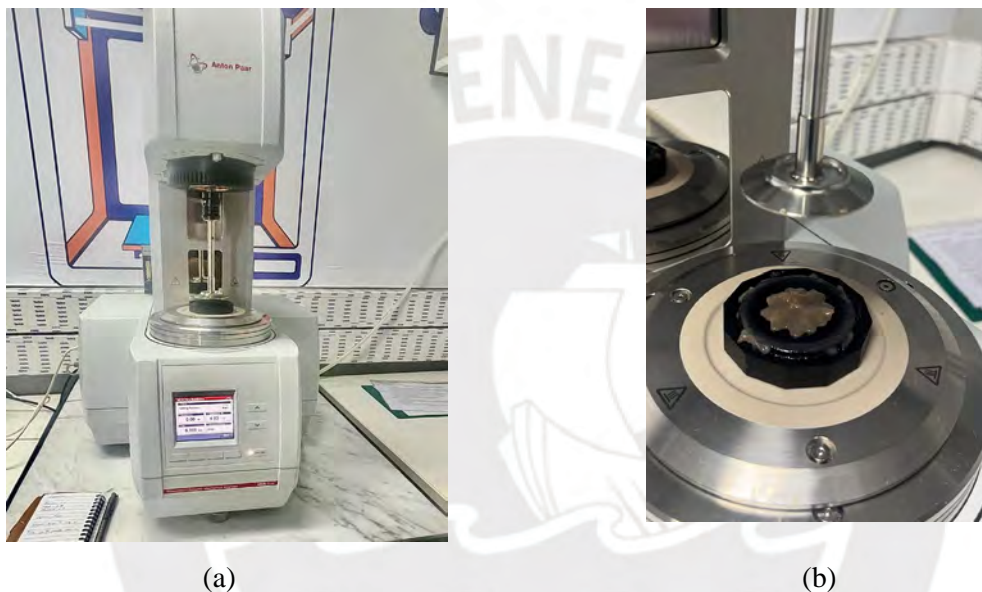


Figura 15. Ensayo de reología utilizando el reómetro Anton Paar (a) Reómetro (b) Hidrogel A3G4SG5 luego del ensayo de barrido de temperatura

3.4.1 Barrido de temperatura

En la Figura 15a se presentan los resultados del barrido de temperatura para la formulación A3G4 sin sangre de grado, mientras que en la Figura 14b se muestra la misma formulación con 5% de sangre de grado. En ambos casos, a bajas temperaturas, el módulo de almacenamiento (G') fue superior al módulo de pérdida (G''), lo que indica un comportamiento predominantemente elástico. La transición sol-gel se produjo alrededor de los 15 °C, punto en el cual ambos módulos se cruzan. Asimismo, se observó que la magnitud inicial de G' fue mayor en la formulación sin aditivo (Figura 14a) en comparación con la que contenía sangre de grado (Figura 14b); sin embargo, la incorporación del aditivo no modificó significativamente la temperatura de transición.

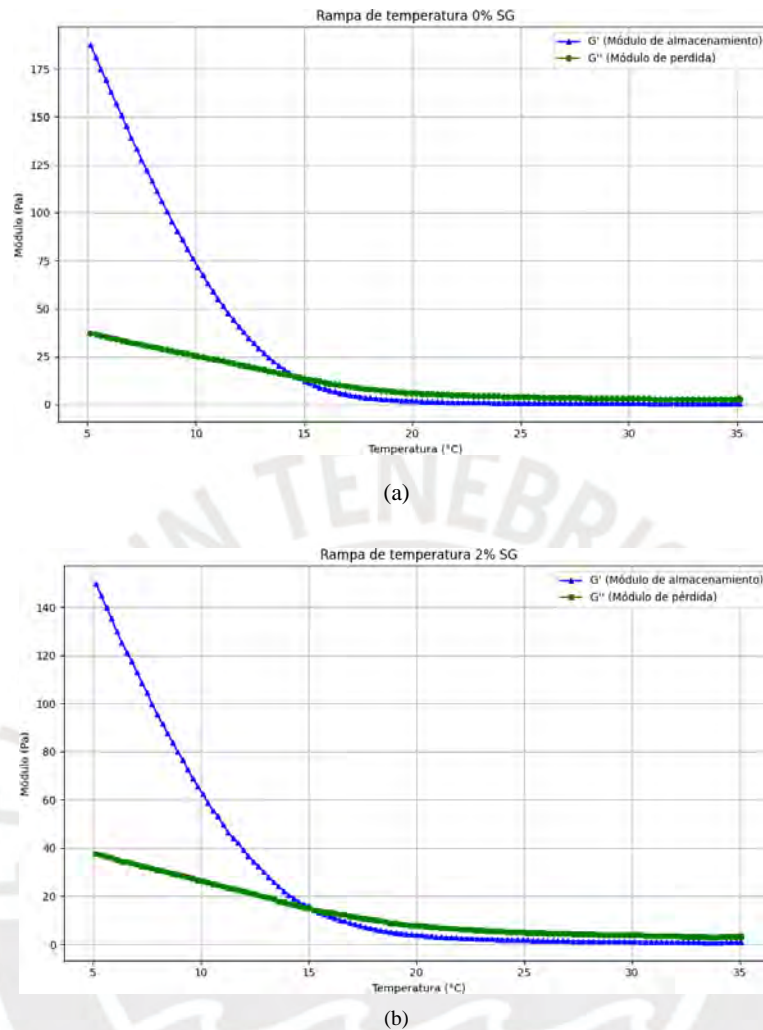


Figura 16. Ensayo de rampa de temperatura (a) Hidrogel A3G4 (b) Hidrogel A3G4 con 5% SG

3.4.2 Barrido de amplitud

Con respecto al barrido de amplitud oscilatoria, este se realizó a 15 $^{\circ}$ C. A esta temperatura los hidrogeles se comportaron como sólidos. En la Figura 16a y 16b, se observó que el módulo de almacenamiento (G') fue mayor que el de pérdida (G'') lo que confirma el comportamiento del hidrogel como sólido a distintos valores de deformación de corte menores a 303 Pa. Asimismo, los valores máximos de G' y G'' para el caso del hidrogel A3G4 fue de 295 Pa y 77,5 Pa respectivamente y para el hidrogel A3G4SG5, 172,51 Pa y 46,69 Pa.

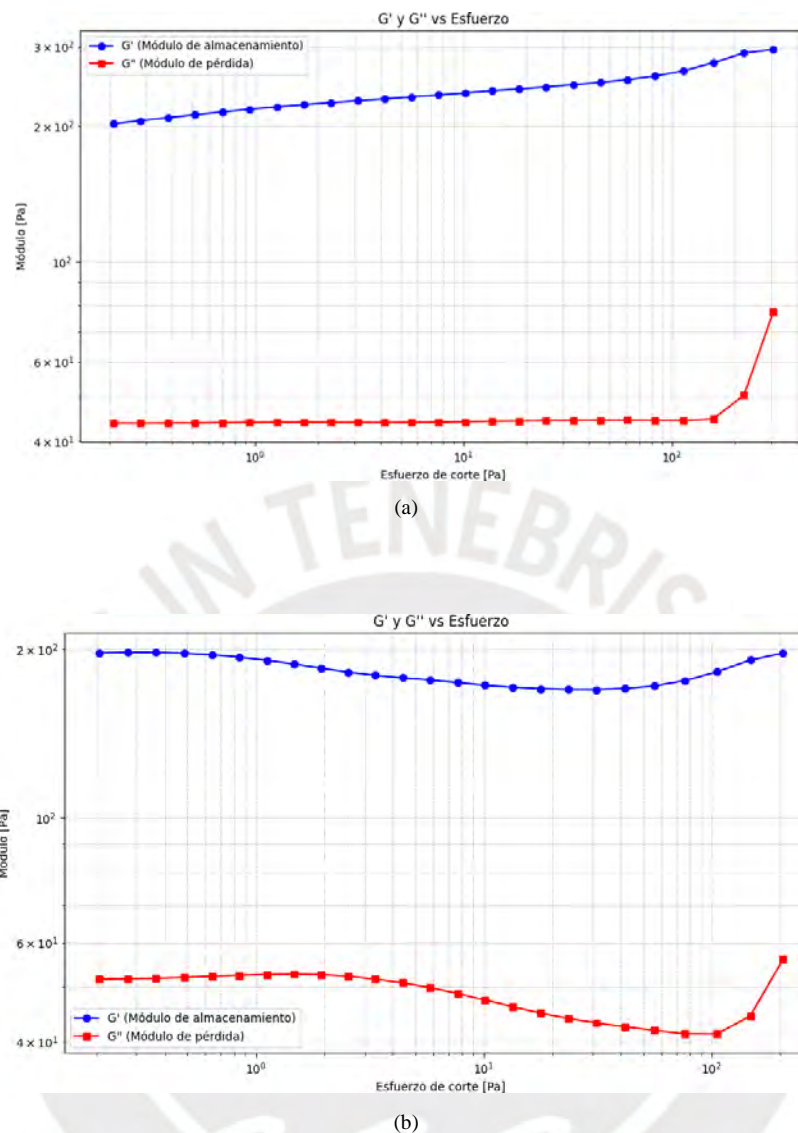


Figura 17. Ensayo de barrido de amplitud (a) Hidrogel A3G4 (b) Hidrogel A3G4 5% SG

