

Caracterización mecánica de hidrogeles derivados de celulosa bacteriana producida a partir de mucílago de café con potencial uso en el diseño de apósitos para úlcera por presión decúbito supino

Investigación en curso

María Camila Pinto Niño
Facultad de Ingeniería
Ingeniería Biomédica
mpinto587@unab.edu.co

Yolibeth Prada Barrera
Facultad de Ingeniería
Ingeniería Biomédica
yprada878@unab.edu.co

Universidad Autónoma de Bucaramanga
Ingeniería Biomédica

RESUMEN

Las úlceras por presión (UPP) se producen debido a la presión aplicada al tejido blando, lo cual conlleva a la obstrucción del flujo de sangre originando lesiones isquémicas que producen una degeneración rápida de los tejidos; los tratamientos disponibles para tal enfermedad van desde hidrocoloides hasta hidrogeles, los cuales ofrecen una solución a corto y mediano plazo, exhibiendo la necesidad de elaborar un tratamiento apto para contribuir a largo plazo. Por consiguiente, en este proyecto se desarrolló un hidrogel derivado de celulosa bacteriana, puesto que, al ser un polímero con buenas propiedades, incita a la reparación del tejido epitelial y a la cicatrización de heridas. Primeramente, se fabricaron hidrogeles derivados de celulosa bacteriana, con una concentración del 15% v/v usando tres medios

de cultivos diferentes; las propiedades estructurales de los hidrogeles como la capacidad de hinchamiento, se evaluó a partir de la relación volumétrica de hinchamiento, mientras que el módulo elástico y de compresión fueron establecidos por medio de pruebas mecánicas. Los resultados obtenidos de los hidrogeles derivados de celulosa bacteriana, demuestran que disponen de propiedades mecánicas semejantes a la piel; por consiguiente, podrían tener gran potencial en la curación de UPP decúbito dorsal.

ABSTRACT

Pressure ulcers occur due to pressure applied to soft tissue, which leads to the obstruction of blood flow originating ischemic lesions that produce a rapid degeneration of tissues; the available treatments for

such disease range from hydrocolloids to hydrogels, which offer a short and medium term solution, exhibiting the need to develop a treatment suitable to contribute in the long term. Therefore, in this project a hydrogel derived from bacterial cellulose was developed, since, being a polymer with good properties, it promotes epithelial tissue repair and wound healing. First, hydrogels derived from bacterial cellulose were fabricated with a concentration of 15% v/v and under three different culture media (HS, MS and HSMC); the structural properties of the hydrogels, such as swelling capacity, were evaluated from the volumetric swelling ratio, while the elastic modulus and compression modulus were established by means of tension and compression tests. The results obtained for hydrogels derived from bacterial cellulose show that they have excellent mechanical properties, since they are similar to skin; therefore, they could have great potential in the healing of dorsal decubitus PUs.

Área de Conocimiento

Biomateriales

Palabras Clave

Hidrogeles, celulosa bacteriana, úlceras por presión, mucílago de café, medios de cultivo, propiedades mecánicas.

INTRODUCCIÓN

Las úlceras por presión son un problema de salud pública, en Colombia, acorde con datos del Ministerio de Salud, se reporta que las UPP aparecen de un 3% a un 10% en los pacientes hospitalizados y, que la tasa de incidencia, oscila entre 7,7% y 26,9%, presentándose con mayor frecuencia en la población mayor de 70 años

[1], una de las UPP más frecuentes son las UPP decúbito supino, las cuales pueden afectar diferentes zonas del cuerpo incluyendo la cabeza, omóplatos, codos, sacro y talones. Estas úlceras se producen debido a la presión aplicada al tejido blando, lo cual conlleva a la obstrucción del flujo de sangre, originando lesiones isquémicas que producen una degeneración rápida de los tejidos [2]. Para lograr la cicatrización de una UPP dependerá del estadio y características de la lesión.

Por lo cual, diferentes estudios han reportado que los apósitos de hidrogel son una opción terapéutica prometedora para mejorar la evolución de las UPP al potenciar el proceso de cicatrización apropiado, además que mantiene la herida húmeda mientras se absorbe el exudado extenso y permite cubrir la herida sin adherencias del tejido subyacente sensible. En este contexto, la celulosa bacteriana (CB) ha sido utilizada para fabricar estos hidrogeles gracias a las propiedades que presenta como lo han mostrado tasas rápidas de epitelización y regeneración tisular, en procedimientos de cicatrización de heridas [3]. En especial, la CB cuenta con propiedades que la diferencian de la celulosa derivada de plantas, como lo es su hidrofobicidad y las estructuras laminares tridimensionales que presenta en las diferentes capas que la componen, lo que le proporciona su capacidad de retención de agua, llevando a una reducción en la probabilidad de aparición de infecciones en las heridas, presenta una mayor porosidad, lo que permite obtener un comportamiento de tensión-deformación similar a los tejidos blandos, como la piel [4].

