UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

DESARROLLO DE ANDAMIOS DE PMMA/YSZ OBTENIDOS POR MANUFACTURA ADITIVA BIOMIMÉTICOS A CARTÍLAGO NATIVO

Hernan Stiven Estrada Guerrero

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Minas, Departamento de Ingeniería de Materiales y Minerales

Medellín, Colombia

2025

DESARROLLO DE ANDAMIOS DE PMMA/YSZ OBTENIDOS POR MANUFACTURA ADITIVA BIOMIMÉTICOS A CARTÍLAGO NATIVO

Hernan Stiven Estrada Guerrero

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ingeniería – Materiales y Procesos

Director (a):
Ph.D. Hugo Armando Estupiñán Duran

Línea de Investigación:
Biomateriales
Grupo de Investigación:
Grupo de Investigación en Biosuperficies - GIB

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Minas, Departamento de Ingeniería de Materiales y Minerales
Medellín, Colombia
2025

Dedicatoria

A mi amada Madre, a mi entrañable hermano, a mi apacible Padre, a mi apasionada compañera de vida, a mis incondicionales amigos. Gracias por su amor diáfano.

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer al profesor Hugo Armando Estupiñán Duran quien ejerció como profesor director de esta Tesis de Maestría, sus asesorías y su confianza en mí al abrirme las puertas del Laboratorio de Biomateriales de la UNAL para realizar el proceso experimental fue clave en la culminación de este trabajo. Al personal del laboratorio de Tribología de la UNAL por su ayuda con los ensayos pin-sobre-disco. El desarrollo de este trabajo fue financiado por la Convocatoria 15 de MinCiencias cuyos recursos fueron gestionados por la Universidad Nacional de Colombia, sin su apoyo y disponibilidad para resolver dudas no habría podida llevar a cabo mi formación investigativa. Entidad que también financio mi asistencia a congresos de carácter internacional.

Mis agradecimientos a Juan Carlos Bánquez, colega y compañero de maestría, con quien, en medio de discusiones informales y espontáneas, logramos desatar nudos conceptuales y aclarar inquietudes que enriquecieron nuestro proceso de formación.

También agradezco a Solvey Santacruz, compañera del grupo de investigación.

Finalmente, agradecimientos a mi entrañable familia, desde la distancia su apoyo no se dejó de sentir, en los momentos de incertidumbre, cuando me veía sin caminos posibles, ellos siempre me sugirieron uno; cuando mis fuerzas no alcanzaban, me ofrecieron las suyas; y, sobre todo, cuando todo parecía escasear, jamás me faltó la transparencia inquebrantable de su amor.

Resumen

Las articulaciones son estructuras biomecánicas clave del cuerpo humano, pero también altamente vulnerables a lesiones. Entre lo que lo compone, el cartílago articular (CA) destaca por sus propiedades viscoelásticas, que permiten distribuir de manera uniforme las cargas y garantizar una fricción reducida. No obstante, múltiples factores de riesgo aumentan la susceptibilidad a lesiones. Debido a su naturaleza avascular e inervada, el CA tiene capacidad de autorreparación limitada, lo que ha impulsado numerosas investigaciones sin que aún se disponga de una solución definitiva. Ante esto, se desarrolló una biotinta tipo hidrogel compuesto por Polimetilmetacrilato (PMMA), Poli(etilenglicol)Dimetacrilato (PEGDMA) y componentes bioactivos, la cual se imprimió mediante Manufactura Aditiva (MA) sobre un sustrato biocerámico. La metodología incluyó caracterización fisicoquímica, mecánica y tribológica. El biomaterial alcanzó un hinchamiento del 16% a 30 minutos de reticulación, valor cercano al CA porcino. En degradación, el PMMA mantuvo estabilidad, mientras que el PEGDMA mostró vulnerabilidad por hidrólisis en condiciones experimentales inflamatorias. La incorporación de los componentes sulfatados bioactivos mantuvo el Coeficiente de Fricción (COF) entre 0,085 y 0,111 con cargas de 0,5 y 1 kg, a diferencia de los andamios sin sulfatos. A nivel mecánico, el AFM evidenció que bajas concentraciones de sulfatos redujeron el módulo elástico (0,39 GPa) y aumentaron la deformación, mientras que altas concentraciones lo reforzaron (6,57 GPa), con rigidez y adhesión próximas al CA porcino (440 GPa). En conjunto, se consolidó un material bioinspirado con propiedades fisicoquímicas, de fricción y mecánicas comparables al CA nativo, lo que respalda su potencial como material biomimético a CA nativo.

Palabras clave: Cartílago, Hidrogel, Biomimético, Coeficiente de fricción, Manufactura Aditiva.

Abstract

Development of PMMA/YSZ scaffolds obtained by additive manufacturing biomimetic to native cartilage

Joints are key biomechanical structures of the human body but are also highly vulnerable to injury. Among their components, Articular Cartilage (AC) stands out for its viscoelastic properties, which enable uniform load distribution and reduced friction. However, multiple risk factors increase its susceptibility to damage. Due to its avascular and innervated nature, AC has limited self-repair capacity, which has led to many research efforts without a definitive solution. In this context, a hydrogel-type bio-ink composed of polymethyl methacrylate (PMMA), poly(ethylene glycol) dimethacrylate (PEGDMA), and bioactive components was developed and printed by Additive Manufacturing (AM) onto a bioceramic substrate. The methodology included physicochemical, mechanical, and tribological characterization. The biomaterial achieved a swelling ratio of 16% after 30 minutes of crosslinking, a value close to porcine AC. In degradation tests, PMMA maintained stability, while PEGDMA showed hydrolytic vulnerability under experimental inflammatory conditions. The incorporation of sulfated bioactive components maintained the Coefficient of Friction (COF) between 0.085 and 0.111 under loads of 0.5 and 1 kg, unlike scaffolds without sulfates. At the mechanical level, AFM analysis revealed that low sulfate concentrations reduced the elastic modulus (0.39 GPa) and increased deformation, whereas higher concentrations reinforced the network (6.57 GPa), with stiffness and adhesion values approaching those of porcine AC (440 GPa). Overall, a bioinspired material with physicochemical, friction, and mechanical properties comparable to native AC was achieved, supporting its potential as a biomimetic material to native AC.

Keywords: Cartilage, Hydrogel, Biomimetic, Coefficient of Friction, Additive Manufacturing.

Contenido

Pág.

Resumen ..... **iv**

Abstract ..... **v**

1. Introducción **3**
1.1 Motivación 3
1.2 Propuesta de Tesis 4
1.2.1 Problema de Investigación 4
1.2.2 Hipótesis 6
1.2.3 Objetivos 7
1.2.4 Alcance de la tesis 7

2. Marco Teórico **8**
2.1 Cartílago Articular (CA) Nativo 8
2.2 Fisiopatología del CA 10
2.3 Comportamiento Funcional del CA 11
2.3.1 Comportamiento mecánico 11
2.3.2 Comportamiento tribológico 12
2.3.2.1 Rugosidad 13
2.3.2.2 Coeficiente de fricción (COF) 13
2.4 Manufactura Aditiva (MA) 13
2.4.1 Impresión basada en extrusión 14
2.5 Biotintas Tipo Hidrogel 14
2.5.1 Razón de hinchamiento (R_H) de un hidrogel 15
2.5.2 Métodos de reticulación de hidrogeles 16
2.5.3 Redes interpenetrantes (IPN) 17
2.5.4 Fotoiniciadores Convencionales 17

3. Estado Actual del Conocimiento **19**
3.1 Hidrogeles Derivados de PEG 19
3.2 DCP Como Fotoiniciador 20
3.3 Hidrogel Basado en PMMA-PEGDMA 20
3.4 Componentes Bioactivos 21
3.5 Biocompatibilidad Osteocondral 22
3.6 YSZ como Sustrato 23
3.7 Extrusión Neumática (EN) 24
3.8 Caracterización de Hidrogeles 25
3.8.1 Caracterización molecular con Raman 25
3.8.2 Propiedades tribológicas con Pin-sobre-Disco 26
3.8.3 AFM en modo F-D aplicado a hidrogeles 27
3.9 Desafíos actuales 27

4. Métodos **28**

4.1 Desarrollo de Hidrogel de PMMA y Aditivos 28
4.1.1 Preparación del hidrogel 28
4.1.1.1 Materiales usados 28
4.1.1.2 Preparación 28
4.1.1.3 Diseño Experimental 30
4.1.2 Espectroscopia Raman 31
4.1.3 Estudios de Hinchamiento 31
4.1.4 Estudios de Degradación Hidrolítica 32
4.1.5 Estudios de Mojabilidad 32
4.2 Bioimpresión de Hidrogel 32
4.2.1 Equipo de Bioimpresión 32
4.2.2 Procedimiento de Bioimpresión 33
4.2.3 Evaluación de Capacidad de Extrusión 34
4.2.4 Determinación de Altura de Capa 35
4.2.5 Bioimpresión sobre YSZ 36
4.3 Ensayos Mecánicos y Tribológicos de Andamios 36
4.3.1 Pruebas Pin-sobre-Disco 36
4.3.2 Pruebas con AFM 39

5. Resultados y Discusión 40
5.1 Determinación de estructura sIPN con Raman 40
5.1.1 Identificación de Picos Raman 40
5.1.2 Análisis estadístico 44
5.1.2.1 Intensidad de picos correspondientes a PMMA 44
5.1.2.2 Desplazamiento del pico 1720 cm^{-1} $\boldsymbol{\nu}$(C=O) 46
5.1.2.3 Intensidad de picos correspondientes a PEGDMA 49
5.1.2.4 Relación con el FWHM 52
5.1.3 Estimación de la estructura del hidrogel sIPN 53
5.1.4 Razón de Hinchamiento (R_H) del Hidrogel 54
5.1.5 Grado de Degradación Hidrolítica (G_d) del Hidrogel 57
5.1.6 Mojabilidad del Hidrogel 60
5.2 Resultados de Bioimpresión 63
5.2.1 Determinación de la capacidad de extrusión de la biotinta 63
5.2.2 Determinación de altura de capa 67
5.3 Propiedades Tribológicas y Mecánicas de los Andamios 71
5.3.1 Coeficiente de Fricción (COF) de Andamios 71
5.3.2 Propiedades mecánicas y morfológicas de los andamios PMMA/YSZ 75
5.3.2.1 Comportamiento mecánico de los andamios 75
5.3.2.2 Interacciones superficiales y viscoelasticidad 80

6. Conclusiones 85
6.1 Resumen de Conclusiones 85
6.2 Recomendaciones Para Trabajos Futuros 87

Anexos 89
A. Desarrollo de Hidrogel sIPN 89
B. Ensayo Pin-sobre-Disco 94
C. Morfología Superficial con SEM 95

Bibliografía 96

Lista de Figuras

Figura 2-1: Representación del CA nativo 9
Figura 2-2: Avance de la OA en CA nativo 10
Figura 4-1: Representación de preparación del hidrogel. (a) Fase orgánica, (b) Fase acuosa, (c) Mezcla de fases 29
Figura 4-2: Fotoreticulación mediante radiación UV. (a) Representación, (b) Foto del montaje 30
Figura 4-3: Estructura bioimpresora BioBot Basic 33
Figura 4-4: Procedimiento de bioimpresion. (a) Biotinta enfriada en jeringa, (b) Jeringa con biotinta instala en la bioimpresora 34
Figura 4-5: Orientación de Andamios. (a) Capa vertical, (b) Capa horizontal, (c) Visualización de 2 capas 35
Figura 4-6: (a) Pin con superficie impresa, (b) Ancho de impresión sobre el Pin, (c) Pin instalado en portapines, (d) Disco de hueso en portadiscos, (e) Montaje Pin-sobre-Disco 37
Figura 5-1: Espectro Raman con rotulación de picos e identificación de modo vibracional en una unidad repetitiva de PMMA. 42
Figura 5-2: Espectro Raman con rotulación de picos e identificación de modo vibracional en una unidad repetitiva de PEGDMA. 43
Figura 5-3: Media de la CI para los picos característicos de PMMA 45
Figura 5-4: Desplazamiento del pico 1720 cm^{-1} (C=O). (a) Factor t = 10 min, (b) Factor t = 30 min. (c) Factor t = 50 min. 47
Figura 5-5: Media de desplazamiento del pico 1720 cm^{-1} (C=O) 48
Figura 5-6: Media de la CI para los picos característicos de PEGDMA 49
Figura 5-7: FWHM del pico 1640 cm^{-1} con respecto al Factor t 52
Figura 5-8: Ilustración esquemática de la reticulación covalente de PEGDMA a través de la formación de radicales peróxidos de DCP y entrecruzamiento físico con PMMA 54
Figura 5-9: Razón de hinchamiento (R_H) de hidrogeles y CA nativo porcino 56
Figura 5-10: Relación de R_H y CI Raman del pico 1720 cm^{-1} 57
Figura 5-11: Grado de degradación hidrolítica (Gd) de los hidrogeles evaluados a pH 6,0 y 7,4 58
Figura 5-12: Montaje de ensayo de mojabilidad. (a) Montaje, (b) CA porcino posterior al ensayo, (c) Hidrogel sIPN posterior al ensayo 60

Figura 5-13: Angulo de contacto (θ) para CA porcino, PMMA puro y el hidrogel sIPN con respecto al Factor t. 61
Figura 5-14: Patrón de impresión 64
Figura 5-15: Impresión del patrón con variaciones de Presión de extrusión (Pe) y Velocidad de impresión (Vi) 65
Figura 5-16: Ancho de andamio de los patrones impresos 67
Figura 5-17: Impresión de andamios con variación en altura de capa. (a) 0,20 mm, (b) 0,25 mm, (c) 0,30 mm 68
Figura 5-18: Ancho de andamios de las capas de impresión 69
Figura 5-19: COF medio de las probetas del ensayo pin-sobre-disco 72
Figura 5-20: COF bajo una carga normal de 0,5 kg 73
Figura 5-21: COF bajo una carga normal de 1 kg 73
Figura 5-22: Imágenes de microscopia óptica de probetas para AFM. (a) CA porcino, (b) Blanco, (c) 4% p/v, (-), (d) 6% p/v (+) 75
Figura 5-23: Imágenes de AFM para Deformación Superficial 76
Figura 5-24: Imágenes de AFM para Modulo Elástico 77
Figura 5-25: Imágenes de AFM para Rigidez local 77
Figura 5-26: Imágenes de AFM para Energía de Disipación 80
Figura 5-27: Imágenes de AFM para Energía de Adhesión. 81

Figura A-1: Comparación de espectros Raman de una muestra sIPN, PMMA, PEGDMA y DCP 90
Figura A-2: Representación de disminución de pico Raman 1640 cm^{-1} de acuerdo al Factor t 92

Figura C-1: Imágenes SEM de andamio. (a) Magnificación 1000x, (b) Magnificación 2500x 95

Lista de Tablas

Tabla 2-1: Propiedades Mecánicas del CA Nativo 12
Tabla 4-1: Parámetros experimentales de impresión 35
Tabla 4-2: Parámetros de simulación en el Tribómetro 37
Tabla 4-3: Replicas den ensayo pin-sobre-disco 38
Tabla 5-1: Resumen de ANOVA picos PMMA 46
Tabla 5-2: Resumen de ANOVA picos PEGDMA 50
Tabla 5-3: Resumen de ANOVA para Angulo de contacto (θ) 62
Tabla 5-4: Parámetros definidos de impresión de la biotinta sIPN 70
Tabla 5-5: COF del Modelo Experimental 71
Tabla 5-6: Propiedades mecánicas de las probetas: Deformación, Modulo elástico y rigidez 76
Tabla 5-7: Propiedades mecánicas de las probetas: Energía de disipación y adhesión 80

Tabla A-1: Asignación de modos vibracionales de picos Raman de PMMA, PEGDMA y DCP 89
Tabla A-2: CI calculado para picos Raman de PMMA 90
Tabla A-3: Datos de desplazamiento del pico 1720 cm^{-1} (C=O) 91
Tabla A-4: CI calculado para picos Raman de PEGDMA 91
Tabla A-5: Valores de Razón de Hinchamiento (R_H) 92
Tabla A- 6: Valores de Angulo de Contacto [°] 93

Tabla B-1: Valores de COF 94

Símbolos y Abreviaturas

Símbolos

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
V_I	Velocidad de Impresión	mm/s	N/A
D_I	Diámetro interno de Boquilla	mm	N/A
P_e	Presión de Extrusión	psi	N/A
θ	Angulo de Contacto	°	N/A
R_H	Razón de Hinchamiento	%	Ecuación 4.1
C_I	Comparación de Intensidades Raman	-	Ecuación 5.1
G_d	Grado de Degradación Hidrolítica	%	Ecuación 4.2
COF	Coeficiente de Fricción	-	Ecuación 4.3
(B)	Blanco – Sin sulfatos	-	N/A
$(+)$	Concentración de sulfatos de 6 %p/v	-	N/A
$(-)$	Concentración de sulfatos de 4 %p/v	-	N/A

Abreviaturas

Abreviatura	Término
AFM	Microscopia de Fuerza Atómica
Alg	Alginato
ANOVA	Análisis de Varianza
CA	Cartílago Articular
Ch	Quitosano
CI	Comparación de Intensidades Raman
COF	Coeficiente de Fricción
Col II	Colágeno Tipo II
CS	Sulfato de Condroitina
DCP	Peróxido de Dicumilo
EM	Extrusión Mecánica
EN	Extrusión Neumática
Factor t	Tiempo de reticulación UV
FDM	Modelo de deposición Fundida
FWHM	Ancho Completo de Altura Media
GBD	Carga Global de Enfermedades
Gel	Gelatina

Abreviatura	Término
GS	Sulfato de Glucosamina
HA	Ácido Hialurónico
IPN	Red Interpenetrante
MA	Manufactura Aditiva
ME	Matriz Extracelular
OA	Osteoartritis
PBS	Solución Salina Tamponada con Fosfato
PEG	Polietilenglicol
PEGDMA	Poli(etilenglicol) Dimetacrilato
PLA	Ácido Poliláctico
PLGA	Ácido Poli(láctico-co-glicólico)
PMMA	Polimetilmetacrilato
PRL	Polimerización por Radicales Libres
PVA	Ácido Poliviníllico
SBF	Superficie de Baja Fricción
SEM	Microscopia Electrónica de Barrido
sIPN	Red semi-Interpenetrante
SN	Red Simple
UV	Radiación Ultravioleta
YSZ	Circonia estabilizada con Itrio

1. Introducción

1.1 Motivación

El estudio de Carga Global de Enfermedades (GBD) lleva a cabo mediciones anuales de la salud poblacional a nivel mundial. En particular, a partir del año 1990, se comenzó a estimar la prevalencia e incidencia global de la osteoartritis (OA) (Cui et al., 2020). Se proyecta que la prevalencia de la OA continuará en aumento a nivel mundial, afectando desproporcionadamente a las mujeres. Los datos más recientes revelan que en 2019, alrededor de 528 millones de personas en todo el mundo vivían con OA, lo que representa un incremento del 113% con respecto a los 247 millones registrados en 1990 (Long et al., 2022), afectando con mayor frecuencia la articulación de la rodilla, seguida por la cadera y la mano. A pesar de que la OA es principalmente una afección en personas de edad avanzada, cada vez es más frecuente que también afecte a adultos jóvenes. En 2019, se reportaron más de treinta dos mil casos en personas de 30 a 44 años a nivel mundial (He et al., 2024).

Particularmente en Colombia, la atención de la OA se centra en la prevención y el tratamiento en etapas tempranas de la enfermedad. En la investigación de Long et al. (2022), se señala un aumento mayor al 200% en los casos de OA entre 1990 y 2019 en el país. Además, según Londoño et al. (2018), la OA es la enfermedad reumática más prevalente en Colombia, afectando al 10.8% de la población, con un crecimiento exponencial que resulta en que aproximadamente uno de cada tres individuos de 80 años sea afectado. Estos datos ponen en evidencia la magnitud creciente de la OA y la importancia de continuar ampliando el conocimiento científico en torno a alternativas que aporten la reducción de la brecha entre la problemática y la solución.

Además de lo anterior, el desarrollo de esta investigación se articula con la demanda territorial número 1 del departamento de Nariño, establecida en el Plan y Acuerdo Estratégico de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Convocatoria 15 del Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación (MinCiencias), la cual plantea la necesidad de impulsar la formación de capital humano de alto nivel (especialidades médicas y médico-quirúrgicas, maestrías, doctorados y posdoctorados) en salud, ciencias básicas, tecnologías de la información, biodiversidad, bioeconomía y desarrollo sostenible.

1.2 Propuesta de Tesis

1.2.1 Problema de Investigación

Una de las estructuras biomecánicas clave en el cuerpo humano, pero a la vez una de las más vulnerables a sufrir lesiones, es la articulación de rodilla. Este sistema articular se compone de diversos tejidos que incluyen cartílago, huesos, meniscos, líquido sinovial, tendones, ligamentos y músculos. Entre los componentes óseos se encuentran el fémur y la tibia, que se articulan en un espacio llamado tróclea femoral. Estas superficies óseas están revestidas de cartílago articular (CA) hialino, un tipo de tejido que permite que los componentes óseos se deslicen y giren uno sobre otro con baja fricción.

El CA en sus capas superficiales funciona como cojinete deformable. Debido a sus propiedades viscoelásticas, permite la distribución uniforme de las cargas por la articulación evitando la generación de dolor (Vaienti et al., 2017). A pesar de esta característica, existen factores de riesgo que contribuyen al desarrollo de condiciones que favorecen la degeneración progresiva del cartílago. Entre estos factores destacan el alto esfuerzo físico, sobrepeso, factores hereditarios, debilidad muscular, sedentarismo, entre otros (Duong et al., 2025).

Estos factores de riesgo desencadenan respuestas inflamatorias en la articulación, lo que provoca un aumento en la rigidez del movimiento y en el contenido de agua, afectando la capacidad de tracción del cartílago (CA) y haciéndolo más susceptible a lesiones, como ulceraciones y fisuras (Delgado, 2013). Esta patología, conocida como artrosis u osteoartritis (OA), se manifiesta con una reducción del rango de movimiento articular y artralgia (dolor articular).

Hasta ahora, la OA de rodilla es incurable (Bannuru et al., 2019). Los esfuerzos investigativos se han enfocado en el desarrollo de tratamientos de reemplazo articular, los cuales han demostrado ser efectivos en etapas avanzadas de la enfermedad y en pacientes de edad avanzada. Sin embargo, los resultados funcionales pueden ser insatisfactorios y la vida útil de las prótesis es limitada (Glyn-Jones et al., 2015). Además, se ha demostrado que pacientes jóvenes no son candidatos adecuados para este tipo de procedimientos (Wallace et al., 2017); (Cowie et al., 2024).

El desarrollo de tratamientos para la OA no ha logrado avances comparables a los de muchas otras enfermedades musculoesqueléticas y crónicas (Hunter et al., 2020). Por consiguiente, se han investigado diversas estrategias alternativas para abordar los defectos de CA, tales como la cirugía de microfracturas, la implantación de condrocitos (células que forman el cartílago) y el trasplante osteocondral (Dufaud et al., 2022).

Dichos procedimientos presentan altas tasas de fracaso a largo plazo (entre 25% y 50% en 10 años) y una eficacia reducida en pacientes de edad avanzada (Perera et al., 2021). Además, la mayoría de estos procedimientos no han cumplido con las expectativas debido a las características mecánicas únicas y la estructura multicapa del CA nativo (Golzar et al., 2023). No obstante, en los últimos años, la tecnología de manufactura aditiva (MA) ha sido ampliamente utilizada debido a sus altos niveles de resolución de impresión, lo que permite una elevada fidelidad estructural en los productos fabricados con estas técnicas (Perera et al., 2021).

Sin embargo, lograr una baja fricción y una alta resistencia simultáneamente de un CA inspirado en el nativo, es aún un desafío mediante esta técnica (Wei et al., 2024). Como respuesta, los hidrogeles surgen como biomateriales prometedores. Estos sistemas se caracterizan por su capacidad de hincharse con grandes volúmenes de agua manteniendo su estructura integra, lo que les confiere características físico-mecánicas y biofuncionales análogas a las del CA nativo (Spiller et al., 2011). A pesar de lo anterior, aumentar la resistencia mecánica del hidrogel puede disminuir la hidratación de la superficie, lo que afecta negativamente el coeficiente de fricción (COF). Por el contrario, un COF ultrabajo puede reducir la densidad de la cadena del polímero, afectando la capacidad de carga del hidrogel (Barthold et al., 2022).

Además, en los estudios más recientes, la osteointegración del CA bioinspirado con los tejidos óseos circundantes ha tomado relevancia. Se han desarrollado y evaluado diversos materiales con este propósito, y muchos de ellos han demostrado resultados favorables. Sin embargo, los materiales poliméricos no han mostrado ser efectivos como osteointegradores en este contexto (Ansari et al., 2024).

Teniendo en cuenta lo anterior, esta investigación se centra en el desarrollo de biotintas de hidrogel compuestas por una matriz polimérica de Polimetilmetacrilato (PMMA), Poli(etilenglicol) Dimetacrilato (PEGDMA) y componentes bioactivos. La metodología comprende la caracterización del hidrogel en cuanto a su microestructura, propiedades de mojabilidad, capacidad de hinchamiento y degradación hidrolítica. Posteriormente, el hidrogel se imprimirá mediante MA para fabricar andamios sobre sustratos de Circonia estabilizada con Itrio (YSZ) y así evaluar sus propiedades mecánicas y tribologicas, con el propósito de alcanzar un material bioinspirado en CA nativo.

1.2.2 Hipótesis

El desarrollo de andamios mediante MA, empleando una biotinta de hidrogel a base de PMMA/YSZ y aditivos, permitirá obtener una estructura con propiedades fisicomecánicas y tribológicas bioinspiradas en CA nativo.

1.2.3 Objetivos

- **Objetivo General:**

Desarrollar andamios a base de PMMA/YSZ bioinspirado en cartílago nativo utilizando manufactura aditiva.

- **Objetivos Específicos:**

1. Desarrollar biotintas tipo hidrogel en base a PMMA y aditivos para obtener materiales con alto grado de reticulación.
2. Obtener mediante manufactura aditiva andamios basados en PMMA sobre sustratos de YSZ.
3. Evaluar la fricción de los andamios obtenidos basados en un diseño bioinspirado de cartílago nativo.

1.2.4 Alcance de la tesis

El presente trabajo comprende el desarrollo, impresión y caracterización *in vitro* de una biotinta tipo hidrogel basada en PMMA/YSZ con incorporación de componentes bioactivos. Para ello se aplicaron técnicas de caracterización físico-química, mecánica, tribológica y de imprimibilidad, con el fin de evaluar en qué medida las propiedades del material se aproximan a un comportamiento biomimético a CA nativo. No se incluyen estudios *in vivo*, evaluaciones clínicas, escalado industrial, crecimiento celular ni ensayos de condrogénesis. Como producto de este trabajo se generan protocolos experimentales reproducibles que servirán de referencia para investigaciones posteriores.

2. Marco Teórico

2.1 Cartílago Articular (CA) Nativo

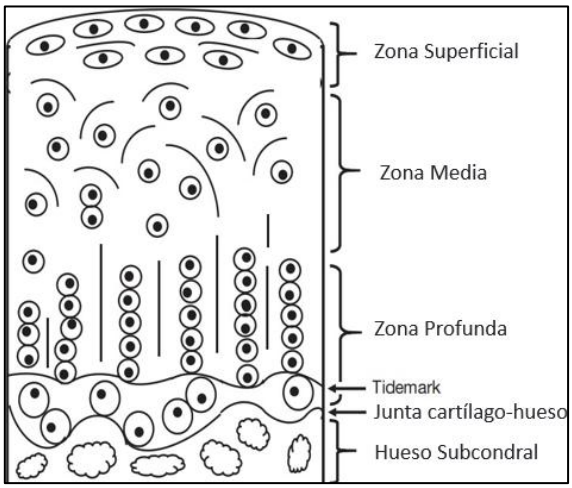
El CA del cuerpo humano se clasifica, según la composición de su matriz extracelular (ME), en cartílago elástico, fibrocartílago, fibroelástico e hialino, siendo este último el que recubre las superficies de deslizamiento de las articulaciones (Bhosale & Richardson, 2008).

En condiciones normales, el CA humano presenta un grosor de entre 2 y 4 mm, y está compuesto aproximadamente por un 5-10% de condrocitos, 10-25% de matriz extracelular y 65-80% de agua (Sophia Fox et al., 2009). Los condrocitos, únicas células presentes en el CA, son responsables de la síntesis, organización y recambio de proteínas de la ME, en un proceso denominado homeostasis, que permite una estrecha correlación entre la estructura, la composición bioquímica y la orientación de las fibrillas de colágeno, lo cual influye directamente en sus propiedades biomecánicas (Vaienti et al., 2017).

La ME del cartílago está compuesta principalmente por colágeno tipo II (Col II), proteoglicanos (como el agrecano) y glucosaminoglucanos (como el sulfato de condroitina y el queratán sulfato). Este último es responsable del alto contenido de agua del tejido al actuar como molécula retentora, lo que contribuye a un bajo COF, mientras que los proteoglicanos otorgan resistencia a la compresión y facilitan la retención hídrica, generando una estructura tisular altamente especializada (Beddoes et al., 2016).

Además, el CA humano forma parte de una articulación sinovial, lo que implica la presencia de líquido sinovial en una cavidad articular, recubriendo los extremos óseos. Esta configuración convierte al CA en un tejido bifásico que, en conjunto con el líquido sinovial, proporciona una COF extremadamente bajo (Knecht et al., 2006).

Figura 2-1: Representación del CA nativo



Fuente: Tomado de Fisher et al. (2019)

El CA presenta una organización zonal altamente especializada y se clasifica según su composición y funciones, como es representada en la **Figura 2-1**. La zona superficial, que representa entre el 10% y 20% del espesor total, se caracteriza por fibras de Col II dispuestas paralelamente a la superficie, junto con condrocitos aplanados que secretan hialuronano y lubricina, fundamentales para la lubricación y el control de la difusión del líquido sinovial (Seror et al., 2015); (Mostakhdemin et al., 2021). La zona media, que constituye del 40% al 60% del espesor, contiene condrocitos redondeados y una disposición mixta de fibrillas de Col II: orientación aleatoria en la porción superior y perpendicular en la inferior. Esta región contribuye significativamente a la capacidad de carga y resistencia mecánica del tejido (Sophia Fox et al., 2009); (Decker et al., 2015). Finalmente, la zona profunda, delimitada por la línea tidemark, presenta fibrillas de colágeno y condrocitos alineados perpendicularmente, y culmina en una matriz calcificada que permite una transición mecánica gradual hacia el hueso subcondral (Fisher et al., 2019).

Adicionalmente, la unión entre el cartílago y el hueso se conoce como interfaz osteocondral. Este sitio de unión es crucial para comprender por qué muchos biomateriales basados en polímeros tienen una biocompatibilidad baja con el hueso subcondral (Fisher et al., 2019). Además, el entendimiento de la división estratificada en capas de un cartílago nativo es fundamental para comprender las propiedades biomecánicas y la funcionalidad que un material bioinspirado en CA nativo debe tener.

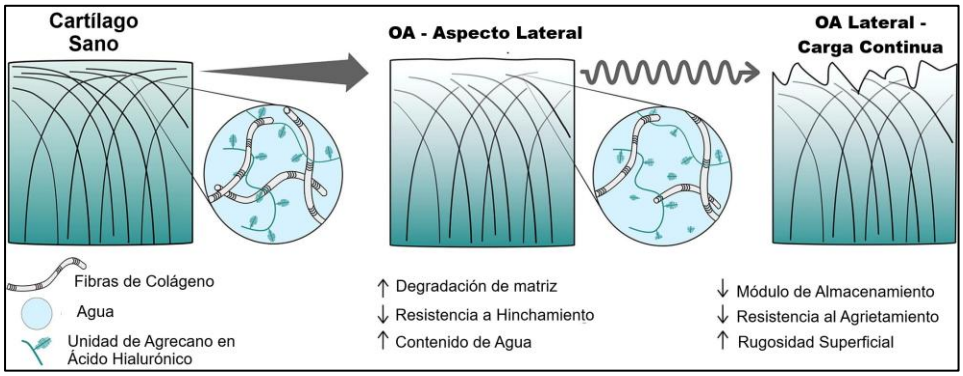
2.2 Fisiopatología del CA

La OA es la enfermedad degenerativa articular más frecuente y se origina por el desgaste progresivo del CA, cuya superficie pierde material por asperezas y fricción (Mostakhdemin et al., 2021). Como el CA carece de irrigación sanguínea, su capacidad de reparación endógena es muy limitada, de modo que el daño estructural resultante es prácticamente irreversible (Cooke et al., 2018); (Elhadad et al., 2022). El deterioro se agrava por factores biomecánicos edad, sobrecarga funcional o desalineación articular, que aumentan la presión localizada y por degradación bioquímica asociada al envejecimiento (Jung et al., 2019).

A nivel molecular, la alteración de la red de Col II y la fragmentación del agrecano modifican la ME (Wu et al., 2019); las cadenas sulfatadas del agrecano poseen carga negativa, retienen agua y generan una alta presión osmótica (E. Han et al., 2011). En el CA sano, esta presión se equilibra gracias al entramado de Col II (Caterson et al., 2000). Por el contrario, en un CA con indicios de OA, el aumento de productos de degradación del agrecano y la pérdida de integridad de la red Col II impiden dicha compensación, elevando la presión osmótica y favoreciendo la fisuración superficial (Cooke et al., 2018). Cuando la tasa de formación de microgrietas excede la capacidad de reparación, aparecen fallos mecánicos que inician la degeneración macroscópica del tejido (Oungoulian et al., 2013).

En la **Figura 2-2** se representa el avance de la OA en un CA sano y un CA con indicios de OA bajo carga fisiológica.

Figura 2-2: Avance de la OA en CA nativo



Fuente: Tomado de Cooke et al. (2018)

Los signos más característicos de esta degeneración en el CA son la presencia de dolor, crepitaciones y disminución del rango de movimiento articular Estas manifestaciones clínicas se asocian al hecho de que el tejido óseo subcondral es altamente irrigado e inervado (Mostakhdemin et al., 2021).

En este contexto, diversos estudios han reportado que la degeneración en el CA provoca un descenso del pH en el entorno articular. La inflamación crónica induce cambios en el metabolismo de los condrocitos, lo que resulta en una acumulación de ácido láctico y la liberación de enzimas lisosomales. Estos procesos generan una acidificación progresiva del líquido sinovial que recubre el cartílago, reduciendo su pH a valores que oscilan entre 5.5 y 6.5, dependiendo de la severidad del daño tisular y del grado de inflamación presente (Lombardi et al., 2022); (Liao et al., 2024).

2.3 Comportamiento Funcional del CA

2.3.1 Comportamiento mecánico

Desde el punto de vista mecánico, el CA desempeña un papel crucial al proporcionar una Superficie de Baja Fricción (SBF) en las articulaciones y actúa como un transmisor de fuerzas de compresión hacia el hueso subcondral estableciendo así una interacción con desplazamiento suave entre superficies (Cooke et al., 2018). Por su estructura compleja, la clasificación del comportamiento mecánico del CA ha sido ampliamente debatido.

Al igual que muchos otros tejidos del cuerpo, el CA exhibe un comportamiento viscoelástico dependiente del tiempo, tanto en la aplicación de fuerzas de compresión, como en tensión (Goldring & Goldring, 2010). Además, el CA también tiene un comportamiento poroelástico ya que su rigidez depende en gran medida de la tasa de deformación (Zevenbergen et al., 2018). Sin embargo, se ha demostrado que el CA no sigue el modelo viscoelástico o poroelástico clásico. De hecho, el modelo más apropiado para caracterizar el CA es el de un material bifásico no lineal (Wahlquist et al., 2017). Esto implica que la respuesta mecánica del CA no es proporcional a la carga externa a la que es sometido.