Además, se analizó el comportamiento reológico del hidrogel A3G4 con sangre de grado tras la incorporación de 1% CaCl_2 como agente reticulante post-impresión. La Figura 17 muestra las curvas de los módulos viscoelásticos: el módulo de almacenamiento (G'), el módulo de pérdida (G'') y el factor de pérdida ($\tan \delta$) en función del esfuerzo de corte aplicado.

Durante la región lineal inicial (hasta aproximadamente 100 Pa), se observó que G' se mantuvo constante y superior a G'' , indicando un comportamiento predominantemente elástico y la existencia de una estructura de red estable. El valor máximo de G' alcanzó aproximadamente 930 Pa, mientras que G'' permaneció alrededor de 110 Pa, resultando en un

$\tan \delta < 0.13$, lo cual es característico de materiales con respuesta viscoelástica sólida. Además, se observó que estos valores son mayores a comparación del hidrogel sin reticular evidenciando una estructura más fuerte estructuralmente.

A partir de un esfuerzo de corte cercano a 150–200 Pa, se evidenció una disminución abrupta de G' , acompañada de un aumento en G'' y en el valor de $\tan \delta$. Esta transición sugiere una ruptura de la red polimérica interna, lo que indica el límite del comportamiento lineal viscoelástico (LVR). Finalmente, el valor de $\tan \delta$ superó 1.0 a partir de aproximadamente 280 Pa, lo que refleja un cambio hacia un comportamiento predominantemente viscoso, típico de la fluidez estructural inducida por esfuerzo (fenómeno de *yielding*).

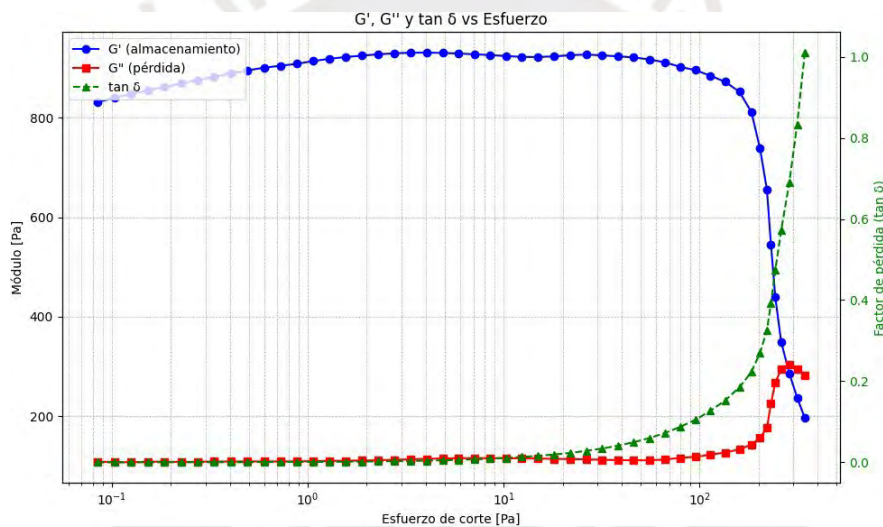


Figura 18. Ensayo de barrido de amplitud A3G4 5% SG con CaCl₂

3.4.3 Test de viscosidad:

En la Figura 18, se presentan las curvas de viscosidad en función de la tasa de corte para los hidrogeles A3G4 sin aditivo (0 % SG) y con la incorporación de 5 % de sangre de grado (5 % SG). En ambos casos se observó un comportamiento pseudoplástico, caracterizado por una disminución progresiva de la viscosidad conforme aumenta la tasa de corte. Este fenómeno es típico de los hidrogeles y resulta beneficioso para aplicaciones como la bioimpresión, ya que permite que el material fluya con mayor facilidad bajo condiciones de extrusión y recupere posteriormente parte de su viscosidad en reposo.

Al comparar ambas formulaciones, se aprecia que la viscosidad inicial del hidrogel con 0 % SG fue superior ($\approx 3,1 \times 10^6$ mPa·s a $0,1$ s $^{-1}$) en comparación con la formulación con 5 % SG ($\approx 2,0 \times 10^6$ mPa·s a $0,1$ s $^{-1}$). Esta tendencia se mantuvo en todo el rango de esfuerzo aplicado, con el hidrogel con sangre de grado presentando valores consistentemente menores.

A tasas de corte elevadas (>10 s $^{-1}$), ambos hidrogeles convergieron hacia valores similares de viscosidad, lo que indica que bajo altos esfuerzos cortantes la estructura interna de los materiales se desorganiza de manera comparable, independientemente de la presencia o ausencia del aditivo.

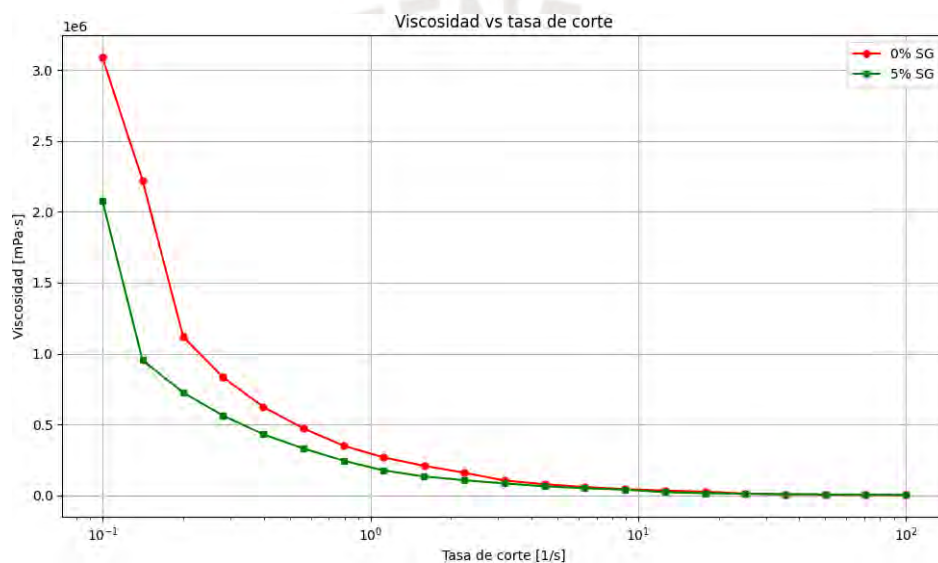
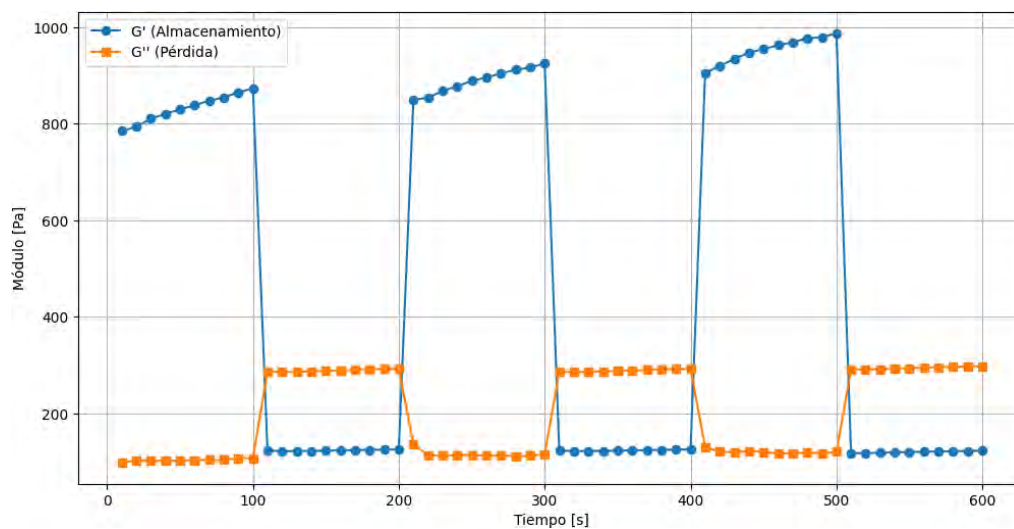


