



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA FLEXURAL Y  
MÓDULO ELÁSTICO DE ANDAMIOS DE CUTÍCULAS  
DESCELULARIZADAS DE HUEVO DE GALLINA PARA  
INGENIERÍA DE TEJIDOS.

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**ESPECIALISTA EN ORTODONCIA**

P R E S E N T A:

ALEJANDRA LOBATO RAMOS

TUTOR: C.D. JOAQUÍN CANSECO JIMÉNEZ

ASESOR: Dra. MARGARITA GARCÍA GARDUÑO

ASESOR: Dra. LAURA VARGAS ULLOA

*Handwritten signatures and initials, including "Vo. Bo" and "6".*



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# Evaluación de la resistencia flexural y módulo elástico de andamios de cutículas descelularizadas de huevo de gallina para ingeniería de tejidos.

Alejandra Lobato Ramos\*, Laura Vargas Ulloa \*\*, Margarita García Garduño \*\*\*.

## Resumen

**Objetivo:** Evaluar la resistencia flexural y el módulo de elasticidad de andamios de cutículas descelularizadas de huevo de gallina para ingeniería de tejidos.

**Material y métodos:** Se seleccionaron 20 muestras de cutícula de huevo de gallina libres de patógenos para organizar 2 grupos: A) sin incubación (n=10), B) con incubación de 18 días (n=10). Ambos grupos de cutículas fueron sometidos a un proceso de descelularización con el protocolo del laboratorio de biología molecular del Instituto de Química de la UNAM. Posteriormente a las muestras descelularizadas, se les realizaron pruebas de resistencia a la tracción y módulo de elasticidad. Cada cutícula se prensó en sus extremos sostenidas por las mordazas en la máquina Instron serie 5567, Bluehill1, USA, a velocidad de carga de 1 mm por minuto hasta su ruptura. Se obtuvo la carga máxima (kN), tensión máxima (MPa) y el módulo de elasticidad para cada muestra. Los datos obtenidos se cuantificaron en un software del equipo series IX INSTRON, versión 8.27.00.

**Resultados:** Las cutículas descelularizadas de huevo de gallina sin incubación, tuvieron tensión máxima de 0.95 MPa con Desviación Estándar (DE) de 0.26 MPa y un módulo de elasticidad de 10.54 MPa con DE de 13.25 MPa, comparadas con las cutículas de huevo de gallina con incubación de 18 días que tuvieron una tensión máxima 0.43 MPa con DE de 0.32 MPa y un módulo de elasticidad de 1.53 MPa con DE de 0.89 MPa. Se comparó la tensión máxima entre ambos grupos mediante una prueba estadística de T Student para grupos independientes con un nivel de confianza 95%, de  $p=0.002$ , mediante el programa Sigma 2.0. Para la comparación del módulo de elasticidad se realizó la prueba U de Mann Withney.

**Conclusiones:** Las cutículas descelularizadas de huevo de gallina con incubación de 18 días tienen mayor capacidad de resistencia a la tracción y elasticidad. El proceso de descelularización se realizó para evitar la respuesta inmune al colocar la cutícula en el huésped, por lo que resulta una buena alternativa en la ingeniería de tejidos.

Palabras clave: Ingeniería de tejidos, módulo elástico, resistencia a la flexión, andamios, cutícula de huevo, regeneración ósea.

## Summary

**Objective:** Evaluate flexural strength and elastic modulus in decellularized eggshell membrane scaffolds for bone regeneration of nasoalveolar fissure cleft palate in patients at Hospital Infantil de México Federico Gómez.

**Material and methods:** The sample consist in 20 decellularized eggshell membrane to create 2 groups; group 1 without incubation (n=10), group 2 with 18 days of incubation (n=10). Both groups was decellularized with a protocol in molecular biology laboratory of chemistry institute UNAM. Each eggshell received flexural strength and elastic modulus test with Istrom serie 5567, bluehill1, SA, with a speed 1mm per minute until it breaks. The results showed the maximum load (kN), maximum tension (Mpa) and elastic modulus. The data analyses in series IX INSTRON software 8.27.00.