El CA es un tejido mecánicamente anisotrópico. Dicha propiedad distintiva hace que la rigidez a la tracción varía con la dirección de las cargas (Chan et al., 2016). Además, el CA no es homogéneo en su estructura y realiza funciones mecánicas divergentes de tensión

y compresión a lo largo del espesor desde la capa superficial a la profunda (Mostakhdemin et al., 2021). Las fuerzas de compresión y tensión debido a actividades diarias son hasta 4 veces la carga del cuerpo humano y durante actividades físicas más intensas pueden llegar a 10 veces el peso del cuerpo (Pande & Dhatrak, 2021).

Las propiedades mecánicas del cartílago pueden variar considerablemente según el régimen de carga, la tasa de deformación y la configuración experimental. Hong & Reddi (2013) y R. Zhang et al. (2023) revisan las propiedades mecánicas del cartílago articular, y un resumen de las más relevantes se presenta en la **Tabla 2-1**.

Tabla 2-1: Propiedades Mecánicas del CA Nativo

Propiedad Mecánica	Valor
Grosor	2-4 mm
Módulo de agregado (Confinado)	0,1 - 2.0 MPa
Permeabilidad hidráulica	10^{-16} - 10^{-15} m^4/Ns
Módulo de Young de compresión (Sin confinar)	0,24 - 0,85 MPa
Relación de Poisson	0,06 - 0,3
Módulo de Young de tracción	5 - 25 MPa
Resistencia a la tracción	0,8 - 25 MPa
Rugosidad Superficial	40-200 nm
COF	0,001-0,45

2.3.2 Comportamiento tribológico

El CA es un tejido tribológicamente isotrópico, es decir que sus propiedades tribológicas permanecen consistentes e independientes de la ubicación específica (Link et al., 2020). Para estudiar al cartílago como SBF, los investigadores han empleado la tribología, que estudia la fricción, lubricación y desgaste entre dos superficies en movimiento relativo, para caracterizar el CA tanto los nativos como los sintéticos diseñados por variadas técnicas (Link et al., 2020). En este contexto, las dos características tribológicas cuantitativas más medidas son la rugosidad de la superficie y el COF.

2.3.2.1 Rugosidad

Esta propiedad cuantifica las asperezas en la superficie del CA. La rugosidad de la superficie varía de 1 a 150 nm en el cartílago nativo de todo el cuerpo. En comparación, los componentes de la cabeza femoral de los reemplazos totales de rodilla suelen tener una rugosidad superficial de entre 40 y 200 nm (Ghosh & Abanteriba, 2016).

2.3.2.2 Coeficiente de fricción (COF)

El COF es la propiedad tribológica más investigada en el estudio del CA, ya que representa la relación entre la fuerza de fricción y la carga normal aplicada entre dos superficies en contacto. Su valor depende de factores como la rugosidad superficial, la carga aplicada, el modo de lubricación y las condiciones experimentales (Link et al., 2020).

El CA sin carga puede mantener un COF bajo gracias a la presencia de líquido sinovial, el cual lubrica eficazmente las capas superficiales. Bajo carga, el agua retenida en la ME se presuriza, generando un gradiente que contribuye a la distribución de las fuerzas aplicadas. Esta presión hidrostática sostenida se disipa gradualmente durante el cese de carga, lo que permite que la carga se transfiera progresivamente del fluido al tejido sólido, manteniendo un COF muy bajo (Mostakhdemin et al., 2021). En consecuencia, el COF del CA nativo varía ampliamente, con valores reportados entre 0.001 y 0.45, reflejando su compleja biomecánica y su capacidad adaptativa ante distintas condiciones articulares (Middendorf et al., 2017); (Link et al., 2020).

2.4 Manufactura Aditiva (MA)

La MA, también conocida como impresión tridimensional (3D), es ampliamente utilizada en el ámbito biomédico debido a su capacidad para crear estructuras complejas con alta precisión (Grigoryan et al., 2019). Este proceso construye piezas capa por capa utilizando diversos materiales como plásticos, metales y hormigón (Xu et al., 2021). Gracias a esta técnica, es posible generar geometrías intrincadas y superficies porosas que favorecen la integración con tejidos biológicos (Qin et al., 2022).

Según la norma ISO/ASTM 52900, las tecnologías de MA se clasifican en categorías como impresión por inyección de tinta o aglutinante, polimerización en tina (como

estereolitografía), fusión de polvo (como la sinterización láser selectiva) y extrusión de tinta (Agarwal et al., 2021).

2.4.1 Impresión basada en extrusión

La extrusión es la base del modelado por deposición fundida (FDM), tecnología que permite la fusión, extrusión y solidificación de materiales para la fabricación rápida de estructuras 3D, con o sin carga celular y utilizando múltiples materiales. Esta técnica opera en un amplio rango de viscosidades, desde 30 mPa·s hasta más de $6x10^7$ mPa·s (Mobarak et al., 2023).

Esta tecnología se clasifica principalmente en Extrusión Mecánica (EM) y Extrusión Neumática (EN). En la EM, un motor acciona un tornillo que empuja un émbolo sobre el material, permitiendo un control preciso del flujo (Ning et al., 2020). En la EN, para el control del flujo del material, se emplea aire comprimido, lo que facilita un sistema sin contacto que mejora la esterilidad y uniformidad del proceso (Tong et al., 2021a).

Parámetros como la temperatura, diámetro de boquilla interna (D_I), presión, velocidades de extrusión y desplazamiento son críticos para obtener impresiones con alta resolución y calidad estructural (Gu et al., 2020). Otro parámetro relevante es el ancho de extrusión, a veces llamado ancho de línea. Este hace referencia al ancho de la línea de material extruido en los ejes X y Y. Puede ajustarse entre el 60% y el 200% del D_I, pero la impresión funciona mejor cuando este valor se mantiene cercano al 100% (O'Neill, 2023).

La relación entre la altura de capa y el D_I resulta determinante para equilibrar resolución y velocidad de impresión. Aunque son parámetros ajustables, la altura de capa depende en parte del D_I, por lo que conviene considerarlos de forma conjunta. De manera empírica, la literatura técnica sugiere emplear alturas entre el 25% y el 80% del diámetro de la boquilla (Shin et al., 2024); (Sabahi et al., 2025).

2.5 Biotintas Tipo Hidrogel

Con las buenas características de las estructuras impresas por EN, es necesario usar biotintas apropiadas para esta tecnología. Muchas de estas suelen estar basadas en

estructuras tipo hidrogel. Los hidrogeles son redes poliméricas de macromoléculas reticuladas que pueden absorber determinada cantidad de veces su peso seco en agua (L. Li et al., 2019).

Los hidrogeles se clasifican en naturales, sintéticos o híbridos, y pueden modularse mediante andamios con o sin células (Mostakhdemin et al., 2021). Los polímeros naturales, como colágeno, Ácido Hialurónico (HA), Alginato (Alg), Gelatina (Gel), Quitosano (Ch) y Sulfato de Condroitina (CS), destacan por su biocompatibilidad *in vivo*, aunque presentan limitaciones en estabilidad mecánica y vida útil (Cona et al., 2024). En contraste, los sintéticos, incluyendo Ácido Poli(láctico-co-glicólico) (PLGA), Ácido Polilactídico (PLA), Poli(alcohol vinílico) (PVA) y Polietilenglicol (PEG), ofrecen mayor durabilidad y capacidad de retención de agua, pero pueden liberar subproductos citotóxicos (Ahmed, 2015). Frente a estas limitaciones, los sistemas híbridos combinan componentes de ambos orígenes y pueden entrecruzarse física, iónica o covalentemente, con el fin de generar matrices biocompatibles, resistentes y estables (Hashemi-Afzal et al., 2025).

2.5.1 Razón de hinchamiento (R_H) de un hidrogel

La Razón de hinchamiento (R_H) es una de las propiedades fundamentales de los hidrogeles y depende de factores estructurales como el tamaño de poro, la naturaleza de los grupos funcionales hidrofílicos (como el carbonilo, C=O) y la densidad de enlaces cruzados (J. Li & Mooney, 2016). Este comportamiento se explica principalmente por un parámetro llamado elasticidad de la red polimérica. La absorción de agua genera una Presión de Hinchamiento (π_h) que expande la red polimérica, la cual es contrarrestada por una Presión Elástica Retroactiva (π_r) asociada a la pérdida de entropía de las cadenas poliméricas al estirarse, según la teoría de la elasticidad del caucho (Erman & Mark, 1997). El equilibrio entre ambas fuerzas determina el grado final de hinchamiento, de modo que redes con mayor densidad de entrecruzamiento, aunque más estables, restringen la expansión y muestran una menor capacidad de absorción que aquellas menos reticuladas (Wang et al., 2024).

Con lo mencionado anteriormente, los hidrogeles pueden clasificarse en función de su Razón de Hinchamiento (R_H), característica que condiciona tanto sus propiedades físicas como sus posibles. Los de alta capacidad hinchamiento (R_H > 150%) favorecen la

cicatrización, la regeneración tisular y la liberación controlada de fármacos gracias a su elevada absorción de fluidos; sin embargo, en condiciones *in vivo* pueden presentar deformación, pérdida de resistencia mecánica y compresión de tejidos circundantes (Feng & Wang, 2023). En contraste, los de baja capacidad de hinchamiento (R_H entre 0-150%) mantienen estabilidad dimensional, soportan cargas prolongadas y conservan una bioadhesión gracias a su red tridimensional reticulada, lo que los hace idóneos para aplicaciones que requieren alta resistencia y precisión funcional sin riesgos asociados al hinchamiento excesivo (Zhan et al., 2021).

2.5.2 Métodos de reticulación de hidrogeles

Se ha informado que varios métodos de reticulación sintetizaron hidrogeles poliméricos, de entre los cuales predominan cuatro: el proceso de modificación química, el proceso de cristalización, la polimerización por radicales libres y la polimerización iónica (Chuang et al., 2018). Sin embargo, entre los métodos mencionados anteriormente, la polimerización por radicales libres (PRL) es el método predominante utilizado para sintetizar hidrogeles, cuyos radicales se pueden formar por la escisión térmica o fotoinducida de enlaces (Sennakesavan et al., 2020).

La PRL consta de tres etapas básicas: iniciación, propagación y terminación. En la fase de iniciación, un iniciador se descompone para generar radicales libres que generalmente atacan el enlace π del doble enlace de la molécula de partida, creando un nuevo sitio radicalario activo. Durante la propagación, ese radical activo abre sucesivamente los enlaces de otras moléculas de partida, alargándose la cadena polimérica, hasta que dos radicales libres se encuentran o cesa la generación de iniciadores, lo que culmina en la terminación de la reacción (Nesvadba, 2012). Además de formar cadenas lineales, la PRL permite injertar unidades reactivas sobre polímeros preexistentes o funcionalizarlos, facilitando la obtención de estructuras IPN. Esta técnica puede convertir alrededor del 50 % de los precursores en polímero y ofrece ventajas significativas frente a la polimerización iónica: tolera impurezas, opera a temperatura ambiente y acepta una amplia variedad de precursores reactivos (Mostakhdemin et al., 2021).

2.5.3 Redes interpenetrantes (IPN)

Los hidrogeles también pueden clasificarse según su arquitectura de red polimérica, principalmente en dos: en redes simples (RS) e interpenetradas (IPN). Los hidrogeles SN se conforman por solo una red polimérica entrelazas, por lo que presentan limitaciones mecánicas y funcionales, principalmente por su baja resistencia estructural y estabilidad frente a condiciones fisiológicas (Gong, 2010). Por ello, estructuras más complejas como las estructuras IPN surgen como una alternativa para mejorar el desempeño de las SN.

Las estructuras IPN se conforman por dos o más redes poliméricas entrelazadas, ya sea mediante interacciones físicas, enlaces covalentes o una combinación de ambos mecanismos. Estas interacciones, que incluyen enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals e interacciones hidrofóbicas o electrostáticas, permiten su obtención en diversas formas, como películas, geles o nanopartículas (Wahid et al., 2019); (Hou et al., 2024). Las IPN pueden obtenerse mediante dos metodologías: la formación secuencial, en la que las redes poliméricas se generan de manera sucesiva, y la formación simultánea, donde la polimerización de las distintas redes ocurre de forma concurrente (Manna et al., 2020).

En relación con su arquitectura, las tipologías más comunes de IPN incluyen las semi-IPN (sIPN), que consisten en una red polimérica reticulada interpenetrada por cadenas poliméricas lineales no reticuladas, y las IPN completas, compuestas por dos redes poliméricas individualmente reticuladas y entrelazadas a nivel molecular (Manna et al., 2020); (Cona et al., 2024).

2.5.4 Fotoiniciadores Convencionales

En los sistemas de hidrogel basados en PEGDMA, la reticulación suele lograrse mediante fotopolimerización radicalaria. Entre los fotoiniciadores convencionales destacan el Irgacure 2959, ampliamente empleado en aplicaciones biomédicas por su relativa biocompatibilidad (Tan et al., 2022) y el fenil-2,4,6-trimetilbenzoilfosfinato de litio (LAP), soluble en agua y con mayor eficiencia de iniciación (Tomal & Ortyl, 2020). De forma complementaria, para minimizar daños por exposición a UV, se han explorado alternativas como la química tiol-eno y estrategias emergentes de reticulación sin luz ultravioleta, entre ellas los derivados de orto-nitrobencilo (Rizzo et al., 2024).

No obstante, los fotoiniciadores convencionales presentan limitaciones importantes, entre ellas la posible citotoxicidad cuando se emplean a concentraciones superiores al 0,02% p/v, lo que hace necesaria una optimización precisa de la dosis. A ello se suma su absorción en la región UV lejano, que restringe la penetración de la luz y favorece la inhibición por oxígeno, generando dificultades tanto en la formulación como en el escalado del proceso (Niedźwiedź et al., 2023).

En este contexto, la fotólisis de peróxidos orgánicos representa una alternativa relevante para la generación de radicales, aunque su uso ha estado históricamente asociado a procesos de reticulación térmica. Entre ellos, el Peróxido de Dicumilo (DCP) destaca como una opción de interés por su disponibilidad industrial, bajo precio y eficacia en promover entrecruzamiento polimérico bajo radiación UV. Tanto estudios clásicos como recientes han documentado su capacidad de producir radicales mediante la escisión fotoinducida del enlace O-O, lo que además permite ajustar la longitud de onda empleada y la profundidad de curado en función de los requerimientos experimentales (Székely & Klussmann, 2019).

3. Estado Actual del Conocimiento

3.1 Hidrogeles Derivados de PEG

El desarrollo de hidrogeles basados en PEG y sus derivados metacrilados inició en la década de 1960, cuando se introdujo el PEG modificado con grupos metacrilato para permitir su fotorreticulación, con aplicaciones principalmente en la administración de fármacos (Wichterle & Lím, 1960). Posteriormente, Elisseeff et al. (1999) lo aplicaron por primera vez en ingeniería de tejidos de cartílago, como un hidrogel inyectable y fotopolimerizable.

Recientes avances en el desarrollo de hidrogeles basados en PEG se han enfocado en mejorar su porosidad, estabilidad y funcionalización con componentes bioactivos. Zhao et al. (2016) investigaron hidrogeles copoliméricos de PEGDMA para la encapsulación fotoinducida de condrocitos, demostrando viabilidad celular y síntesis de matriz, aunque sin evaluar su comportamiento biomecánico bajo cargas cíclicas. Ravi et al. (2023) propusieron biotintas híbridas de PEGDA diseñadas para generar microambientes que favorecen el crecimiento celular, pero señalaron posibles riesgos de citotoxicidad y se resalta la ausencia de ensayos de determinación de propiedades mecánicas. En la misma línea, Gonella et al. (2024) desarrollaron hidrogeles porosos de PEGDA evaluados en un modelo *in vitro* para regeneración, resaltando la ausencia de pruebas mecánicas bajo carga como limitación y Unagolla et al. (2024) estudiaron hidrogeles de PEGDMA con diferentes concentraciones, evidenciando estabilidad en medios fisiológicos y adecuada biocompatibilidad, aunque sin abordar su desempeño frente a degradación ni su integridad mecánica bajo condiciones fisiológicas.

Además, la irrupción de la ingeniería de tejidos en la década de 1990 impulsó la fabricación de andamios mediante MA (Ansari et al., 2024). En esta línea, Li et al. (2023) propusieron una biotinta basada en PEGDMA y goma xantana, la cual mostró mejoras en extrudibilidad, biocompatibilidad y un rango compresivo de 10–100 kPa, características relevantes para aplicaciones en tejidos blandos. Sin embargo, su desempeño no fue evaluado bajo condiciones de carga dinámica. En conjunto, si bien los estudios revisados evidencian avances significativos en biocompatibilidad, estabilidad y funcionalización de hidrogeles basados en PEG, una limitación transversal es la falta de evaluación de su desempeño mecánico y funcional bajo condiciones fisiológicas representativas.

3.2 DCP Como Fotoiniciador

Específicamente, Chodák & Zimányová (1984) demostraron que la radiación UV puede inducir la descomposición del DCP, generando radicales capaces de promover el entrecruzamiento en polipropileno, con una eficiencia máxima de iniciación observada alrededor de 65 °C. Mucho más tarde, Walalawela & Greer (2018) investigaron la fotodescomposición de DCP adsorbido en sílice, identificando mecanismos de transferencia de energía que favorecen la ruptura del enlace O-O bajo irradiación UV. En este caso, la máxima descomposición (32%) se alcanzó a 254 nm.

3.3 Hidrogel Basado en PMMA-PEGDMA

En el diseño de materiales bioinspirados en CA nativo, el PEGDMA pocas veces se utiliza como homopolímero, siendo más común su combinación con otros compuestos que aporten características adicionales como bioactividad, degradabilidad o estabilidad estructural (Zhao et al., 2016). Dentro de estas combinaciones, el PMMA destaca como una alternativa relevante, ya que constituye el principal componente de los cementos óseos en aplicaciones biomédicas, gracias a su alta estabilidad química, costo relativamente bajo y adecuadas propiedades biomecánicas (Chen et al., 2019).

El PMMA es un termoplástico amorfo y no biodegradable que en años recientes ha sido empleado en procesos de MA (Xu et al., 2021). No obstante, presenta limitaciones para replicar las funciones del CA, dado que su módulo elástico difiere significativamente del

hueso subcondral, lo que puede ocasionar fallos estructurales, inflamación local o complicaciones en la implantación (Quan et al., 2023). A pesar de ello, investigaciones actuales han explorado resinas híbridas de PMMA impresas en 3D, que exhiben propiedades mecánicas mejoradas y hasta efectos antibacterianos, ampliando sus posibilidades en aplicaciones biomédicas (Marin et al., 2021).

En la revisión de la literatura no se encontraron estudios que reporten la formulación y caracterización de un hidrogel bioinspirado en CA que combine simultáneamente PMMA y PEGDMA como componentes principales. Sin embargo, la evidencia científica respalda el uso de PMMA como fase estructural estable y de PEGDMA como fase reticulable, lo que plantea la factibilidad de desarrollar sistemas híbridos con estas características. En este sentido, Van De Walle et al. (2017) demostraron que los derivados flexibles de PMMA requieren modificaciones superficiales para mejorar la interacción celular, lo que resalta la necesidad de estrategias complementarias cuando este polímero se utiliza en hidrogeles bioinspirados.

Otros estudios como el de Rakovsky et al. (2009) desarrollaron hidrogeles IPN de PMMA/PEG, evidenciando mejoras en resistencia a compresión y durabilidad frente a fatiga, aunque sin incluir ensayos tribológicos. Posteriormente, An et al. (2021) evaluaron hidrogeles reforzados con PMMA para regeneración de menisco, destacando su potencial estructural en andamios y señalando la formación de una sIPN, dado que el PMMA se incorpora como polímero y no a partir de monómero. Este estudio sugiere que la combinación de PMMA y PEGDMA daría lugar a una sIPN, donde el PMMA conserva su estructura lineal y el PEGDMA se retícula por fotólisis. Más recientemente, Zaszczyńska et al. (2024) fabricaron nanofibras de PMMA con nanopartículas de hidroxiapatita mediante electrohilado, confirmando la capacidad de este polímero para aportar soporte mecánico cuando se combina con fases bioactivas.

3.4 Componentes Bioactivos

En las revisiones recientes se destacan principalmente dos grupos de aditivos bioactivos en hidrogeles para aplicaciones en cartílago: los factores condrogénicos, como TGF-β y kartogenin, que estimulan la síntesis de ME (P. Lu et al., 2024), y los glicanos o

proteoglicanos, entre ellos HA y CS, que contribuyen a mantener la hidratación y funcionalidad de la red polimérica (Ansari et al., 2024).

Especialmente, el CS resalta entre los aditivos empleados en hidrogeles bioinspirados en CA por su carácter de glucosaminoglucanos nativo, capaz de aportar señales condrogénicas, mejorar la retención de biomoléculas y conferir propiedades viscoelásticas al andamio (Schuurmans et al., 2021). En la investigación de Mihajlovic et al. (2022) demostraron que su incorporación fortalece el desempeño mecánico en ensayos *in vitro* y modelos preclínicos. De manera complementaria, Ai et al. (2023) evaluaron diferentes concentraciones de CS en formulaciones bioinspiradas, comparando concentraciones de 4%, 6% y 10% (p/v) e identificando que una proporción del 6% p/v optimiza tanto la rigidez (33 kPa) como la viabilidad celular. Este hallazgo resulta relevante para definir las concentraciones en el diseño experimental de los ensayos mecánicos y tribológicos.

Junto con el CS, el sulfato de glucosamina (GS) ha sido estudiado por su contribución a la síntesis y protección de la ME en condrocitos implantados. El GS, un aminoazúcar precursor de glucosaminoglucanos de la ME nativa, se ha empleado como agente bioactivo para estimular la síntesis de matriz y modular procesos catabólicos en el CA.

En sistemas de hidrogel, su incorporación busca potenciar efectos regenerativos. T. Zhang et al. (2021) reportaron hidrogeles termosensibles con GS capaces de liberar compuestos orientados a la reparación cartilaginosa, mientras que Chang et al. (2023) evidenciaron que un hidrogel inyectable suplementado con GS reduce la apoptosis tras una lesión en el CA. De forma complementaria, en la revisión de Sivaperuman et al. (2024) destacaron la combinación de GS con polisacáridos como el CS para mejorar la hidratación de hidrogeles en proceso de crecimiento celular, aunque señalaron la necesidad de validar su eficacia en modelos de mayor escala y bajo condiciones de carga prolongada.

3.5 Biocompatibilidad Osteocondral

La interacción de hidrogeles biomiméticos con el hueso subcondral presenta limitaciones recurrentes, entre ellas: respuestas inflamatorias locales, baja osteoinducción cuando el hidrogel actúa como única fase, pérdida de funcionalidad por degradación, y desajuste mecánico con el tejido óseo que compromete la unión en la interfaz (Ansari et al., 2024).

Frente a estas limitaciones, las investigaciones se han orientado hacia dos enfoques principales: el diseño de andamios que reproduzcan de manera jerárquica la arquitectura del CA y el desarrollo de estrategias que regulen la respuesta inmune y vascular en la interfase. En este contexto, H. Zhang et al. (2021) propusieron andamios funcionales con gradientes de mineralización en el hidrogel, demostrando una mejor biocompatibilidad osteocondral, aunque con limitaciones en escalabilidad y validación bajo carga fisiológica. Posteriormente, L. Zhang et al. (2023) confirmaron estos resultados mediante andamios 3D-impresos con gradientes biofísicos y bioquímicos, que favorecieron la integración simultánea de cartílago y hueso en modelos animales. En esa misma línea, Yang et al. (2024) diseñaron andamios bicapa de hidrogel poroso con zinc y CS, logrando una integración más eficiente con el tejido huésped y de igual forma Yu et al. (2024) desarrollaron plataformas multicapa con funciones diferenciadas, evidenciando avances en la integración osteocondral.

A pesar de los avances, persisten limitaciones en la biocompatibilidad de los hidrogeles poliméricos con el hueso subcondral, especialmente por la ausencia de protocolos estandarizados, la escasez de estudios prolongados bajo carga dinámica y las restricciones en su manufactura.

3.6 YSZ como Sustrato

La incorporación de fases cerámicas en hidrogeles poliméricos se ha planteado como estrategia para mejorar su biocompatibilidad con el hueso subcondral. En este contexto, Zhang et al. (2022) demostraron que la adición de nano-hidroxiapatita promueve adhesión celular y formación de matriz mineral mediante la liberación de iones calcio/fosfato, aunque con el reto de evitar la aglomeración de partículas. De forma complementaria, Zhu et al. (2025) revisaron el uso de vidrios bioactivos en hidrogeles, reportando integración mejorada con el tejido óseo debido a la liberación sostenida de iones, pero con riesgo de fragilización del material a concentraciones elevadas. Estos efectos se explican por interacciones químicas de grupos funcionales poliméricos (como $-COO^-$ o -OH) con las fases cerámicas (Okuda et al., 2022) y por mecanismos físicos de anclaje asociados a la porosidad y rugosidad superficial (Majhy et al., 2021).

Sin embargo, en esta investigación, se plantea un primer acercamiento al estudio de la biocompatibilidad osteocondral del hidrogel con estructura sIPN. El objetivo no es

incorporar un biocerámico como fase de refuerzo ni funcionalizarlo dentro de la matriz polimérica, sino analizar la afinidad química intrínseca entre ambos sistemas. Este enfoque permitirá, en etapas posteriores, considerar la incorporación de un biocerámico como interfase entre el hidrogel y el hueso subcondral, en alusión a la organización estratificada característica del CA nativo.

Por tanto, para una experimentación inicial, la circonia (ZrO_2) se considera un biocerámico adecuado por sus transiciones polimórficas, monoclínica a temperatura ambiente y tetragonal/cúbica a mayor temperatura, que le confieren estabilidad estructural. Este material destaca por su elevada resistencia a la flexión y compresión, tenacidad a la fractura, así como por su biocompatibilidad y estabilidad química y térmica (Manicone et al., 2007). En particular, la circonia estabilizada con itria (YSZ) ha recibido amplia atención en aplicaciones biomédicas, alcanzando valores de resistencia a la compresión cercanos a 2000 MPa, resistencia a la flexión de 900–1200 MPa y tenacidad de 5–10 MPa (X. Zhang et al., 2020)

En particular, Buj-Corral et al. (2024) evaluaron hidrogeles sobre sustratos impresos por MA, destacando su resistencia mecánica y adecuada viabilidad celular, aunque limitada por su baja reactividad química, lo que dificulta la integración osteocondral directa. De manera complementaria, Medina et al. (2025) señaló la necesidad de aplicar recubrimientos bioactivos sobre la YSZ para favorecer la formación de una interfase mineralizada y mitigar el desajuste funcional. En conjunto, estas investigaciones respaldan el uso de YSZ como plataforma robusta para estudios iniciales de biocompatibilidad osteocondral.

3.7 Extrusión Neumática (EN)

Una de las limitaciones más relevantes en la biocompatibilidad de hidrogeles poliméricos es la complejidad de su manufactura, lo que dificulta su reproducibilidad. En este contexto, la MA ha emergido como una estrategia prometedora para replicar la arquitectura y el microambiente del CA, permitiendo establecer gradientes mecánicos con resolución biomimética.

En términos prácticos, la bioimpresión por EN ha demostrado ser la modalidad más utilizada por su compatibilidad con biotintas viscosas (Zhou et al., 2014). Estudios experimentales más recientes han confirmado su potencial: Imere et al. (2024) imprimieron un modelo cartilaginoso a partir de Gel y poblaciones celulares zonales, reportando una estructura jerárquica diferenciable, aunque con viabilidad celular mejorable; mientras que Sonthithai et al. (2025) lograron imprimir hidrogeles PEG /Gel con buena viabilidad celular, aunque con módulo compresivo aún inferior al CA nativo. Pese a lo anterior, según J. Lu et al. (2025) sigue enfrentando compromiso entre resolución y viscosidad debido a la falta de ensayos de imprimibilidad.

Con base en estas ventajas y vacíos, en esta investigación se emplea la bioimpresora Biobot Basic, equipo que EN y que tiene precedentes en ingeniería de tejidos (Tong et al., 2021b). Específicamente, se ha utilizado en impresión de hidrogeles para mejorar la supervivencia celular en bioimpresión (Rousselle et al., 2022), en modelos de regeneración tisular basados en biotintas (Golzar et al., 2023) y con fines de reparación de cartílago (Schwarz et al., 2020).

3.8 Caracterización de Hidrogeles

3.8.1 Caracterización molecular con Raman

Según Cona et al. (2024), los métodos más comunes para caracterizar una estructura IPN en hidrogeles, son los siguientes:

- Espectroscopia de transformada de Fourier por infrarrojos (FTIR).
- Microscopía electrónica de barrido (SEM).
- Calorimetría diferencial de barrido (DSC).
- Análisis mecánico dinámico (DMA).
- Difracción de rayos X (XRD).
- Espectroscopia Raman.

En la literatura se emplean uno o varios de estos métodos para caracterizar la estructura de hidrogeles, ya que no existe una técnica única que confirme de manera definitiva la

formación de redes poliméricas ni un solo tipo de evidencia estructural. La selección depende de la naturaleza del material, las condiciones del experimento y la experiencia del investigador. Entre estas herramientas, la espectroscopía FTIR se ha reportado como la más utilizada y con gran potencial para la identificación de estructuras tipo IPN (Cona et al., 2024).

No obstante, la espectroscopía Raman es una técnica complementaria al FTIR, no destructiva y que ofrece información vibracional a partir de la dispersión inelástica de la luz láser (Asmatulu & Khan, 2019). Aunque su aplicación en este campo es aún poco explorada por investigaciones, Rajawasam et al. (2024) menciona que esta técnica puede usarse como identificador de estructuras IPN, mientras que Nigro et al. (2021) la combinaron con otros métodos para estudiar propiedades viscoelásticas de geles.

3.8.2 Propiedades tribológicas con Pin-sobre-Disco

En la evaluación de biomateriales bioinspirados en CA nativo, los ensayos pin-sobre-disco se utilizan de manera frecuente para caracterizar propiedades tribológicas, como el COF y el desgaste, siendo los parámetros de medición dependientes del tipo de tribómetro empleado.

En este sentido, Mahmood et al. (2020) desarrollaron un enfoque novedoso para medir el COF de un hidrogel de Alignato de calcio insertado en un defecto de CA bovino frente a CA intacto, obteniendo un COF similar al del cartílago natural (0.38). En este estudio se aplicó una fuerza normal constante de 5 N, equivalente a un esfuerzo inducido de 0.06 MPa, valor seleccionado tras pruebas preliminares para evitar daños al material. Este aspecto resulta particularmente relevante para el presente trabajo, dado que la determinación de la carga inducida también depende del diámetro del pin empleado.

Asimismo, en el diseño de ensayos tribológicos aplicables a condiciones fisiológicas deben considerarse parámetros derivados de condiciones dinámicas del cuerpo humano. Por ejemplo, Farnham et al. (2021) reportan que, durante las fases de apoyo y oscilación, las velocidades relativas entre superficies articulares de la rodilla pueden superar los 100 mm/s. De manera complementaria, Mobbs et al. (2025) realizaron estudios clínicos reportando que el tamaño del paso varía según la estatura de los individuos y puede tomar

valores de entre 0,62 a 0,99 m; mientras que en la investigación de Bohannon & Wang (2019) y la revisión Giannoulaki & Christoforou (2024) reportan que la velocidad promedio de la marcha a nivel corporal se ubica habitualmente entre 1,23 y 1,30 m/s.

3.8.3 AFM en modo F-D aplicado a hidrogeles

Hasta la fecha, son limitados los estudios que aplican el modo fuerza-distancia (F-D) de microscopía de fuerza atómica (AFM) en hidrogeles con fines bioinspirados a CA nativo, concentrándose la mayoría en la medición de propiedades elásticas. En este ámbito, B. Han et al. (2017) revisaron el uso de AFM para analizar la adhesión y morfología de condrocitos bajo condiciones inflamatorias, midiendo la energía de adhesión entre célula y sustrato; aunque no aplicado en hidrogeles, este enfoque ilustra el potencial de la técnica en sistemas bioinspirados. Posteriormente, Arnold et al. (2023) evaluaron la formación de ME alrededor de condrocitos humanos cultivados en microgeles de Algnato y mediante AFM en modo F-D mapearon el módulo elástico local, alcanzando valores comparables a los de la ME nativa.

Con base en estos antecedentes, no se han reportado, hasta donde se conoce, mediciones específicas de energía o fuerza de adhesión entre hidrogeles bioinspirados y CA nativo mediante AFM en modo F–D, técnica no destructiva y libre de contacto directo con la probeta. Tampoco existen datos de energía de disipación numérica en este contexto. Este vacío representa una oportunidad clara de aplicación de la técnica midiendo dichos parámetros para caracterizar su desempeño físico-funcional y diferenciar formulaciones, por ejemplo, con distintas concentraciones de componentes bioactivos como CS y GS.

3.9 Desafíos actuales

En conjunto, los estudios recientes destacan como principales desafíos: i) la complejidad de la manufactura de hidrogeles poliméricos y la falta de estandarización en protocolos de bioimpresión; ii) la limitada fidelidad estructural y las dificultades para reproducir gradientes mecánicos comparables al CA nativo; iii) la necesidad de evaluar COF bajo carga dinámica y en condiciones fisiológicas; y iv) la escasez de uso de métodos no destructivos aplicados de manera sistemática, como la espectroscopía Raman y el AFM en modo F-D.

4. Métodos

Los métodos empleados en el presente trabajo se estructuran en tres secciones, las cuales se corresponden directamente con los objetivos específicos previamente definidos. Esta división permite abordar de manera sistemática cada aspecto de la investigación, facilitando la presentación de los métodos y el análisis de los resultados obtenidos en función de los propósitos planteados.

Los tejidos animales utilizados provinieron de muestras post-mortem obtenidas comercialmente de animales sacrificados para fines alimenticios, cumpliendo con los principios de ética en investigación y garantizando que ningún animal fue sacrificado específicamente para este estudio.

4.1 Desarrollo de Hidrogel de PMMA y Aditivos

4.1.1 Preparación del hidrogel

4.1.1.1 Materiales usados

El Polimetil Metacrilato (PMMA) y el Polietilenglicol-Dimetacrilato (PEGDMA) fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. El sulfato de condroitina (CS) al 98% y el sulfato de glucosamina (GS) al 98% fueron adquiridos de la marca Thermo Fisher Scientific. El Peróxido de Dicumilo (DCP) fue adquirido de Lion Copolymer Geismar, LLC.