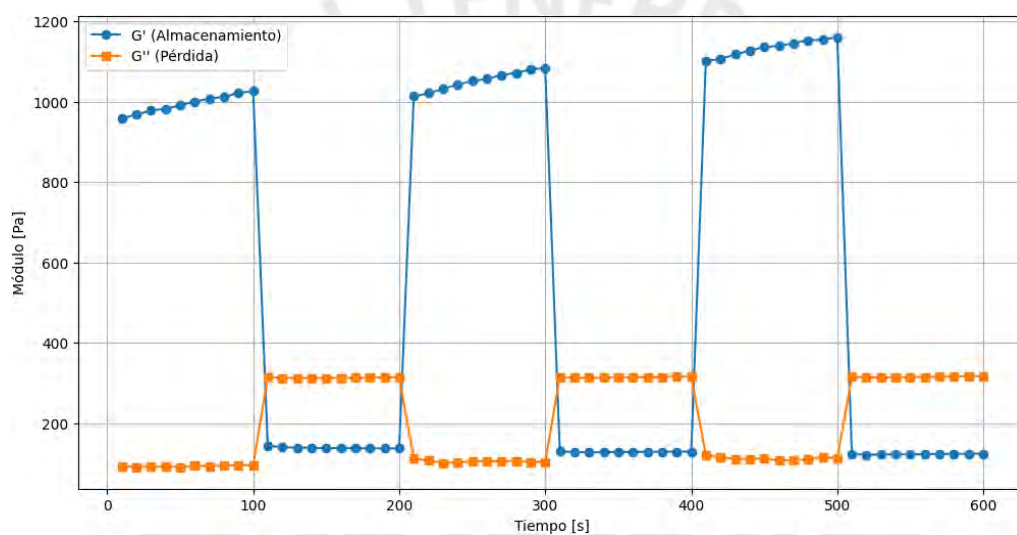
Figura 19. Ensayo de viscosidad de hidrogel A3G4 sin SG y con 5% SG

3.4.3 Test de recuperación tixotrópica:

En la figura 19, se observa los resultados del test de recuperación tixotrópica para los hidrogeles A3G4 con sangre de grado y sin sangre de grado. En las dos figuras se observa que luego de una deformación de corte del 200% ambos materiales recuperan el valor del módulo de almacenamiento. Asimismo, se observa que en las etapas donde se aplica una deformación baja (0,01 %), el valor de G' es mayor para el hidrogel sin sangre de grado.



(a)



(b)

Figura 20. Test de recuperación tixotrópica. (a) hidrogel A3G4SG5 (b) hidrogel A3G4

3.5 Diseño e impresión del andamio

El diseño del andamio se generó mediante código G (G-code), definiendo dimensiones de $2 \times 2 \times 1,6$ mm (largo, ancho y alto, respectivamente). El tamaño de la rejilla se estableció en 2 mm, en concordancia con los resultados obtenidos en el análisis de macroporosidad, donde dicha configuración permitió alcanzar un equilibrio entre fidelidad de impresión y espacio intersticial adecuado para la difusión de fluidos (Figura 20).

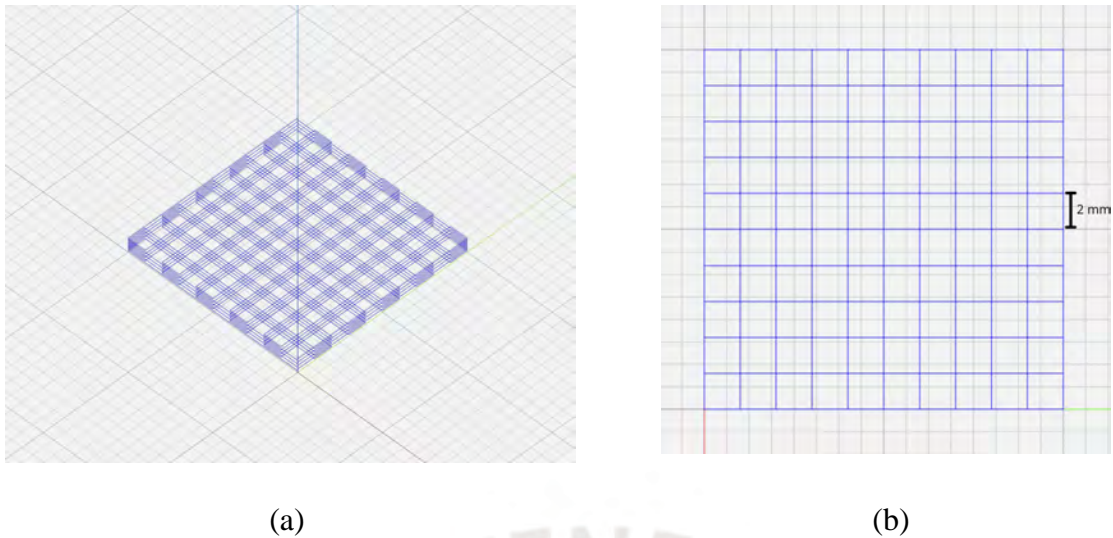


Figura 21. Diseño de andamio usando G-code (a) Vista general (b) Vista frontal

La impresión se llevó a cabo en la bioimpresora Allevi 3, utilizando la formulación A3G4 con 5% de sangre de grado (A3G4-SG5). Los parámetros de velocidad y presión se mantuvieron idénticos a los optimizados para la formulación sin aditivo, lo cual permitió evaluar la influencia del bioactivo en el proceso de extrusión. Como se aprecia en la Figura 21, el andamio impreso conservó su geometría planificada, evidenciando que la incorporación de sangre de grado no alteró significativamente la estabilidad estructural ni la reproducibilidad de la impresión. Este resultado confirma la idoneidad del material como biotinta para la fabricación de andamios con propiedades funcionales.

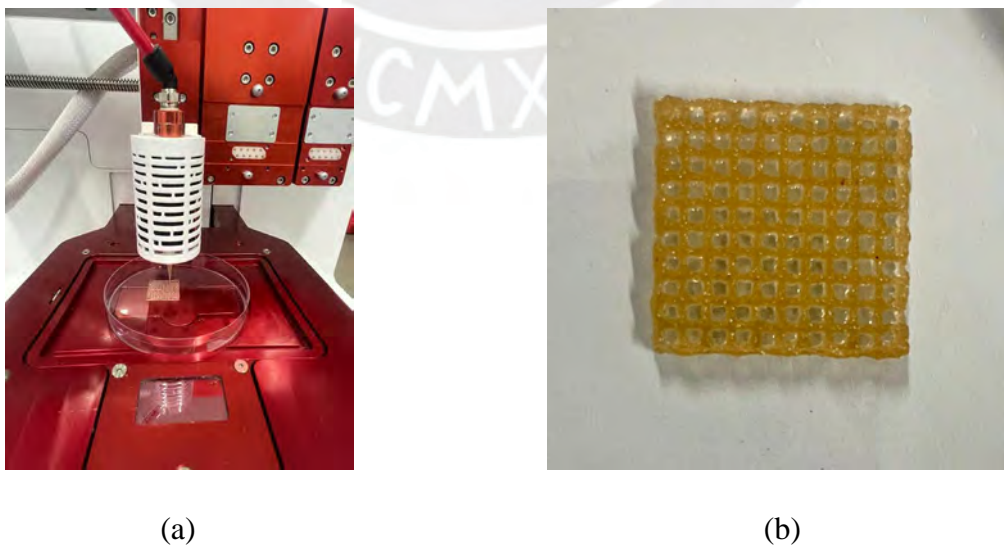


Figura 22. (a) Proceso de impresión con impresora Allevi 3 (b) andamio A3G4 5% SG impreso

3.6 Caracterización de la absorción

3.4.1. Liofilización de las muestras

Las muestras impresas y reticuladas fueron sometidas a un proceso de congelación inicial a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 horas, con el fin de solidificar completamente la fase acuosa y facilitar su posterior secado. Posteriormente, se colocaron en el liofilizador durante 12 horas (Figura 22), donde el agua congelada fue eliminada por sublimación bajo condiciones de vacío. Este procedimiento permitió obtener andamios secos sin comprometer su estructura interna, preservando la porosidad generada durante la impresión. Tal como se muestra en la Figura 23, los andamios liofilizados conservaron su geometría tridimensional, lo que garantiza su integridad para los ensayos posteriores de absorción. Finalmente, las muestras fueron almacenadas en un desecador para prevenir la rehidratación accidental hasta el momento de su uso experimental.