Asimismo, este comportamiento mecánico puede modularse al cambiar las condiciones de cultivo, en especial, la fuente de glucosa que se utiliza en el proceso de producción de CB [5]. Entre estas condiciones de cultivo, se ha reportado el uso de mucílago de café como un medio efectivo para promover el crecimiento adecuado de los microorganismos productores de celulosa. Por tanto, este proyecto busca evaluar mecánicamente hidrogeles fabricados a base de CB a partir de mucílago de café, con el fin de establecer su potencial uso en el diseño de apósitos terapéuticos para el tratamiento de úlceras por presión del decúbito dorsal.

OBJETIVOS

Objetivo General Caracterizar mecánicamente hidrogeles derivados de CB producida a partir de mucílago de café, con potencial uso en el diseño de apósitos para las UPP decúbito supino.

Objetivos específicos

Fabricar hidrogeles derivados de CB a partir de mucílago de café proveniente de fincas cafeteras santandereanas.

Evaluar la capacidad de hinchamiento de los hidrogeles fabricados bajo las diferentes condiciones de cultivo.

Determinar las propiedades mecánicas de los hidrogeles fabricados, por medio de ensayos de compresión y tensión.

METODOLOGÍA

Fabricación del hidrogel de celulosa bacteriana

El proceso de fabricación de los hidrogeles de CB se describe a continuación. Primero se fabricaron los tres

medios de cultivo para hacer crecer la bacteria *Gluconacetobacter-xylinus*, medio HS (Hestrin - Schramm); mucílago de café sin suplementar; mucílago de café suplementado con peptona, extracto de levadura, ácido cítrico y fosfato disódico. En la tabla 1 se muestran los componentes que tiene cada medio de cultivo.

| Componentes | Medios | | |
|----------------------|--------|------|----|
| | HS | HSMC | MC |
| Mucilago de café | | x | x |
| Agua destilada | x | | |
| Glucosa | x | | |
| Peptona | x | x | |
| Extracto de levadura | x | x | |
| Ácido cítrico | x | x | |
| Fosfato disódico | x | x | |

Tabla 1. Composición de los medios de cultivo. Fuente:

Autores

Para obtener la CB se preparó un inóculo de *Gluconacetobacter-xylinus*; se transfirió un vial de células criopreservadas a un frasco con 50 mL del medio HS. El frasco se colocó en la incubadora con agitación orbital durante 24 horas a 30 °C, con agitación de 150 rpm. A continuación, se realizó un pre-cultivo, se agregó 15% del inóculo a 255 mL del medio HS y se colocó en la incubadora a 30 °C, con agitación de 150 rpm, por 24 horas. Para producir los hidrogeles en frascos, se inoculó 15% (v/v) del pre-inóculo en 42,5 mL de los medios de cultivo (HS, MC, HSMC) y se incubó a 30 °C por 7, 15, y 21 días, bajo condiciones estáticas.

Evaluación de la capacidad de hinchamiento de los hidrogeles

Para los ensayos de hinchamiento se cortaron muestras cuadradas de cada hidrogel, y se colocaron en solución de PBS durante 24 horas a temperatura ambiente. A continuación, se secaron y se pesaron las muestras, se

colocaron en tubos eppendorf y se llevaron al horno de circulación forzada durante 48 horas a 70 °C.

Caracterización mecánica de los hidrogeles de celulosa bacteriana

Los ensayos de tensión y compresión se hicieron en el banco de carga (ElectroForce 3200 Serie III) con una celda de 45N. Para las pruebas de tensión se cortó un rectángulo de cada hidrogel y se sometió a fuerzas de tracción a una velocidad de 0,1 mm/min, hasta que se llegara a la fractura del hidrogel. Para las pruebas de compresión se cortó un cuadrado de cada hidrogel y se sometió a fuerzas de compresión a una velocidad de 0,05 mm/min.

CRONOGRAMA

Tabla 2. Cronograma de actividades. Fuente: Autores

RESULTADOS

Resultados obtenidos

Para obtener la CB, se llevó a cabo un proceso de inoculación a una concentración del 15% v/v, y fermentación durante 7, 14 y 21 días, con el fin de obtener los hidrogeles de CB bajo diferentes medios de cultivo (HS, HSMC y MC). En la figura 1 y 2 se muestra la apariencia de los hidrogeles obtenidos en cultivo estático, los cuales presentan mayor espesor a medida que aumenta el tiempo de fabricación. En particular, la condición de cultivo MC favoreció la producción de hidrogeles con mayor espesor.