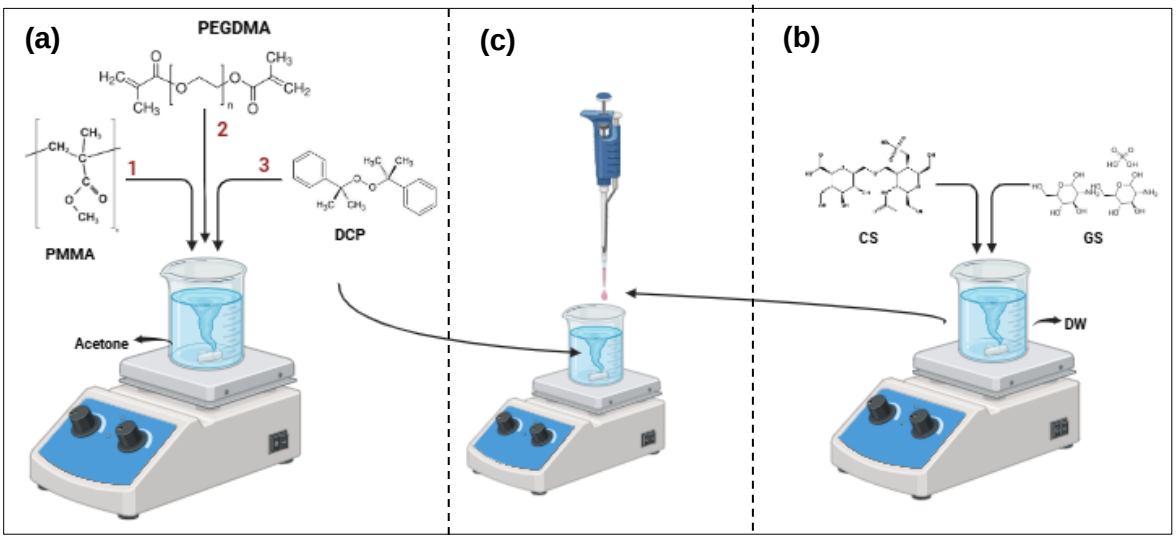
4.1.1.2 Preparación

El hidrogel con arquitectura sIPN fue obtenida mediante una metodología híbrida, que combinó principios del moldeo por disolución (*solvent casting*) con fotopolimerización

radicalaria, permitiendo la reticulación selectiva de uno de los componentes poliméricos (fase reticulada: PEGDMA) en el polímero lineal (fase fija: PMMA). El moldeo por disolución es una técnica para obtener estructuras poliméricas mediante la evaporación, controlada o no, de un solvente volátil (Wahid et al., 2018), en este caso acetona.

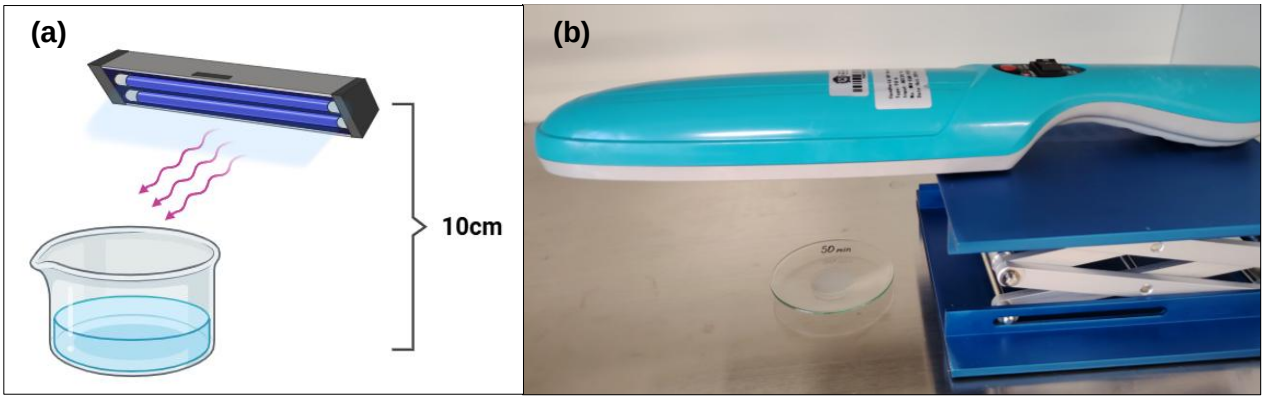
Se empleó una solución compuesta por dos fases, las cuales se prepararon a temperatura ambiental y agitación continua de 500 rpm. La fase orgánica se preparó como una solución de 7,2% p/v de sólidos en acetona; la composición de los sólidos fue PMMA - 69,4% p/p, PEGDMA - 27,8% p/p (proporciones basadas en Salam et al. (2024)) y DCP - 2,8% p/p, dejando explícito su papel como fotoiniciador bajo exposición a radiación ultravioleta (UV) y que su valor se fijó en una proporción 1:10 respecto a la masa de PEGDMA (Walalawela & Greer, 2018). En paralelo, la fase acuosa de los componentes bioactivos se formuló a 4,0% p/v de sólidos en agua destilada, con CS - 50% p/p y GS - 50% p/p (proporciones basadas en Ai et al. (2023)). La adición de la fase acuosa a la orgánica se realizó gota a gota y a alta velocidad (900 rpm) para evitar la decantación de alguno de los componentes debido a su inmiscibilidad en agua o acetona, y así lograr una dispersión lo más uniforme posible de los componentes bioactivos en la matriz polimérica. La representación del proceso se puede observar en la **Figura 4-1**.

Figura 4-1: Representación de preparación del hidrogel. (a) Fase orgánica, (b) Fase acuosa, (c) Mezcla de fases



La técnica híbrida se llevó a cabo en la secuencia de eventos siguiente: inicialmente, la mezcla polimérica en solución se vertió en un molde (vidrio de reloj), emulando la etapa de *solvent casting*. Sin embargo, la solidificación y la formación de la estructura tridimensional no se basaron solamente en la evaporación del solvente. Por el contrario, se aplicó radiación UV, en condiciones de aislamiento lumínico ambiental, para inducir la reticulación del PEGDMA, activada por la descomposición del DCP en radicales libres. Se uso una lampara UV de 6 W, con longitud de onda de 254 nm y a una distancia de 10 cm entre la lampara UV y la probeta (basado en la investigación de Walalawela & Greer (2018)). La representación del proceso se puede observar en la **Figura 4-2**.

Figura 4-2: Fotoreticulación mediante radiación UV. (a) Representación, (b) Foto del montaje



4.1.1.3 Diseño Experimental

Para el desarrollo de la biotinta tipo hidrogel en estructura sIPN se planteó un diseño experimental de un solo factor con 3 niveles, asumiendo que el parámetro más significativo para el sistema es el tiempo de reticulación (Factor t), bloqueando así la cantidad de los componentes del hidrogel. La espectroscopia Raman fue el método de caracterización que se usó para obtener la variable respuesta que se estableció como el índice de comparación de intensidades (IC) de determinados picos de interés con un pico de referencia.

El Factor t, definido como el periodo de exposición a la radiación UV, se estableció como el factor experimental principal para modular el grado de reticulación del PEGDMA y, por consiguiente, las propiedades fisicoquímicas y espectroscópicas del material. Para

investigar este efecto, se definieron tres niveles del Factor t: 10, 30 y 50 minutos. Con el fin de asegurar una confiabilidad estadística del 95%, se realizaron 5 réplicas por cada nivel, lo que resultó en un total de quince probetas.

4.1.2 Espectroscopia Raman

Las mediciones Raman de todas las probetas del diseño experimental se llevaron a cabo utilizando un espectrómetro confocal HORIBA LabRAM Odyssey. Para asegurar la consistencia y comparabilidad de los datos, todos los espectros se adquirieron bajo idénticos parámetros experimentales: láser de 532 nm con una intensidad del 50%, objetivo de 50x, rejilla de 600 gr/mm, así como tiempos de adquisición (9 segundos) y número de cuentas uniformes. Los espectros fueron recolectados en un rango espectral de 150 a 3500 cm^{-1} a condiciones ambientales de laboratorio (15 °C).

4.1.3 Estudios de Hinchamiento

La experimentación de hinchamiento se realizó con el procedimiento descrito en Joshi et al. (2021), con variaciones en el contexto de esta investigación: Se extrajeron probetas con dimensiones de aproximadamente 10mm de ancho por 10mm de largo. Las probetas se pesaron inicialmente para obtener el peso de la probeta seca (W_d). Luego, se sumergieron en Solución Salina Tamponada con Fosfato (PBS) a temperatura ambiente durante 48 horas y pH de 7,4 (condiciones fisiológicas normales). Finalmente, las probetas hinchadas se retiraron del medio y, después de limpiar el exceso de agua de la superficie, se pesaron para obtener el peso de la probeta húmeda (W_w). Con fines comparativos, se aplicó el mismo procedimiento descrito previamente a un CA nativo porcino.

El grado de hinchamiento de los hidrogeles preparados a menudo se indica cuantitativamente por la relación de hinchamiento (R_H) utilizando la ecuación 4.1.

$$R_H(\%) = \frac{W_w - W_d}{W_d} * 100 \qquad (4.1)$$

4.1.4 Estudios de Degradación Hidrolítica

El estudio de degradación hidrolítica se realizó en medio liquido con PBS de pH 7,4 con el fin de simular condiciones fisiológicas normales y pH 6,0 para simular condiciones ácidas que se generan en el líquido sinovial de articulaciones inflamadas. El estudio se desarrolló durante 2 semanas a una temperatura de 37 °C. Concluido este tiempo las probetas se retiraron del medio y se secaron completamente. Con fines comparativos, se aplicó el mismo procedimiento descrito previamente a un CA nativo porcino.

El grado de degradación hidrolítica (G_d) se determinó midiendo la pérdida de peso de las probetas, calculada como el porcentaje de peso perdido (W_p) con respecto al peso inicial (W_i) y se calculó mediante la Ecuación 4.2.

$$G_d\ (\%) = \frac{W_p - W_i}{W_p} * 100 \qquad (4.2)$$

4.1.5 Estudios de Mojabilidad

La mojabilidad se midió mediante ángulo de contacto (θ) con el método de gota sésil, utilizando un goniómetro estándar Rame-Hart modelo 200. Se suspendió cuidadosamente una gota de agua desionizada con una micropipeta sobre la superficie de las probetas para asegurar la formación de una gota estable antes de la adquisición de imágenes. El ángulo de contacto se midió con cinco repeticiones. Con fines comparativos, se aplicó el mismo procedimiento descrito previamente a un CA nativo porcino y a una placa elaborada del PMMA base.

4.2 Bioimpresión de Hidrogel

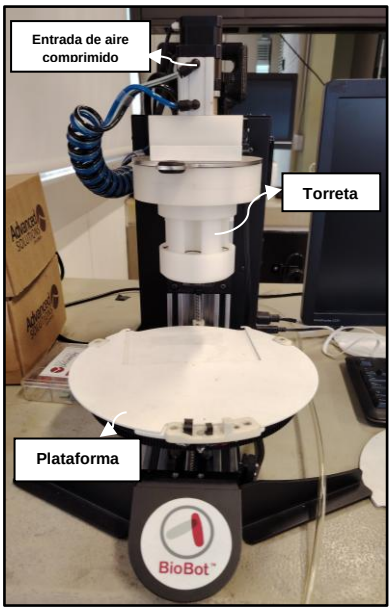
4.2.1 Equipo de Bioimpresión

Para la fijación de parámetros de impresión, el diseño de andamios, la definición de la altura de capa, la impresión sobre sustratos de YSZ y la impresión sobre los pines

empleados en los ensayos de pin-sobre-disco, se usó la bioimpresora Biobot Basic de la empresa estadounidense Advanced Solutions Inc (**Figura 4-3**). Este equipo incluye el software TSIM, con licencia para el modelado de figuras tridimensionales.

La Biobot Basic es una bioimpresora de escritorio equipada con un sistema de extrusión neumática, que opera en un rango de presión de 0,5 a 85 psi, asistido por un compresor de aire de 12 L. Su estructura principal está conformada por el cuerpo de la impresora, una torreta y la plataforma de impresión. La torreta incorpora un tambor tipo turbina con cinco ranuras de montaje para jeringas de 10 cc, las cuales se desplazan de manera automática hacia la posición de dispensación durante el proceso de impresión.

Figura 4-3: Estructura bioimpresora BioBot Basic



4.2.2 Procedimiento de Bioimpresión

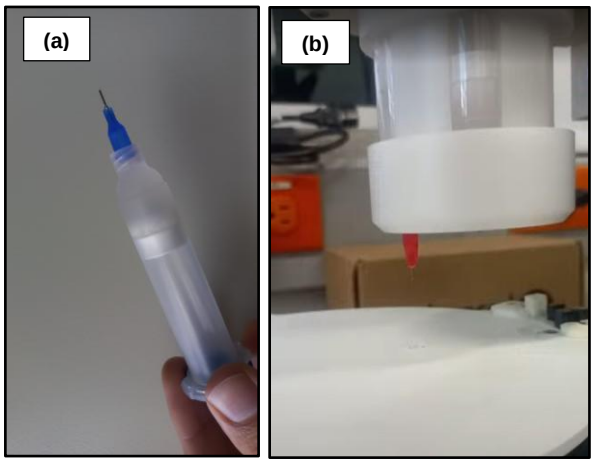
Cabe destacar que cuando se desarrollan las actividades de este objetivo específico, el hidrogel con estructura sIPN puede ser denominado biotinta, dado que a partir de este punto se describen los métodos de impresión asociados al hidrogel.

La elaboración de la biotinta es igual que lo descrito en la sección 4.1.1.2 de este capítulo, con la importante diferencia de que la mezcla de polímeros se vierte en una jeringa de 10 cc. Como la mezcla aún tiene acetona en el medio, se evapora la mayor parte con una

secadora de aire en un montaje con soporte universal y pinzas. Una vez la mezcla tome un carácter visualmente viscoso se enfría a 4 °C durante mínimo 1 hora.

Una vez fría se instala una boquilla en la jeringa, se ensambla en la torreta de la bioimpresora y se procede con la impresión bajo los parámetros que se definen en la sección siguiente. Una vez impresa se procede con el fotoreticulación con UV en las mismas condiciones de aislamiento lumínico ambiental, con una lampara UV de 6 W, a 254 nm y a una distancia de 10 cm entre la lampara UV y la estructura impresa. Parte de lo anterior se presenta en la **Figura 4-4**.

Figura 4-4: Procedimiento de bioimpresión. (a) Biotinta enfriada en jeringa, (b) Jeringa con biotinta ensamblada en la bioimpresora



4.2.3 Evaluación de Capacidad de Extrusión

Para determinar la precisión de la impresión con el hidrogel sIPN y determinar su potencial uso como biotinta, se realizó una evaluación de la capacidad de extrusión. Se diseño un patrón de impresión con 5 líneas individuales paralelas de 20 mm de longitud, 0,5 mm de ancho y 0,5 mm de alto con el software TSIM de la bioimpresora.

La impresión se realizó con una boquilla con $\mathrm{D_I} = 0{,}25\mathrm{mm}$. Aunque la bioimpresora no cuenta con control de temperatura, ni para el sistema de extrusión ni para la placa de impresión, es posible ajustar parámetros operativos como la presión de extrusión (P_e) y la velocidad de impresión (V_i), los cuales influyen significativamente en la calidad y precisión

del patrón obtenido. Por tanto, se escogen 3 niveles de P_e y V_i con el fin de fijar dichos parámetros operativos (**Tabla 4-1**).

Tabla 4-1: Parámetros experimentales de impresión

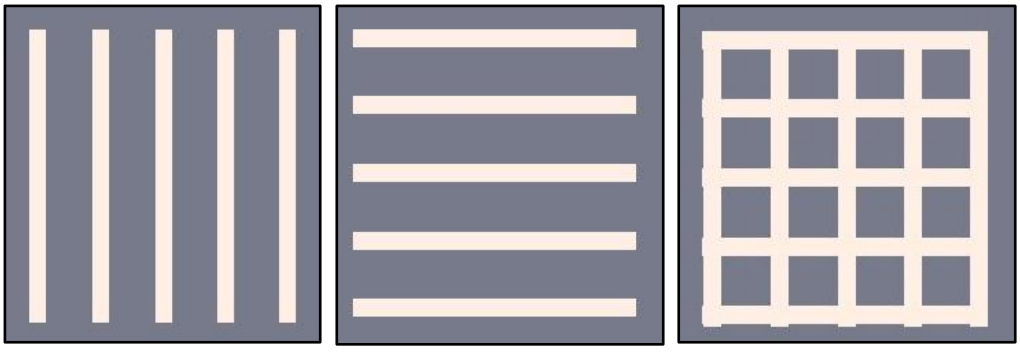
Parámetro	Unidades	Nivel Bajo	Nivel Medio	Nivel Alto
$\boldsymbol{P_e}$	psi	3	8	13
$\boldsymbol{V_i}$	mm/s	10	20	30

Estos parámetros de experimentación fueron seleccionados a partir del denominado Nivel Bajo, correspondiente al parámetro en el que el material comienza a extruirse de manera continua. El patrón impreso se observó mediante imágenes obtenidas por un Microscopio Carl Zeiss invertido Axio Vert.A1.

4.2.4 Determinación de Altura de Capa

La determinación de la altura de capas se basó en la revisión de H. Zhang et al. (2023), con variaciones. Se modelaron 5 andamios individuales paralelos de 8 mm de longitud, 0,5 mm de ancho y 0,5 mm de alto y con 2 tipos de orientaciones (**Figura 4-5**). Cada orientación de los andamios representa una capa de impresión.

Figura 4-5: Orientación de Andamios. (a) Capa vertical, (b) Capa horizontal, (c) Visualización de 2 capas



Fuente: Modelo realizado en el software TSIM

En la sección 2.4.1 del Marco Teórico se abordó la relación estrecha entre D_I de la boquilla y el ancho de línea. En este caso, al usarse una boquilla con D_I de 0,25 mm se optó con por tomar el tamaño de capa máximo recomendado, es decir, el 80% del D_I, correspondiente a una altura de capa de 0,20 mm.

Sin embargo, fue necesario validar este valor mediante pruebas prácticas. Se eligieron tres alturas de capa: 0,20 mm (la recomendada), la de calibración de la bioimpresora con respecto a la placa de impresión que es de 0,25 mm y un otra de 0,30 mm. La definición de capas se observó mediante imágenes obtenidas por un estereomicroscopio Optika Italy.

4.2.5 Bioimpresión sobre YSZ

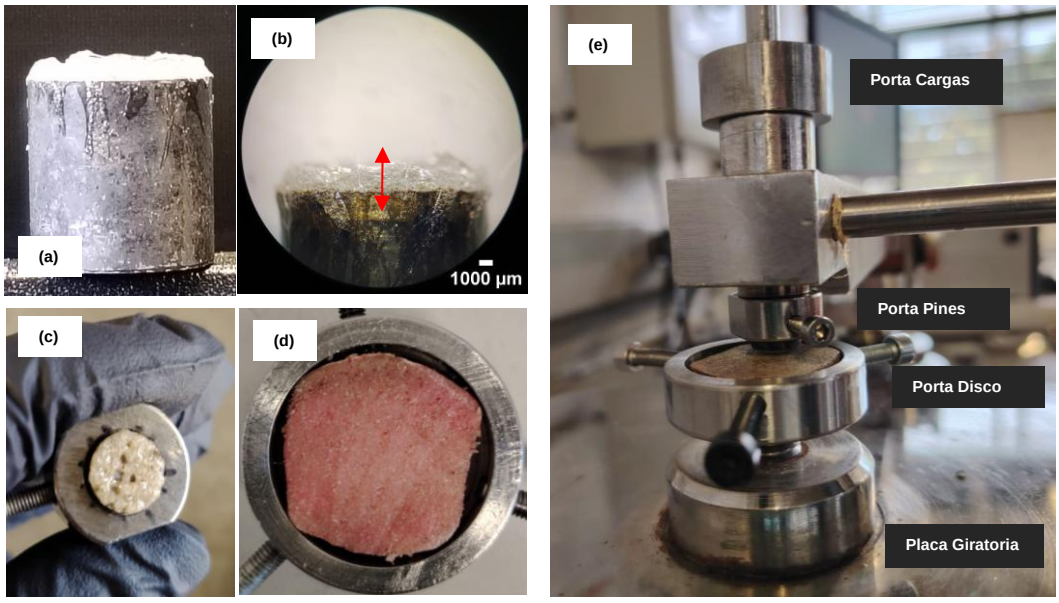
Se utilizó una placa de circonio estabilizada con itria (YSZ) con dimensiones de 10 mm × 10 mm y una altura aproximada de 1 mm como base de impresión. Sobre esta se depositaron 12 capas del andamio bioimpreso, siguiendo la trayectoria definida por el modelo de impresión anterior.

4.3 Ensayos Mecánicos y Tribológicos de Andamios

4.3.1 Pruebas Pin-sobre-Disco

Para evaluar el comportamiento tribológico de la biotinta se aplicó el ensayo pin-sobre-disco en condiciones ambientales de temperatura (siguiendo la norma ASTM G99). Las probetas consistieron en pines metálicos de 10mm de diámetro sobre los cuales se imprimió 12 capas de la biotinta (ancho de impresión mínimo 2mm – **Figura 4-6b**) con respecto al modelo descrito en la sección 4.2.4 y los parámetros fijados en la sección 4.2.3. Posteriormente, cada pin impreso fue montado en el portapines del tribómetro. El disco empleado fue un hueso porcino cortado transversalmente para garantizar planitud en la superficie con diámetro de trabajo de 20 mm. Se seleccionó hueso porcino por su mayor rigidez respecto a sustratos poliméricos, lo que permite estudiar el comportamiento de la biotinta bajo condiciones de contacto duro, aspecto poco documentado en la literatura.

Figura 4-6: (a) Pin con superficie impresa, (b) Ancho de impresión sobre el Pin, (c) Pin instalado en portapines, (d) Disco de hueso en portadiscos, (e) Montaje Pin-sobre-Disco



Se decidió simular un recorrido de 500 m determinando el tiempo de ensayo en el tribómetro a partir de parámetros mencionados en la sección 3.8.2 del Estado Actual del Conocimiento. En este cálculo se consideró un tamaño de paso promedio de 0,77 m, una velocidad de desplazamiento corporal de 1,25 m/s y un total de 650 pasos, lo que corresponde a un tiempo de ensayo aproximado de 7 minutos. Asimismo, la velocidad de giro de la plataforma del tribómetro se fijó en función de la velocidad relativa entre las superficies articulares (100 mm/s) y del diámetro de trabajo del disco empleado (**Tabla 4-2**). Los ensayos se realizaron en modo rotacional, aplicando cargas normales de 0,5 y 1 kg.

Tabla 4-2: Parámetros de simulación en el Tribómetro

Velocidad de giro [rpm]	Pasos	Distancia (m)	Tiempo a 1,25 m/s [min]
100	650	500	7

La velocidad de desplazamiento del cuerpo (1.25 m/s) se utilizó para calcular el tiempo equivalente de caminata, mientras que la velocidad de deslizamiento en el tribómetro (100

mm/s) representa el movimiento relativo real entre superficies articulares y fue empleada para establecer las condiciones de fricción en los ensayos.

Como se indicó en la sección 3.4 del Estado Actual del Conocimiento, la incorporación de CS y GS en hidrogeles modifica sus propiedades mecánicas. Ai et al. (2023) evaluaron concentraciones de 4%, 6% y 10% (p/v), observando que 6% (p/v) resultó óptima para las pruebas de rigidez. Con base en estos hallazgos, se seleccionaron tres niveles experimentales de concentración para ambos sulfatos: **Blanco** (0% p/v), **(-)** (4% p/v) y **(+)** (6% p/v).

Durante la prueba se registraron de forma continua la fuerza tangencial (F_t) para calcular el COF instantáneo (ecuación 4.3) y determinar el valor medio en estado estable, con la carga normal (N);

$$COF = \frac{F_t}{N} \tag{4.3}$$

En conjunto, para el análisis tribológico se consideraron dos niveles de carga normal (0,5 y 1,0 kg) y tres concentraciones de sulfatos (Blanco, (-) y (+)), evaluadas de manera combinada. Cada condición experimental fue repetida en tres ocasiones independientes, lo que permitió obtener un total de 18 corridas experimentales (**Tabla 4-3**).

Tabla 4-3: Replicas den ensayo pin-sobre-disco

		Concentración de sulfatos		
Carga Normal	**Fuerza Normal**	**Blanco**	**(-)**	**(+)**
0,5 kg	**≈5 N**	3	3	3
1 kg	**≈10 N**	3	3	3

4.3.2 Pruebas con AFM

Las propiedades mecánicas del hidrogel bioimpreso sobre YSZ se evaluaron mediante Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) con un microscopio modelo NX10 de Park Systems, empleando el modo nanomecánico PinPoint que registra las curvas fuerza–distancia (F-D) por cada pixel de la imagen. Se utilizaron cantilevers de silicio con punta piramidal (constante elástica nominal 6,2 N/m, Fuerza de resonancia de 75 kHz). Las curvas F-D se obtuvieron con una velocidad de aproximación/retracción de 30–60 µm/s.

Este modo de no contacto permitió obtener 5 canales de adquisición de información:

- Energía de adhesión
- Deformación
- Energía de disipación
- Modulo elástico
- Rigidez

Dicha evaluación se realizó a los andamios impresos sobre YSZ en los mismos 3 niveles de concentración de sulfatos del ensayo de pin-sobre-disco (ver **Tabla 4-3**). Adicionalmente también se realizó el ensayo para una porción de CA nativo porcino con objetivos comparativos.

5. Resultados y Discusión

5.1 Determinación de estructura sIPN con Raman

5.1.1 Identificación de Picos Raman

Con los espectros Raman obtenidos se procede a la identificación y clasificación de los picos característicos, correspondientes a los componentes principales del sistema polimérico: PMMA (fase lineal de la sIPN) y PEGDMA (fase reticulada de la sIPN). Esta clasificación se basa, tanto en la posición (número de onda en cm^{-1}), como en la intensidad relativa de las señales observadas en el espectro Raman, lo que permite establecer una asignación precisa de los modos vibracionales representativos de cada componente.

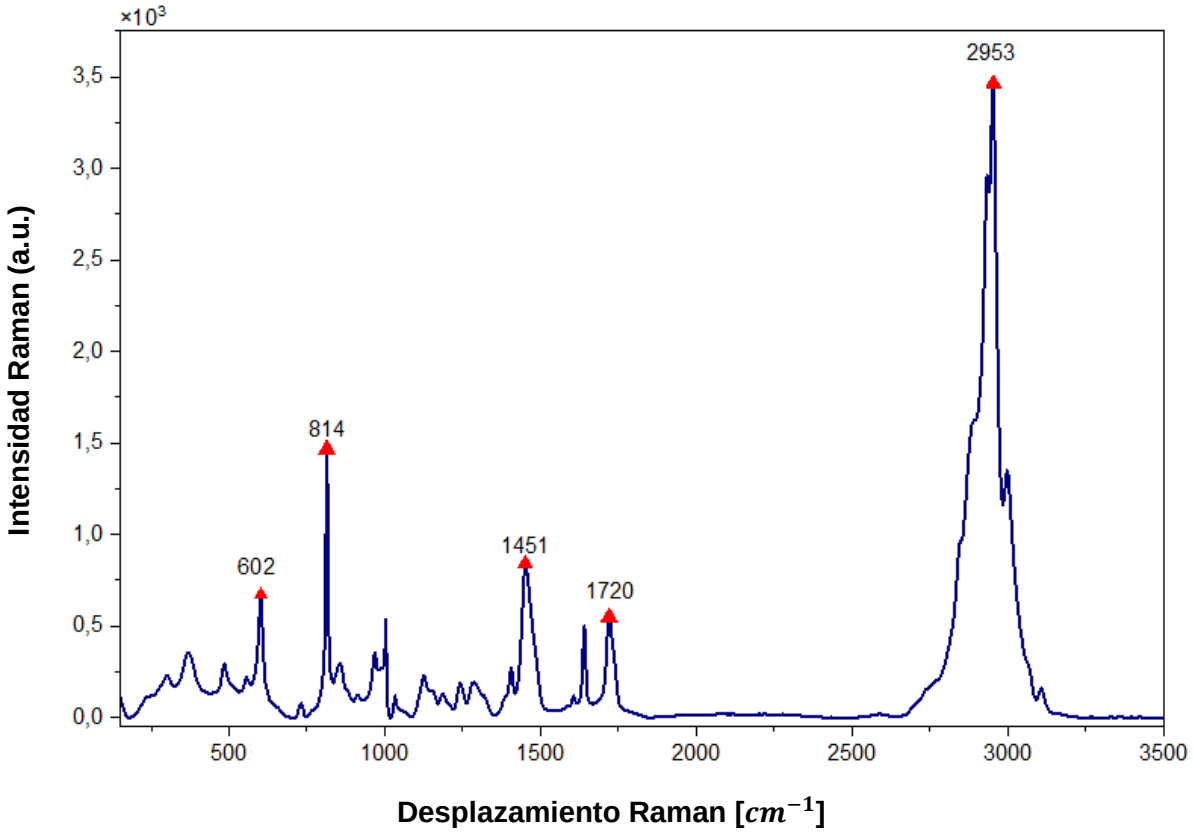
El análisis visual de los espectros obtenidos mostró la presencia de los mismos picos característicos en todas las réplicas, aunque con variaciones en la intensidad relativa. Con base en ello, se seleccionó una de las quince probetas del diseño experimental para realizar la identificación y asignación de los modos vibracionales correspondientes. Esta asignación se validó mediante la comparación del posicionamiento de los picos observados con los reportados en estudios pioneros de espectroscopía Raman en polímeros, específicamente en PMMA (Willis et al., 1969) y en PEGDMA (Moran & Martin, 1983) (Ver anexos **Tabla A-1** y **Figura A-1**).

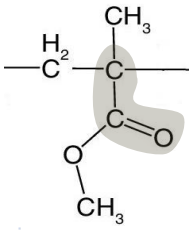
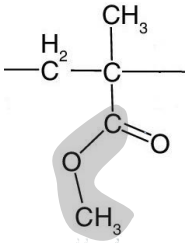
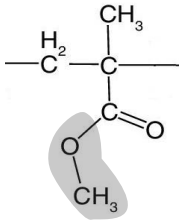
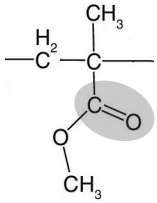
- **Fase Lineal (PMMA):**

En la **Figura 5-1** se muestra el espectro Raman correspondiente a la probeta seleccionada, donde se han identificado los 4 picos Raman más representativos asociados a los modos vibracionales característicos del PMMA y su identificación en una representación de la unidad repetitiva de PMMA. Estos picos permiten confirmar la presencia del polímero en el hidrogel y sirven como referencia para comparar posibles cambios estructurales inducidos por el proceso de fotoreticulación radicalaria. No obstante, para el caso particular de esta investigación, se anticipa que las modificaciones inducidas en la estructura del PMMA serán no significativas, dada su naturaleza y su estabilidad macromolecular.

Para el PMMA, los modos característicos son: el modo de estiramiento simétrico ν(C–C–O) a 602 cm^{-1}, el modo de estiramiento ν (C–O–CH3) a 814 cm^{-1} y el modo fundamental a 1720 cm^{-1} se asigna como modo vibracional de estiramiento carbonílico ν (C=O). Los modos observados en 1451 y 2953 cm^{-1} se asignan como modo de flexión y estiramiento de ν (C–H), respectivamente.

Figura 5-1: Espectro Raman con rotulación de picos e identificación de modo vibracional en una unidad repetitiva de PMMA.



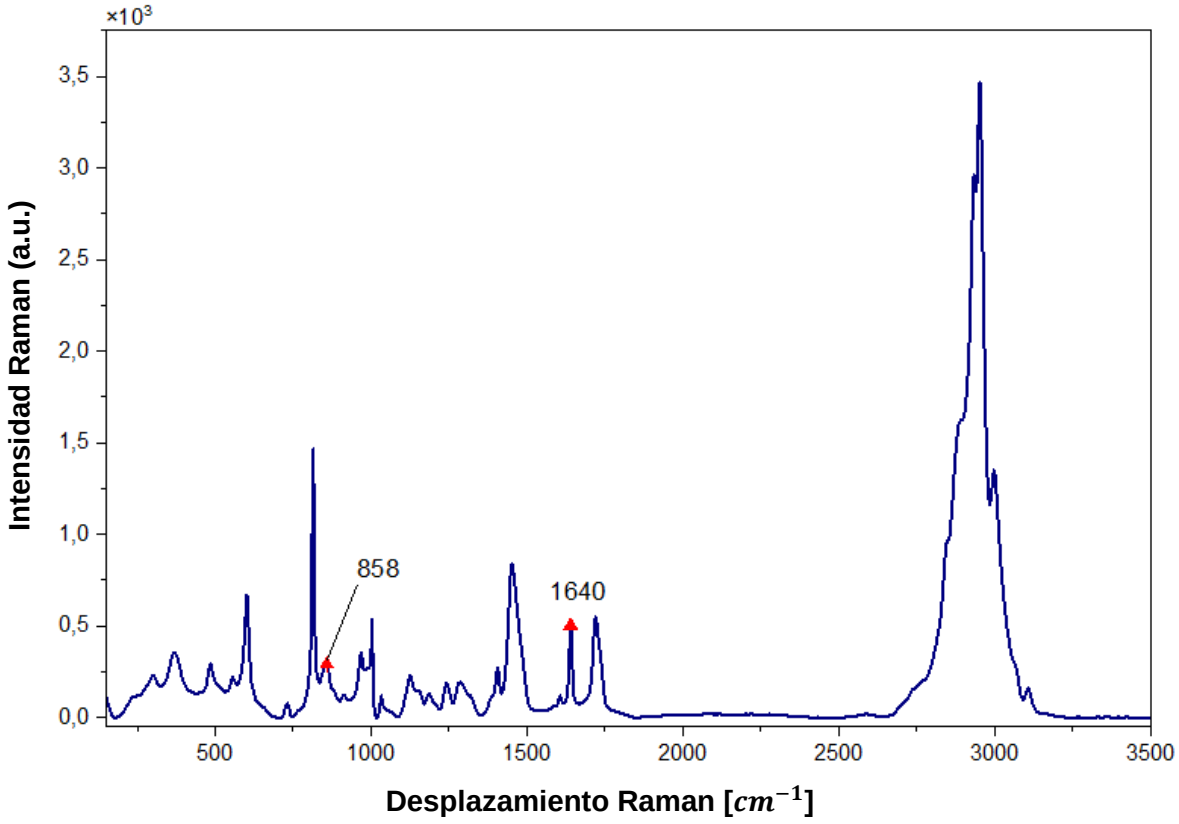
Modos Vibracionales PMMA			
602 cm^{-1}	**814 cm^{-1}**	**1451 cm^{-1}**	**1720 cm^{-1}**
			

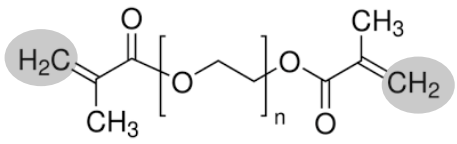
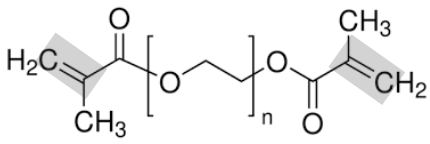
- **Fase Reticulada:**

En la **Figura 5-2** se muestra el espectro Raman correspondiente a la probeta seleccionada, donde se han identificado los 2 picos Raman más representativos asociados a los modos vibracionales característicos del PEGDMA y su identificación en una representación de la

unidad repetitiva. Estos dos picos, seleccionados por su sensibilidad a las modificaciones en los grupos funcionales reactivos del PEGDMA, constituyen indicadores espectroscópicos Raman clave. Estos picos son: el modo de estiramiento simétrico ν(C=C) a 1640 cm^{-1} y el modo rocking de (-CH_2) a 858 cm^{-1}.

Figura 5-2: Espectro Raman con rotulación de picos e identificación de modo vibracional en una unidad repetitiva de PEGDMA.



Modos Vibracionales PEGDMA	
858 cm^{-1}	**1640 cm^{-1}**
	

5.1.2 Análisis estadístico

Dado que las intensidades absolutas en espectros Raman pueden verse afectadas por múltiples variables experimentales como: el enfoque óptico, la rugosidad superficial y la distribución espacial de las cadenas poliméricas, no es apropiado realizar comparaciones directas entre espectros; por el contrario, se debe hacer un proceso de normalización interna en cada espectro. Por tanto, se adoptó el uso de un pico interno de referencia, es decir un modo vibracional característico del hidrogel, de cuya intensidad se tiene certeza que permanece constante e invariable frente al tratamiento de fotoreticulación.