Figura 23. Proceso de liofilización de muestras A3G4SG5 y A3G4 con liofilizador Telstar

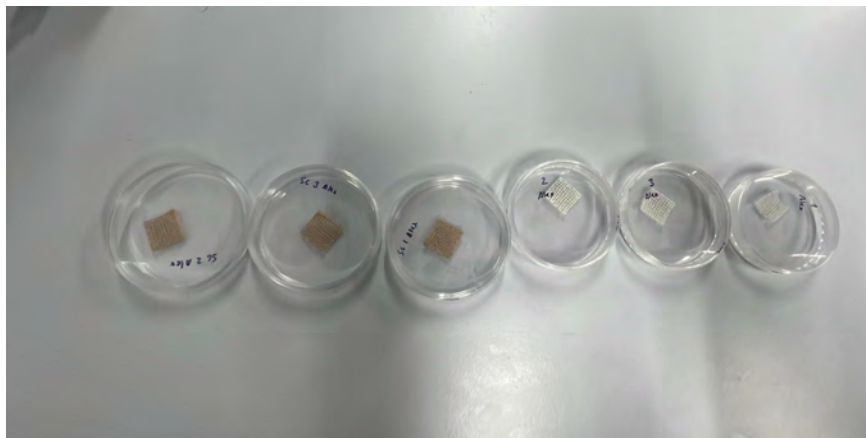


Figura 24. Andamios A3G4 y A3G4SG5 liofilizados en placas petri

3.4.2 Absorción de los andamios

En el caso del ensayo de absorción, se sumergieron las muestras en un recipiente con PBS y se colocó el recipiente en una incubadora a 37 °C (Figura 24). Asimismo, se realizaron mediciones del peso del soporte junto con el andamio cada 5, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 minutos.

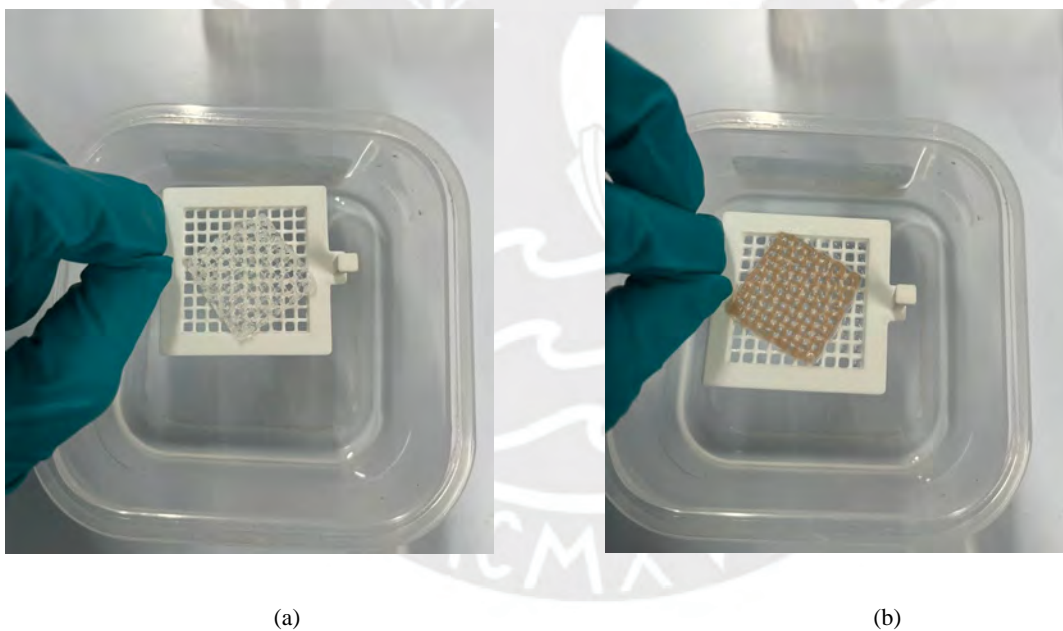


Figura 25. Ensayo de absorción de (a) andamio control y (b) andamio con SG

Los resultados del ensayo de absorción (Figura 25) muestran que los andamios alcanzaron una absorción rápida en los primeros 10 minutos. En el caso del andamio 0% SG, este absorbió $1572,98 \pm 429,068$ % y el andamio 5% SG, $1311,71 \pm 74,47$ %. Asimismo, a los 60 minutos, se alcanzó la meseta de absorción con valores de $2297,241 \pm 323,37$ % y $1993,972 \pm 327,46$ % para los andamios con 0% y 5% respectivamente.

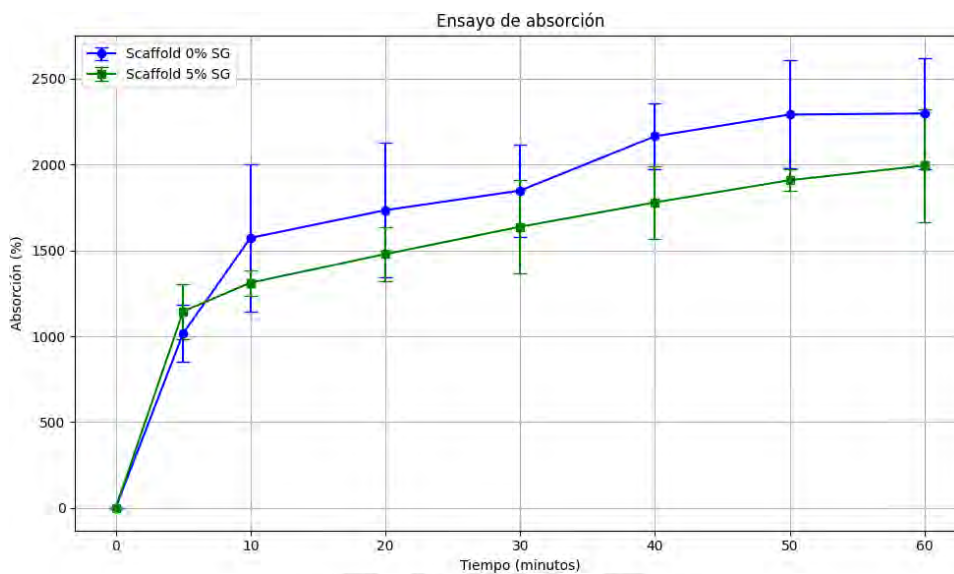


Figura 26. Curva de absorción a partir de hidrogel control y hidrogel A3G4 (n=3)

3.7 Caracterización de la liberación

3.7.1 Curva de calibración

Para cuantificar la liberación de sangre de grado desde los andamios, se elaboró una curva de calibración a partir de soluciones estándar de concentraciones conocidas. Como se muestra en la Figura 26, se obtuvo una relación lineal entre la concentración y la absorbancia, con la ecuación de regresión $y = 6,1926x + 0,0216$ y un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9983$. Este valor, cercano a la unidad, confirma la robustez del ajuste lineal y la confiabilidad del método espectrofotométrico empleado para calcular las concentraciones liberadas en los ensayos posteriores.