**Results:** The decellularized eggshell membranas without incubation shown a maximum tension of 0.95 MPa with SD of 0.26 MPa and a elastic modulus of 10.54 MPa with SD of 13.25 MPa, if we compare with the decellularized eggshell membranas with incubation of 18 days that shown a maximum tension of 0.43 MPa with SD of 0.32 MPa and a elastic modulus of 1.53 MPa with SD of 0.89 MPa. It was compared the maximum tensio between both groups with T student statistical test for independent groups with a statistical confidence level of 95%,  $p=0.002$ , with Sigma program. For the comparisos of elastic modulus it was used Mann Withney U test.

**Conclusions:** The decellularized process avoid an immune answer when the eggshell membrane put on the guest.. Maximum tension test was done to decellularized eggshel membranas without incubation and with incubation of 18 days. Those tests show that the decellularized eggshell membranas with incubation of 18 days are more resistant and more elastic.

Keywords: Tissue engineering, elastic modulus, scaffolds, egg shell membrane, bone regeneration.

\* Alumna de la especialidad de Ortodoncia, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

\*\* Doctora en el Laboratorio de Biomateriales Dentales de la División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México.

\*\*\*Profesor de carrera titular C TC en el Laboratorio de Biomateriales Dentales de la División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México.

## Introducción

El concepto, en la ingeniería de tejidos de un biomaterial se define como cualquier sustancia que ha sido diseñada para interactuar con los sistemas biológicos con un propósito médico, ya sea terapéutico, tratamientos suplementarios, de reparación o reemplazo de una función tisular u órganos del cuerpo.<sup>(1)</sup>

Un andamio se define como una estructura ajena al organismo, utilizada para soportar la formación de tejidos de manera tridimensional. Los andamios se deben utilizar como sistemas acelulares o vehículos para células y/o medicamentos, estos soportes pueden ser orgánicos e inorgánicos. Una vez implantados en el sitio lesionado, los materiales descelerizados del andamio permiten sobre él, la colonización de las células del huésped con fines regenerativos.<sup>(2)</sup>

En la industria biomédica todos los materiales deben ser sometidos a pruebas químicas, biológicas y físicas antes de ser colocados en seres humanos, entre ellas las pruebas físicas de resistencia, así como la norma 10399.<sup>(3)</sup>

La elaboración de constructos en el laboratorio, constituye el reto más importante de la ingeniería tisular. En las últimas décadas se han elaborado en este sentido constructos tisulares de muy distinta naturaleza con el objeto de reparar o sustituir tejidos lesionados, es decir un andamio funcionalizado.<sup>(4)</sup>

Los materiales utilizados en estas disciplinas deben ser, por ende, biocompatibles y proporcionar un ambiente mecánico donde el nuevo tejido pueda ser sometido al funcionamiento normal del área implantada, deben ser porosos y permeables para permitir el ingreso de nutrientes y gases a las células y disponer de una estructura superficial adecuada para que éstas se adhieran y los reconozcan como parte de su entorno. La ingeniería tisular se ha enfocado en encontrar materiales innovadores que cumplan con las características antes mencionadas y regenerar una estructura específica.<sup>(5)</sup>

La membrana o cutícula de huevo (MH), se consideró durante mucho tiempo un material de desecho y se subestimaron sus perspectivas para aplicaciones de alta tecnología, incluyendo la ingeniería de tejidos. Sin embargo, se estudian ampliamente, debido a sus propiedades únicas como material regenerador. Las MH son una parte del huevo que contienen muchos nutrientes esenciales y muy utilizados. Hoy en día, este material ha ganado un interés significativo como una fuente para la síntesis de nuevos materiales de valor agregado que utiliza estrategias de biotecnología.