La banda seleccionada es la encontrada en aproximadamente 2953 cm^{-1} asociado principalmente a vibraciones de estiramiento del enlace C–H en los grupos alquilo. Esta banda se utiliza como índice de comparación relativa frente a las otras bandas que se desean analizar, dado que por su alta intensidad y forma bien definida se estima que se mantiene prácticamente inalterada por la irradiación UV, por lo que constituye un punto de referencia adecuado. De este modo, se plantea una razón de Comparación de Intensidad (CI) según Ferraro et al. (2003).

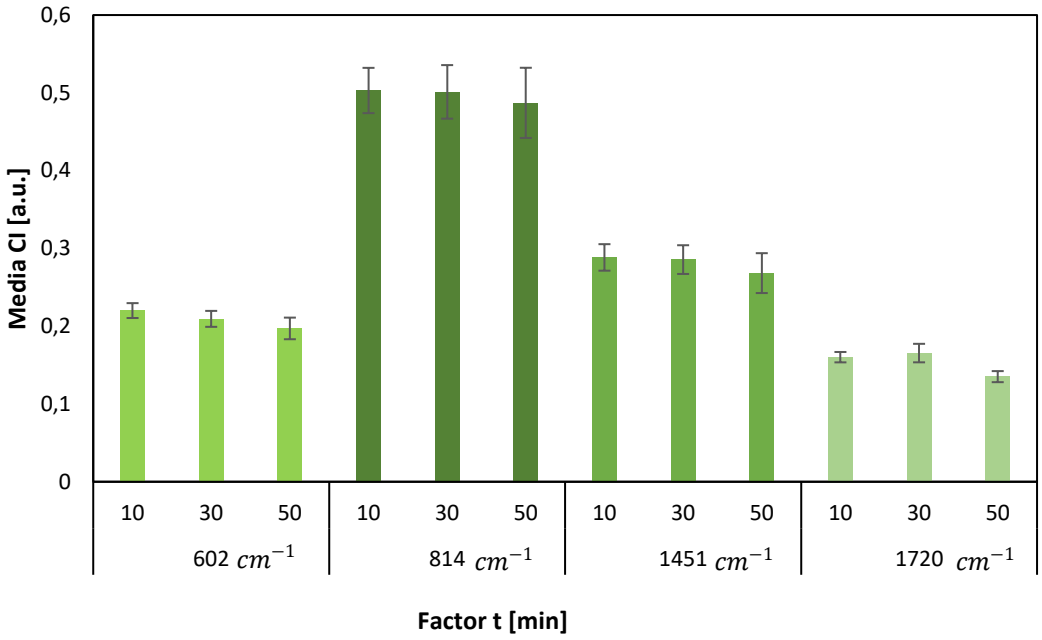
$$CI = \frac{I_{PI}}{I_{2953\ cm^{-1}}} \qquad (5.1)$$

Donde, $\mathrm{I}_{2953\ \mathrm{cm}^{-1}}$: intensidad del pico de referencia y I_{PI}: intensidad del pico de interés que se desea analizar. Lo anterior permite evaluar los cambios estructurales de forma comparativa, eliminando los efectos de las variaciones experimentales inherentes a la técnica espectroscópica.

5.1.2.1 Intensidad de picos correspondientes a PMMA

Los picos a analizar correspondientes al PMMA son los 4 picos mostrados en la **Figura 5-1**. En la **Tabla A-2** de los anexos se muestran las intensidades de los picos de interés a analizar, los picos de referencia en cada espectro y el CI calculado.

Figura 5-3: Media de la CI para los picos característicos de PMMA



Los resultados muestran que las diferencias entre los tratamientos del tiempo de reticulación (Factor t) son leves y se mantienen dentro del margen de variabilidad experimental (**Figura 5-3**):

- Pico a 602 cm^{-1}: La CI medio mostró una ligera disminución de $0{,}220 \pm 0{,}021$ (10 min) a $0{,}197 \pm 0{,}031$ (50 min). Sin embargo, la variación observada se encuentra dentro del rango de dispersión, por lo que no se evidencia un cambio significativo.

- Pico a 814 cm^{-1}: Se observó una leve tendencia decreciente desde $0{,}503 \pm 0{,}065$ (10 min) hasta $0{,}487 \pm 0{,}101$ (50 min). A pesar de esta reducción, las medias permanecen próximas y los errores estándar se superponen ampliamente, lo que sugiere estabilidad estructural del grupo asociado.

- Pico a 1451 cm^{-1}: Las CI medias fueron muy similares entre los tratamientos, con valores entre $0{,}288 \pm 0{,}038$ (10 min) y $0{,}268 \pm 0{,}057$ (50 min), indicando una invariancia espectral frente al tiempo de exposición.

- Pico a 1720 cm^{-1}: A diferencia de los demás, este pico muestra una disminución más notoria al pasar de $0{,}160 \pm 0{,}015$ (10 min) a $0{,}135 \pm 0{,}016$ (50 min), aunque aún dentro de un margen estrecho. Esta diferencia podría reflejar una ligera

modificación en el entorno químico del grupo carbonilo, sin que se evidencien cambios estructurales sustanciales.

Tabla 5-1: Resumen de ANOVA picos PMMA

Pico [cm^{-1}]	Valor F	Valor P	Varianza explicada por el Factor t	Significancia (95%)
602	1,01	0,393	14%	No significativo
814	0,06	0,946	1%	No significativo
1451	0,28	0,760	4%	No significativo
1720	3,31	0,072	35%	No significativo

En complemento con lo anterior, los resultados del análisis de varianza (ANOVA) (**Tabla 5-1**) evidenciaron que, para los picos Raman característicos del PMMA, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en la intensidad relativa en función del Factor t ($p > 0,05$). Si bien, en uno de los picos el Factor t explicó aproximadamente el 35 % de la variación total, la falta de significancia estadística indica que estas diferencias no son concluyentes. En consecuencia, puede inferirse que, bajo las condiciones experimentales evaluadas, el Factor t no ejerce un efecto determinante sobre la respuesta espectroscópica del PMMA.

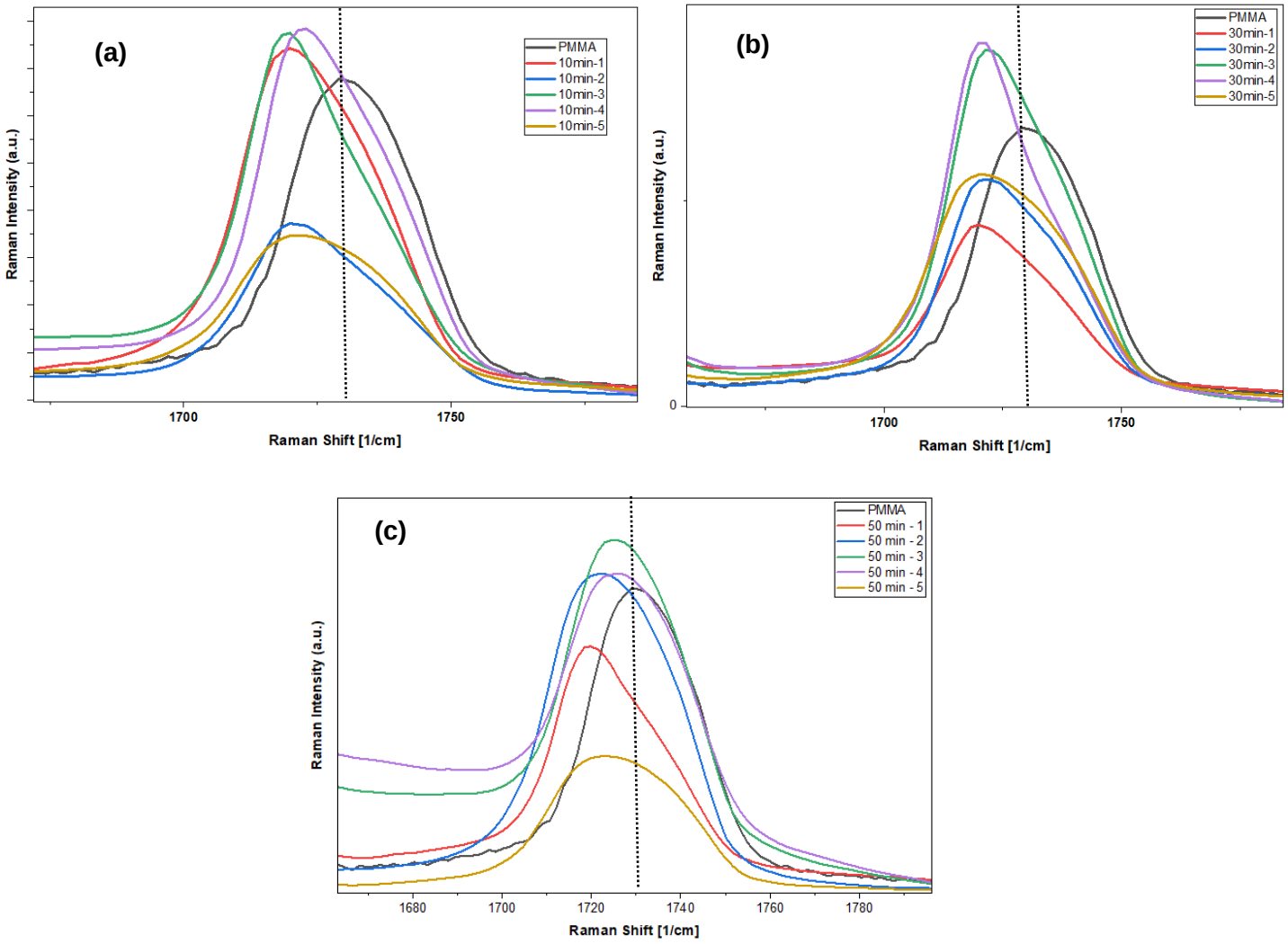
En conjunto, los valores medios y su dispersión no indican diferencias marcadas en la intensidad relativa de los picos Raman en función del Factor t. Esto sugiere que la estructura molecular de la matriz polimérica del PMMA permanece estable a lo largo del proceso de fotoreticulación, sin reorganización vibracional significativa, por tanto, se puede confirmar la fase estructural fija de PMMA.

5.1.2.2 Desplazamiento del pico 1720 cm^{-1} ν(C=O)

Es importante destacar que el modo vibracional asignado al grupo carbonilo (C=O) es el único que presenta un desplazamiento espectral apreciable en los espectros Raman obtenidos. Se observa un corrimiento sistemático hacia la izquierda, en relación con su posición original en el PMMA de partida. En la **Figura 5-4** se ilustra este comportamiento: la línea vertical punteada en negro indica la posición característica del pico del PMMA

base, mientras que las señales correspondientes a las cinco réplicas por tratamiento aparecen desplazadas hacia regiones de menor número de onda (Ver datos en anexos **Tabla A-3**).

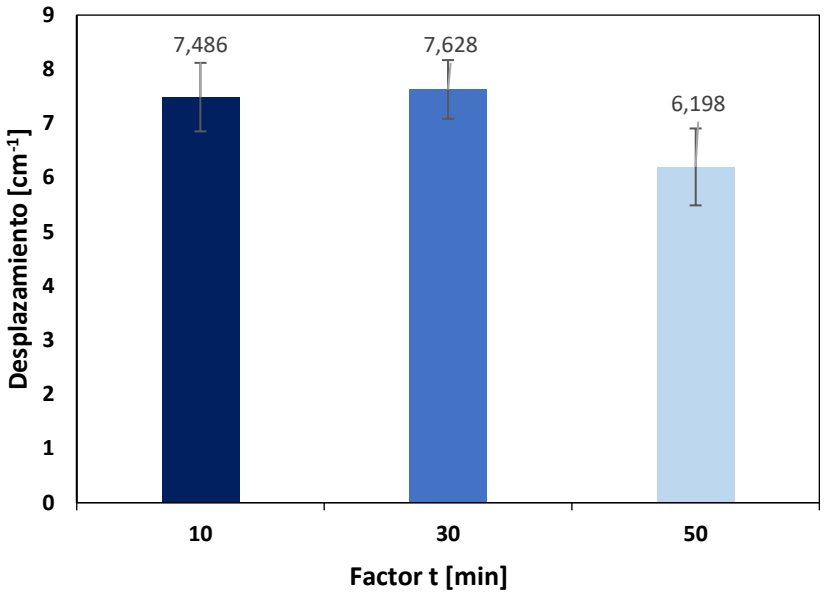
Figura 5-4: Desplazamiento del pico 1720 cm^{-1} (C=O). (a) Factor t = 10 min, (b) Factor t = 30 min. (c) Factor t = 50 min.



En todas las probetas, se observó un desplazamiento sistemático del pico Raman asignado al estiramiento del grupo carbonilo (C=O), el cual se desplaza hacia valores próximos a 1718 cm^{-1}, correspondientes al modo vibracional C=O del PEGDMA. Este corrimiento sugiere una modificación del entorno químico local del grupo carbonilo, posiblemente atribuida a interacciones intermoleculares entre las cadenas de PMMA y PEGDMA, así

como a la formación de una sIPN que altera la rigidez y polaridad del sistema. La dirección del corrimiento hacia la izquierda es coherente con una disminución en la densidad electrónica local del grupo carbonilo, posiblemente inducida por una fase más móvil y flexible como la del PEGDMA entrecruzado.

Figura 5-5: Media de desplazamiento del pico 1720 cm^{-1} (C=O)

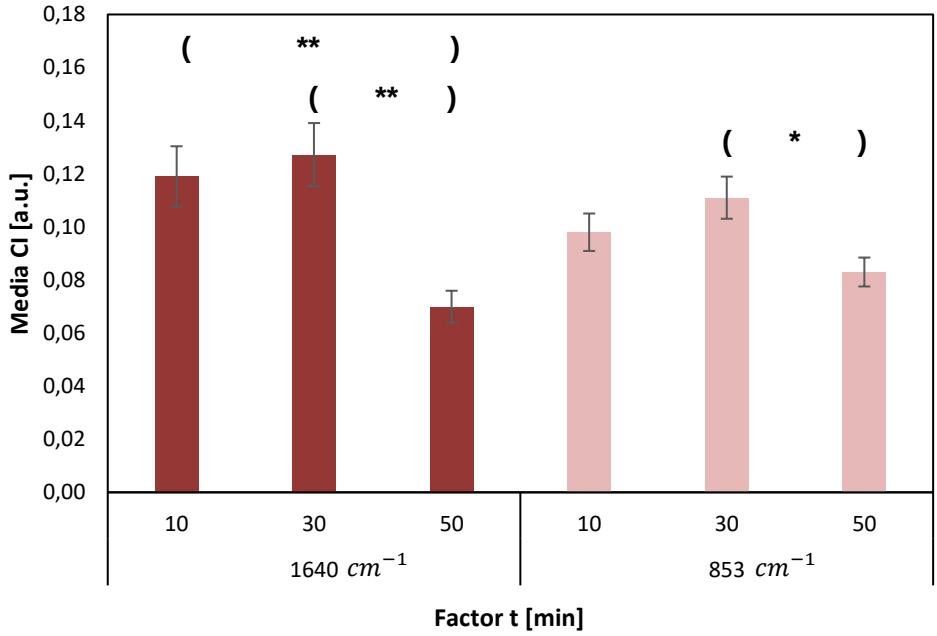


Sin embargo, en la **Figura 5-5** se observan la media de los desplazamientos del pico 1720 cm^{-1} (C=O) con respecto al Factor t. Con un Factor t de 50 minutos, el valor medio de desplazamiento se reduce notablemente en comparación con los tiempos más cortos (6,2 cm^{-1}). Esta tendencia sugiere que, a medida que aumenta el tiempo de entrecruzamiento, la red de PEGDMA adquiere mayor rigidez y queda más restringida dentro de la matriz de PMMA. Como consecuencia, disminuye la libertad vibracional del grupo carbonilo del PEGDMA, lo que provoca que su modo vibracional confinado se desplace hacia valores más cercanos a los del PMMA. Este comportamiento constituye un indicio adicional que confirma la formación de una sIPN.

5.1.2.3 Intensidad de picos correspondientes a PEGDMA

Una vez confirmado el PMMA como fase fija de la sIPN, se estima que el PEGDMA se incorpora como la fase reticulable que se entrecruza físicamente dentro de la red de PMMA. Bajo lo anterior, los cambios observables en los espectros Raman estarán principalmente asociados a la disminución de la intensidad del modo vibracional correspondientes al doble enlace C=C del PEGDMA ubicado en aproximadamente 1640 cm^{-1}, como evidencia del consumo de estos grupos durante el proceso de fotoreticulación radicalaria y la formación de una estructura tridimensional de PEGDMA con entrecruzamiento covalente (Ver valores de CI en anexos **Tabla A-4**).

Figura 5-6: Media de la CI para los picos característicos de PEGDMA



En la **Figura 5-6** se observa que la CI aumentó de 0,117 ± 0,027 (10 min) a 0,127 ± 0,025 (30 min), seguido de una reducción pronunciada a 0,071 ± 0,012 (50 min). Esta variación sugiere una reorganización estructural inducida por el incremento en la densidad de reticulación del PEGDMA, que afecta la movilidad y el entorno químico del grupo funcional correspondiente. La reducción observada a 50 minutos cae fuera del rango de dispersión de los otros tratamientos, indicando un efecto muy significativo del Factor t.

Por tanto, la disminución sistemática en la intensidad del modo vibracional correspondiente al doble enlace C=C se interpreta como una consecuencia directa del consumo de enlaces π presentes en el PEGDMA durante el proceso de fotoreticulación. Esta pérdida progresiva de intensidad Raman constituye una evidencia espectroscópica del avance del entrecruzamiento, en el cual los enlaces π presentes en el doble enlace se rompen y participan en reacciones de adición radicalaria para formar una red polimérica tridimensional (Ver representación visual de disminución de pico 1640 cm^{-1} en anexos **Figura A-2)**.

Cabe destacar que, entre los tratamientos de 10 y 30 minutos no hay significancia estadística. Es más, se observa una ligera elevación en la intensidad relativa del pico C=C. Este comportamiento podría atribuirse a una reorganización estructural del sistema, en la que los grupos vinílicos del PEGDMA se vuelven más accesibles ópticamente antes de ser consumidos en el entrecruzamiento. A pesar de esta oscilación puntual, la tendencia general confirma una disminución progresiva en la señal asociada a los enlaces π, compatible con el avance del proceso de fotoreticulación radicalaria.

Tabla 5-2: Resumen de ANOVA picos PEGDMA

Pico [cm^{-1}]	Valor F	Valor p	Varianza explicada por el Factor t	Significancia (95%)
1640	9,38	0,004	61%	Significativo
858	4,14	0,043	41%	Significativo

En complemento a lo anterior, los resultados del ANOVA (**Tabla 5-2**) evidenciaron un efecto estadísticamente significativo del Factor t sobre la intensidad de los picos Raman ($p<0,05$). Este resultado indica que los cambios observados en la intensidad están directamente relacionados con la variación del tiempo de exposición a UV durante el proceso de reticulación. El Factor t explicó el 61% de la variabilidad total en la intensidad del pico, mientras que el 39% restante se debió a variación aleatoria o experimental. Este resultado corrobora la hipótesis planteada, en la que se espera una modificación estructural significativa del componente reticulable, sin comprometer la integridad química de la matriz fija de PMMA, que permanece estructuralmente estable a lo largo del proceso de fotoreticulación radicalaria.

En este tipo de redes poliméricas, caracterizados por su complejidad estructural y sensibilidad a múltiples variables físicas y químicas, es común encontrar niveles elevados de dispersión en los datos experimentales. Factores como la heterogeneidad del entrecruzamiento, la dispersión espectral, el ruido instrumental o las diferencias superficiales entre probetas introducen una variabilidad considerable en los resultados de espectroscopía Raman. En este contexto, obtener un valor de varianza explicada del 61% resulta altamente significativo, ya que demuestra que el tratamiento experimental tiene un impacto predominante en la evolución estructural del sistema. No obstante, la comparación directa de este resultado con otros estudios es limitada debido a la escasa disponibilidad de análisis estadísticos equivalentes y al reducido reporte de este tipo de indicadores en la literatura.

Un comportamiento similar se observa para el pico 858 cm^{-1} (**Figura 5-6**), aunque los rangos de dispersión del Factor t de 50 minutos no caen fuera del rango de los otros tratamientos, existe significancia entre los Factores t de 30 y 50 minutos. La CI mostró una variación dependiente del tiempo de fotoreticulación, con un aumento a los 30 minutos y una disminución posterior a los 50 minutos. Esta diferencia sugiere que, el tiempo de exposición UV influye de forma significativa en la dinámica vibracional de los sistemas. La reducción observada podría atribuirse a la restricción conformacional impuesta por el avance del entrecruzamiento, así como a cambios en el entorno químico local y en la polarización molecular.

En conjunto, estos resultados reflejan una progresiva estructuración de la matriz polimérica que limita la movilidad de los grupos CH_2. Esta restricción segmental reduce la capacidad de las cadenas poliméricas para reorganizarse bajo deformación, lo que puede incrementar la rigidez del hidrogel, a la vez que limita la formación de canales libres en la matriz polimérica, reduciendo así la disponibilidad de sitios activos para la escisión de enlaces susceptibles a degradación hidrolítica.

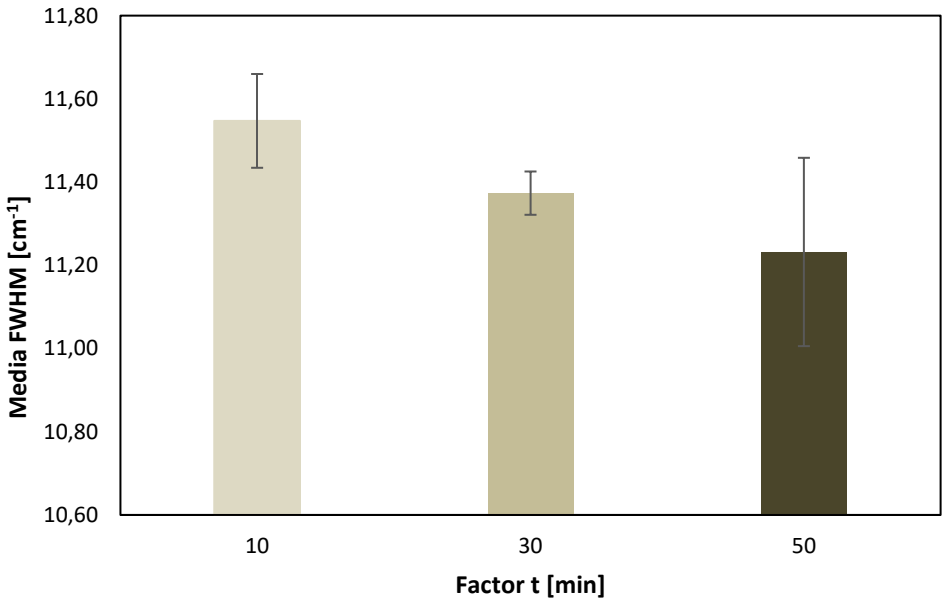
El ANOVA para la CI de este pico reveló una diferencia estadísticamente significativa en función del Factor t ($p<0,05$). Este resultado indica que el Factor t ejerce una influencia relevante sobre este modo vibracional, reflejando posibles cambios estructurales sutiles en la conformación de la red polimérica del PEGDMA durante la formación de la sIPN.

5.1.2.4 Relación con el FWHM

El ancho completo a media altura (FWHM, por sus siglas en inglés) es un parámetro espectroscópico que describe la anchura de un pico en la mitad de su intensidad máxima. En espectros Raman, un FWHM más reducido suele asociarse con un entorno químico más uniforme y modos vibracionales más definidos, mientras que valores mayores reflejan heterogeneidad estructural o la coexistencia de diferentes microambientes moleculares.

El análisis cuantitativo del FWHM se efectuó exclusivamente sobre el pico ubicado en 1640 cm^{-1} (C=C), dado que constituyo el referente principal para confirmar la formación de una estructura sIPN.

Figura 5-7: FWHM del pico 1640 cm^{-1} con respecto al Factor t



Este pico mostró una disminución progresiva en su valor medio conforme aumentó el Factor t, lo que indica que el avance de la fotoreticulación reduce la dispersión vibracional y favorece una red más organizada y homogénea. Sin embargo, a 50 minutos se observó un aumento notable en la dispersión de los datos, lo cual revela que, aunque el grado de reticulación global es mayor, emergen microambientes con distinto nivel de entrecruzamiento. Esta heterogeneidad está asociada a limitaciones difusivas de los

radicales, a diferencias locales en la densidad de la red o a variaciones en la absorción de la radiación UV.

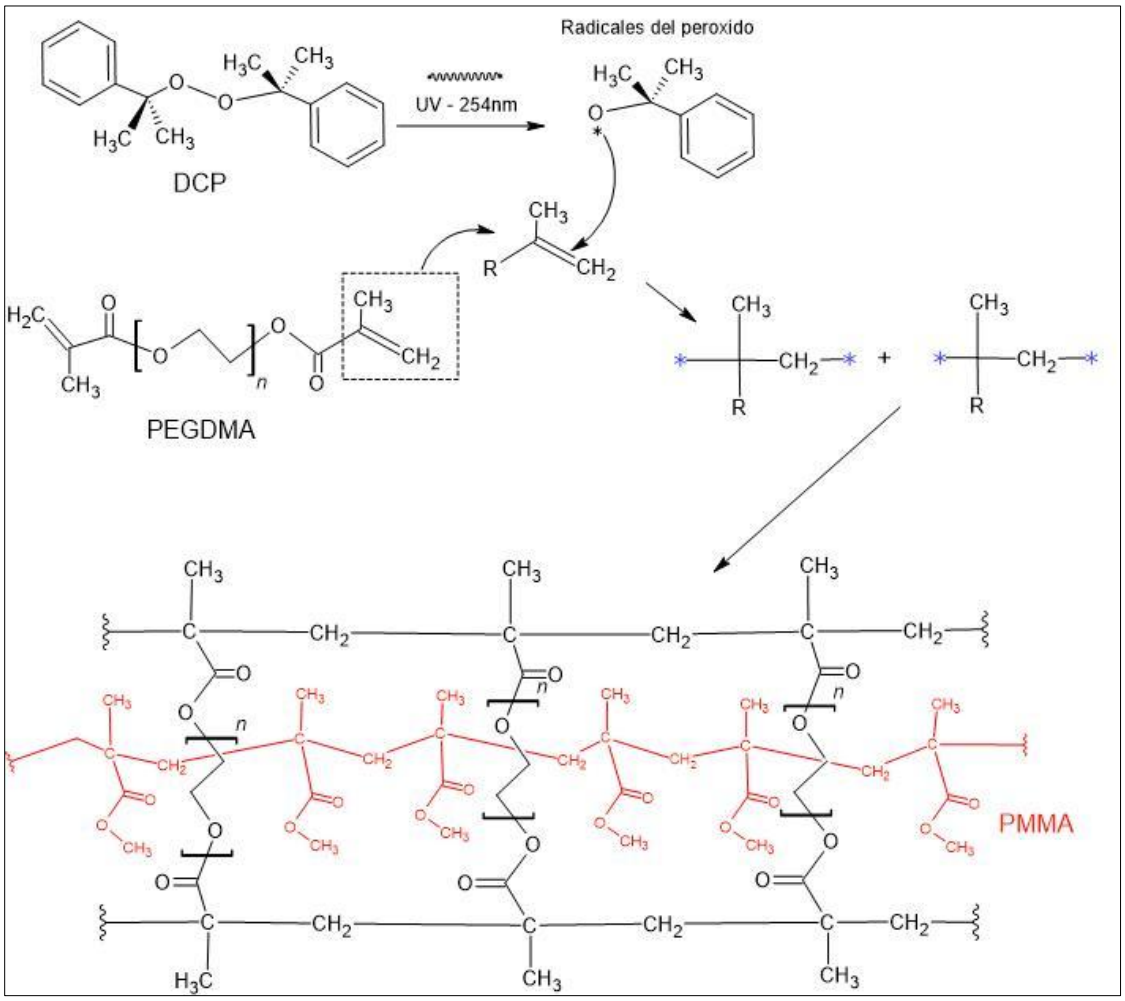
En síntesis, la evolución del FWHM refleja una relación directa con el grado de reticulación: la reducción del ancho medio sugiere un consumo efectivo de dobles enlaces y una red más definida, mientras que la amplificación de la dispersión en 50 minutos evidencia la aparición de heterogeneidad estructural, un parámetro que puede influir en propiedades como la rigidez y el hinchamiento del hidrogel.

5.1.3 Estimación de la estructura del hidrogel sIPN

La estructura del hidrogel sintetizado corresponde a una red sIPN. Aunque en la literatura se ha citado la viabilidad para caracterizar este tipo de estructuras mediante espectroscopía Raman, su uso en hidrogeles no está ampliamente difundido. Por tanto, en este trabajo se empleó espectroscopia Raman como técnica de caracterización principal de esta estructura.

Con la confirmación de la obtención de una estructura sIPN del hidrogel desarrollado, en la **Figura 5-8** se esquematiza el proceso de fotoreticulación radicalaria covalente del PEGDMA y el atrapamiento físico con la matriz PMMA. Inicialmente, el DCP se descompone en radicales libres capaces de iniciar reacciones sobre dobles enlaces vinílicos, los cuales atacan los enlaces π del PEGDMA en una reacción en cadena que conduce a la formación de PEGDMA reticulado covalentemente y el entrecruzamiento físico con el PMMA.

Figura 5-8: Ilustración esquemática de la reticulación covalente de PEGDMA a través de la formación de radicales peróxidos de DCP y entrecruzamiento físico con PMMA



5.1.4 Razón de Hinchamiento (R_H) del Hidrogel

La **Figura 5-9** muestra la R_H de los hidrogeles sIPN tras los distintos tiempos de reticulación. Con el Factor t de 10 minutos, el hinchamiento fue de aproximadamente 6% $\pm$ 1%, lo que indica una red polimérica aún poco desarrollada, en la que la fuerza elástica de hinchamiento (π_h) de la red polimerica supera a la fuerza elástica retroactiva (π_r), ($\pi_h > \pi_r$). Tras 30 minutos de reticulación, el hidrogel alcanzó un R_H cercano al 16% $\pm$ 3%, lo que sugiere que se ha logrado, o está próximo a lograrse, el equilibrio entre la fuerza de

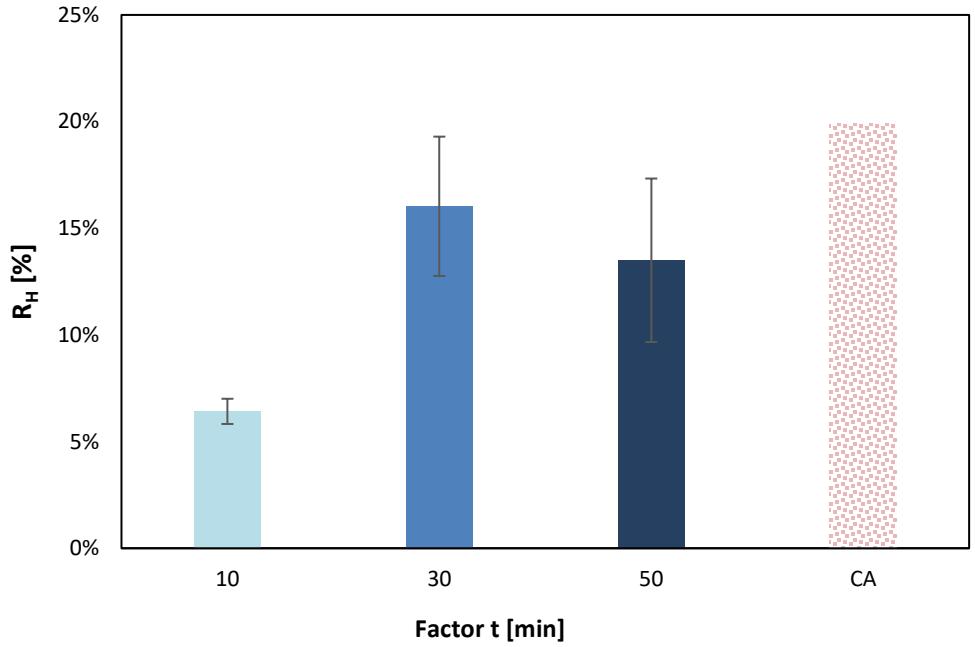
hinchamiento y la fuerza retroactiva ($\pi_h \cong \pi_r$), tomado este nivel de hinchamiento como el grado final de hinchamiento del hidrogel sIPN. Lo anterior, debido a que cuando el Factor t se extendió a 50 minutos, se observó una disminución del R_H a un 14% $\pm$ 4%, atribuible a la densificación progresiva de la red polimérica que restringe la entrada de agua. Aunque una mayor densidad de reticulación (atribuible a mayor Factor t) podría sugerir mayor eficiencia de hinchamiento, su grado de elasticidad la contrarresta, resultando en una menor expansión comparada con las sIPN menos reticuladas (Ver valores en anexos **Tabla A-5**).

Lo anterior es usualmente observado en hidrogeles físicamente reticulados o híbridos, en los cuales la red polimérica se estabiliza mediante interacciones físicas, lo que les confiere una estructura más flexible. En los hidrogeles híbridos, esta reticulación física se combina con enlaces covalentes, generando una respuesta más compleja pero igualmente dependiente del equilibrio entre las fuerzas de hinchamiento y las fuerzas elásticas retroactivas.

Justamente, según Zhan et al. (2021), dicha relación entre fuerzas es lo que le confiere al hidrogel sIPN su característica de hidrogel con baja capacidad de hinchamiento. Este carácter es propicio para aplicaciones biomédicas que requieran una buena capacidad de carga, buena estabilidad estructural y buenas propiedades bioadhesivas, es decir, propiedades importantes en el tejido cartilaginoso nativo.

Adicionalmente, la R_H del CA porcino fue de aproximadamente 20%, valor que se encuentra muy próximo al registrado con el Factor t de 30 minutos. Este resultado respalda que dicha condición de reticulación es la que mejor reproduce el comportamiento del tejido real bajo las condiciones experimentales establecidas.

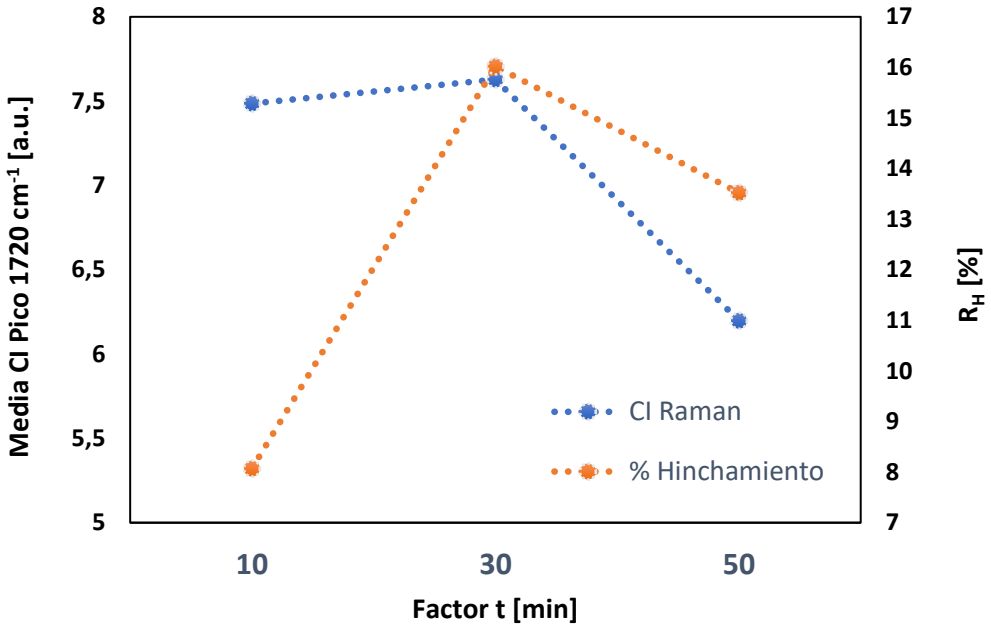
Figura 5-9: Razón de hinchamiento (R_H) de hidrogeles y CA nativo porcino



El grupo funcional hidrófilo principal, responsable de la formación de puentes de hidrógeno y visible en los espectros Raman, es el grupo carbonilo (C=O) ubicado en 1720 cm^{-1}. Lo anterior y los resultados de CI de este grupo funcional guardan una relación coherente con los resultados de hinchamiento de la red sIPN.