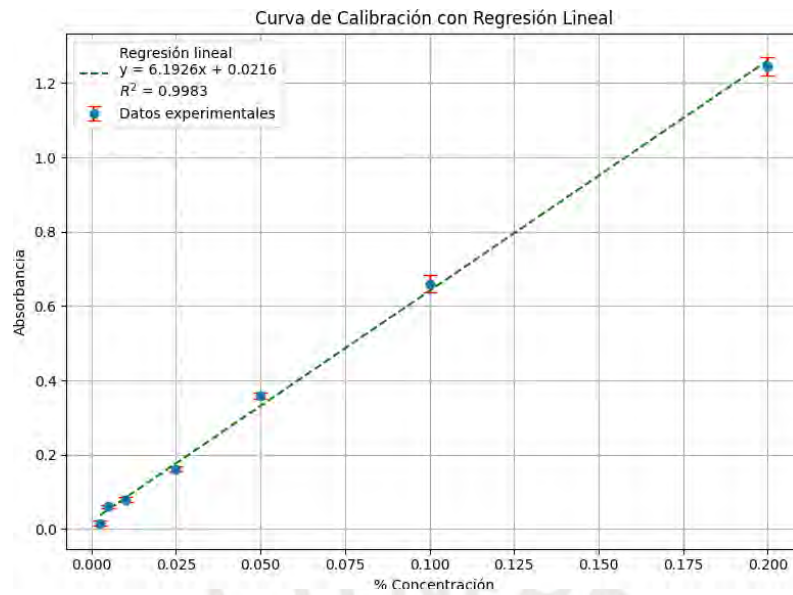


Figura 27. Curva de calibración de sangre de grado (n=3)

3.7.2. Ensayo de liberación

El ensayo de liberación se llevó a cabo en la placa de 12 pocillos utilizando el cell strainer (Figura 27). Los resultados (Figura 28) muestran que durante la primera hora se evidenció una liberación rápida de sangre de grado llegando a liberar $30,745 \pm 3,239$ %. Luego de ello, se muestra una liberación sostenida hasta las 36 horas donde la liberación máxima fue de $71,4334 \pm 4,1174$ %. Luego de ello, se observó que los andamios se habían degradado completamente.

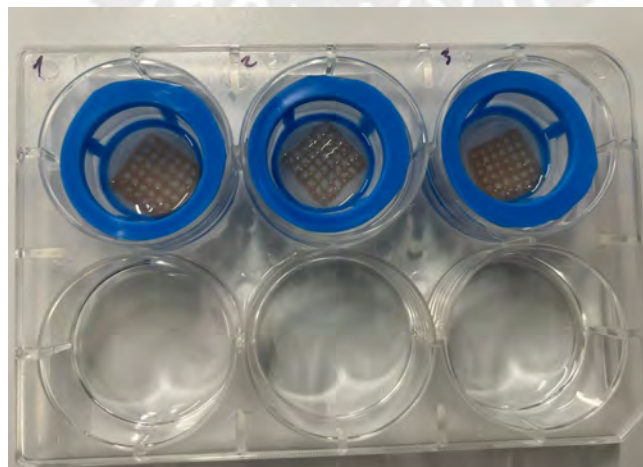


Figura 28. Ensayo de liberación en placa de 12 pocillos (n=3)

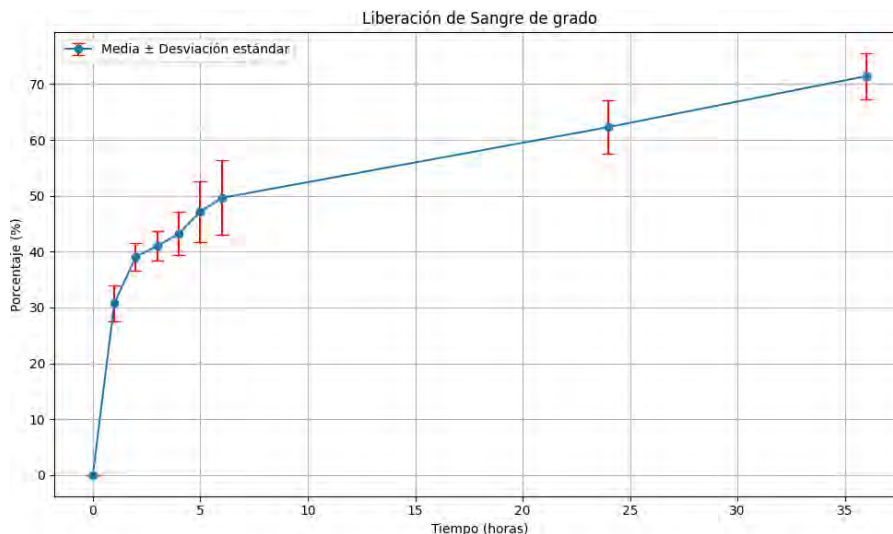


Figura 29. Curva de liberación de sangre de grado a partir de hidrogel A3G4 (n=3)

3.7.2. Modelado cinético de liberación

Con el objetivo de describir el comportamiento de liberación de sangre de grado (SG) desde el hidrogel, se ajustaron los datos experimentales a cuatro modelos cinéticos comúnmente utilizados: orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer–Peppas (Figura 29).

El modelo de orden cero (Figura 29a), que asume una liberación constante independiente de la concentración, presentó un ajuste deficiente a los datos experimentales, con un coeficiente de determinación negativo $R^2 = -1.125$, lo que indica que este modelo no describe adecuadamente el comportamiento observado.

Por otro lado, el modelo de primer orden (Figura 29b), que considera una velocidad de liberación proporcional a la cantidad restante por liberar, mostró un mejor ajuste, con un coeficiente $R^2 = 0.8560$. Esto sugiere que la liberación de SG podría depender de la concentración restante en la matriz del hidrogel.

El modelo de Higuchi (Figura 29c), basado en un mecanismo de difusión controlada por gradiente de concentración en una matriz plana, presentó un ajuste moderado con $R^2 = 0.4519$, lo que indica una contribución parcial del mecanismo difusivo, aunque no predominante.

Finalmente, el modelo de Korsmeyer–Peppas (Figura 29d) fue el que mejor describió el comportamiento experimental, alcanzando un $R^2=0.9871$. El valor del exponente $n=0.2147$ sugiere un mecanismo de liberación tipo Fickiano, caracterizado por difusión controlada en una matriz polimérica.

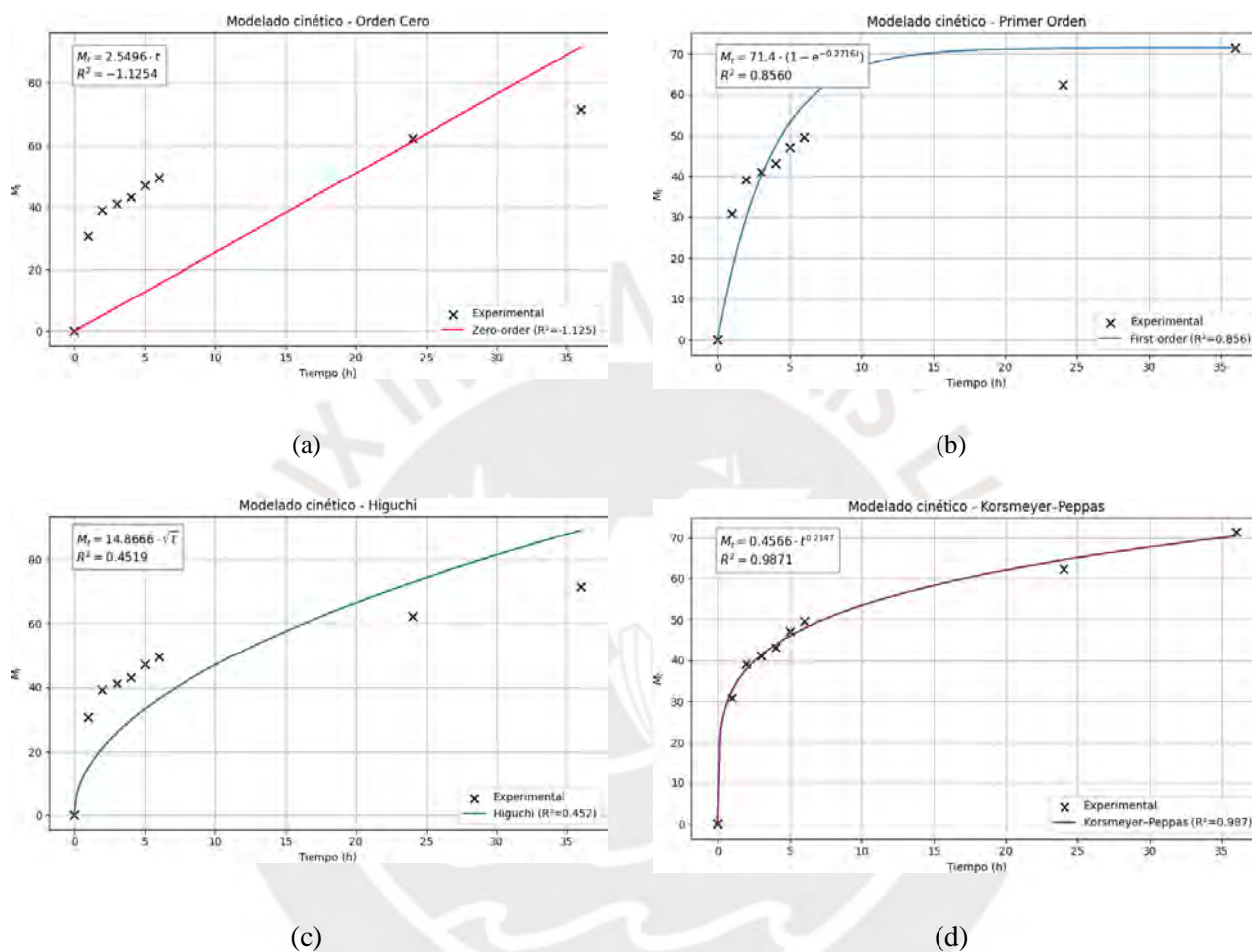


Figura 30. Modelado matemático de la liberación de sangre de grado. (a) Orden-cero (b) Primer-orden (c) Higuchi y (d) Korsmeyer - Peppas