La MH presenta un tejido poroso entrelazado de proteínas con características especiales como alta porosidad, gran área superficial, excelente permeabilidad, alta capacidad de absorción, adecuada resistencia mecánica, estabilidad térmica y flexibilidad. Se compone de tres capas: 1) Membrana Externa (ME), 2) Membrana Interna (MI) y 3) Membrana Limitante (ML). La MI y la ML pueden separarse mecánicamente; sin embargo, la ME está muy adherida al cascarón.<sup>(7)</sup>

La MH es una estructura fibrosa situada entre el cascarón y la clara de huevo. Es una red fibrosa biopolimérica, que es esencial para la formación del cascarón y proporciona una plataforma para la mineralización externa, mientras que mantiene la diferenciación

de otras estructuras no mineralizadas como la clara de huevo. En comparación con la membrana externa, las fibras de la membrana interna son más pequeñas en diámetro (su grosor varía de 0.1 a 3  $\mu m$ ), además, toda la capa de membrana interna es más delgada, su grosor es entre 15 y 26  $\mu m$ . Las fibras de la MI están entrelazadas con la ME, como lo muestra la Fig 1.<sup>(8)</sup>

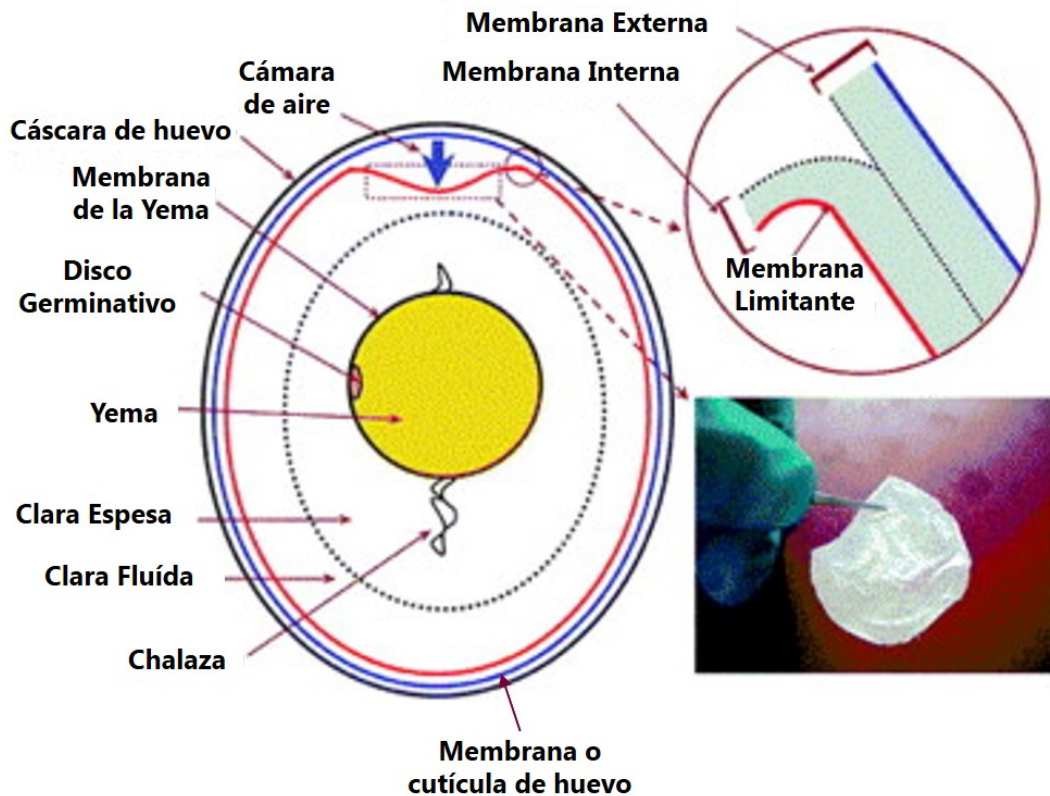


Fig. 1. Esquema que muestra las estructuras del huevo de gallina (8)

Las fibras de MH están compuestas principalmente de proteínas (80–85%), de las cuales ~10% son de colágeno de tipos I, V y X y el 70–75% son otras proteínas y glicoproteínas que contienen enlaces cruzados derivados de lisina.