En la **Figura 5-10** se observa un comportamiento similar de la CI Raman del pico 1720cm^{-1} y el R_H. Con un Factor t de 30 minutos, se observa un aumento tanto en la intensidad Raman como en la R_H, lo cual sugiere una estructura más abierta y móvil, con mayor disponibilidad de grupos carbonilo para interactuar con el medio acuoso mediante enlaces por puente de hidrógeno. Por el contrario, con un Factor t de 50 minutos, la compactación de la red reduce tanto la polarizabilidad del enlace como su exposición al haz incidente, disminuyendo la intensidad Raman registrada, dicha disminución de exposición sugiere una menor disponibilidad de grupos carbonilo para formar puentes de hidrogeno y por tanto genera una menor permeabilidad. Esta correlación respalda la influencia del Factor t sobre la organización estructural del hidrogel sIPN, afectando tanto sus propiedades espectroscópicas como su comportamiento de mojabilidad.

Figura 5-10: Relación de R_H y CI Raman del pico 1720 cm^{-1}

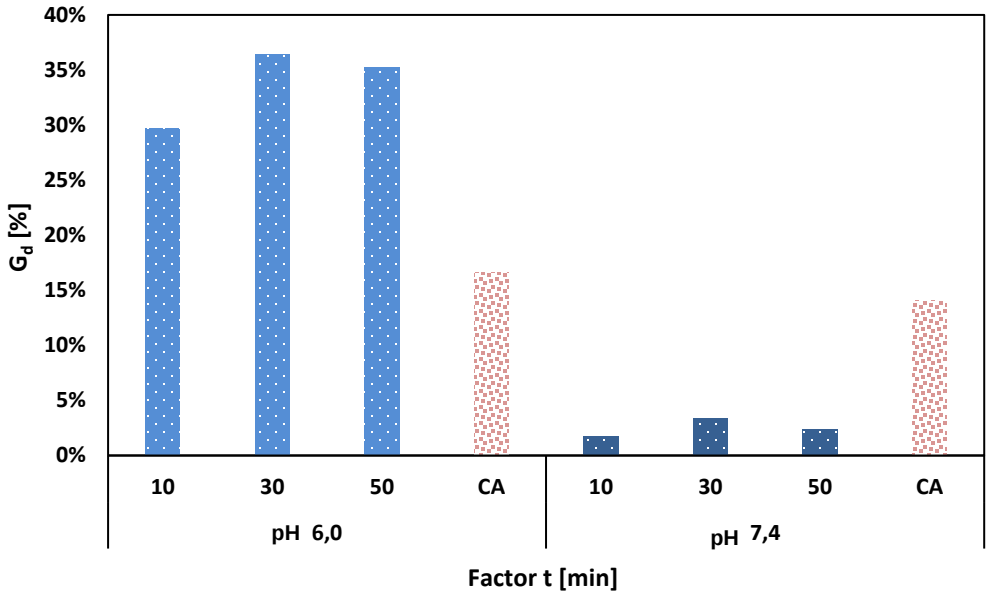


Finalmente, con fines comparativos, la sIPN presentó un hinchamiento del 16% a un Factor t de 30 minutos, valor inferior al de hidrogeles comúnmente reportados como biomiméticos de CA. Sin embargo, este resultado se encuentra dentro de los rangos descritos por Farrag et al. (2023) (2–13%), donde a mayor cantidad de PEGDMA hay una mayor densidad de reticulación que limita la absorción de fluido. Además, su proximidad con el hinchamiento registrado para CA porcino refuerza su carácter bioinspirado.

5.1.5 Grado de Degradación Hidrolítica (G_d) del Hidrogel

Los ensayos de Grado de Degradación Hidrolítica (G_d) realizados durante un periodo de dos semanas mostraron valores del orden de 30–36% a pH 6,0 y de 2–3% a pH 7,4 (**Figura 5-11**). Estos resultados concuerdan con lo reportado en la literatura, que señala una elevada susceptibilidad a la hidrólisis en redes basadas en PEG bajo condiciones ácidas, atribuida principalmente a la escisión de enlaces éster en la fase reticulada de PEGDMA y a la lixiviación de componentes solubles. No obstante, el análisis estadístico no evidenció diferencias significativas entre los distintos niveles del Factor t, por lo que la variación observada no constituye evidencia de un efecto sistemático atribuible a este parámetro. En consecuencia, bajo las condiciones evaluadas, el Factor t en el rango considerado no puede asumirse como un factor determinante de la estabilidad hidrolítica.

Figura 5-11: Grado de degradación hidrolítica (G_d) de los hidrogeles evaluados a pH 6,0 y 7,4



No obstante, la comparación del G_d obtenido a pH 6,0 y pH 7,4, aun considerando que el Factor t no mostró significancia estadística en este ensayo, reviste importancia desde el punto de vista interpretativo. El microambiente ácido característico de articulaciones inflamadas promueve la hidrólisis de polímeros con enlaces susceptibles (enlaces éster), lo que explica la elevada pérdida de masa observada a pH 6,0. Este comportamiento confirma la vulnerabilidad de la fase reticulable bajo escenarios inflamatorios, a pesar de la presencia de una fase estructural lineal de PMMA, la cual se mantiene químicamente estable en soluciones de PBS. En condiciones fisiológicas (pH 7,4), la red mantuvo prácticamente su integridad, lo que sugiere que la combinación entre la fase reticulada y el PMMA confiere resistencia a la hidrólisis en medios acuosos neutros. En este contexto, la magnitud de la pérdida registrada en medio ácido se atribuye principalmente a la degradación de la fase PEGDMA y a la solubilidad en agua de CS y GS, más que a un deterioro de la matriz de PMMA.

De manera particular, la inclusión de CS y GS parece contribuir de forma significativa a la pérdida de masa mediante dos vías plausibles: (i) lixiviación de fracciones solubles de

estos compuestos que no quedaron incorporadas a la red. La literatura señala que los glucosaminoglucanos incorporados a una matriz polimérica alteran tanto la capacidad de absorción de agua como la retención de solutos, de modo que su solubilidad y posterior liberación son coherentes con las magnitudes registradas en este estudio; y (ii) modificación del grado de hinchamiento del hidrogel, que facilita la penetración del medio acuoso hacia sitios hidrolíticos.

En paralelo, el CA porcino presentó un G_d del 14% (pH 6,0) y del 17% (pH 7,4) (**Figura 5-11**). Este resultado no se asocia con una hidrólisis de la matriz de colágeno, sino con la lixiviación de proteoglicanos y glucosaminoglucanos débilmente asociados a la red de colágeno. Estos componentes, debido a su carácter hidrofílico y a su elevada carga negativa, son solubles tanto en condiciones fisiológicas como en ambientes ligeramente ácidos. Sin embargo, el pH ácido puede modificar el estado de ionización de los grupos carboxilo y sulfato en estos componentes, debilitando las interacciones electrostáticas con la matriz de colágeno y facilitando su liberación. En contraste, a pH 7,4 la pérdida observada responde a un proceso de lixiviación sostenida en el tiempo. Por tanto, la degradación aparente del CA porcino se explica más por la liberación diferencial de sus componentes solubles que por un deterioro de su fase estructural.

Con fines comparativos, en el estudio de Li et al. (2023) sobre bioitintas híbridas de PEGDMA, se reportó una pérdida de masa cercana al 40% tras dos semanas de inmersión en condiciones fisiológicas, e incluso en ciertas formulaciones la degradación alcanzó casi el 100% en 24 horas, evidenciando una vulnerabilidad marcada de la red a la hidrólisis. Otros estudios muestran que las formulaciones basadas en PEG pueden experimentar una pérdida de masa rápida en etapas iniciales. En el trabajo de Simińska-Stanny et al. (2024) se reporta 30% de masa perdida en 2 días para algunas formulaciones y hasta 50% en formulaciones con mayor contenido de PEG, seguida de una fase estable durante las siguientes dos semanas. De manera similar, en el trabajo de Stillman et al. (2019) indican pérdidas de 30% o más en 3 días para hidrogeles de PEG.

En contraste, en los resultados de esta investigación, la matriz de PMMA/PEGDMA y aditivos mostró una degradación localizada en la fase reticulada de PEGDMA, manteniendo una alta estabilidad estructural en condiciones neutras (RH=3%), con afectación solo bajo entornos ácidos simulados (RH=36%). Esta diferencia aporta a la

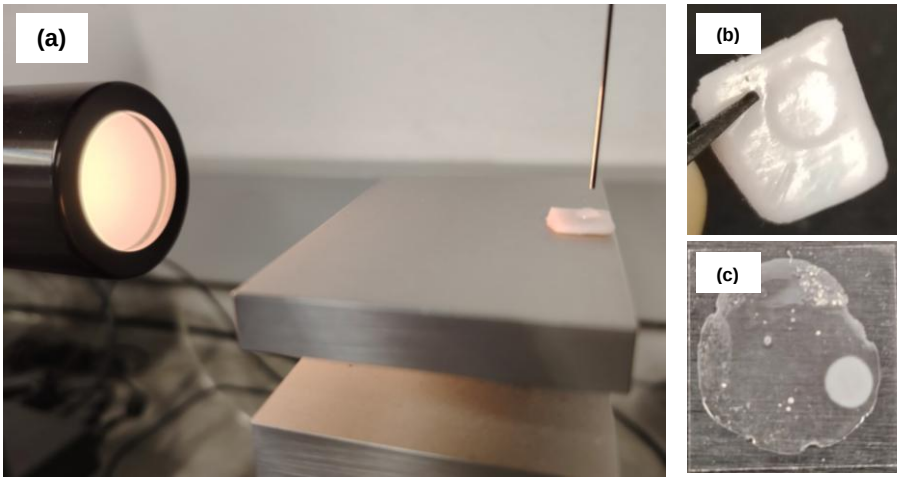
literatura al demostrar que, mediante una estrategia de sIPN con PMMA como fase fija, es posible modular la degradación hidrolítica hacia un comportamiento más controlado.

En conjunto, estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que la degradación hidrolítica en las sIPN se debe fundamentalmente a la susceptibilidad de la fase reticulada PEGDMA y a la liberación de aditivos bioactivos, mientras que el PMMA cumple una función estructural de elevada estabilidad química. Desde la perspectiva del diseño bioinspirado, la formulación propuesta exhibe una buena estabilidad en condiciones fisiológicas normales, pero requiere estrategias adicionales de mejora para incrementar su resistencia frente a los microambientes ácidos propios de procesos inflamatorios articulares.

5.1.6 Mojabilidad del Hidrogel

Las observaciones visuales realizadas durante los ensayos de mojabilidad mostraron que, al depositarse la gota de líquido sobre la superficie de las probetas, tanto los hidrogeles sIPN como el CA porcino presentaron un hinchamiento localizado en la zona de contacto (**Figura 5-12**). Aunque este resultado no es concluyente por sí mismo, aporta evidencia preliminar de un comportamiento comparable entre ambos materiales frente a la interacción inicial con un medio acuoso.

Figura 5-12: Montaje de ensayo de mojabilidad. (a) Montaje, (b) CA porcino posterior al ensayo, (c) Hidrogel sIPN posterior al ensayo

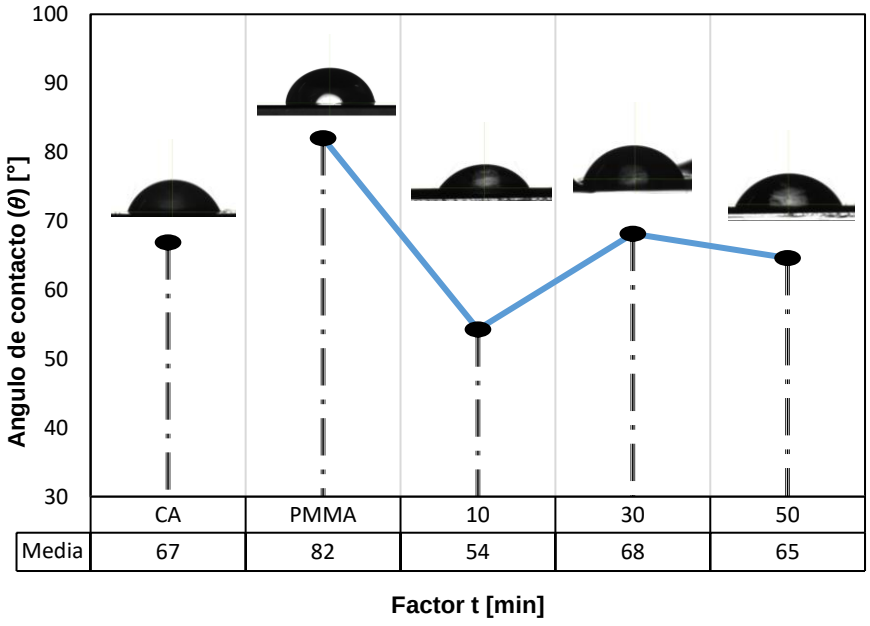


Abordando resultados concluyentes (**Figura 5-13**), el CA porcino presentó un valor medio de ángulo de contacto (θ) de 67°, mientras que el PMMA puro alcanzó un ángulo de 82°, confirmando su carácter más hidrofóbico en relación con el tejido biológico. En el caso de las sIPN, se observaron valores intermedios y dependientes del Factor t: a 10 minutos se obtuvo un θ de 54° $\pm$ 3°, a 30 minutos un valor de 68,2° $\pm$ 0,8° y a 50 minutos de 64,6° $\pm$ 1,2° (Ver datos en la **Tabla A-6)**.

La tendencia registrada puede explicarse en términos de la densidad de entrecruzamiento de la red polimérica. Con un Factor t de 10 minutos, la red permanece menos compacta debido a baja densidad de entrecruzamiento, lo que favorece la exposición de grupos hidrofílicos como carbonilos y sulfatos de CS y GS en la superficie, resultando en un ángulo de contacto más bajo, por tanto, un mayor carácter hidrofílico.

Con un Factor t de 30 minutos el valor aumentó hasta 68°, reflejando una estructura más densamente reticulada y con menor disponibilidad superficial de grupos hidrófilos; además, se observa un acercamiento al comportamiento hidrofílico del CA porcino. A 50 minutos se observó una ligera reducción (65°), lo que sugiere que, pese al aumento de la densidad de reticulación y la mayor rigidez estructural, los grupos funcionales localizados en la superficie aún conservan cierta movilidad, lo que les permite reorientarse en la interfase matriz polimérica-líquido y, en consecuencia, modificar la respuesta de mojabilidad del material.

Figura 5-13: Angulo de contacto (θ) para CA porcino, PMMA puro y el hidrogel sIPN con respecto al Factor t.



En complemento a lo anterior, el análisis estadístico mediante la ANOVA (**Tabla 5-3**) confirmó que el Factor t ejerció un efecto muy significativo sobre la mojabilidad de los hidrogeles ($p<0,05$), explicando aproximadamente el 92% de la varianza total. Además, debido a que la dispersión de los resultados no se traslapa entre tratamientos se confirma que las medias analizadas previamente son significativamente diferentes.

Estos resultados indican que la modulación del tiempo de reticulación constituye un parámetro crítico para controlar la interacción matriz polimérica-líquido de la sIPN, en concordancia con lo reportado para sistemas basados en PEG y PMMA, donde la arquitectura de la red define la expresión superficial de dominios hidrófilos e hidrofóbicos.

Tabla 5-3: Resumen de ANOVA para Angulo de contacto (θ)

Valor F	Valor p	Varianza explicada por el factor t	Significancia (95%)
73,5	0,001	92,4%	Significativo

Lo anterior sugiere que la inclusión de PEGDMA y componentes biactivos (CS y GS) confiere a la red un carácter más hidrofílico que el observado en PMMA puro, evidenciado en la disminución del θ, especialmente en la formulación con menor Factor t. Asimismo, el valor obtenido a 30 minutos se aproxima al registrado para el CA porcino. La baja dispersión de los datos respalda la reproducibilidad de las mediciones y confirma que la mojabilidad de los hidrogeles está modulada por el grado de reticulación.

Con fines comparativos, en la investigación de Danielak et al. (2023) se reportó que los hidrogeles basados en PEG pueden presentar θ en un rango amplio, entre aproximadamente 27° y 62°, atribuible principalmente a variaciones en el peso molecular del PEG. Dado que en esta investigación los precursores empleados correspondían a polímeros u oligómeros ya definidos comercialmente, sin modificación de su masa molar, no fue posible explorar la influencia de este parámetro en la mojabilidad del hidrogel. Asimismo, en la investigación de Gonella et al. (2024) , se reporta que los hidrogeles basados en PEG presentan θ en torno a 55–65°, lo que refleja una superficie hidrofílica favorable para la interacción con tejidos articulares. Estos valores, aunque adecuados,

siguen siendo más altos que los característicos del CA porcino, el cual suele encontrarse en rangos cercanos a 45–50° (según la referencia).

En contraste, los resultados obtenidos en la presente investigación muestran que, mediante la incorporación de PEGDMA con aditivos bioactivos como CS y GS, con un Factor t de 30 minutos, fue posible alcanzar valores de mojabilidad directamente comparables al CA porcino. Esta diferencia evidencia el aporte concreto de este estudio, ya que demuestra que la estrategia de sIPN con aditivos bioactivos no solo incrementa la hidrofilicidad superficial de la red polimérica, sino que además permite aproximarse a las condiciones reales del tejido nativo.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en toda esta sección, se seleccionó un Factor t de 30 minutos para la experimentación posterior, ya que en esta condición el hidrogel alcanzó un grado de hinchamiento cercano al 16 %, valor que refleja el equilibrio entre la fuerza de hinchamiento y la fuerza de retracción de la red polimérica, considerado representativo del estado final de estabilización del sistema. Asimismo, los valores de mojabilidad registrados a este tiempo mostraron una alta proximidad a los observados en el CA porcino, lo que refuerza la similitud del comportamiento superficial con el tejido nativo. En conjunto, estos hallazgos sustentan que 30 minutos de reticulación constituyen la condición más apropiada para la bioinspiración a CA nativo esperada en la sIPN.

5.2 Resultados de Bioimpresión

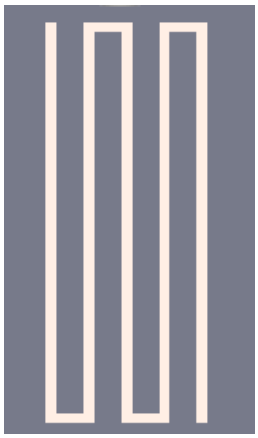
5.2.1 Determinación de la capacidad de extrusión de la biotinta

La calidad de los andamios obtenidos mediante bioimpresión se evaluó visualmente y se clasificó en dos categorías. Lo anterior, se indica en las figuras mediante marcos de color: verde para impresiones de buena calidad y rojo para impresiones de mala calidad (**Figura 5-15**). Esta clasificación se realizó en función de la continuidad de extrusión, la fidelidad estructural respecto al diseño modelado y la adherencia a la plataforma de impresión.

Con los parámetros de presión de extrusión (P_e) y la velocidad de impresión (V_i) definidos en la **Tabla 4-1**, se procede, de forma preliminar, a establecer expectativas teóricas respecto al comportamiento de la extrusión bajo diferentes combinaciones de presión y velocidad. A presiones y velocidades bajas, se anticipaba una extrusión continua y

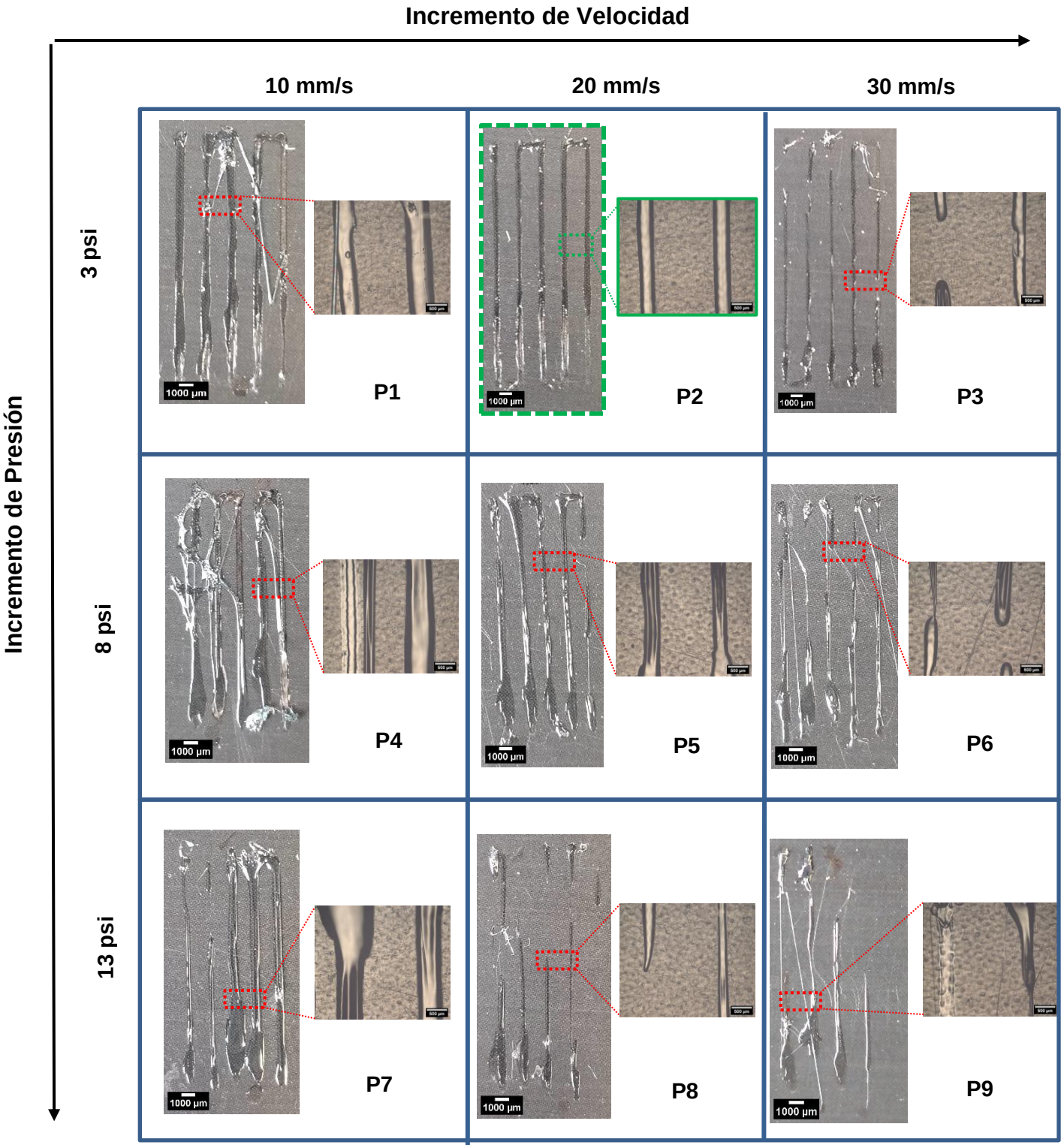
controlada, con buena definición de andamios. En contraste, se esperaba que presiones elevadas combinadas con baja velocidad provocaran sobre extrusión, generando estructuras deformadas. Por otro lado, presiones bajas a alta velocidad podrían producir subextrusión o andamios discontinuos, y a presiones y velocidades altas, una posible falta de deposición debido a descompensación del flujo. El patrón de impresión de andamios se presenta en la **Figura 5-14**.

Figura 5-14: Patrón de impresión



Fuente: Modelo realizado en el software TSIM

Figura 5-15: Impresión del patrón con variaciones de Presión de extrusión (P_e) y Velocidad de impresión (V_i)

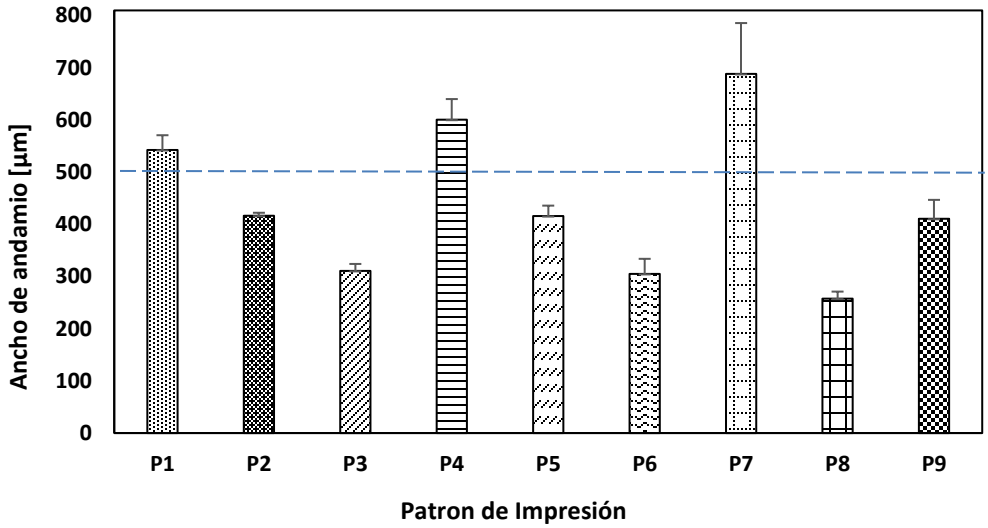


Los resultados experimentales confirmaron parcialmente las expectativas planteadas. En el patrón P1 (3 psi, 10 mm/s) se evidenció una deficiente adherencia entre el andamio y la plataforma de impresión, lo que comprometió la continuidad de la estructura. Este inconveniente fue superado al incrementar la velocidad a 20 mm/s (patrón P2), condición en la cual se obtuvieron andamios continuos, homogéneos y con adecuada definición geométrica. No obstante, al aumentarla hasta 30 mm/s, la extrusión del material se tornó discontinua, lo que provocó la pérdida de fidelidad del patrón y una reducción en la calidad del andamio impreso.

Al aumentar la presión a 8 psi y disminuir la velocidad a 10mm/s (patrón P4), se evidenció sobre extrusión severa, lo que distorsionó por completo la geometría del andamio. Si bien a 20 mm/s la fidelidad mejoró, la sobre extrusión persistió, y a 30 mm/s los andamios ya depositados comenzaron a desprenderse, generando estructuras fragmentadas. Un comportamiento similar se observó con presiones más elevadas (patrón P7), donde la sobre extrusión fue evidente en todos los casos, sin mejora al incrementar la velocidad (patrón P8 y P9), por el contrario, se incrementó la discontinuidad del andamio.

Como resultado, el patrón P2, con P_e de 3 psi y V_i de 20 mm/s, se identifica como el que presenta mejores parámetros de impresión para esta biotinta. Para confirmar estos hallazgos, se realizaron mediciones cuantitativas del ancho de los andamios mediante análisis de imágenes, obtenidas por microscopia óptica, con el software ImageJ, utilizando como referencia el ancho modelado de 500 μm (**Figura 5-16** línea horizontal punteada en azul).

Figura 5-16: Ancho de andamio de los patrones impresos



El patrón P2 presentó un ancho medio de andamio de 420 μm, ligeramente inferior al valor de diseño, pero con baja variabilidad, lo que indica una extrusión estable y una estructura bien definida, sin evidencia de sobre extrusión ni fallos de adherencia. En comparación, el patrón P5 (8 psi, 20 mm/s) mostró un ancho medio similar, pero con signos visuales de sobre extrusión en los extremos de los filamentos, lo que sugiere una pérdida de definición estructural.

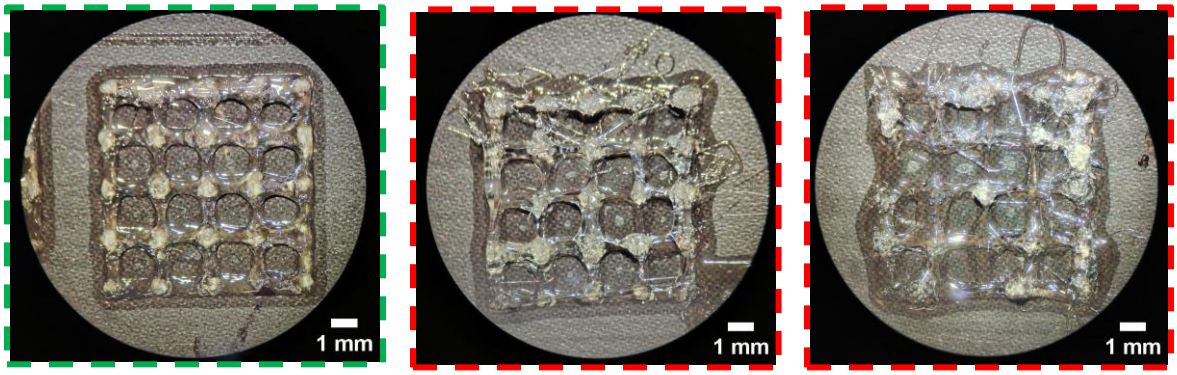
Finalmente, aunque el patrón P1 arrojó un ancho medio más cercano al valor modelado, la variabilidad fue mayor, y se observó visualmente falta de adherencia inicial y exceso de material al final del patrón. Esto refuerza la elección de los parámetros correspondientes al patrón P2 como configuración de impresión para esta biotinta.

5.2.2 Determinación de altura de capa

La altura de las capas obtenidas mediante bioimpresión se evaluó visualmente y se clasificó en dos categorías. Lo anterior, se indica en las figuras mediante marcos de color: verde para impresiones de buena calidad y rojo para impresiones de mala calidad. Esta clasificación se realiza en función de obtener andamios con una baja sobre extrusión y buena fidelidad estructural respecto al diseño modelado.

De forma preliminar, se establecen expectativas teóricas respecto a la variación de la altura de la capa. A una altura de capa de 0,20 mm (**Figura 5-17a**), correspondiente al 80 % del D_I de la boquilla, se anticipa una adecuada definición geométrica, con continuidad en la extrusión y correcta adhesión entre andamios. A una altura de 0,25 mm (**Figura 5-17b**), equivalente al valor de calibración estándar de la bioimpresora, se espera una ligera reducción en la fidelidad dimensional, aunque manteniendo aún una morfología aceptable de los andamios. En contraste, a 0,30 mm (**Figura 5-17c**) se prevé una disminución más una mayor pérdida de resolución, atribuible al incremento en la separación relativa entre la boquilla y la plataforma de impresión.

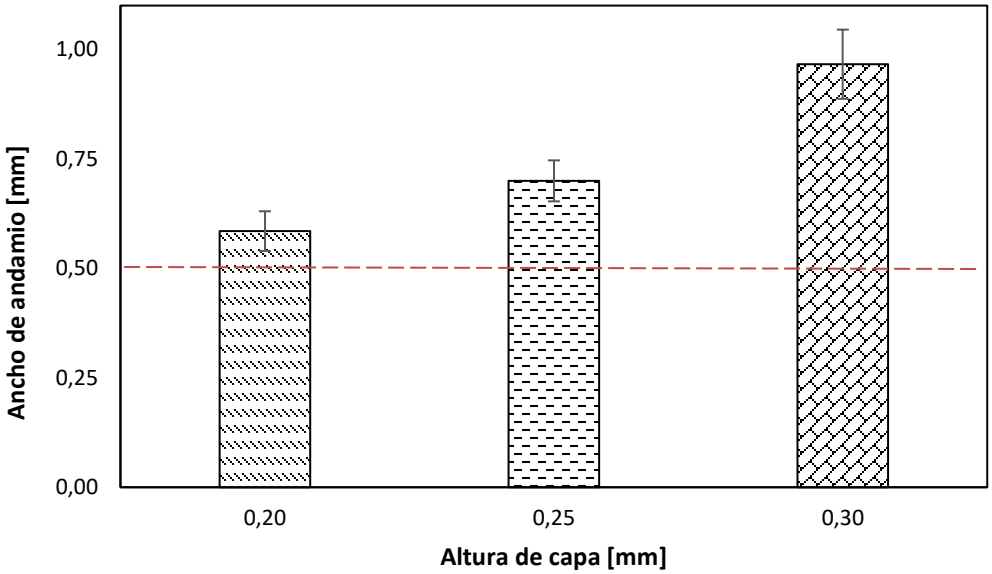
Figura 5-17: Impresión de andamios con variación en altura de capa. (a) 0,20 mm, (b) 0,25 mm, (c) 0,30 mm



(a) **(b)** **(c)**

Como resultado, la altura de capa de 0,20 mm, se confirma como la altura de capa que conduce a tener una baja sobre extrusión y buena fidelidad estructural respecto al diseño modelado para esta biotinta. Para confirmar estos hallazgos, se realizaron mediciones cuantitativas del ancho de los andamios de la capa superficial mediante análisis de imágenes, obtenidas por microscopia óptica, con el software ImageJ, utilizando como referencia el ancho modelado de 500 μm (**Figura 5-18** línea horizontal punteada en rojo).

Figura 5-18: Ancho de andamios de las capas de impresión



La altura de capa de 0,20 mm presentó un ancho medio de andamio cercano al valor teórico de referencia (0,5 mm, línea roja), con baja dispersión, lo que indica una deposición estable y una adecuada correspondencia con las dimensiones de diseño. En la condición de 0,25 mm, el ancho medio se incrementó ligeramente, manteniendo una variabilidad reducida, lo que refleja una extrusión continua, aunque con una expansión lateral mayor respecto al diseño. Finalmente, a 0,30 mm el ancho medio alcanzó valores próximos a 1,0 mm, casi el doble del esperado, acompañado de un aumento en la dispersión, lo que sugiere una pérdida de fidelidad dimensional y una reducción en la uniformidad de los andamios depositados. Estos resultados refuerzan la selección de 0,20 mm como altura de capa que garantiza estabilidad, precisión geométrica y control dimensional en la bioimpresión del hidrogel.

Con base en los resultados obtenidos, en la **Tabla 5-4** se resumen los parámetros de impresión definidos para la impresora Biobot Basic con la biotinta sIPN, los cuales fueron empleados en la bioimpresión de los andamios destinados a los ensayos de pin-sobre-disco y AFM.

Tabla 5-4: Parámetros definidos de impresión de la biotinta sIPN

Parámetro	Valor
Dimensión de andamios [mm]	8 x 0,5 x 0,5
Ancho de línea [mm]*	0,20
Largo de línea [mm]*	0,20
Altura de capa [mm]	0,20
Velocidad de impresión (V_i) [mm/s]	20
Presión de extrusión (P_e) [psi]	3

* Parámetros elegidos con base en el D_i de la boquilla

Además, hasta el momento del desarrollo de esta investigación, la elaboración de un hidrogel basado en PMMA y PEGDMA es una combinación que no ha sido previamente reportada en la literatura, mediante un protocolo de síntesis que involucró procesos de disolución y posterior impresión usando una bioimpresora de funciones básicas. Este enfoque demostró que es posible obtener estructuras impresas sin recurrir a equipamiento altamente especializado, lo que favorece la reproducibilidad y accesibilidad del método. Adicionalmente, se comprobó la viabilidad de emplear un iniciador típicamente térmico (DCP) como fotoiniciador bajo exposición UV, lo cual constituye una alternativa económica y práctica frente a fotoiniciadores comerciales usualmente más costosos o de menor disponibilidad.

Finalmente, mediante la constitución en capas obtenida por el proceso de impresión, el material evoluciona de un enfoque bioinspirado, orientado a reproducir algunas propiedades del CA nativo, hacia un carácter biomimético, dado que la organización jerárquica de las capas busca imitar de manera más directa la arquitectura del tejido natural.