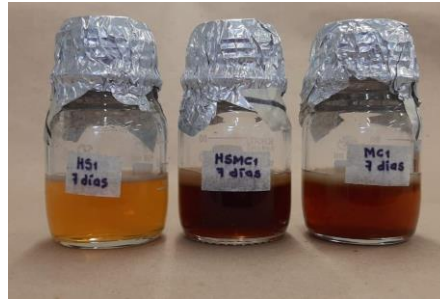
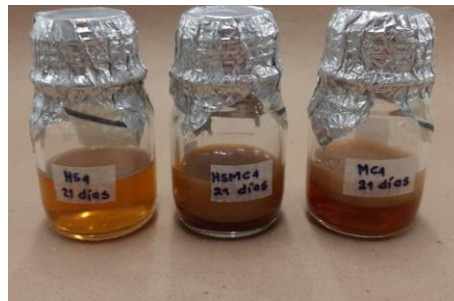


Figura 1. Producción de CB con 7 días de fermentación usando HS, HSMC y MC.



| | Semanas | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| Fabricación de los medios de cultivo para la obtención de CB | x | x | | | | | | | | | | | | | | |
| Obtención de la CB a partir de <i>Gluconacetobacter-xylinus</i> | | x | x | x | x | | | | | | | | | | | |
| Purificación de la CB producida | | | | x | x | x | | | | | | | | | | |
| Ensayos de hinchamiento | | | | | | | x | x | x | | | | | | | |
| Determinación de la concentración de celulosa y el grado de hinchamiento | | | | | | | | x | x | x | | | | | | |
| Ensayos de tensión | | | | | | | | | | x | x | x | | | | |
| Ensayos de compresión | | | | | | | | | | | | | x | x | x | |

Figura 2. Producción de CB con 21 días de fermentación usando HS, HSMC y MC.

La evaluación de la capacidad de hinchamiento de los hidrogeles brinda información relacionada con la cantidad de líquido que puede absorber el hidrogel, la cual puede afectar sus propiedades mecánicas. En la figura 4 se reportan los resultados obtenidos durante la prueba de hinchamiento.

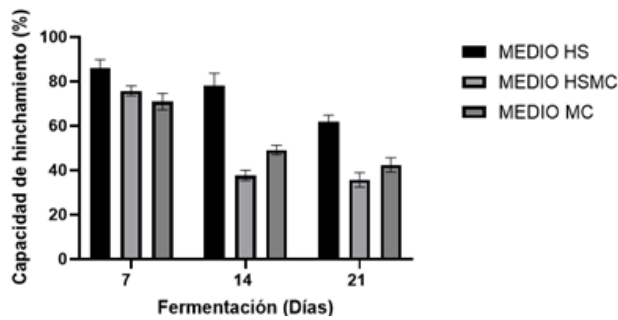


Figura 3. Resultados ensayo de compresión

Al analizar los resultados obtenidos en esta prueba, se evidenció que los hidrogeles con una fermentación de 7 días presentan una capacidad de hinchamiento mayor comparado con los hidrogeles obtenidos después de 14 y 21 días de fermentación; además, se observó una tendencia de disminución de la capacidad de hinchamiento a medida que aumentaba el tiempo de fermentación de cada uno de los hidrogeles.

A continuación, se presentan los resultados de los módulos de elasticidad y compresión calculados a partir de las pruebas mecánicas (Figura 4 y 5).

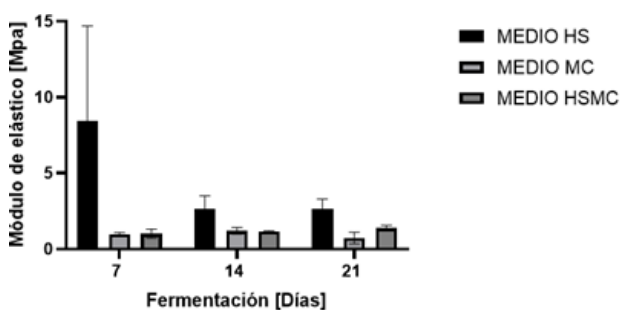


Figura 4. Resultados ensayo tensión

Al comparar los hidrogeles agrupados por días de fermentación se obtuvo como resultado que: en el caso de los hidrogeles de 7 días de fermentación, el módulo elástico de las muestras fabricadas con el medio HS fue más alto que las fabricadas con MC y HSMC y los

hidrogeles de 21 días, presentaron un comportamiento similar a los de 14 días (Figura 4). Es importante mencionar que, los hidrogeles obtenidos a partir del medio HS, presentan módulos elásticos más altos que los fabricados con MC y HSMC.