La MH además es rica en aminoácidos como la prolina, ácido glutámico, glicina, ácido úrico, ácido sódico y nitrógeno. Las fibras están compuestas por colágeno en un 35%, glucosaminoglicanos como dermatán sulfato 1% y condroitín sulfato 2%, glicoproteínas y ácido hialurónico 2%. Por ejemplo, esta composición naturalmente mimetiza la composición de la matriz extracelular (MEC) del cartílago humano lo que la hace adecuada como una matriz para obtener un neocartílago basado en la ingeniería de tejidos.<sup>(9)</sup>

En las investigaciones sobre la morfología de las MH y su caracterización, se obtuvieron imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) que muestran el posicionamiento de la MH dentro del cascarón del huevo y la morfología de sus subestructuras se muestran en la Fig. 2.<sup>8</sup>

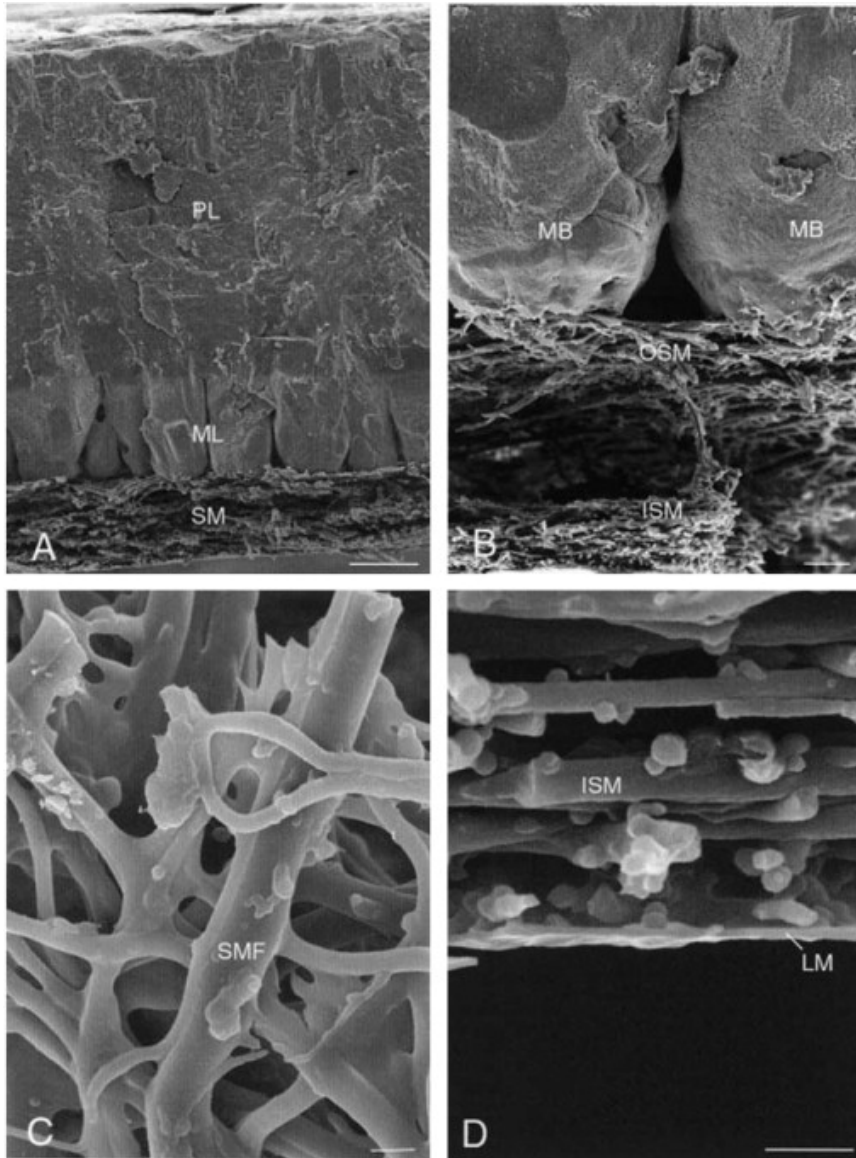


Fig. 2 Micrografías de microscopía electrónica que ilustran la morfología de la cáscara del huevo y las membranas de la cáscara del huevo: (A) cáscara de huevo fracturada para revelar diferentes capas de la cáscara del huevo (capa mamilar, ML y capa de empalizada, PL y la membrana de la cáscara de huevo, SM); (B) mayor aumento de la interfaz ESM-cuerpo mamilar (cuerpos mamilares, MB, ESM externo, OSM, ESM interno, ISM); (C) ampliación de las fibras de la membrana de la cubierta, SMF para revelar su naturaleza entretejida y coalescente; (D) aspecto interno del ESM interno, ISM, que demuestra la membrana limitante, LM que rodea la clara de huevo. Barras de escala: A = 50  $\mu\text{m}$ ; B = 20  $\mu\text{m}$ ; C y D = 2  $\mu\text{m}$ . (8)