DISCUSIÓN

El presente trabajo se centró en el desarrollo de un apósito de hidrogel en forma de andamio utilizando alginato y gelatina como biopolímeros principales, con la incorporación de sangre de grado como agente bioactivo. Los resultados obtenidos permiten discutir la optimización de la formulación de la biotinta y el desempeño de la formulación que evalúan las propiedades reológicas y viscoelásticas que definen la capacidad de impresión y estabilidad del material, la capacidad de absorción de fluidos que determina su utilidad clínica en heridas crónicas, y la liberación controlada de compuestos bioactivos que aseguran la función terapéutica del apósito.

La preparación de hidrogeles evidenció que el alginato por sí solo no mantiene estructuras definidas, mientras que su combinación con gelatina mejoró notablemente la fidelidad de forma, en concordancia con lo reportado por Jiang et al. (2023). En la optimización de impresión se observó que mayores presiones incrementaron el grosor de los filamentos, mientras que el aumento de la velocidad lo redujo, confirmando el comportamiento pseudoplástico de la biotinta (Lin et al., 2023). El análisis de macroporosidad señaló que la formulación A3G4 (3% alginato, 4% gelatina) alcanzó el índice de imprimibilidad más adecuado y una geometría de poros definida, resultando como la formulación óptima para la posterior incorporación de sangre de grado y caracterización avanzada.

Los ensayos de reología en general mostraron resultados positivos que muestran la buena imprimibilidad de la formulación A3G4, asimismo, la adición de 5% de SG no afectó en gran medida las características reológicas. En el caso del ensayo de barrido de temperatura, la temperatura de transición sol-gel se encontró en alrededor de 15 °C en los dos ensayos. Esta temperatura es menor a la encontrada por (Lihao et al., 2024) posiblemente debido a que las concentraciones de los biomateriales utilizados fueron mayores en su caso.

Con respecto al ensayo de barrido de amplitud, se encontró que el módulo de almacenamiento G' fue mayor que el módulo de pérdida (G'') en todo el rango de deformación evaluado a una temperatura de 15 °C evidenciando que en todo este rango los hidrogeles se comportan como biotintas estables. Asimismo, se evaluó el comportamiento reológico del hidrogel A3G4SG5 con la incorporación de CaCl_2 para simular el

comportamiento luego de reticulación post-impresión; los resultados de este ensayo mostraron que el valor del módulo de almacenamiento aumentó al cuádruple del valor de G' sin reticular lo que demuestra la formación de redes entrecruzadas.

El ensayo de viscosidad mostró que la viscosidad en ambas formulaciones disminuye al aplicar una tasa de corte mayor con el tiempo estos resultados evidencian un comportamiento *shear thinning* (Lin et al., 2023) que significa que a mayor presión el material fluye fácilmente.

El ensayo de hinchamiento demostró que los andamios alcanzaron valores de absorción de hasta 2297% en el control y 1993% en la formulación con sangre de grado, tras 60 minutos de inmersión en PBS a 37 °C. Estos valores son representativos de hidrogeles con alta capacidad de retención de agua, lo cual es deseable para el tratamiento de heridas exudativas como las úlceras por pie diabético. La rápida absorción durante los primeros 10 minutos sugiere que el material puede responder de manera inmediata al contacto con fluidos, reduciendo el riesgo de maceración del tejido circundante y favoreciendo un ambiente húmedo controlado que estimule la cicatrización.

Comparativamente, estudios como los de Lin et al. (2023) y Lihao et al. (2024) reportaron índices de hinchamiento elevados en andamios de alginato modificados, aunque con cierta pérdida de estabilidad estructural. En este caso, la combinación con gelatina permitió mantener la integridad del andamio incluso tras la absorción, confirmando la sinergia entre ambos polímeros. La ligera reducción de la absorción observada en la formulación con sangre de grado podría explicarse por la interacción de los compuestos polifenólicos con los grupos hidroxilo de la matriz polimérica, lo que limitaría parcialmente la hidratación. Sin embargo, este fenómeno no representa una desventaja clínica, ya que los valores alcanzados siguen siendo elevados y funcionales para un apósito avanzado.

Uno de los resultados más significativos fue el perfil de liberación de sangre de grado desde el andamio. Se observó una liberación inicial rápida durante la primera hora, alcanzando aproximadamente el 30% del total, seguida de una liberación sostenida que llegó al 71% acumulado en 36 horas. Este comportamiento responde a una liberación bimodal: un efecto de "*burst release*" (Huang & Brazel, 2001) inicial asociado a los compuestos más cercanos a la superficie del hidrogel, seguido de un proceso difusivo controlado por la matriz polimérica.

El modelado cinético confirmó que el ajuste más adecuado se obtuvo con el modelo de Korsmeyer–Peppas ($R^2 = 0.9871$, $n \approx 0.21$), lo cual indica un mecanismo difusivo Fickiano. Esto implica que la liberación está gobernada principalmente por la difusión de los compuestos bioactivos a través de los poros del hidrogel y no por fenómenos de degradación de la matriz, lo cual resulta ventajoso para asegurar una liberación prolongada y predecible. Resultados similares han sido descritos en hidrogeles cargados con fármacos como el caso de la *Satureja Cuneifolia* en el hidrogel de alginato de sodio y polietilenglicol (PEG) (Ilhan et al., 2020), lo que posiciona a la sangre de grado como un bioactivo compatible con sistemas de liberación controlada.

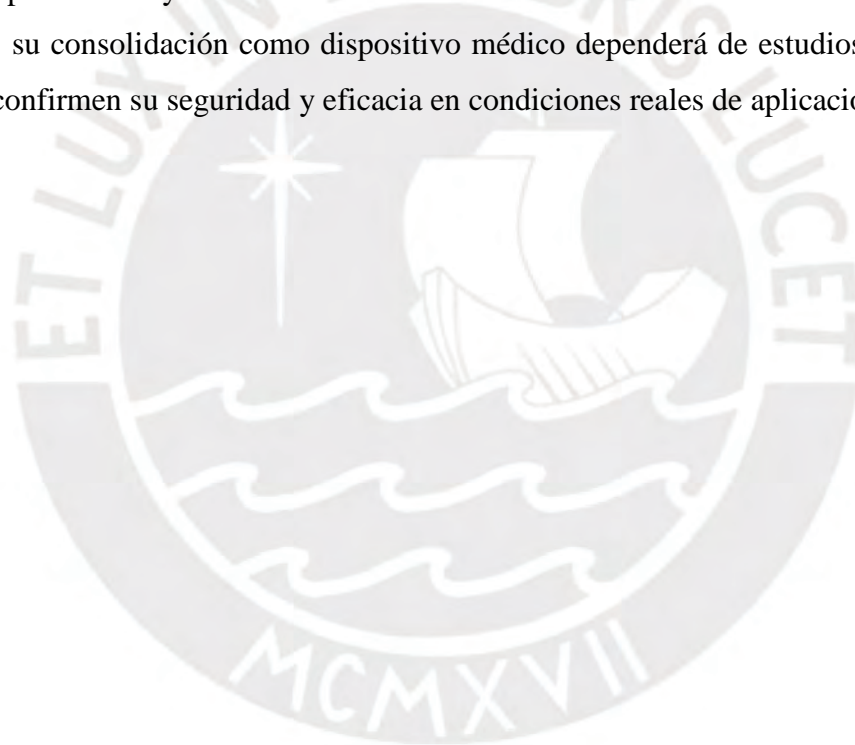
La importancia de este hallazgo radica en que la sangre de grado contiene compuestos con actividad antioxidante, antiinflamatoria y cicatrizante, como la taspina y las protoantocianidinas, ampliamente documentados en la literatura (Jura-Morawiec & Tulik, 2016; Namjoyan et al., 2015). Una liberación prolongada de estos compuestos podría generar un microambiente favorable para la cicatrización, disminuyendo la inflamación y estimulando la proliferación celular. Este enfoque resulta superior a la aplicación tópica directa de extractos, que suele presentar limitaciones por la rápida degradación o eliminación del compuesto activo.