5.3 Propiedades Tribológicas y Mecánicas de los Andamios

5.3.1 Coeficiente de Fricción (COF) de Andamios

Los resultados obtenidos para las cargas normales experimentales (**Tabla 5-5**) muestran el COF medio de las tres formulaciones: blanco (B), (+) y (-). Ver valores de COF en anexos **Tabla A-7**.

Tabla 5-5: COF del Modelo Experimental

Probeta	COF	Desviación estándar
B – 0,5 kg	0,084	0,005
B – 1 kg	0,093	0,005
(-) – 0,5 kg	0,085	0,003
(-) – 1 kg	0,088	0,003
(+) – 0,5 kg	0,111	0,005
(+) – 1 kg	0,110	0,005

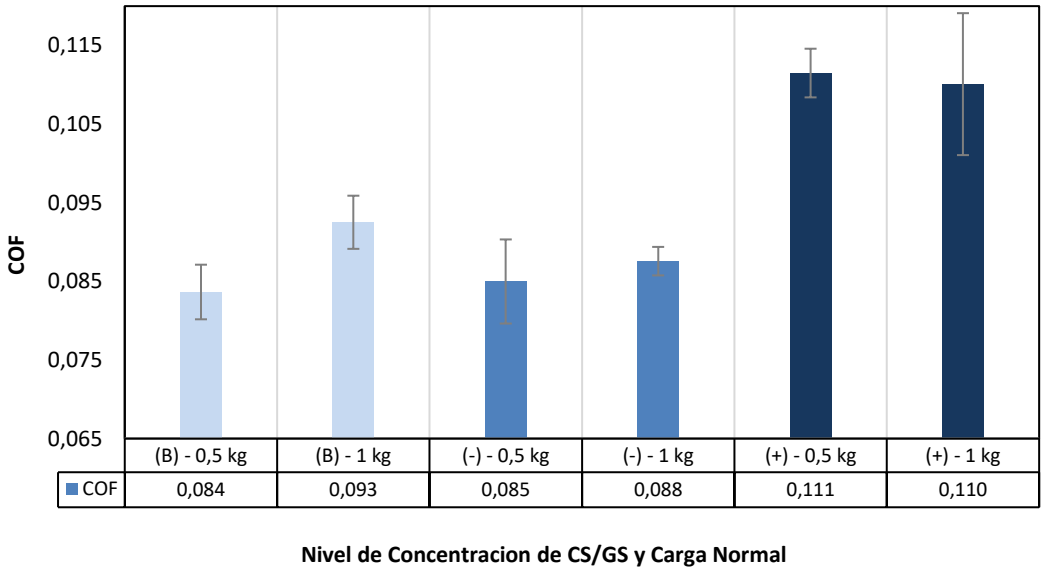
Los resultados copilados en la **Figura 5-19**, muestran que los incrementos del COF para la concentración (+) de sulfatos, frente a los valores del Blanco y de (-), son significativos. Lo anterior puede explicarse por una combinación de efectos mecano-físicos y de superficie que dominan cuando no existe un lubricante exógeno que mantenga un régimen de lubricación límite o mixto. En primer lugar, como se mencionó en la sección 5.1.6, la presencia de los sulfatos en el hidrogel se relacionó con el aumento de la razón de hinchamiento (R_H), esto aumenta la conformidad del contacto y, por consiguiente, el área real de contacto con el disco óseo; un mayor contacto real favorece la fricción de carácter adhesivo entre superficies y la disipación por histéresis viscoelástica, elevando el COF (Mokhtari et al., 2016).

En segundo lugar, la presencia de microdominios enriquecidos en sulfatos, junto con la generación de irregularidades topográficas locales, origina discontinuidades que incrementan la resistencia al deslizamiento. Este fenómeno puede asociarse directamente al proceso de síntesis del hidrogel, el cual se llevó a cabo en dos medios líquidos con características fisicoquímicas distintas (acetona y agua destilada). Dado que los sulfatos

presentan una solubilidad limitada en acetona, es probable que durante la mezcla de ambos medios se produjera una exudación de este componente desde la matriz tridimensional del hidrogel, lo que favoreció la aparición de irregularidades topográficas más pronunciadas a medida que aumentaba la concentración de sulfatos.

En tercer lugar, la ausencia de fluido sinovial y de sus componentes lubricantes naturales altera de manera significativa el rol potencial del CS y GS. Si bien algunos estudios han demostrado que la suplementación con sulfatos puede reducir el COF en superficies de cartílago cuando coexisten los componentes sinoviales o cuando el CS se encuentra anclado a la superficie, en condiciones carentes de dichos factores su capacidad para generar una película lubricante efectiva resulta limitada, por tanto, su desempeño tribológico depende directamente de estas interacciones moleculares. En ausencia de tales socios biomoleculares, el CS no solo pierde eficacia lubricante, sino que incluso puede promover un incremento de la adhesión interfacial en lugar de reducirla.

Figura 5-19: COF medio de las probetas del ensayo pin-sobre-disco



Lo anterior puede corroborarse en la **Figura 5-20** (COF bajo una carga normal de 0,5 kg) y en la **Figura 5-21** (COF bajo una carga normal de 1 kg). En ambos casos, se observa que el comportamiento del COF correspondiente a la condición con concentración de sulfatos (-) y al Blanco es prácticamente equivalente, de modo que las variaciones

registradas entre uno y otro no resultan estadísticamente significativas. En contraste, la condición con incremento de sulfatos (+) evidencia una diferencia significativa y consistente frente a las demás, efecto que se mantiene independientemente de la magnitud de la carga aplicada. Lo anterior se observa en la **Figura 5-21**, cuando se comparan los intervalos asociados al error estándar de la media por concentración de sulfatos.

Figura 5-20: COF bajo una carga normal de 0,5 kg

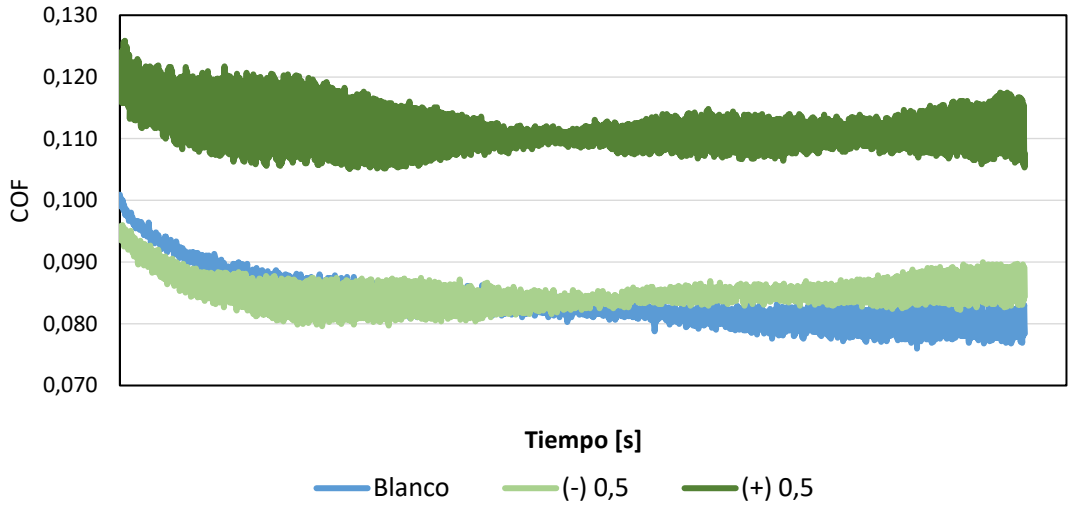
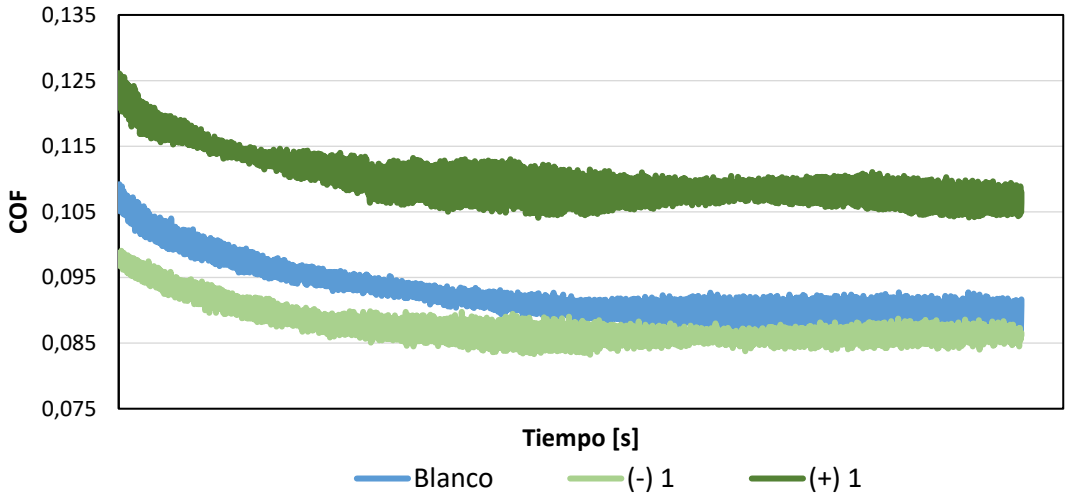


Figura 5-21: COF bajo una carga normal de 1 kg



De la misma forma, al comparar los valores de COF obtenidos para las dos cargas normales, se evidencia que únicamente las probetas sin sulfatos con COF de 0,084 ± 0,005 (0,5 kg) y 0,093 ± 0,005 (1 kg), presentan una diferencia estadísticamente significativa, dado que los intervalos correspondientes al error estándar de la media no se superponen entre ambos niveles de carga (**Figura 5-19**). Este hallazgo indica que el comportamiento tribológico de la biotinta impresa sin incorporación de sulfatos se ve afectado por el incremento de la carga aplicada.

En contraste, las formulaciones con adición de sulfatos (–) y (+) presentaron valores medios de COF estadísticamente similares, ya que los intervalos asociados al error estándar de la media se traslapan, lo que sugiere que, al menos dentro de las condiciones experimentales evaluadas, el incremento de carga no modificó de manera significativa su respuesta tribológica. Este resultado puede atribuirse al efecto de refuerzo estructural proporcionado por el CS y GS dentro de la matriz sIPN del hidrogel. En particular, los grupos sulfato del CS establecen interacciones iónicas y puentes de hidrógeno con la red de PEGDMA. Paralelamente, el GS, a través de sus grupos amino ($–NH_2$) e hidroxilo (–OH), favorece la formación de enlaces de hidrógeno tanto con el PEGDMA como con el propio CS, reforzando la cohesión molecular. Dichas interacciones incrementan la rigidez y la capacidad de resistencia frente a la deformación, lo que explica la estabilidad del comportamiento tribológico observado aún bajo los diferentes niveles de carga aplicada. Lo anterior coincide con los mecanismos descritos por Ingavle et al. (2011) y Cortes et al. (2024). En ambos trabajos se reportan procesos similares de refuerzo estructural en hidrogeles con sulfatos, lo que explica la estabilidad del comportamiento tribológico observada aún bajo los diferentes niveles de carga aplicada.

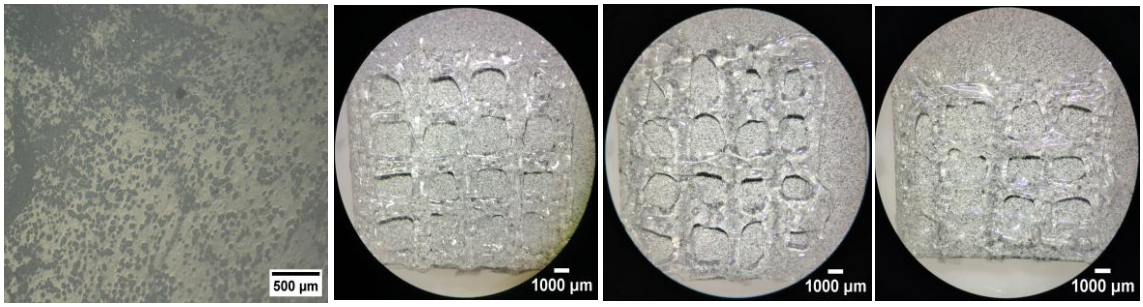
Es importante señalar que la literatura disponible que evalúa hidrogeles basados en PEGDMA bajo variaciones controladas de carga es limitada, lo que restringe la posibilidad de establecer comparaciones directas. Aun así, el estudio de Peel et al. (2024) constituye una referencia pertinente: dichos autores reportaron que un hidrogel de PEGDMA mantuvo un COF prácticamente constante (0,05–0,07) al incrementar la carga de 5 a 10 N, mientras que superficies sin modificación mostraron un aumento marcado de 0,08 a 0,20. De forma análoga, en la presente investigación se observó que los andamios sin sulfatos incrementaron su COF al pasar de 5 a 10 N, en contraste con las formulaciones con CS y GS, que conservaron valores similares en ambos niveles de carga. Esto sugiere que la

incorporación de sulfatos dentro de la red sIPN ofrece un comportamiento estabilizador comparable al de otras estrategias de modificación superficial reportadas, con la ventaja añadida de aportar componentes bioactivos que refuerzan la integridad mecano-tribológica del material bajo cargas crecientes.

5.3.2 Propiedades mecánicas y morfológicas de los andamios PMMA/YSZ

En la **Figura 5-22** se presentan las imágenes de microscopia óptica del CA porcino y de los andamios impresos en YSZ con las diferentes concentraciones de sulfatos.

Figura 5-22: Imágenes de microscopia óptica de probetas para AFM. (a) CA porcino, (b) Blanco, (c) 4% p/v, (-), (d) 6% p/v (+)



(a) **(b)** **(c)** **(d)**

La discusión de resultados se divide en dos secciones: (i) Comportamiento mecánico de los andamios que abarca propiedades de deformación, rigidez y elásticas; y (ii) las interacciones superficiales y viscoelasticidad que incluyen propiedades de adhesión y disipación energética.

5.3.2.1 Comportamiento mecánico de los andamios

En la **Tabla 5-6** se resumen los resultados cuantitativos de las propiedades mecánicas que incluyen la deformación superficial, el módulo elástico y la rigidez local.

Tabla 5-6: Propiedades mecánicas de las probetas: Deformación, Modulo elástico y rigidez

Probeta	Deformación		Modulo Elástico		Rigidez	
	Media (nm)	Rq (nm)	Media (GP)	Rq (GP)	Media (N/m)	Rq (N/M)
Blanco	9,196	0,049	1,544	0,028	21,163	0,135
CA	0,387	0,148	100,123	110,541	31,914	23,756
(-)	18,861	0,290	0,398	0,019	4,363	0,090
(+)	1,257	0,086	6,571	0,184	166,73	126,43

Figura 5-23: Imágenes de AFM para Deformación Superficial

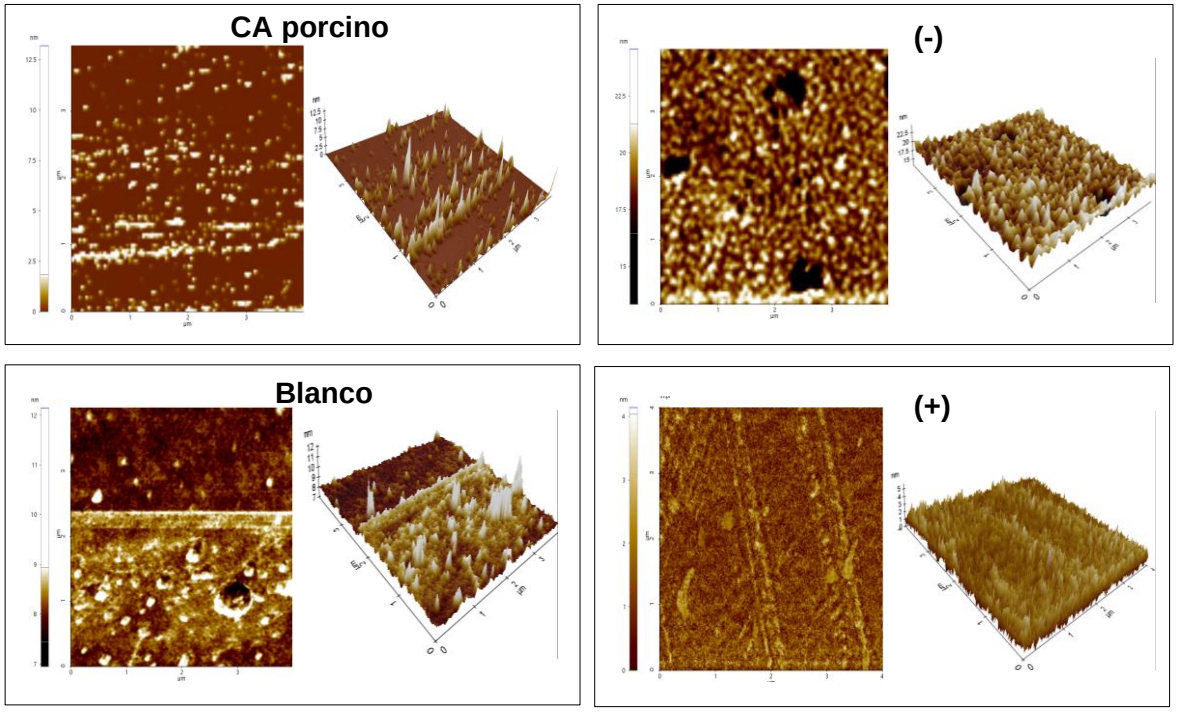


Figura 5-24: Imágenes de AFM para Modulo Elástico

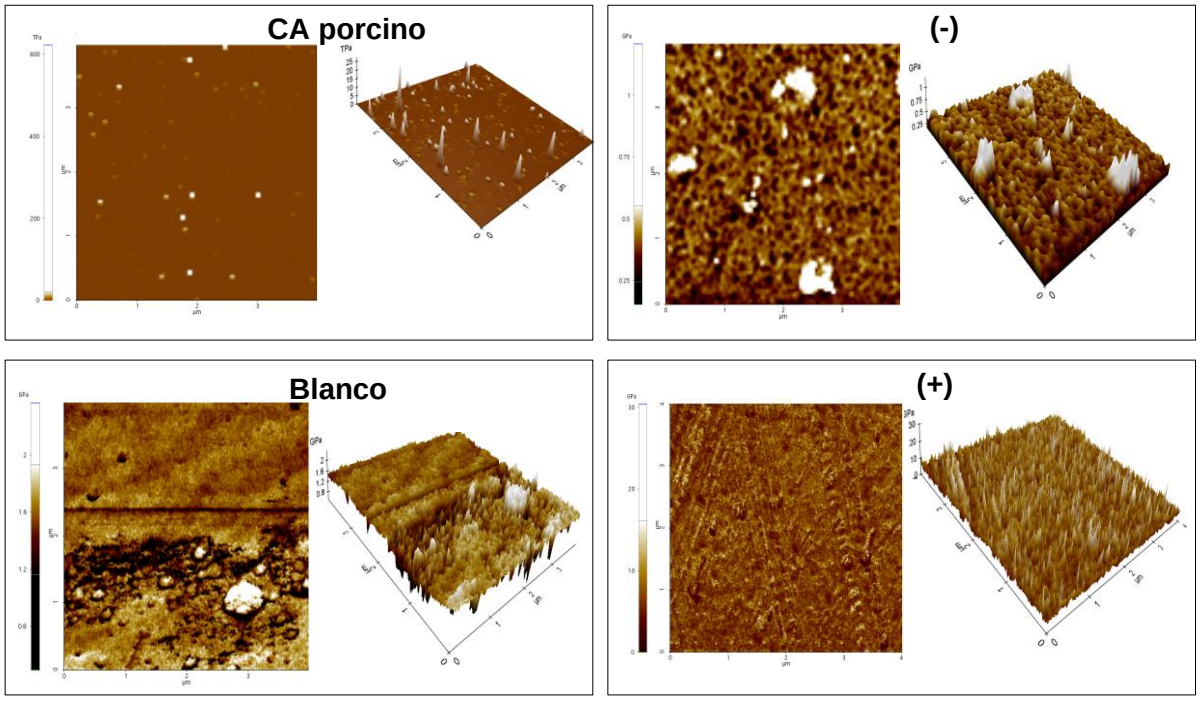
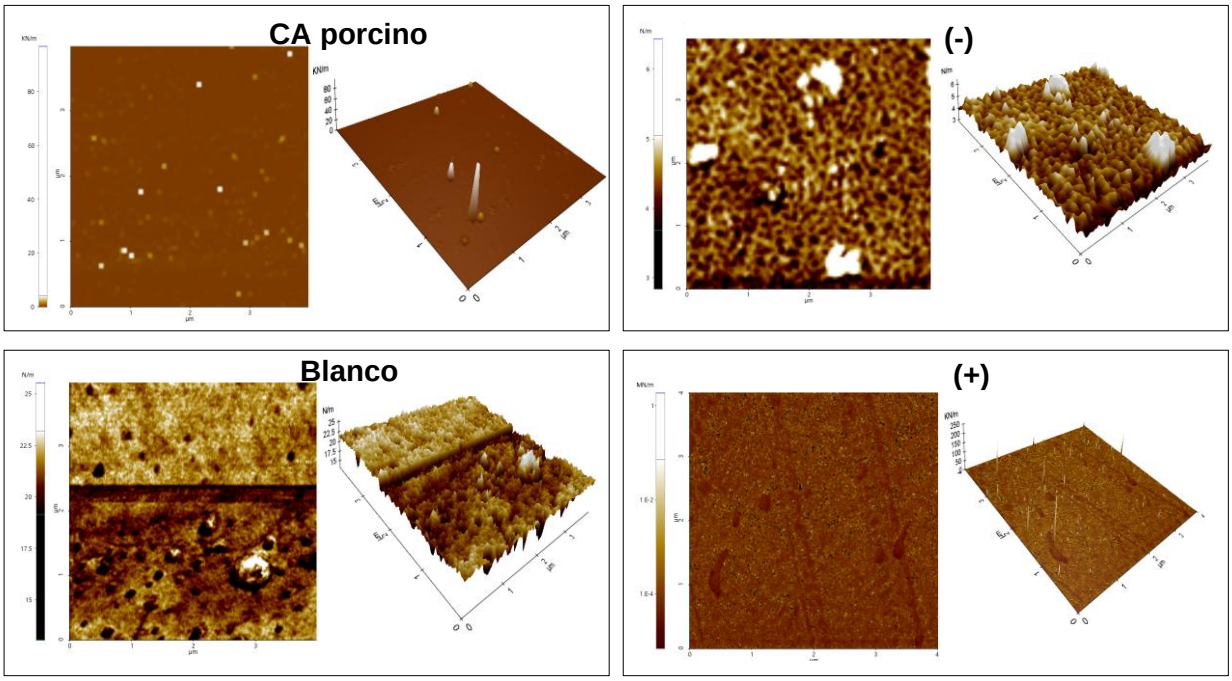


Figura 5-25: Imágenes de AFM para Rigidez local



La caracterización mecánica combinando deformación, módulo elástico y rigidez revela contrastes marcados entre CA porcino y las distintas formulaciones sIPN con y sin adición de sulfatos. En cuanto a la deformación, el CA porcino presentó la menor deformación media (0,387 nm), lo que refleja la elevada resistencia mecánica de su ME. Este comportamiento es coherente con la presencia de fibras de Col II fuertemente entrecruzadas y con una alta densidad de proteoglicanos sulfatados, elementos que, además de retener agua en el tejido nativo, contribuyen a la rigidez y a la limitada compresibilidad local. La rugosidad asociada (R_q = 0,148 nm) sugiere una respuesta espacial relativamente heterogénea, coherente con la organización jerárquica del CA en la que coexisten dominios rígidos (fibrillas colageneas) y regiones más hidratadas y deformables (proteoglicanos).

En contraste, el andamio Blanco (sin sulfatos) mostró una deformación promedio considerablemente mayor (9,196 nm). La ausencia de grupos sulfatados deja la superficie dominada por la red de PMMA/PEGDMA, una matriz polimérica más densa y con mayor resistencia local frente a la punta AFM. Adicionalmente, los valores bajos de rugosidad mecánica (Rq = 0,049 nm) indican que esta mayor deformabilidad es homogénea a lo largo de la superficie, lo que denota una matriz uniforme y una distribución consistente de la red reticulada sin sulfatos.

La formulación con concentración de sulfatos (−) exhibió la deformación más alta (18,861 nm), lo que indica que a esa concentración los grupos $–SO_3^-$ no generan un refuerzo efectivo de la red. Más bien, su capacidad de interactuar con el medio puede favorecer una mayor plasticidad local y facilitar el colapso bajo carga, fenómeno reforzado por la elevada dispersión espacial observada (R_q = 0,290 nm), que denota una distribución no homogénea de sulfatos y la presencia de zonas con distinta resistencia superficial. En consecuencia, aunque la adición de sulfatos modifica la química de la matriz, su baja concentración no consigue reproducir la resistencia mecánica del tejido nativo.

Por el contrario, la formulación con 6% p/v de sulfatos (+) mostró una deformación reducida (1,257 nm), acercándose al comportamiento observado en el CA porcino. A esta concentración, los grupos sulfatados incrementan las interacciones electrostáticas y la formación de puentes de hidrógeno entre cadenas poliméricas, lo que refuerza la integridad estructural de la red y reduce la compresibilidad local. La baja dispersión (Rq = 0,086 nm)

sugiere una distribución más homogénea de los grupos funcionales y una respuesta mecánica consistente en la superficie.

Estos resultados de deformación se complementan con la evaluación del Módulo Elástico y la rigidez local. El CA porcino presentó un valor medio de módulo extremadamente elevado (R_q = 100,123 GPa) con una amplia dispersión (R_q = 110,541 GPa), reflejo de la coexistencia de dominios fibrilares de alta rigidez y regiones más blandas; esta heterogeneidad nanométrica es coherente con la función mecánica del tejido en condiciones fisiológicas. El andamio Blanco exhibió un módulo elástico bajo (1,544 GPa) y baja dispersión (R_q = 0,028 GPa), lo que indica una red polimérica rígida a escala material pero homogénea en la superficie analizada, dominada por la reticulación covalente de PEGDMA y la rigidez intrínseca de PMMA.

La concentración de sulfatos (-) mostró el módulo más reducido (0,398 GPa), lo que apoya la interpretación de una plastificación estructural: la incorporación dispersa de $–SO_3^-$ en baja concentración parece interrumpir el empaquetamiento polimérico y disminuir los puntos de anclaje intermoleculares, incrementando la movilidad segmentaria y reduciendo la rigidez intrínseca. En cambio, la concentración de sulfatos (+) presentó un incremento notable del módulo elástico (6,571 GPa) con variabilidad moderada (Rq = 0,184 GPa), consistente con la formación de restricciones adicionales en la red (interacciones iónicas y puentes de hidrógeno) que elevan la densidad de anclajes físicos y refuerzan la estructura.

La rigidez local confirma y matiza estas observaciones: el CA porcino mostró una rigidez media de 31,914 N/m con alta dispersión (R_q = 23,756), caracterizando su heterogeneidad mecánica; el andamio blanco presentó rigidez intermedia (21,163 N/m) y baja dispersión, coherente con una respuesta superficial homogénea; el andamio con concentración de sulfatos (−) exhibió la rigidez más baja (4,363 N/m), indicativa de una interfase que absorbe la deformación local y transmite escasa carga hacia el sustrato. Finalmente, la concentración de sulfatos (+) mostró picos de rigidez elevados (media 166,73 N/m) y gran dispersión (Rq =126,43), patrón atribuible tanto al refuerzo local de la red por agrupamiento o enlaces multivalentes de los sulfatos como, potencialmente, a la contribución del substrato cerámico (YSZ) en puntos de espesor reducido.

En conjunto, la correlación entre deformación, módulo elástico y rigidez local permite concluir que la incorporación de sulfatos modula la nanomecánica del sIPN de forma no lineal: concentraciones de sulfatos (-) tienden a plastificar la red y a aumentar la

deformabilidad, mientras que concentraciones mayores (+) inducen un refuerzo estructural que incrementa el módulo elástico y la rigidez, y reduce la deformabilidad.

5.3.2.2 Interacciones superficiales y viscoelasticidad

En la **Tabla 5-7** se resumen los resultados cuantitativos de las propiedades mecánicas que incluyen la energía de disipación y la energía de adhesión.

Tabla 5-7: Propiedades mecánicas de las probetas: Energía de disipación y adhesión

Probeta	Energía de Disipación		Energía de Adhesión	
	Media (fJ)	Rq (fJ)	Media (fJ)	Rq (fJ)
Blanco	0,092	0,031	2,678	0,032
Cartílago	0,119	0,112	0,696	0,071
(-)	0,048	0,041	0,339	0,018
(+)	0,009	0,110	2,298	0,104

Figura 5-26: Imágenes de AFM para Energía de Disipación

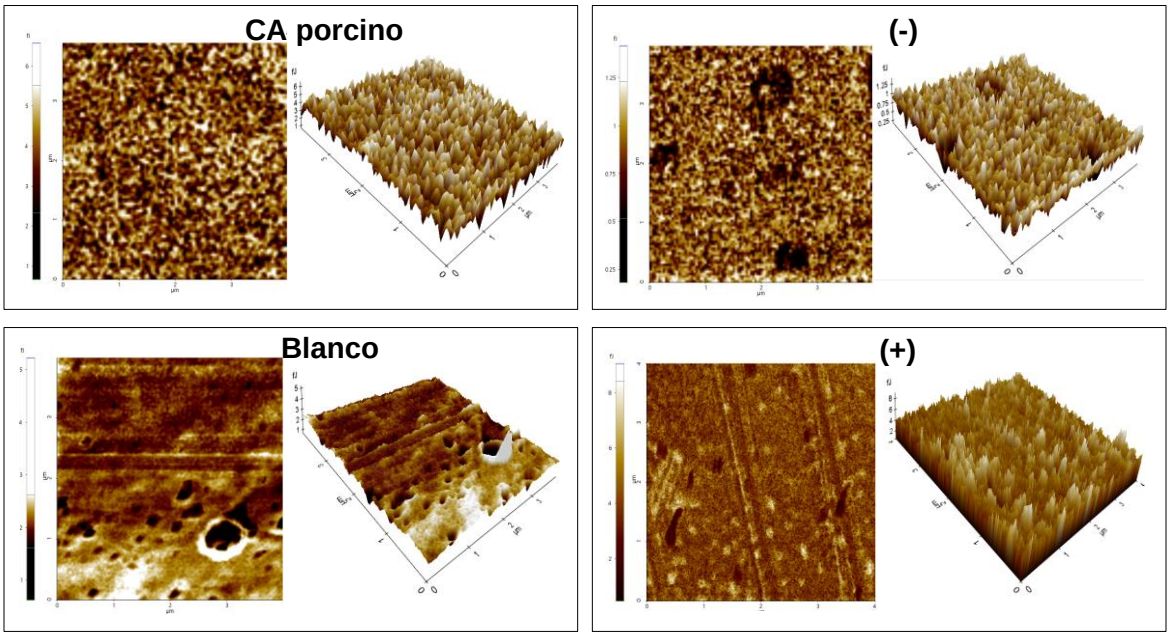
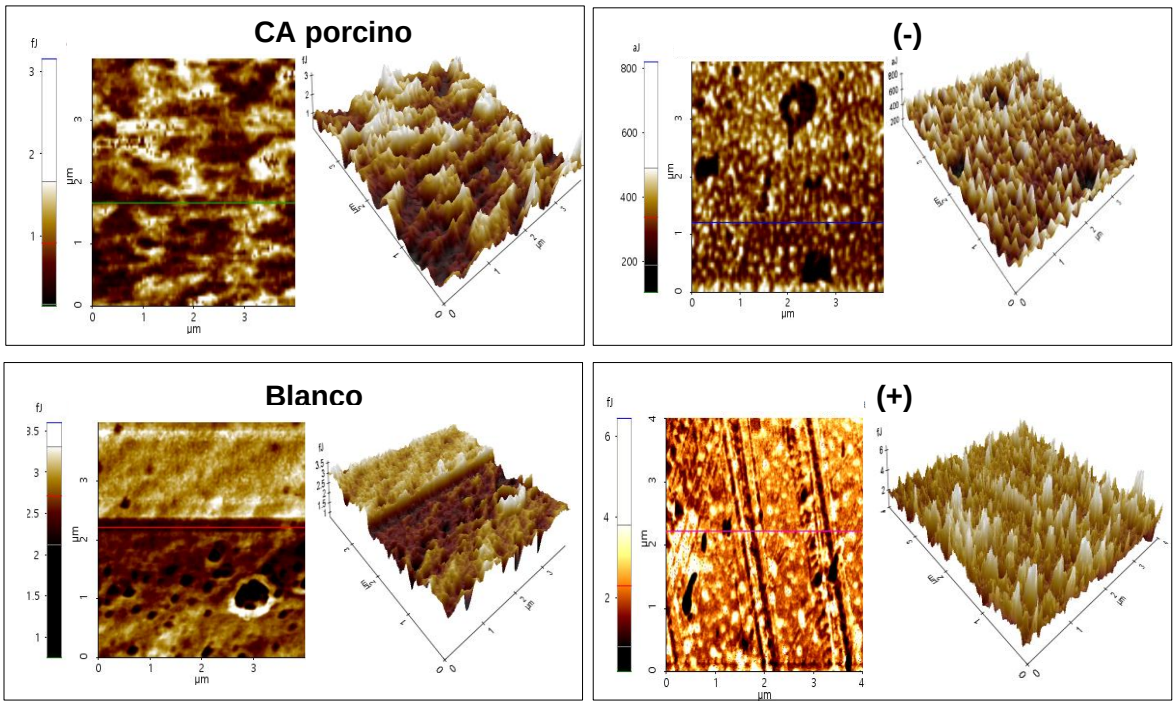


Figura 5-27: Imágenes de AFM para Energía de Adhesión.



La caracterización de las interacciones superficiales mediante energía de adhesión y de la respuesta disipativa mediante la energía de disipación aporta una visión complementaria a la puramente mecánica: mientras la adhesión informa sobre la química y la capacidad de la superficie para formar enlaces o tener interacciones con el entorno, la disipación cuantifica la histéresis viscoelástica y la fricción interna durante los ciclos carga–descarga. Ambos parámetros deben interpretarse simultáneamente para comprender la funcionalidad de la interfase andamio/YSZ en las condiciones de contacto puntual de este ensayo.

El CA porcino presentó la mayor energía de disipación (0,119 fJ) junto con una adhesión relativamente baja (0,696 fJ) a pesar de su rugosidad. Este patrón es consistente con una matriz viscoelástica que absorbe y disipa energía debido a su organización en fibras colágenas y proteoglicanos sulfatados, y con la presencia de macromoléculas lubricantes que reducen la adhesividad superficial. En consecuencia, el CA exhibe alta histéresis mecánica sin incrementar la adhesión, un perfil funcional que favorece la amortiguación y la protección de superficies articulares frente al desgaste.

El andamio Blanco (sin sulfatos) mostró una disipación de 0,092 fJ y la adhesión más alta del conjunto (2,678 fJ). Este comportamiento indica que la química superficial (PMMA/PEGDMA) favorece interacciones de dispersión y contactos polares que incrementan la afinidad con la punta AFM y, por extensión, con el YSZ. La disipación observada sugiere movilidad segmentaria suficiente para generar histéresis local; no obstante, el elevado valor de adhesión revela una superficie con alta afinidad interfacial, aunque su carácter menos disipativo que el CA porcino indica una menor capacidad de amortiguación de carga.