En la figura 5 se reportan los datos obtenidos del módulo de compresión de cada uno de los hidrogeles bajo estudio.

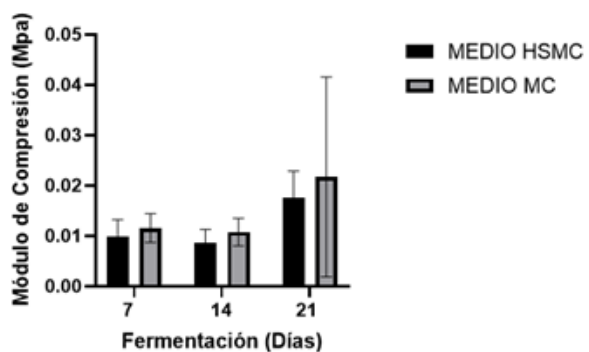


Figura 5. Resultados ensayo compresión

Para cada grupo de hidrogeles de MC y HSMC, el módulo de compresión aumentó a medida que incrementó el grosor de los hidrogeles. Igualmente, se evidenció que los hidrogeles fabricados con el medio MC tienen una mayor resistencia a la compresión comparados con los hidrogeles fabricados con el medio HSMC. Es importante mencionar que los hidrogeles del medio HS presentaron un bajo grosor, lo que no permitió la realización del ensayo de compresión.

Resultados esperados

Al finalizar este proyecto esperamos obtener:

- Hidrogeles de celulosa bacteriana a los 7, 14 y 21 de fermentación.

- Grado de hinchamiento de los hidrogeles de CB.
- Módulo de elasticidad, módulo de compresión, resistencia a la tracción y elongación en el punto de fractura de los hidrogeles de CB.

Además, se espera poder identificar cuáles de los hidrogeles fabricados presentan mejores propiedades mecánicas, con el fin de poderlos utilizar para el diseño de apósitos terapéuticos para el tratamiento de úlceras por presión del decúbito dorsal.

REFERENTES TEÓRICOS

UPP decúbito dorsal

Las UPP son lesiones de la piel que producen una degeneración rápida de los tejidos; provocadas por una presión no aliviada que interrumpe el suministro de sangre a la red capilar, dificultando el flujo sanguíneo y privando a los tejidos de oxígeno y nutrientes (Bluestein & Javaheri, 2008). Como consecuencia, se origina una alteración del flujo sanguíneo, llevando a isquemia local y daño tisular (Agrawaly & Chauhan, 2012). Los lugares más comunes de las UPP son el sacro, los talones, las tuberosidades isquiáticas, los trocánteres mayores y los maléolos laterales (Bluestein & Javaheri, 2008).

Apósitos tipo hidrogel

Un apósito es un producto sanitario utilizado para cubrir y proteger una herida. Su función consiste en actuar como barrera frente a la infección, suministrar alivio del dolor, absorber el exudado que ésta produce, permitir una adecuada circulación sanguínea y mejorar el proceso de cicatrización (Benedí & Romero, 2006). Actualmente en el mercado existen diferentes tipos de apósitos y la elección de cada uno dependerá de la

profundidad y ubicación de la herida, del tipo de tejido, y de la cantidad de exudado (Benedí & Romero, 2006). Los hidrogeles son materiales hidrófilos, hinchables e insolubles fabricados a partir de polímeros; proveen humedad la cual facilita la eliminación del tejido muerto, dañado o infectado de forma indolora, fomentan la granulación y ayudan a la curación completa de la herida (Hoffman A., 2006).

Propiedades mecánicas de los hidrogeles

Las propiedades mecánicas de los hidrogeles son importantes al momento de seleccionarlos para una aplicación determinada; por lo tanto, deben evaluarse con precisión dado que pueden alterar la fisiología celular (Tong & Yang., 2014). Adicionalmente, las propiedades mecánicas del hidrogel pueden adecuarse al modificar los polímeros que se usen para su fabricación. De hecho, estas propiedades dependen de la estructura química del polímero, del tipo, grado y densidad de entrecruzamiento, de la funcionalización con moléculas bioactivas, de los grupos hidrofílicos presentes en el hidrogel, de la porosidad del hidrogel, y de los dominios de unión de células (Ruedinger F., 2015).