El hecho de que la formulación desarrollada pueda ser procesada mediante bioimpresión 3D abre la posibilidad de diseñar apósitos con geometrías personalizadas y porosidad controlada, adaptables a diferentes tipos de heridas. Esto constituye una ventaja frente a apósitos comerciales, que suelen tener dimensiones estandarizadas y poca flexibilidad de diseño. Además, la combinación de materiales naturales como el alginato y la gelatina con un recurso fitoterapéutico tradicional como la sangre de grado no solo garantiza biocompatibilidad, sino que también responde a la necesidad de desarrollar soluciones accesibles y contextualizadas para el entorno peruano, donde el acceso a apósitos importados es limitado y costoso.

Si bien los resultados obtenidos son positivos, es necesario reconocer ciertas limitaciones del estudio. En primer lugar, las pruebas realizadas fueron exclusivamente *in vitro*, lo que impide extrapolar directamente la eficacia clínica del apósito. Será necesario realizar estudios de biocompatibilidad celular para evaluar la respuesta de fibroblastos y queratinocitos en contacto con el material, así como ensayos *in vivo* que permitan analizar la tasa de cicatrización en modelos animales de úlcera diabética. En segundo lugar, no se evaluó la

estabilidad de los compuestos bioactivos de la sangre de grado tras su incorporación en la matriz, lo cual es crítico para determinar su vida útil y la eficacia del apósito durante el almacenamiento. Finalmente, aunque se optimizaron las concentraciones de polímeros y los parámetros de impresión para la formulación base, aún es necesario estandarizar el proceso para garantizar reproducibilidad en diferentes equipos y escalabilidad hacia aplicaciones clínicas.

En síntesis, la formulación desarrollada demostró propiedades mecánicas, de absorción y liberación adecuadas para ser considerada como una alternativa prometedora en el tratamiento de úlceras por pie diabético. Al integrar materiales accesibles con un recurso fitoterapéutico de uso tradicional, este trabajo aporta una estrategia innovadora que podría mejorar la disponibilidad y efectividad de los tratamientos avanzados en el contexto peruano. Sin embargo, su consolidación como dispositivo médico dependerá de estudios biológicos y clínicos que confirmen su seguridad y eficacia en condiciones reales de aplicación.



CONCLUSIONES

El hidrogel compuesto por 3% de alginato y 4% de gelatina evidenció el mejor desempeño general en los ensayos de bioimpresión, mostrando fidelidad de forma, estabilidad estructural y propiedades viscoelásticas adecuadas para el proceso. La incorporación de sangre de grado no alteró de manera significativa las propiedades reológicas ni la capacidad de absorción del biomaterial, lo que confirma la compatibilidad de este agente bioactivo con la matriz polimérica optimizada.

Asimismo, los ensayos de liberación evidenciaron un perfil adecuado para la liberación controlada de los compuestos bioactivos de la sangre de grado, lo que constituye un valor agregado frente a apósitos convencionales y respalda su potencial como sistema terapéutico avanzado.

En resumen, la formulación desarrollada representa una alternativa prometedora para el tratamiento de úlceras por pie diabético, al integrar biomateriales accesibles y un recurso fitoterapéutico tradicional de uso extendido en el contexto peruano. No obstante, será necesario complementar estos resultados con estudios de biocompatibilidad celular, pruebas in vivo y análisis de estabilidad de los compuestos activos para validar su seguridad y eficacia en condiciones clínicas reales.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmadi Soufivand, A., Faber, J., Hinrichsen, J., & Budday, S. (2023). Multilayer 3D bioprinting and complex mechanical properties of alginate-gelatin mesostructures. *Scientific Reports*, 13(1), 11253. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38323-2>
- Ahmed, E. M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research*, 6(2), 105-121. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>
- Aliyeva, K., Albayrak, A., Toktay, E., Yurdgulu, E. E., & Bayir, Y. (2024). The Role of Pectin Hydrogel Systems Plus Iodine and Phyto Extract in Second-Degree Burn in Rats. *The Eurasian Journal of Medicine*, 56(3), 170-177. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2024.24550>
- Arias-Rodríguez, F. D., Jiménez-Valdiviezo, M. A., del Cisne-Ríos-Criollo, K., Murillo-Araujo, G. P., Toapanta-Allauca, D. S., Rubio-Laverde, K. A., Barreno-Yandún, Y. P., Moposita-Alvarado, M. M., Trejo-Pincay, M. B., Arias-Rodríguez, F. D., Jiménez-Valdiviezo, M. A., del Cisne-Ríos-Criollo, K., Murillo-Araujo, G. P., Toapanta-Allauca, D. S., Rubio-Laverde, K. A., Barreno-Yandún, Y. P., Moposita-Alvarado, M. M., & Trejo-Pincay, M. B. (2023). Pie diabético. Actualización en diagnóstico y tratamiento. Revisión bibliográfica. *Angiología*, 75(4), 242-258. <https://doi.org/10.20960/angiologia.00474>
- Augustine, R., Hasan, A., Dalvi, Y. B., Rehman, S. R. U., Varghese, R., Unni, R. N., Yalcin, H. C., Alfkey, R., Thomas, S., & Al Moustafa, A.-E. (2021). Growth factor loaded *in situ* photocrosslinkable poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/gelatin methacryloyl hybrid patch for diabetic wound healing. *Materials Science and Engineering: C*, 118, 111519. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111519>
- Axpe, E., & Oyen, M. L. (2016). Applications of Alginate-Based Bioinks in 3D Bioprinting.

International Journal of Molecular Sciences, 17(12), 1976.

<https://doi.org/10.3390/ijms17121976>

Brites, A., Ferreira, M., Bom, S., Grenho, L., Claudio, R., Gomes, P. S., Fernandes, M. H., Marto, J., & Santos, C. (2023). Fabrication of antibacterial and biocompatible 3D printed Manuka-Gelatin based patch for wound healing applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 632, 122541.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122541>

Cao, H., Wang, J., Hao, Z., & Zhao, D. (2024). Gelatin-based biomaterials and gelatin as an additive for chronic wound repair. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1398939.

<https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1398939>

Casado, F. L., Hinostroza-García, Y., Hernandez-Patiño, I., Rossani, G., & Guevara-Mendoza, D. (2020). Análisis del potencial de innovación en apósitos para tratar heridas crónicas en la ciudad de Lima, Perú: Analysis of the potential of innovation in dressings to treat chronic wounds in the city of Lima, Peru. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 20(4), Article 4.

<https://doi.org/10.25176/RFMH.v20i4.3195>

Chen, K., Chou, W., Liu, L., Cui, Y., Xue, P., & Jia, M. (2019). Electrochemical Sensors Fabricated by Electrospinning Technology: An Overview. *Sensors*, 19(17), 3676.

<https://doi.org/10.3390/s19173676>

Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 67(3), 217-223.

Gebisa, A. W., & Lemu, H. G. (2018). Investigating Effects of Fused-Deposition Modeling (FDM) Processing Parameters on Flexural Properties of ULTEM 9085 using Designed Experiment. *Materials*, 11(4), 500. <https://doi.org/10.3390/ma11040500>

Glover, K., Stratakos, A. Ch., Varadi, A., & Lamprou, D. A. (2021). 3D scaffolds in the treatment of diabetic foot ulcers: New trends vs conventional approaches.