La concentración de sulfatos (−) presentó la menor energía de adhesión (0,339 fJ) y una disipación reducida (R_q=0,048 fJ). La baja energía de adhesión y la reducida disipación obtenidas indican que, a esta concentración, los grupos sulfatados quedan mayoritariamente atrapados dentro de la red polimérica y no disponibles en la superficie. Al establecer enlaces iónicos con la matriz, estos grupos limitan el movimiento local de las cadenas poliméricas, lo que disminuye su capacidad de reacomodarse bajo el esfuerzo mecánico y, en consecuencia, reduce la histéresis observada.

En la concentración de sulfatos (+) se observó un aumento notable de la adhesión (2,298 fJ) simultáneo a la disipación más baja del conjunto (R_q=0,009 fJ), acompañado de un incremento de la rugosidad superficial (R_q = 0,104). Esta combinación sugiere que la mayor densidad de grupos $–SO_3^-$ expone sitios cargados capaces de establecer interacciones electrostáticas con la punta; a la vez, la red polimérica queda tan restringida (mayor densidad de anclajes físicos) que pierde movilidad segmentaria y, por tanto, capacidad de disipación. La heterogeneidad topográfica aumenta el área de contacto efectivo y potencia la adhesión local. Además, en la práctica experimental sobre YSZ, la presencia de un substrato rígido puede amplificar la adhesión efectiva y reducir la disipación medida en zonas de espesor limitado, de modo que los valores absolutos deben interpretarse como propiedades efectivas del sistema andamio/YSZ.

En suma, la comparación cruzada de adhesión y disipación muestra perfiles contrastados: el CA porcino combina alta disipación con baja adhesión (perfil amortiguador y lubrificado), el andamio Blanco combina adhesión alta con disipación intermedia (superficie moderadamente viscoelástica), la concentración (−) resulta en una superficie química e dinámicamente inerte (baja adhesión y baja disipación), y la concentración (+) recupera

bioactividad superficial (adhesión alta) pero sacrifica la histéresis (disipación muy baja) por una red extremadamente restringida y heterogénea.

En conjunto, la integración de los bloques mecánico (rigidez, módulo, deformación) y superficial (adhesión, disipación) permite evaluar la idoneidad funcional de las formulaciones para interfaces cerámicas orientadas a osteointegración. Para favorecer la fijación ósea un andamio debe combinar (i) capacidad de transmitir cargas al substrato (acoplamiento mecánico eficiente, asociado a rigidez y módulo adecuados y a deformación baja) y (ii) una superficie bioactiva que promueva adsorción controlada de proteínas y adhesión celular (adhesión suficiente). La disipación de energía actúa como un mecanismo regulador en la transmisión de cargas. Una capacidad moderada de disipación resulta beneficiosa, ya que amortigua cargas dinámicas y disminuye la concentración de tensiones. En cambio, una disipación muy baja implica un comportamiento predominantemente elástico, con transferencia directa de carga al sustrato. Si el diseño no lo contempla, esta condición puede conducir a fenómenos indeseables como el stress-shielding o la aparición de concentraciones locales de esfuerzo.

Aplicando estos criterios a los resultados: la concentración de sulfatos (+) muestra capacidad de transmitir carga y adhesividad superficial (atributos favorables para osteointegración) pero su elevada heterogeneidad y mínima disipación requieren precaución por el riesgo de concentraciones tensionales locales. La formulación (−), por su parte, carece de la adhesividad y de la transmisión mecánica necesarias para una integración ósea eficiente, aunque su bajo carácter adhesivo pudiera ser útil para aplicaciones con requerimientos de baja fricción.

Finalmente, los resultados obtenidos es esta sección presentan una característica fundamental: permiten evaluar propiedades mecánicas y de interacción a escala local. Esta aproximación difiere de los métodos convencionales, como ensayos de tracción o compresión macroscópicos, que promedian la respuesta del material en toda su extensión y no capturan heterogeneidades locales ni interacciones superficiales específicas. Debido a esta diferencia de escala y de naturaleza de la medición, los valores obtenidos por AFM no son directamente comparables con los obtenidos mediante técnicas macroscópicas.

Para establecer una comparación cuantitativa, es necesario emplear modelos de conversión que relacionen la fuerza aplicada y la profundidad de indentación con

propiedades elásticas equivalentes, considerando la geometría de la punta del AFM y las condiciones del contacto.

La aplicación adecuada de estos modelos permite transformar los datos de AFM en parámetros comparables con los obtenidos por técnicas convencionales, dado que constituyen los enfoques más ampliamente utilizados en la literatura. Esto facilita la interpretación de los resultados y su contextualización dentro del marco de estudios previos.

6. Conclusiones

6.1 Resumen de Conclusiones

Los resultados obtenidos permiten concluir que la matriz de PMMA mantiene su integridad química y estructural a lo largo del proceso de fotoreticulación radicalaria, confirmando su papel como fase fija en la sIPN, mientras que las modificaciones estructurales se concentran en el oligómero reticulable PEGDMA, como lo evidenció el análisis Raman y el efecto significativo del tiempo de exposición a la radiación UV. Dichas modificaciones se reflejaron directamente en el comportamiento de hinchamiento, donde a 30 minutos se alcanzó un valor cercano al 16 %, que representa el equilibrio entre las fuerzas de hidratación y las restricciones impuestas por la red, condición que además se aproxima al comportamiento del CA porcino. Esto respalda que este tiempo de reticulación constituye la condición más adecuada para reproducir propiedades funcionales del tejido nativo para este hidrogel bajo las determinadas condiciones experimentales.

Desde el punto de vista de la estabilidad estructural, los ensayos de degradación hidrolítica confirmaron que la vulnerabilidad del sistema se concentra en la fase reticulada de PEGDMA, principalmente por la ruptura de enlaces éster y la liberación de componentes solubles, mientras que el PMMA mantiene una alta resistencia química. De este modo, la formulación evaluada se presenta como un material estable en condiciones fisiológicas neutras, aunque susceptible a entornos ácidos propios de procesos inflamatorios.

Los estudios de mojabilidad demostraron que la incorporación de PEGDMA junto con aditivos bioactivos (CS y GS) confiere un carácter más hidrofílico a la red, modulable mediante el grado de reticulación, alcanzando en el tiempo de reticulación de 30 minutos, valores muy cercanos al CA porcino. En conjunto, los hallazgos confirman que la sIPN desarrollada logra un balance entre estabilidad estructural, comportamiento de

hinchamiento controlado, similitud superficial con el CA porcino y una adecuada resistencia bajo condiciones fisiológicas, aspectos que consolidan su potencial como material bioinspirado en CA nativo.

Para las propiedades de bioimpresión, se estableció la configuración de impresión con P_e = 3 psi, V_i = 20 mm/s y altura de capa de 0,20 mm, al presentar anchos de filamento próximos al valor de diseño, baja variabilidad y buena correspondencia con las dimensiones modeladas, garantizando estabilidad en la deposición y control dimensional en la bioimpresión del hidrogel.

Los resultados de los ensayos pin-sobre-disco demuestran que la respuesta tribológica de los andamios depende de manera diferenciada de la composición del sistema. En ausencia de sulfatos, el incremento de la carga normal de 0,5 a 1 kg presentó un aumento significativo en el COF al incrementar la carga, evidenciando una menor estabilidad frente al ensayo tribológico. En contraste, las formulaciones con CS y GS mantuvieron valores estables en ambos niveles de carga, lo que confirma que las interacciones iónicas e intermoleculares de estos aditivos refuerzan la red sIPN, incrementando su rigidez y confiriendo un comportamiento tribológico más estable y otorgándole la propiedad de superficie de baja fricción (SBF) al biomaterial.

Los resultados de AFM muestran que bajas concentraciones de sulfatos generan un efecto de plasticización, con mayor deformación, reducción del módulo elástico y mínima adhesión, mientras que concentraciones elevadas refuerzan la red al disminuir la deformación, incrementar la rigidez y aumentar la adhesión, alcanzando valores más próximos al CA porcino. De este modo, se confirma que la modulación en la concentración de sulfatos permite ajustar simultáneamente la respuesta mecánica y superficial, consolidando al hidrogel con estructura sIPN como un biomaterial biomimético con propiedades cercanas al tejido nativo. Con ello, los andamios de PMMA/YSZ estructura sIPN no solo se comporta como un material bioinspirado, al reproducir propiedades generales del cartílago, sino que alcanza el nivel de un material biomimético, al incorporar jerárquicamente características estructurales, mecánicas y superficiales comparables al tejido nativo.

6.2 Recomendaciones Para Trabajos Futuros

- Confirmación la estructura sIPN con una técnica complementaria como FTIR.
- La PRL puede convertir alrededor del 50 % de los precursores en polímero. Por lo tanto, se debe aplicar ensayos experimentales y modelos teóricos para confirmarlo.
- La jerarquización en capas de la biotinta impresa con el modelo planteado produjo buenos resultados de COF. Sin embargo, otro factor de estudio podría enfocarse en el modelamiento de otras estructuras geométricas de andamios que puedan mejorar su respuesta mecánica y tribológica.
- Se sugiere la incorporación de agentes antioxidantes o nanopartículas inorgánicas como fase estabilizante con el fin de reducir la susceptibilidad a la hidrólisis en entornos inflamatorios y prolongar la estabilidad del biomaterial.
- Además de lo anterior, se deben hacer ensayos de Termogravimetría para evaluar la degradación del material en función de la temperatura y el tiempo, y así tener el respaldo de esta técnica para la consolidación de los resultados de degradación hidrolítica.
- Ampliar los rangos de concentración de CS y GS, y evaluar el comportamiento mecánico y tribológico del biomaterial con la inclusión y ausencia de cada uno de los sulfatos.
- Evaluar cómo el tamaño de partícula de los sulfatos afecta la formación de microdominios y por consiguiente en la homogeneidad de las propiedades tribológicas.
- Determinar si la fotorreticulación capa por capa contribuye a mejorar la uniformidad de la matriz polimérica, dado que la difusión limitada de radicales libres durante la impresión puede generar heterogeneidades en la reticulación.
- Finalmente, un aspecto fundamental para consolidar la aplicabilidad de la sIPN desarrollada es la evaluación del crecimiento celular *in vitro*. Si bien los resultados reportados muestran un comportamiento semejante al del CA nativo, es necesario determinar la capacidad del biomaterial para favorecer la adhesión, proliferación y

viabilidad de condrocitos u otras células progenitoras. Este análisis permitirá establecer de manera directa la biocompatibilidad funcional del sistema.

Anexos

A. Desarrollo de Hidrogel sIPN

Tabla A-1: Asignación de modos vibracionales de picos Raman de PMMA, PEGDMA y DCP

Frecuencia en referencia [cm^{-1}]	Frecuencia actual [cm^{-1}]	Molécula	Modo de la asignación
304a	301	PMMA	Flexión (bending)
370a	369	PMMA	Estiramiento (stretching)
487a	487	PMMA	Estiramiento (stretching)
604a	603	PMMA	Estiramiento (stretching)
736a	733	PMMA	Estiramiento (stretching)
818a	814	PMMA	Estiramiento (stretching)
883b	858	PEGDMA	Rocking
970a	970	PMMA	Rocking
1001	1003	DCP	-
1047b	1045	PEGDMA	Estiramiento (stretching)
1125a	1126	PMMA	Estiramiento (stretching)
1161a	1158	PMMA	Estiramiento (stretching)
1186a	1187	PMMA	Estiramiento (stretching)
1234a	1243	PMMA	Estiramiento (stretching)
1286b	1283	PEGDMA	Estiramiento (stretching)
1407b	1406	PEGDMA	Flexión fuera del plano (wagging o twisting)
1451a	1452	PMMA	Flexión (bending)
1605	1606	DCP	-
1641a	1640	PEGDMA	Estiramiento (stretching)
1736a	1725	PMMA	Estiramiento (stretching)
2849a	2844	PMMA	Estiramiento (stretching)
2932b	2930	PEGDMA	Estiramiento (stretching)
2957a	2953	PMMA	Estiramiento (stretching)

Figura A-1: Comparación de espectros Raman de una muestra sIPN, PMMA, PEGDMA y DCP

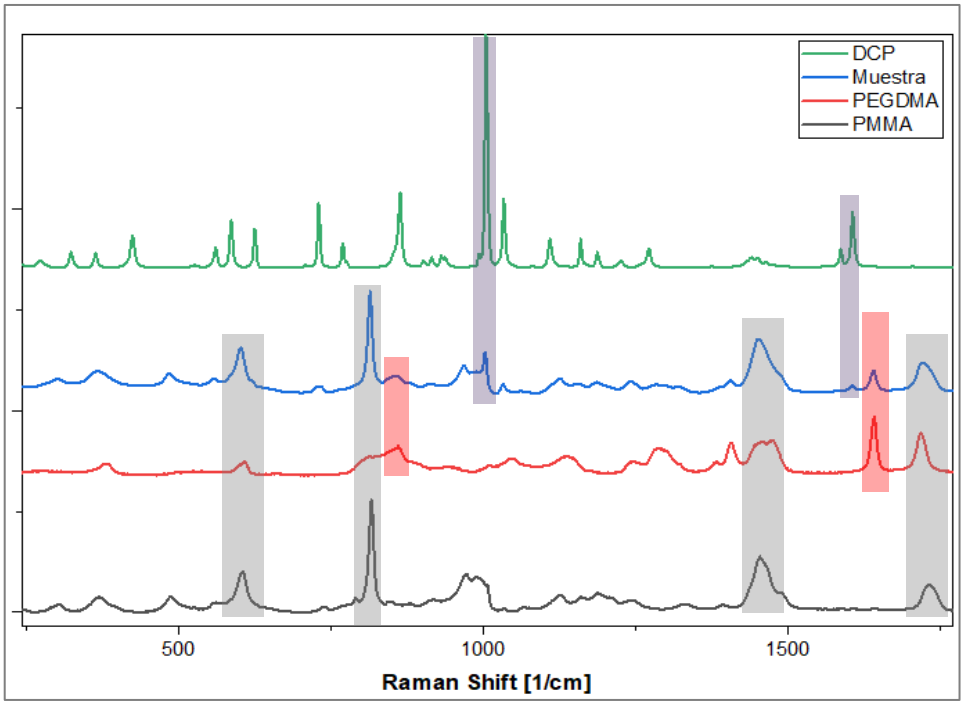


Tabla A-2: CI calculado para picos Raman de PMMA

Tiempo [min]	Probeta	Intensidad pico 601 cm^{-1} (a.u.)	Intensidad pico 814 cm^{-1} (a.u.)	Intensidad pico 1452 cm^{-1} (a.u.)	Intensidad pico 1720 cm^{-1} (a.u.)	$I_{2953\ cm^{-1}}$ (a.u.)	CI pico 601 cm^{-1} (a.u.)	CI pico 814 cm^{-1} (a.u.)	CI pico 1452 cm^{-1} (a.u.)	CI pico 1720 cm^{-1} (a.u.)
10	1	1107,96	2499,95	1321,67	739,10	5210,96	0,213	0,480	0,254	0,142
	2	476,19	1235,28	734,44	370,47	2118,56	0,251	0,583	0,336	0,175
	3	873,19	1852,83	1159,69	773,81	4399,10	0,198	0,421	0,264	0,176
	4	1064,85	2463,68	1373,09	781,72	5166,95	0,206	0,477	0,266	0,151
	5	509,13	1216,87	710,79	344,50	2195,63	0,232	0,554	0,324	0,157
30	1	532,27	1305,34	761,09	440,77	2181,90	0,244	0,598	0,349	0,202
	2	808,95	1827,36	974,36	551,41	3951,43	0,205	0,462	0,247	0,140
	3	1198,41	2744,28	1501,74	866,31	5785,37	0,207	0,474	0,260	0,150
	4	860,82	1960,28	1288,48	884,79	4789,22	0,180	0,409	0,269	0,185
	5	792,83	2107,96	1140,83	565,20	3753,35	0,211	0,562	0,304	0,151
50	1	669,88	1446,02	835,28	546,30	4584,02	0,146	0,315	0,182	0,119
	2	1139,19	2806,45	1439,70	710,25	5705,01	0,200	0,492	0,252	0,124
	3	1111,15	2857,18	1654,72	785,34	5634,86	0,197	0,507	0,294	0,139
	4	951,08	2518,34	1497,47	710,25	4438,55	0,214	0,567	0,337	0,160
	5	517,60	1254,28	623,47	300,23	2265,94	0,228	0,554	0,275	0,132

Tabla A-3: Datos de desplazamiento del pico 1720 cm^{-1} (C=O)

Tiempo [min]	Probeta	Posicionamiento pico (C=O) [cm^{-1}]	Posicionamiento pico base PMMA [cm^{-1}]	Desplazamiento [cm^{-1}]
10	1	1722,99	1731,32	8,33
	2	1723,98		7,35
	3	1722,16		9,16
	4	1725,93		5,40
	5	1724,13		7,19
30	1	1723,13		8,19
	2	1722,49		8,84
	3	1725,52		5,81
	4	1723,05		8,27
	5	1724,29		7,04
50	1	1722,83		8,50
	2	1724,26		7,07
	3	1726,71		4,61
	4	1726,28		5,05
	5	1725,55		5,77

Tabla A-4: CI calculado para picos Raman de PEGDMA

Tiempo [min]	Probeta	Intensidad pico 1640 cm^{-1} (a.u.)	Intensidad pico 858 cm^{-1} (a.u.)	$I_{2953\ cm^{-1}}$ (a.u.)	CI pico 1640 cm^{-1} (a.u.)	CI pico 858 cm^{-1} (a.u.)
10	1	453,94	412,71	5210,96	0,087	0,079
	2	302,01	255,81	2118,56	0,143	0,121
	3	647,27	421,39	4399,10	0,147	0,096
	4	555,98	461,95	5166,95	0,108	0,089
	5	242,60	229,91	2195,63	0,110	0,105
30	1	276,23	279,45	2181,90	0,127	0,128
	2	443,89	380,06	3951,43	0,112	0,096
	3	650,88	527,94	5785,37	0,113	0,091
	4	830,59	621,98	4789,22	0,173	0,130
	5	416,86	411,30	3753,35	0,111	0,110
50	1	402,64	293,36	4584,022	0,088	0,064
	2	382,19	465,79	5705,01	0,067	0,082
	3	312,57	508,94	5634,86	0,055	0,090
	4	267,23	427,45	4438,55	0,060	0,096
	5	179,44	187,31	2265,94	0,079	0,083

Figura A-2: Representación de disminución de pico Raman 1640 cm^{-1} de acuerdo al Factor t

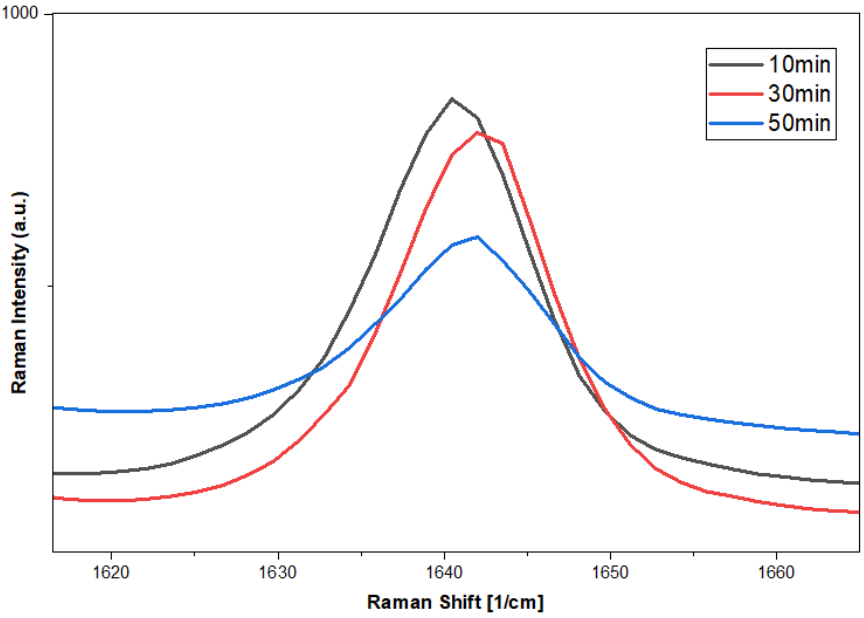


Tabla A-5: Valores de Razón de Hinchamiento (R_H)

Tiempo [min]	Probeta	Peso Seco [mg]	Peso hinchado [mg]	R_H
10	1	6,9	7,2	4,3%
	2	16,8	17,9	6,5%
	3	24,2	26,3	16,9%
	4	11,5	12,3	7,0%
	5	10,8	11,4	5,6%
30	1	11,8	14,2	20,3%
	2	14,1	14,8	5,0%
	3	10,7	12,0	12,1%
	4	9,7	12,5	28,9%
	5	9,4	10,7	13,8%
50	1	7,6	8,7	14,5%
	2	12,6	12,9	2,4%
	3	4,9	6,3	28,6%
	4	24,7	27,5	11,3%
	5	9,3	10,3	10,8%

Tabla A- 6: Valores de Angulo de Contacto [°]

Tiempo [min]	Probeta	Angulo de Contacto [°]
10	1	53,37
	2	58,4
	3	55,48
	4	53,7
	5	50,46
30	1	68,82
	2	67,30
	3	69,06
	4	68,04
	5	67,61
50	1	64,84
	2	65,55
	3	63,92
	4	62,89
	5	65,90

B. Ensayo Pin-sobre-Disco

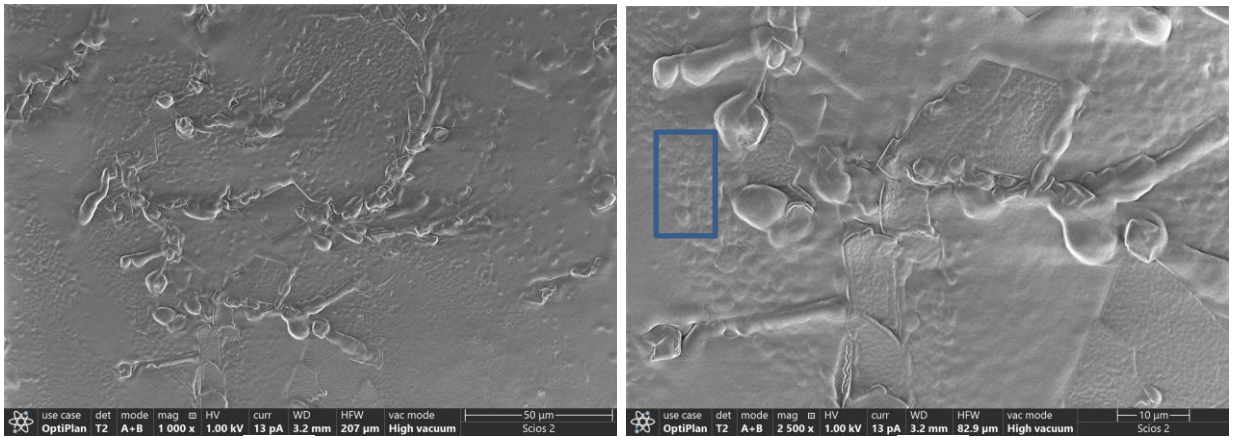
Tabla B-1: Valores de COF

Probeta [Concentración de CS – GS y Carga]	Repetición	COF	Desviación Estándar COF
B-0,5 kg	1	0,0788	0,0047
	2	0,0818	0,0048
	3	0,0904	0,0046
B-1 kg	1	0,0870	0,0045
	2	0,0919	0,0052
	3	0,0987	0,0041
(-)-0,5 kg	1	0,0935	0,0035
	2	0,0864	0,0040
	3	0,0751	0,0026
(-)-1 kg	1	0,0886	0,0032
	2	0,0840	0,0034
	3	0,0900	0,0034
(+)-0,5 kg	1	0,1088	0,0041
	2	0,1080	0,0052
	3	0,1177	0,0061
(+)-1 kg	1	0,1079	0,0045
	2	0,1267	0,0051
	3	0,0956	0,0041

C. Morfología Superficial con SEM

La morfología superficial de los andamios con Factor t de 30 minutos se observó utilizando un microscopio electrónico de emisión de campo de doble haz (FIB-FESEM), Thermo Fisher Scientific, modelo Scios 2 LoVac. Las imágenes se obtuvieron en condiciones operativas de 0,7 nm de resolución a 30 kV en modo STEM y 1,4 nm a 1 kV en modo FESEM.

Figura C-1: Imágenes SEM de andamio. (a) Magnificación 1000x, (b) Magnificación 2500x



(a) **(b)**

Las micrografías obtenidas revelan una superficie heterogénea, caracterizada por dominios con morfologías diferenciadas. Se distinguen regiones planas de aspecto laminar coexistiendo con estructuras globulares y aglomerados distribuidos de manera irregular. Estos dominios se encuentran interconectados, conformando una red con bordes bien definidos y una rugosidad superficial evidente.

Las zonas con estructura aparentemente plana presentan ondulaciones que pueden asociarse con mayor precisión a una conformación amorfa originada por el proceso de fotoreticulación radicalaria (cuadro azul en **Figura C-1b**), reflejando así una cristalinidad incrementada en la matriz polimérica entrecruzada. Asimismo, estas áreas podrían corresponder a regiones donde los aditivos bioactivos sulfatados (CS y GS) inducen la formación de dominios cristalinos a su alrededor. Por otro lado, las estructuras globulares se asocian a fracciones de PEGDMA sin entrecruzar.

Bibliografía

Agarwal, T., Chiesa, I., Presutti, D., Irawan, V., Vajanthri, K., Costantini, M., Nakagawa, Y., Tan, S., Makvandi, P., Zare, E., Sharifi, E., De Maria, C., Ikoma, T., & Maiti, T. (2021). Recent Advances in Bioprinting Technologies for Engineering Different Cartilage-based Tissues. *Materials Science and Engineering: C*, *123*, 112005. https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112005

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

Ai, C., Liu, L., Wong, K., Tan, X. H., & Goh, J. C. H. (2023). The Effect of Chondroitin Sulfate Concentration and Matrix Stiffness on Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Biomaterials Science*, *11*(13), 4557–4573. https://doi.org/10.1039/D2BM01980A

An, Y. H., Kim, J. A., Yim, H. G., Han, W. J., Park, Y. B., Jin Park, H., Young Kim, M., Jang, J., Koh, R. H., Kim, S. H., Hwang, N. S., & Ha, C. W. (2021). Meniscus Regeneration With Injectable Pluronic/PMMA-Reinforced Fibrin Hydrogels in a Rabbit Segmental Meniscectomy Model. *Journal of Tissue Engineering*, *12*. https://doi.org/10.1177/20417314211050141

Ansari, M., Darvishi, A., & Sabzevari, A. (2024). A Review of Advanced Hydrogels for Cartilage Tissue Engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *12*, 1340893. https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1340893

Arnold, K. M., Sicard, D., Tschumperlin, D. J., & Westendorf, J. J. (2023). Atomic Force Microscopy Micro-Indentation Methods for Determining the Elastic Modulus of Murine Articular Cartilage. *Sensors*, *23*(4), 1835. https://doi.org/10.3390/s23041835

Asmatulu, R., & Khan, W. S. (2019). Characterization of Electrospun Nanofibers. *Synthesis and Applications of Electrospun Nanofibers*, 257–281. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813914-1.00013-4

Bannuru, R., Osani, M., Vaysbrot, E., Arden, N., Bennell, K., Bierma-Zeinstra, S., Kraus, V., Lohmander, L., Abbott, J., Bhandari, M., Blanco, F., Espinosa, R., Haugen, I., Lin,

J., Mandl, L., Moilanen, E., Nakamura, N., Snyder-Mackler, L., Trojian, T., … McAlindon, T. E. (2019). OARSI Guidelines For The Non-Surgical Management of Knee, Hip, and Polyarticular Osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, *27*(11), 1578–1589. https://doi.org/10.1016/j.joca.2019.06.011

Barthold, J., McCreery, K., Martinez, J., Bellerjeau, C., Ding, Y., Bryant, S., Whiting, G., & Neu, C. P. (2022). Particulate ECM Biomaterial Ink is 3D Printed and Naturally Crosslinked to Form Structurally-Layered and Lubricated Cartilage Tissue Mimics. *Biofabrication*, *14*(2), 025021. https://doi.org/10.1088/1758-5090/AC584C

Beddoes, C., Whitehouse, M., Briscoe, W., & Su, B. (2016). Hydrogels as a Replacement Material for Damaged Articular Hyaline Cartilage. *Materials 2016, Vol. 9, Page 443*, *9*(6), 443. https://doi.org/10.3390/ma9060443

Bhosale, A. M., & Richardson, J. B. (2008). Articular Cartilage: Structure, Injuries and Review of Management. *British Medical Bulletin*, *87*(1), 77–95. https://doi.org/10.1093/bmb/ldn025

Bohannon, R. W., & Wang, Y. C. (2019). Four-Meter Gait Speed: Normative Values and Reliability Determined for Adults Participating in the NIH Toolbox Study. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *100*(3), 509–513. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2018.06.031

Buj-Corral, I., Sanz-Fraile, H., Tejo-Otero, A., Vidal, D., Padilla, J. A., Xuriguera, E., & Otero, J. (2024). Biocompatible 3D Printed Yttria-Stabilized Zirconia Parts Using Direct Ink Writing. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part B: Journal of Engineering Manufacture*, *238*(1–2), 347–352. https://doi.org/10.1177/0954405423116846

Caterson, B., Flannery, C., Hughes, C., & Little, C. (2000). Mechanisms Involved in Cartilage Proteoglycan Catabolism. *Matrix Biology*, *19*(4), 333–344. https://doi.org/10.1016/S0945-053X(00)00078-0

Chan, D., Cai, L., Butz, K., Trippel, S., Nauman, E., & Neu, C. (2016). In Vivo Articular Cartilage Deformation: Noninvasive Quantification of Intratissue Strain During Joint Contact in the Human Knee. *Scientific Reports*, *6*(1), 1–14. https://doi.org/10.1038/srep19220

Chang, Y., Wang, Y., Liu, J., Chen, X., Ma, X., Hu, Y., Tian, H., Wang, X., & Mu, C. (2023). Glucosamine-Loaded Injectable Hydrogel Promotes Autophagy and Inhibits Apoptosis After Cartilage Injury. *Heliyon*, *9*(9). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19879

Chen, S. G., Yang, J., Jia, Y. G., Lu, B., & Ren, L. (2019). TiO2 and PEEK Reinforced 3D Printing PMMA Composite Resin for Dental Denture Base Applications.

Nanomaterials 2019, Vol. 9, Page 1049, *9*(7), 1049. https://doi.org/10.3390/nano9071049

Chodák, I., & Zimányová, E. (1984). The Effect of Temperature on Peroxide Initiated Crosslinking of Polypropylene. *European Polymer Journal*, *20*(1), 81–84. https://doi.org/10.1016/0014-3057(84)90228-3

Chuang, E. Y., Chiang, C. W., Wong, P. C., & Chen, C. H. (2018). Hydrogels for The Application of Articular Cartilage Tissue Engineering: A Review of Hydrogels. *Advances in Materials Science and Engineering*, *2018*(1), 4368910. https://doi.org/10.1155/2018/4368910

Cona, C., Bailey, K., & Barker, E. (2024). Characterization Methods to Determine Interpenetrating Polymer Network (IPN) in Hydrogels. *Polymers 2024, Vol. 16, Page 2050*, *16*(14), 2050. https://doi.org/10.3390/polym16142050

Cooke, M., Lawless, B., Jones, S., & Grover, L. (2018). Matrix Degradation in Osteoarthritis Primes the Superficial Region of Cartilage for Mechanical Damage. *Acta Biomaterialia*, *78*, 320–328. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.07.037

Cortes, M., Bushman, R., Beshay, P. E., Adorno, J. J., Menyhert, M. M., Hildebrand, R. M., Agarwal, S. S., Avendano, A., Friedman, A. K., & Song, J. W. (2024). Chondroitin Sulfate, Dermatan Dulfate, and Hyaluronic Acid Differentially Modify the Biophysical Properties of Collagen-based Hydrogels. *Acta Biomaterialia*, *174*, 116–126. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.12.018

Cowie, R. M., Macri-Pellizzeri, L., McLaren, J., Sanderson, W. J., Felfel, R. M., Scotchford, C. A., Scammell, B. E., Grant, D. M., Sottile, V., & Jennings, L. M. (2024). Functional performance of a bi-layered chitosan-nano-hydroxyapatite Osteochondral Scaffold: A Pre-Clinical in Vitro Tribological Study. *Royal Society Open Science*, *11*(1). https://doi.org/10.1098/rsos.230431

Cui, A., Li, H., Wang, D., Zhong, J., Chen, Y., & Lu, H. (2020). Global, Regional Prevalence, Incidence and Risk Factors of Knee Osteoarthritis in Population-Based Studies. *EClinicalMedicine*, *29–30*, 100587. https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2020.100587

Danielak, A., Ko, J., Islam, A., Pedersen, D. B., & Lee, J. (2023). Hydrophobic Surface for Direct PEGDA Micro-pattern Fabrication. *Micro and Nano Systems Letters 2023 11:1*, *11*(1), 4-. https://doi.org/10.1186/S40486-023-00169-8

Decker, R., Koyama, E., & Pacifici, M. (2015). Articular Cartilage: Structural and Developmental Intricacies and Questions. *Current Osteoporosis Reports*, *13*(6), 407–414. https://doi.org/10.1007/s11914-015-0290-z

Delgado, P. (2013). Cartílago Articular: Evaluación por Resonancia Magnética. *Revista Chilena de Radiología*, *19*(3), 134–139. https://doi.org/10.4067/S0717-93082013000300008

Dufaud, M., Solé, L., Maumus, M., Simon, M., Perrier-Groult, E., Subra, G., Jorgensen, C., & Noël, D. (2022). 3D Bioprinting of Articular Cartilage: Recent Advances and Perspectives. *Bioprinting*, *28*, e00253. https://doi.org/10.1016/j.bprint.2022.e00253

Duong, V., Abdel Shaheed, C., Ferreira, M., Narayan, S., Venkatesha, V., Hunter, D., Zhu, J., Atukorala, I., Kobayashi, S., Goh, S., Briggs, A., Cross, M., Espinosa, R., Fu, K., Guillemin, F., Keefe, F., Stefan Lohmander, L., March, L., Milne, G., … Cooper, C. (2025). Risk Factors For The Development of Knee Osteoarthritis Across The Lifespan: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Osteoarthritis and Cartilage*. https://doi.org/10.1016/j.joca.2025.03.003

Elhadad, A., Alcudia, A., Begines, B., Pérez, E., & Torres, Y. (2022). A Multidisciplinary Perspective on The Latest Trends in Artificial Cartilage Fabrication to Mimic Real Tissue. *Applied Materials Today*, *29*, 101603. https://doi.org/10.1016/j.apmt.2022.101603

Elisseeff, J., Anseth, K., Sims, D., McIntosh, W., Randolph, M., Yaremchuk, M., & Langer, R. (1999). Transdermal Photopolymerization of Poly(ethylene oxide)-based Injectable Hydrogels for Tissue-Engineered Cartilage. *Plastic and Reconstructive Surgery*, *104*(4), 1014–1022. https://doi.org/10.1097/00006534-199909040-00017

Erman, B., & Mark, J. E. (1997). Structures and Properties of Rubberlike Networks. *Structures and Properties of Rubberlike Networks*. https://doi.org/10.1093/oso/9780195082371.001.0001

Farnham, M. S., Ortved, K. F., Burris, D. L., & Price, C. (2021). Articular Cartilage Friction, Strain, and Viability Under Physiological to Pathological Benchtop Sliding Conditions. *Cellular and Molecular Bioengineering*, *14*(4), 349–363. https://doi.org/10.1007/s12195-021-00671-2

Farrag, Y., Ait Eldjoudi, D., Farrag, M., González-Rodríguez, M., Ruiz-Fernández, C., Cordero, A., Varela-García, M., Torrijos Pulpón, C., Bouza, R., Lago, F., Pino, J., Alvarez-Lorenzo, C., & Gualillo, O. (2023). Poly(ethylene Glycol) Methyl Ether Methacrylate-Based Injectable Hydrogels: Swelling, Rheological, and In Vitro Biocompatibility Properties with ATDC5 Chondrogenic Lineage. *Polymers 2023, Vol. 15, Page 4635*, *15*(24), 4635. https://doi.org/10.3390/polym15244635