Celulosa bacteriana para la fabricación de apósitos

La CB es un polímero altamente cristalino de glucosa, que cuenta con propiedades estructurales y mecánicas únicas a diferencia de la celulosa de las plantas. Debido a sus propiedades, los biomateriales realizados con CB junto con otros biopolímeros han demostrado tener un excelente potencial en aplicaciones biomédicas como la reparación de tejido epitelial, y en procesos de cicatrización (Valencia et al., 2016). Además, este

biopolímero es bastante prometedor ya que puede controlar el exudado de la herida y otorgar un ambiente húmedo para la cicatrización de esta (Zheng et al., 2020).

IDENTIFICACIÓN DEL PROYECTO

| | |
|------------------------|--|
| Nombre del Semillero | SEBIUNAB |
| Tutor del Proyecto | Silvia Becerra Bayona – Víctor Solarte David |
| Grupo de Investigación | Control y Mecatrónica |
| Línea de Investigación | BIOMATERIALES / MEDICINA REGENERATIVA |
| Fecha de Presentación | Octubre 15 de 2021 |

REFERENCIAS

[1] Agrawaly, K., & Chauhan, N. (2012). Pressure ulcers: Back to the basics. *Indian Journal Of Plastic Surgery*, (45), 244-254. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.101287>

[2] Benedí, J., & Romero, C. (2006). Apósitos. *Farmacia Espacio De Salud*, 20(6), 52-56. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-apositos-13089951#:~:text=Un%20ap%C3%B3sito%20es%20un%20producto,optimizar%20el%20proceso%20de%20cicatrizaci%C3%B3n>.

[3] Bluestein, D., & Javaheri, A. (2008). Pressure Ulcers: Prevention, Evaluation, and Management. *American Family Physician*, 78(10), 1186–1194. <https://www.aafp.org/afp/2008/1115/p1186.html>

[4] Esa, F., Tasirin, S., & Rahman, N. (2014). Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture And Agricultural Science Procedia*, 2, 113-119. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.017>

[5] Fornes Pujalte, B., Palomar Llatas, F., Díez Fornes, P., Muñoz Mañez, V., & Lucha Fernandez, V. (2008). Apósitos en el tratamiento de úlceras y heridas. *Anedidic.com*. Retrieved 5 March 2021, from <http://www.anedidic.com/descargas/formacion-dermatologica/04/apositos-en-el-tratamiento-de-ulceras-yheridas.pdf>.

[6] Galvan, J., Garcia, E., & Balletas, H. (2016). Nivel de riesgo y aparición de úlceras de presión en pacientes ingresados a la u.c.i. de la clínica blas de lezo. <https://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/529/3/Especializaci%C3%B3n%20en%20epidemiolog%C3%ADa.-%20ulcera.pdf>.

[7] Hassan, E., Abdelhady, H., Abd I-Salam, S., & Abdullah, S. (2015). The Characterization of Bacterial Cellulose Produced by *Acetobacter xylinum* and *Komgataeibacter saccharovorans* under Optimized Fermentation Conditions. *British Microbiology Research Journal*, 9(3), 1-13. <https://doi.org/10.9734/bmrj/2015/18223>

[8] Hoffman, A. (2006). Hydrogels for Biomedical Applications. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 944(1), 62-73. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03823.x>

[9] Minsalud. (2020). Prevención Úlceras por Presión, 1-100.

https://cuidadoresiceit.webnode.com.co/_files/200000068-e72ede82dc/prevenir-ulceras-por-presion.pdf.

[10] Ruedinger, F., Lavrentieva, A., Blume, C., Pepelanova, I., & Scheper, T. (2015). Hydrogels for 3D mammalian cell culture: a starting guide for laboratory practice. National Library Of Medicine. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6253-y>

[11] Tong, X., & Yang, F. (2014). Engineering interpenetrating network hydrogels as biomimetic cell niche with independently tunable biochemical and mechanical properties. *Biomaterials*, 35(6), 1807-1815. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.064>

[12] Valencia Gómez, L., Martel Estrada, S., Vargas Requena, C., Rodriguez González, C., Olivas Armendariz, I. (2016). Natural polymers aposites for skin regeneration. *Revista Mexicana De Ingeniería Biomédica*, 37(3). <https://doi.org/10.17488/rmib.37.3.4>

[13] Zheng, L., Li, S., Luo, J., & Wang, X. (2020). Latest Advances on Bacterial Cellulose-Based Antibacterial Materials as Wound Dressings. *Frontiers In Bioengineering And Biotechnology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.593768>