International Journal of Pharmaceutics, 599, 120423.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120423>

- Huang, X., & Brazel, C. S. (2001). On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 73(2), 121-136. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(01\)00248-6](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(01)00248-6)
- Hutanu, D. (2014). Recent Applications of Polyethylene Glycols (PEGs) and PEG Derivatives. *Modern Chemistry & Applications*, 02(02). <https://doi.org/10.4172/2329-6798.1000132>
- Ilhan, E., Cesur, S., Guler, E., Topal, F., Albayrak, D., Guncu, M. M., Cam, M. E., Taskin, T., Sasmazel, H. T., Aksu, B., Oktar, F. N., & Gunduz, O. (2020). Development of *Satureja cuneifolia*-loaded sodium alginate/polyethylene glycol scaffolds produced by 3D-printing technology as a diabetic wound dressing material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, 1040-1054. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.086>
- Intini, C., Elviri, L., Cabral, J., Mros, S., Bergonzi, C., Bianchera, A., Flammini, L., Govoni, P., Barocelli, E., Bettini, R., & McConnell, M. (2018). 3D-printed chitosan-based scaffolds: An *in vitro* study of human skin cell growth and an *in-vivo* wound healing evaluation in experimental diabetes in rats. *Carbohydrate Polymers*, 199, 593-602. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.057>
- Irani, M., Abadi, P. G., Ahmadian-Attari, M. M., Rezaee, A., Kordbacheh, H., & Goleij, P. (2024). In vitro and in vivo studies of Dragon's blood plant (*D. cinnabari*)-loaded electrospun chitosan/PCL nanofibers: Cytotoxicity, antibacterial, and wound healing activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 257(Pt 1), 128634. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128634>
- Jiang, X., Du, Z., Zhang, X., Zaman, F., Song, Z., Guan, Y., Yu, T., & Huang, Y. (2023). Gelatin-based anticancer drug delivery nanosystems: A mini review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1158749. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1158749>
- Jongprasitkul, H., Turunen, S., Parihar, V. S., & Kellomäki, M. (2022). Two-step crosslinking to enhance the printability of methacrylated gellan gum biomaterial ink for

- extrusion-based 3D bioprinting. *Bioprinting*, 25, e00185.
<https://doi.org/10.1016/j.bprint.2021.e00185>
- Jura-Morawiec, J., & Tulik, M. (2016). Dragon's blood secretion and its ecological significance. *Chemoecology*, 26, 101-105.
<https://doi.org/10.1007/s00049-016-0212-2>
- Ko, A., & Liao, C. (2023). Hydrogel wound dressings for diabetic foot ulcer treatment: Status-quo, challenges, and future perspectives. *BMEMat*, 1(3), e12037.
<https://doi.org/10.1002/bmm2.12037>
- Kryou, C., Leva, V., Chatzipetrou, M., & Zergioti, I. (2019). Bioprinting for Liver Transplantation. *Bioengineering*, 6(4), 95.
<https://doi.org/10.3390/bioengineering6040095>
- Lihao, Q., Tingting, L., Jiawei, Z., Yifei, B., Zheyu, T., Jingyan, L., Tongqing, X., & Zhongzhi, J. (2024). 3D bioprinting of Salvianolic acid B-sodium alginate-gelatin skin scaffolds promotes diabetic wound repair via antioxidant, anti-inflammatory, and proangiogenic effects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 171, 116168.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116168>
- Lin, Z., Xie, W., Cui, Z., Huang, J., Cao, H., & Li, Y. (2023). 3D printed alginate/gelatin-based porous hydrogel scaffolds to improve diabetic wound healing. *Giant*, 16, 100185.
<https://doi.org/10.1016/j.giant.2023.100185>
- Long, J., Etxeberria, A. E., Nand, A. V., Bunt, C. R., Ray, S., & Seyfoddin, A. (2019). A 3D printed chitosan-pectin hydrogel wound dressing for lidocaine hydrochloride delivery. *Materials Science and Engineering: C*, 104, 109873.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109873>
- Mikhailov, O. V. (2023). Gelatin as It Is: History and Modernity. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3583. <https://doi.org/10.3390/ijms24043583>
- Moeini, A., Pedram, P., Makvandi, P., Malinconico, M., & d'Ayala, G. G. (2020). Wound healing and antimicrobial effect of active secondary metabolites in chitosan-based wound dressings: A review. *Carbohydrate Polymers*, 233, 115839.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115839>

- Naghib, S. M., Hosseini, S. N., & Beigi, A. (2024). 3D 4D printing of chitosan-based scaffolds for wound dressing applications. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 8, 100594. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100594>
- Namjoyan, F., Kiashi, F., Moosavi, Z. B., Saffari, F., & Makhmalzadeh, B. S. (2015). Efficacy of Dragon's blood cream on wound healing: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6(1), 37-40. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.029>
- Nunan, R., Harding, K. G., & Martin, P. (2014). Clinical challenges of chronic wounds: Searching for an optimal animal model to recapitulate their complexity. *Disease Models & Mechanisms*, 7(11), 1205-1213. <https://doi.org/10.1242/dmm.016782>
- Nussbaum, S. R., Carter, M. J., Fife, C. E., DaVanzo, J., Haught, R., Nusgart, M., & Cartwright, D. (2018). An Economic Evaluation of the Impact, Cost, and Medicare Policy Implications of Chronic Nonhealing Wounds. *Value in Health*, 21(1), 27-32. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2017.07.007>
- Pahlevanzadeh, F., Mokhtari, H., Bakhsheshi-Rad, H. R., Emadi, R., Kharaziha, M., Valiani, A., Poursamar, S. A., Ismail, A. F., RamaKrishna, S., & Berto, F. (2020). Recent Trends in Three-Dimensional Bioinks Based on Alginate for Biomedical Applications. *Materials*, 13(18), 3980. <https://doi.org/10.3390/ma13183980>
- Peter-Riesch, B. (2016). *The Diabetic Foot: The Never-Ending Challenge: Contemporary Options of Screening, Management and Prevention of Foot Pathologies in Diabetic Patients*. <https://doi.org/10.1159/000439409>
- Pyun, D. G., Choi, H. J., Yoon, H. S., Thambi, T., & Lee, D. S. (2015). Polyurethane foam containing rhEGF as a dressing material for healing diabetic wounds: Synthesis, characterization, in vitro and in vivo studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 135, 699-706. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.08.029>
- Radmanesh, S., Shabangiz, S., Koupaei, N., & Hassanzadeh-Tabrizi, S. A. (2022). 3D printed bio polymeric materials as a new perspective for wound dressing and skin

- tissue engineering applications: A review. *Journal of Polymer Research*, 29(2), 50.
<https://doi.org/10.1007/s10965-022-02899-6>
- Si, H., Xing, T., Ding, Y., Zhang, H., Yin, R., & Zhang, W. (2019). 3D Bioprinting of the Sustained Drug Release Wound Dressing with Double-Crosslinked Hyaluronic-Acid-Based Hydrogels. *Polymers*, 11(10), Article 10.
<https://doi.org/10.3390/polym11101584>
- Viadé-Julià, J., Longa-López, J., Nicolás-Piera, M., Sabriá-Leal, M., Lladó-Vidal, M., Muñoz-De La Calle, F. J., Madirolas-Alonso, X., Sirvent-González, M., Riera-Hernández, C., Carrasco-López, C., Pérez-Andrés, R., Rodríguez-Baeza, A., Viadé-Julià, J., Longa-López, J., Nicolás-Piera, M., Sabriá-Leal, M., Lladó-Vidal, M., Muñoz-De La Calle, F. J., Madirolas-Alonso, X., ... Rodríguez-Baeza, A. (2024). Abordaje global del paciente con pie diabético: Una revisión. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 24(2), 139-155. <https://doi.org/10.25176/rfmh.v24i2.6518>
- Wang, S., Xiong, Y., Chen, J., Ghanem, A., Wang, Y., Yang, J., & Sun, B. (2019). Three Dimensional Printing Bilayer Membrane Scaffold Promotes Wound Healing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00348>
- Zhang, W., Chen, L., Xiong, Y., Panayi, A. C., Abududilibaier, A., Hu, Y., Yu, C., Zhou, W., Sun, Y., Liu, M., Xue, H., Hu, L., Yan, C., Xie, X., Lin, Z., Cao, F., Mi, B., & Liu, G. (2021). Antioxidant Therapy and Antioxidant-Related Bionanomaterials in Diabetic Wound Healing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9.
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.707479>
- Zhou, X., Yu, X., You, T., Zhao, B., Dong, L., Huang, C., Zhou, X., Xing, M., Qian, W., & Luo, G. (2024). 3D Printing-Based Hydrogel Dressings for Wound Healing. *Advanced Science*, 11(47), 2404580. <https://doi.org/10.1002/advs.202404580>