Feng, W., & Wang, Z. (2023). Tailoring the Swelling-Shrinkable Behavior of Hydrogels for Biomedical Applications. *Advanced Science*, *10*(28), 2303326. https://doi.org/10.1002/advs.202303326

Ferraro, J. R., Nakamoto, K., & Brown, C. W. (2003). Introductory Raman Spectroscopy: Second Edition. *Introductory Raman Spectroscopy: Second Edition*, 1–434. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-254105-6.X5000-8

Fisher, M., Ackley, T., Richard, K., Oei, B., & Dealy, C. (2019). Osteoarthritis at the Cellular Level: Mechanisms, Clinical Perspectives, and Insights From Development. *Encyclopedia of Biomedical Engineering*, *1–3*, 660–676. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64119-3

Ghosh, S., & Abanteriba, S. (2016). Status of Surface Modification Techniques for Artificial Hip implants. *Science and Technology of Advanced Materials*, *17*(1), 715–735. https://doi.org/10.1080/14686996.2016.1240575

Giannoulaki, M., & Christoforou, Z. (2024). Pedestrian Walking Speed Analysis: A Systematic Review. *Sustainability 2024, Vol. 16, Page 4813*, *16*(11), 4813. https://doi.org/10.3390/su16114813

Glyn-Jones, S., Palmer, A., Agricola, R., Price, A., Vincent, T., Weinans, H., & Carr, A. (2015). Osteoarthritis. *The Lancet*, *386*(9991), 376–387. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60802-3

Goldring, M., & Goldring, S. (2010). Articular Cartilage and Subchondral Bone in The Pathogenesis of Osteoarthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1192*(1), 230–237. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05240.x

Golzar, H., Wu, Y., Ganguly, S., & Tang, X. (Shirley). (2023). Micro-Extrusion 3D Printing of Articular Cartilage Substitutes With a Multizonal Structure Using Hydrophilic and Rapidly Curing Silicone-Based Ink Materials. *Additive Manufacturing*, *73*, 103691. https://doi.org/10.1016/j.addma.2023.103691

Gonella, S., Domingues, M. F., Miguel, F., Moura, C. S., Rodrigues, C. A. V., Ferreira, F. C., & Silva, J. C. (2024). Fabrication and Characterization of Porous PEGDA Hydrogels for Articular Cartilage Regeneration. *Gels*, *10*(7), 422. https://doi.org/10.3390/gels10070422

Gong, J. P. (2010). Why Are Double Network Hydrogels so Tough? *Soft Matter*, *6*(12), 2583–2590. https://doi.org/10.1039/B924290B

Grigoryan, B., Paulsen, S., Corbett, D., Sazer, D., Fortin, C., Zaita, A., Greenfield, P., Calafat, N., Gounley, J., Ta, A., Johansson, F., Randles, A., Rosenkrantz, J., Louis-Rosenberg, J., Galie, P., Stevens, K., & Miller, J. (2019). Multivascular Networks and Functional Intravascular Topologies Within Biocompatible hydrogels. *Science*, *364*(6439), 458–464. https://doi.org/10.1126/science.aav9750

Gu, Z., Fu, J., Lin, H., & He, Y. (2020). Development of 3D Bioprinting: From Printing Methods to Biomedical Applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *15*(5), 529–557. https://doi.org/10.1016/j.ajps.2019.11.003

Han, B., Nia, H. T., Wang, C., Chandrasekaran, P., Li, Q., Chery, D. R., Li, H., Grodzinsky, A. J., & Han, L. (2017). AFM-Nanomechanical Test: An Interdisciplinary Tool That Links the Understanding of Cartilage and Meniscus Biomechanics, Osteoarthritis Degeneration, and Tissue Engineering. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, *3*(9), 2033–2049. https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.7b00307

Han, E., Chen, S., Klisch, S., & Sah, R. (2011). Contribution of Proteoglycan Osmotic Swelling Pressure to the Compressive Properties of Articular Cartilage. *Biophysical Journal*, *101*(4), 916–924. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.07.006

Hashemi-Afzal, F., Fallahi, H., Bagheri, F., Collins, M., Eslaminejad, M. B., & Seitz, H. (2025). Advancements in Hydrogel Design for Articular Cartilage Regeneration: A Comprehensive review. *Bioactive Materials*, *43*, 1–31. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2024.09.005

He, Y., Jiang, W., & Wang, W. (2024). Global Burden of Osteoarthritis in Adults Aged 30 to 44 years, 1990 to 2019: Results From the Global Burden of Disease Study 2019. *BMC Musculoskeletal Disorders*, *25*(1), 1–12. https://doi.org/10.1186/s12891-024-07442-w

Hong, E., & Reddi, A. (2013). Dedifferentiation and Redifferentiation of Articular Chondrocytes from Surface and Middle Zones: Changes in MicroRNAs-221/-222, -140, and -143/145 Expression. *Tissue Engineering - Part A*, *19*(7–8), 1015–1022. https://doi.org/10.1089/ten.tea.2012.0055

Hou, X., Lin, L., Li, K., Jiang, F., Qiao, D., Zhang, B., & Xie, F. (2024). Towards Superior Biopolymer Gels by Enabling Interpenetrating Network Structures: A Review on Types, Applications, and Gelation strategies. *Advances in Colloid and Interface Science*, *325*, 103113. https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103113

Hunter, D. J., March, L., & Chew, M. (2020). Osteoarthritis in 2020 and Beyond: a Lancet Commission. *The Lancet*, *396*(10264), 1711–1712. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32230-3

Imere, A., Foster, N. C., Hajiali, H., Okur, K. E., Wright, A. L., Barroso, I. A., & Haj, A. J. E. (2024). Enhanced Chondrogenic Potential in GelMA-based 3D Cartilage Model Via Wnt3a Surface Immobilization. *Scientific Reports 2024 14:1*, *14*(1), 1–12. https://doi.org/10.1038/s41598-024-65970-w

Ingavle, G. C., Dormer, N. H., Gehrke, S. H., & Detamore, M. S. (2011). Using Chondroitin Sulfate to Improve the Viability and Biosynthesis of Chondrocytes Encapsulated in Interpenetrating Network (IPN) Hydrogels of Agarose and

Poly(ethylene glycol)diacrylate. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, *23*(1), 157. https://doi.org/10.1007/S10856-011-4499-9

Joshi, P., Breaux, S., Naro, J., Wang, Y., Ahmed, M. S. U., Vig, K., & Auad, M. L. (2021). Synthesis and Characterization of Photopolymerizable Hydrogels Based on Poly (ethylene glycol) for Biomedical Applications. *Journal of Applied Polymer Science*, *138*(21), 50489. https://doi.org/10.1002/APP.50489

Jung, J., Bang, C., Song, G., Kim, C., Kim, J., & Choi, S. (2019). Knee osteoarthritis and menopausal hormone therapy in postmenopausal women: A nationwide cross-sectional study. *Menopause*, *26*(6), 598–602. https://doi.org/10.1097/GME.0000000000001280

Knecht, S., Vanwanseele, B., & Stüssi, E. (2006). A Review on the Mechanical Quality of Articular Aartilage - Implications for The Diagnosis of Osteoarthritis. *Clinical Biomechanics*, *21*(10), 999–1012. https://doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2006.07.001

Li, J., & Mooney, D. (2016). Designing Hydrogels for Controlled Drug Delivery. *Nature Reviews Materials*, *1*(12), 1–17. https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.71

Li, L., Yu, F., Zheng, L., Wang, R., Yan, W., Wang, Z., Xu, J., Wu, J., Shi, D., Zhu, L., Wang, X., & Jiang, Q. (2019). Natural Hydrogels for Cartilage Regeneration: Modification, Peparation and Application. *Journal of Orthopaedic Translation*, *17*, 26–41. https://doi.org/10.1016/j.jot.2018.09.003

Li, Moeinzadeh, S., Kim, C., Pan, C. C., Weale, G., Kim, S., Abrams, G., James, A. W., Choo, H. R., Chan, C., & Yang, Y. P. (2023). Development and Systematic Characterization of GelMA/alginate/PEGDMA/xanthan gum Hydrogel Bioink System for Extrusion Bioprinting. *Biomaterials*, *293*, 121969. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121969

Liao, S., Jia, S., Yue, Y., Zeng, H., Lin, J., & Liu, P. (2024). Advancements in pH-Responsive Nanoparticles for Osteoarthritis Treatment: Opportunities and Challenges. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *12*, 1426794. https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1426794

Link, J., Salinas, E., Hu, J., & Athanasiou, K. (2020). The tribology of Cartilage: Mechanisms, Experimental Techniques, and Relevance to Translational Tissue Engineering. *Clinical Biomechanics*, *79*, 104880. https://doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2019.10.016

Lombardi, A., Ma, Y., Jang, H., Jerban, S., Tang, Q., Searleman, A., Meyer, R., Du, J., & Chang, E. (2022). AcidoCEST-UTE MRI Reveals an Acidic Microenvironment in Knee Osteoarthritis. *International Journal of Molecular Sciences 2022, Vol. 23, Page 4466*, *23*(8), 4466. https://doi.org/10.3390/ijms23084466

Londoño, J., Peláez, I., Cuervo, F., Angarita, I., Giraldo, R., Rueda, J., Ballesteros, J., Baquero, R., Forero, E., Cardiel, M., Saldarriaga, E., Vásquez, A., Arias, S., Valero, L., González, C., Ramírez, J., Toro, C., & Santos, A. (2018). Prevalencia de la Enfermedad Reumática en Colombia, Según Estrategia COPCORD-Asociación Colombiana de Reumatología. *Revista Colombiana de Reumatología*, *25*(4), 245–256. https://doi.org/10.1016/j.rcreu.2018.08.003

Long, H., Liu, Q., Yin, H., Wang, K., Diao, N., Zhang, Y., Lin, J., & Guo, A. (2022). Prevalence Trends of Site-Specific Osteoarthritis From 1990 to 2019: Findings From the Global Burden of Disease Study 2019. *Arthritis & Rheumatology*, *74*(7), 1172–1183. https://doi.org//10.1002/art.42089

Lu, J., Gao, Y., Cao, C., Wang, H., Ruan, Y., Qin, K., Liu, H., Wang, Y., Yang, P., Liu, Y., Ma, Y., Yu, Z., Wang, Y., Zhong, Z., & Chang, F. (2025). 3D Bioprinted Scaffolds for Osteochondral Regeneration: Advancements and Applications. *Materials Today Bio*, *32*, 101834. https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2025.101834

Lu, P., Ruan, D., Huang, M., Tian, M., Zhu, K., Gan, Z., & Xiao, Z. (2024). Harnessing the Potential of Hydrogels for Advanced Therapeutic Applications: Current Achievements and Future Directions. In *Signal Transduction and Targeted Therapy* (Vol. 9, Issue 1). Springer Nature. https://doi.org/10.1038/s41392-024-01852-x

Mahmood, H., Eckold, D., Stead, I., Shepherd, D. E. T., Espino, D. M., & Dearn, K. D. (2020). A Method for the Assessment of The Coefficient of Friction of Articular Cartilage and a Replacement Biomaterial. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *103*, 103580. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103580

Majhy, B., Priyadarshini, P., & Sen, A. K. (2021). Effect of Surface Energy and Roughness on Cell Adhesion and Growth – Facile Surface Modification for Enhanced Cell Culture. *RSC Advances*, *11*(25), 15467–15476. https://doi.org/10.1039/D1RA02402G

Manicone, P. F., Rossi Iommetti, P., & Raffaelli, L. (2007). An Overview of Zirconia Ceramics: Basic Properties and Clinical Applications. *Journal of Dentistry*, *35*(11), 819–826. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2007.07.008

Manna, S., Manna, M., & Jana, S. (2020). Interpenetrating Polymer Network in Microparticulate Systems: Drug Delivery and Biomedical Application. *Interpenetrating Polymer Network: Biomedical Applications*, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0283-5_1

Marin, E., Mukai, M., Boschetto, F., Sunthar, T. P. M., Adachi, T., Zhu, W., Rondinella, A., Lanzutti, A., Kanamura, N., Yamamoto, T., Fedrizzi, L., & Pezzotti, G. (2021). Antibacterial 3D-Printed PMMA/ceramic Composites. *BioRxiv*, 2021.10.11.463892. https://doi.org/10.1101/2021.10.11.463892

Medina, E. L., Vaca, J., Aperador, W., Ramtani, S., Falentin-Daudre, C., & Garzón, D. (2025). Review of Advanced Coatings for Metallic Implants: A Study/Proposal on Yttria-Stabilized Zirconia and Silver-Doped Hydroxyapatite. *JOM 2025 77:7*, *77*(7), 5345–5361. https://doi.org/10.1007/s11837-025-07345-8

Middendorf, J., Griffin, D., Shortkroff, S., Dugopolski, C., Kennedy, S., Siemiatkoski, J., Cohen, I., & Bonassar, L. (2017). Mechanical Properties and Structure-function Relationships of Human Chondrocyte-seeded Cartilage Constructs After in Vitro Culture. *Journal of Orthopaedic Research*, *35*(10), 2298–2306. https://doi.org/10.1002/jor.23535

Mihajlovic, M., Rikkers, M., Mihajlovic, M., Viola, M., Schuiringa, G., Ilochonwu, B. C., Masereeuw, R., Vonk, L., Malda, J., Ito, K., & Vermonden, T. (2022). Viscoelastic Chondroitin Sulfate and Hyaluronic Acid Double-Network Hydrogels with Reversible Cross-Links. *Biomacromolecules*, *23*(3), 1350–1365. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.1c01583

Mobarak, M. H., Islam, M. A., Hossain, N., Al Mahmud, M. Z., Rayhan, M. T., Nishi, N. J., & Chowdhury, M. A. (2023). Recent Advances of Additive Manufacturing in Implant Fabrication – A Review. *Applied Surface Science Advances*, *18*, 100462. https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2023.100462

Mobbs, L., Fernando, V., Fonseka, R. D., Natarajan, P., Maharaj, M., & Mobbs, R. J. (2025). Normative Database of Spatiotemporal Gait Metrics Across Age Groups: An Observational Case–Control Study. *Sensors 2025, Vol. 25, Page 581*, *25*(2), 581. https://doi.org/10.3390/s25020581

Mokhtari, M., Schipper, D. J., Vleugels, N., & Noordermeer, J. W. M. (2016). Transversely Isotropic Viscoelastic Materials: Contact Mechanics and Friction. *Tribology International*, *97*, 116–123. https://doi.org/10.1016/j.triboint.2016.01.010

Moran, M. B., & Martin, G. C. (1983). The Laser Raman Spectrum of Polyethylene Glycol Dimethacrylate). *Journal of Macromolecular Science—Chemistry*, *19*(4), 611–618. https://doi.org/10.1080/10601328308056538

Mostakhdemin, M., Nand, A., & Ramezani, M. (2021). Articular and Artificial Cartilage, Characteristics, Properties and Testing Approaches—A Review. *Polymers 2021, Vol. 13, Page 2000*, *13*(12), 2000. https://doi.org/10.3390/polym13122000

Nesvadba, P. (2012). Radical Polymerization in Industry. *Encyclopedia of Radicals in Chemistry, Biology and Materials*. https://doi.org/10.1002/9781119953678.rad080

Niedźwiedź, M. J., Demirci, G., Kantor-Malujdy, N., & El Fray, M. (2023). Influence of Photoinitiator Type and Curing Conditions on the Photocuring of Soft Polymer Network. *Materials*, *16*(23), 7348. https://doi.org/10.3390/ma16237348

Nigro, V., Angelini, R., Bertoldo, M., Buratti, E., Franco, S., & Ruzicka, B. (2021). Chemical-Physical Behaviour of Microgels Made of Interpenetrating Polymer Networks of PNIPAM and Poly(acrylic Acid). *Polymers 2021, Vol. 13, Page 1353*, *13*(9), 1353. https://doi.org/10.3390/polym13091353

Ning, L., Yang, B., Mohabatpour, F., Betancourt, N., Sarker, M. D., Papagerakis, P., & Chen, X. (2020). Process-induced Cell Damage: Pneumatic Versus Screw-driven Bioprinting. *Biofabrication*, *12*(2), 025011. https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006

Okuda, K., Shigemasa, R., Hirota, K., & Mizutani, T. (2022). In Situ Crystallization of Hydroxyapatite on Carboxymethyl Cellulose as a Biomimetic Approach to Biomass-Derived Composite Materials. *ACS Omega*, *7*(14), 12127–12137. https://doi.org/10.1021/acsomega.2c00423

O'Neill, B. (2023, October 31). *Nozzle Diameter and Layer Height Explained*. Wevolver. https://www.wevolver.com/article/3d-printer-nozzle-size?utm_source

Oungoulian, S., Chang, S., Bortz, O., Hehir, K., Zhu, K., Willis, C., Hung, C., & Ateshian, G. (2013). Articular Cartilage Wear Characterization With a Particle Sizing and Counting Analyzer. *Journal of Biomechanical Engineering*, *135*(2). https://doi.org/10.1115/1.4023456

Pande, S., & Dhatrak, P. (2021). Recent Developments and Advancements in Knee Implants Materials, Manufacturing: a Review. *Materials Today: Proceedings*, *46*, 756–762. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.465

Peel, A., Bennion, D., Horne, R., Hansen, M. R., & Guymon, C. A. (2024). Photografted Zwitterionic Hydrogel Coating Durability for Reduced Foreign Body Response to Cochlear Implants. *ACS Applied Bio Materials*, *7*(5), 3124–3135. https://doi.org/10.1021/acsabm.4c00156

Perera, K., Ivone, R., Natekin, E., Wilga, C., Shen, J., & Menon, J. (2021). 3D Bioprinted Implants for Cartilage Repair in Intervertebral Discs and Knee Menisci. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *9*, 754113. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.754113

Qin, Y., Liu, A., Guo, H., Shen, Y., Wen, P., Lin, H., Xia, D. D., Voshage, M., Tian, Y., & Zheng, Y. (2022). Additive Manufacturing of Zn-Mg Alloy Porous Scaffolds With Enhanced Osseointegration: In Vitro and in Vivo Studies. *Acta Biomaterialia*, *145*, 403–415. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.03.055

Quan, Q., Gongping, X., Ruisi, N., & Shiwen, L. (2023). New Research Progress of Modified Bone Cement Applied to Vertebroplasty. *World Neurosurgery*, *176*, 10–18. https://doi.org/10.1016/j.wneu.2023.04.048

Rajawasam, C. W. H., Dodo, O. J., Weerasinghe, M. A. S. N., Raji, I. O., Wanasinghe, S. V., Konkolewicz, D., & De Alwis Watuthanthrige, N. (2024). Educational series: Characterizing Crosslinked Polymer Networks. *Polymer Chemistry*, *15*(4), 219–247. https://doi.org/10.1039/D3PY00914A

Rakovsky, A., Marbach, D., Lotan, N., & Lanir, Y. (2009). Poly(ethylene glycol)-based Hydrogels as Cartilage Substitutes: Synthesis and Mechanical Characteristics. *Journal of Applied Polymer Science*, *112*(1), 390–401. https://doi.org/10.1002/APP.29420;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:10974628;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER

Ravi, S., Chokkakula, L. P. P., Giri, P. S., Korra, G., Dey, S. R., & Rath, S. N. (2023). 3D Bioprintable Hypoxia-Mimicking PEG-Based Nano Bioink for Cartilage Tissue Engineering. *ACS Applied Materials and Interfaces*, *15*(16), 19921–19936. https://doi.org/10.1021/acsami.3c00389

Rizzo, R., Barber, D. M., Wilt, J. K., Ainscough, A. J., & Lewis, J. A. (2024). Photoinitiator-free Light-mediated Crosslinking of Dynamic Polymer and Pristine Protein Networks. *Biomaterials Science*, *13*(1), 210–222. https://doi.org/10.1039/d4bm00849a

Rousselle, A., Ferrandon, A., Mathieu, E., Godet, J., Ball, V., Comperat, L., Oliveira, H., Lavalle, P., Vautier, D., & Arntz, Y. (2022). Enhancing Cell Survival in 3D Printing of Organoids Using Innovative Bioinks Loaded With Pre-Cellularized Porous Microscaffolds. *Bioprinting*, *28*, e00247. https://doi.org/10.1016/j.bprint.2022.e00247

Sabahi, N., Roohani, I., Wang, C. H., & Li, X. (2025). Material Extrusion 3D Printing of Bioactive Smart Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Additive Manufacturing*, *98*, 104636. https://doi.org/10.1016/j.addma.2024.104636

Salam, O. A., Hamad, H. A., Eltokhy, M. A. R., Ali, A. I., Son, J. Y., & Ramzy, G. H. (2024). A Comparative Study of PMMA/PEG Polymer Nanocomposites Doped With Different Oxides Nanoparticles for Potential Optoelectronic Applications. *Scientific Reports*, *14*(1), 1–17. https://doi.org/10.1038/s41598-024-63176-8

Schuurmans, C. C. L., Mihajlovic, M., Hiemstra, C., Ito, K., Hennink, W. E., & Vermonden, T. (2021). Hyaluronic Acid and Chondroitin Sulfate (meth)acrylate-based Hydrogels for Tissue Engineering: Synthesis, Characteristics and Pre-clinical Evaluation. *Biomaterials*, *268*, 120602. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120602

Schwarz, S., Kuth, S., Distler, T., Gögele, C., Stölzel, K., Detsch, R., Boccaccini, A. R., & Schulze-Tanzil, G. (2020). 3D Printing and Characterization of Human Nasoseptal Chondrocytes Laden Dual Crosslinked Oxidized Alginate-Gelatin Hydrogels for Cartilage Repair Approaches. *Materials Science and Engineering: C*, *116*, 111189. https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111189

Sennakesavan, G., Mostakhdemin, M., Dkhar, L. K., Seyfoddin, A., & Fatihhi, S. J. (2020). Acrylic Acid/acrylamide Based Hydrogels and Its Properties - A Review. *Polymer Degradation and Stability*, *180*, 109308. https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109308

Seror, J., Zhu, L., Goldberg, R., Day, A., & Klein, J. (2015). Supramolecular Synergy in The Boundary Lubrication of Synovial Joints. *Nature Communications 2015 6:1*, *6*(1), 1–7. https://doi.org/10.1038/ncomms7497

Shin, J., Chung, H., Kumar, H., Meadows, K., Park, S., Chun, J., & Kim, K. (2024). 3D Bioprinting of Human iPSC-Derived Kidney Organoids Using a Low-cost, High-throughput Customizable 3D Bioprinting system. *Bioprinting*, *38*, e00337. https://doi.org/10.1016/j.bprint.2024.e00337

Simińska-Stanny, J., Nicolas, L., Chafai, A., Jafari, H., Hajiabbas, M., Dodi, G., Gardikiotis, I., Delporte, C., Nie, L., Podstawczyk, D., & Shavandi, A. (2024). Advanced PEG-tyramine Biomaterial Ink for Precision Engineering of Perfusable and Flexible Small-diameter Vascular Constructs Via Coaxial Printing. *Bioactive Materials*, *36*, 168. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2024.02.019

Sivaperuman, M., Pradhan, R., Saleem, W., Smith, M. M., Gaharwar, A. K., Kalairaj, M. S., Pradhan, R., Saleem, W., Gaharwar, A. K., & Smith, M. M. (2024). Intra-Articular Injectable Biomaterials for Cartilage Repair and Regeneration. *Advanced Healthcare Materials*, *13*(17), 2303794. https://doi.org/10.1002/adhm.202303794

Sonthithai, P., Kaewkong, P., Channasanon, S., & Tanodekaew, S. (2025). 3D-Printed PEG-PLA/Gelatin Hydrogel: Characterization toward In Vitro Chondrocyte Redifferentiation. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, *11*(4), 2157–2166. https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.4c02409

Sophia Fox, A., Bedi, A., & Rodeo, S. (2009). The Basic Science of Articular Cartilage: Structure, Composition, and Function. *Sports Health*, *1*(6), 461–468. https://doi.org/10.1177/1941738109350438

Spiller, K., Maher, S., & Lowman, A. (2011). Hydrogels For The Repair of Articular Cartilage Defects. *Tissue Engineering - Part B: Reviews*, *17*(4), 281–299. https://doi.org/10.1089/ten.teb.2011.0077

Stillman, Z., Jarai, B. M., Raman, N., Patel, P., & Fromen, C. A. (2019). Degradation Profiles of Poly(ethylene glycol) diacrylate (PEGDA)-based Hydrogel Nanoparticles. *Polymer Chemistry*, *11*(2), 568. https://doi.org/10.1039/C9PY01206K

Székely, A., & Klussmann, M. (2019). Molecular Radical Chain Initiators for Ambient- to Low-Temperature Applications. *Chemistry – An Asian Journal*, *14*(1), 105–115. https://doi.org/10.1002/asia.201801636

Tan, G., Xu, J., Yu, Q., Zhang, J., Hu, X., Sun, C., & Zhang, H. (2022). Photo-Crosslinkable Hydrogels for 3D Bioprinting in the Repair of Osteochondral Defects: A Review of Present Applications and Future Perspectives. *Micromachines 2022, Vol. 13, Page 1038*, *13*(7), 1038. https://doi.org/10.3390/mi13071038

Tomal, W., & Ortyl, J. (2020). Water-Soluble Photoinitiators in Biomedical Applications. *Polymers 2020, Vol. 12, Page 1073*, *12*(5), 1073. https://doi.org/10.3390/polym12051073

Tong, A., Pham, Q. L., Abatemarco, P., Mathew, A., Gupta, D., Iyer, S., & Voronov, R. (2021a). Review of Low-Cost 3D Bioprinters: State of the Market and Observed Future Trends. *SLAS Technology*, *26*(4), 333–366. https://doi.org/10.1177/24726303211020297

Tong, A., Pham, Q. L., Abatemarco, P., Mathew, A., Gupta, D., Iyer, S., & Voronov, R. (2021b). Review of Low-Cost 3D Bioprinters: State of the Market and Observed Future Trends. *SLAS Technology*, *26*(4), 333–366. https://doi.org/10.1177/24726303211020297

Unagolla, J. M., Gaihre, B., & Jayasuriya, A. C. (2024). In Vitro and In Vivo Evaluation of 3D Printed Poly(Ethylene Glycol) Dimethacrylate-Based Photocurable Hydrogel Platform for Bone Tissue Engineering. *Macromolecular Bioscience*, *24*(4), 2300414. https://doi.org/10.1002/mabi.202300414

Vaienti, E., Scita, G., Ceccarelli, F., & Pogliacomi, F. (2017). Understanding The Human Knee and Its Relationship to Total Knee Replacement. *Acta Bio Medica : Atenei Parmensis*, *88*(Suppl 2), 6. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6178997/

Van De Walle, E., Van Nieuwenhove, I., De Vos, W., Declercq, H., Dubruel, P., & Van Vlierberghe, S. (2017). Cell Response of Flexible PMMA-Derivatives: Supremacy of Surface Chemistry Over Substrate Stiffness. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, *28*(11), 1–11. https://doi.org/10.1007/s10856-017-5994-4

Wahid, F., Hu, X. H., Chu, L. Q., Jia, S. R., Xie, Y. Y., & Zhong, C. (2019). Development of Bacterial Cellulose/chitosan Based semi-Interpenetrating Hydrogels With Improved Mechanical and Antibacterial Properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, *122*, 380–387. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.105

Wahid, F., Khan, T., Hussain, Z., & Ullah, H. (2018). Nanocomposite Scaffolds for Tissue Engineering; Properties, Preparation and Applications. *Applications of Nanocomposite Materials in Drug Delivery*, 701–735. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813741-3.00031-5

Wahlquist, J., DelRio, F., Randolph, M., Aziz, A., Heveran, C., Bryant, S., Neu, C., & Ferguson, V. (2017). Indentation Mapping Revealed Poroelastic, but not

Viscoelastic, Properties Spanning Native Zonal Articular Cartilage. *Acta Biomaterialia*, *64*, 41–49. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.10.003

Walalawela, N., & Greer, A. (2018). Heterogeneous Photocatayltic Deperoxidation With UV and Visible Light. *Journal of Physical Organic Chemistry*, *31*(6), e3807. https://doi.org/10.1002/poc.3807

Wallace, I., Worthington, S., Felson, D., Jurmain, R., Wren, K., Maijanen, H., Woods, R., & Lieberman, D. (2017). Knee Osteoarthritis Has Doubled in Prevalence Since The mid-20th Century. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *114*(35), 9332–9336. https://doi.org/10.1073/pnas.1703856114

Wang, R., Cheng, C., Wang, H., & Wang, D. (2024). Swollen Hydrogel Nanotechnology: Advanced Applications of the Rudimentary Swelling Properties of Hydrogels. *ChemPhysMater*, *3*(4), 357–375. https://doi.org/10.1016/j.chphma.2024.07.006

Wei, P., Ma, Y., Qin, K., & Fan, Z. (2024). A 3D Printed Biomimetic Scaffold For Cartilage Regeneration With Lubrication, Load-Bearing, and Adhesive Fixation Properties. *Tribology International*, *192*, 109328. https://doi.org/10.1016/j.triboint.2024.109328

Wichterle, O., & Lím, D. (1960). Hydrophilic Gels for Biological Use. *Nature*, *185*(4706), 117–118. https://doi.org/10.1038/185117a0

Willis, H. A., Zichy, V. J. I., & Hendra, P. J. (1969). The laser-Raman and infra-red spectra of poly(methyl methacrylate). *Polymer*, *10*(C), 737–746. https://doi.org/10.1016/0032-3861(69)90101-3

Wu, P.-J., Masouleh, M., Dini, D., Paterson, C., Török, P., Overby, D., & Kabakova, I. (2019). Detection of Proteoglycan Loss From Articular Cartilage Using Brillouin Microscopy, With Applications to Osteoarthritis. *Biomedical Optics Express, Vol. 10, Issue 5, Pp. 2457-2466*, *10*(5), 2457–2466. https://doi.org/10.1364/boe.10.002457

Xu, W., Jambhulkar, S., Zhu, Y., Ravichandran, D., Kakarla, M., Vernon, B., Lott, D., Cornella, J., Shefi, O., Miquelard-Garnier, G., Yang, Y., & Song, K. (2021). 3D Printing for Polymer/Particle-Based Processing: A Review. *Composites Part B: Engineering*, *223*, 109102. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2021.109102

Yang, F., Li, Y., Wang, L., Che, H., Zhang, X., Jahr, H., Wang, L., Jiang, D., Huang, H., & Wang, J. (2024). Full-thickness Osteochondral Defect Repair Using a Biodegradable Bilayered Scaffold of Porous Zinc and Chondroitin Sulfate Hydrogel. *Bioactive Materials*, *32*, 400–414. https://doi.org/10.1016/J.BIOACTMAT.2023.10.014

Yu, X., Gholipourmalekabadi, | Mazaher, Wang, X., Yuan, C., & Lin, | Kaili. (2024). Three-dimensional Bioprinting Biphasic Multicellular Living Scaffold Facilitates Osteochondral Defect Regeneration. *Interdisciplinary Materials*, *3*(5), 738–756. https://doi.org/10.1002/idm2.12181

Zaszczyńska, A., Kołbuk, D., Gradys, A., & Sajkiewicz, P. (2024). Development of Poly(methyl methacrylate)/nano-hydroxyapatite (PMMA/nHA) Nanofibers for Tissue Engineering Regeneration Using an Electrospinning Technique. *Polymers 2024, Vol. 16, Page 531*, *16*(4), 531. https://doi.org/10.3390/polym16040531

Zevenbergen, L., Gsell, W., Cai, L., Chan, D., Famaey, N., Vander Sloten, J., Himmelreich, U., & Jonkers, I. (2018). Cartilage-on-Cartilage Contact: Effect of Compressive Loading on Tissue Deformations and Structural Integrity of Bovine Articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*, *26*(12), 1699–1709. https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.08.009

Zhan, Y., Fu, W., Xing, Y., Ma, X., & Chen, C. (2021). Advances in Versatile Anti-swelling Polymer Hydrogels. *Materials Science and Engineering: C*, *127*, 112208. https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112208

Zhang, H., Huang, H., Hao, G., Zhang, Y., Ding, H., Fan, Z., & Sun, L. (2021). 3D Printing Hydrogel Scaffolds with Nanohydroxyapatite Gradient to Effectively Repair Osteochondral Defects in Rats. *Advanced Functional Materials*, *31*(1), 2006697. https://doi.org/10.1002/adfm.202006697

Zhang, H., Wang, M., Wu, R., Guo, J., Sun, A., Li, Z., Ye, R., Xu, G., & Cheng, Y. (2023). From Materials to Clinical Use: Advances in 3D-printed Scaffolds for Cartilage Tissue Engineering. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *25*(36), 24244–24263. https://doi.org/10.1039/D3CP00921A

Zhang, L., Dai, W., Gao, C., Wei, W., Huang, R., Zhang, X., Yu, Y., Yang, X., & Cai, Q. (2023). Multileveled Hierarchical Hydrogel with Continuous Biophysical and Biochemical Gradients for Enhanced Repair of Full-Thickness Osteochondral Defect. *Advanced Materials*, *35*(19), 2209565. https://doi.org/10.1002/adma.202209565

Zhang, R., Chang, S., Jing, Y., Wang, L. Y., Chen, C. J., & Liu, J. T. (2023). Application of Chitosan With Different Molecular Weights in Cartilage Tissue Engineering. *Carbohydrate Polymers*, *314*, 120890. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120890

Zhang, T., Chen, S., Dou, H., Liu, Q., Shu, G., Lin, J., Zhang, W., Peng, G., Zhong, Z., & Fu, H. (2021). Novel Glucosamine-Loaded Thermosensitive Hydrogels Based on Poloxamers for Osteoarthritis Therapy by Intra-Articular Injection. *Materials Science and Engineering: C*, *118*, 111352. https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111352

Zhang, X., Wu, X., & Shi, J. (2020). Additive Manufacturing of Zirconia Ceramics: A State-of-the-art Review. *Journal of Materials Research and Technology*, *9*(4), 9029–9048. https://doi.org/0.1016/j.jmrt.2020.05.131

Zhang, Y., Cui, Y., Tian, J., Chen, X., Xu, T., Liu, J., & Xu, Y. (2022). Nanohydroxyapatite Hydrogel Can Promote the Proliferation and Migration of Chondrocytes and Better

Repair Talar Articular Cartilage. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, *2022*, 8388473. https://doi.org/10.1155/2022/8388473

Zhao, X., Papadopoulos, A., Ibusuki, S., Bichara, D. A., Saris, D. B., Malda, J., Anseth, K. S., Gill, T. J., & Randolph, M. A. (2016). Articular Cartilage Generation Applying PEG-LA-DM/PEGDM Copolymer Hydrogels. *BMC Musculoskeletal Disorders*, *17*(1), 1–10. https://doi.org/10.1186/s12891-016-1100-1

Zhou, B., Niu, L. N., Shi, W., Zhang, W., Arola, D. D., Breschi, L., Mao, J., Chen, J. H., Pashley, D. H., & Tay, F. R. (2014). Adopting the Principles of Collagen Biomineralization for Intrafibrillar Infiltration of Yttria-Stabilized Zirconia into Three-Dimensional Collagen Scaffolds. *Advanced Functional Materials*, *24*(13), 1895–1903. https://doi.org/10.1002/adfm.201302920

Zhu, Y., Zhang, X., Chang, G., Deng, S., & Chan, H. F. (2025). Bioactive Glass in Tissue Regeneration: Unveiling Recent Advances in Regenerative Strategies and Applications. *Advanced Materials*, *37*(2), 2312964. https://doi.org/10.1002/adma.202312964