Uno de los problemas para utilizar la MH en la ingeniería de tejidos es el tamaño y la cantidad disponible.

La utilización de estas MH se propone utilizarlas en pacientes que presentan anomalías craneofaciales, una de las más frecuentes que se observan en los pacientes que se atienden en el servicio de ortodoncia del Hospital Infantil de México Federico Gómez son el labio y paladar hendido (LPH), los cuales tienen una prevalencia de 15% del total de las malformaciones congénitas. En México existe una prevalencia de 1 por cada 1000 nacidos vivos, por lo que es una condición frecuente.<sup>10</sup>

El tratamiento en estos pacientes debe llevarse a cabo de manera interdisciplinaria, el cual abarca diversas especialidades tales como pediatría, foniatría, otorrinolaringología, cirugía plástica, psicología, cirugía maxilofacial, odontopediatría, ortodoncia, así como el área de ingeniería de biomateriales.<sup>11</sup>

Los tratamientos para fisuras nasolabiales, labio y paladar hendido se tratan con cirugía a edades tempranas, como la queiloplastía y la palatoplastía, acompañados de tratamientos ortopédicos prequirúrgicos, realizados por el ortodoncista, los cuales ayudan a mejorar los resultados quirúrgicos, también la revisión, sin embargo, en muchos casos, los resultados no cumplen la expectativa funcional y/o estética, y no es satisfactoria para el médico tratante y los padres de los pacientes, que esperan que sus hijos tengan una regeneración al 100%.<sup>12</sup>

Por el grado de dificultad no han sido suficientes las alternativas utilizadas para resolver el problema, que no sólo es, estético sino también funcional con afección nasal, labial, alveolar y palatina, además se debe considerar la función, así como el crecimiento y desarrollo del proceso maxilofacial, el cual no es estático, sino que está en continua remodelación y crecimiento durante la infancia y parte de la adolescencia, por lo que cualquier aditamento, pronto se podría desajustar.<sup>13</sup>

Es por esto, que la investigación y propuesta deben ir encaminadas hacia la búsqueda de terapéuticas que sean compatibles con el continuo desarrollo y crecimiento del paciente, para que permitan que estos procesos se lleven a cabo de acuerdo con el patrón de cada paciente y que no interfieran con el mismo.<sup>14</sup>

En este estudio, la propuesta consistió en la elaboración de andamios de cutículas descelularizadas de huevo de gallina y realización de pruebas mecánicas al soporte MH para utilizarlo en futura regeneración ósea. A su vez las células del huésped necesitarán un andamio o soporte y estimular la neoformación ósea. Para dar lugar a la multiplicación, migración y diferenciación en las estructuras que no finalizaron estos procesos, las MH por sus características representan una buena opción para el crecimiento celular y regeneración ósea, de acuerdo con lo que se ha estudiado en este grupo. La idea es obtener células con capacidad de migración y diferenciación del hueso que no se formó ni migró en la gestación y obtener estructuras diferenciadas óseas, con un andamio que soporte cargas como la deglución, masticación y el peso de las células, que sea funcional, que se adapte al crecimiento y maduración de los huesos de la cara del paciente, verificando que este material no cause reacción alérgica.

## **Material y Métodos**

El estudio que se realizó es de tipo experimental, se llevó a cabo en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG), Laboratorio de Biomateriales Dentales en la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología (DEPElFO) y el Instituto de Química, ambos de la Universidad Nacional Autónoma de México, en el periodo de septiembre del 2019- enero 2020.

La población de estudio fue de 35 muestras de cutícula de huevo de gallina de granja certificada para la investigación, las cutículas se descelularizaron y solo 20 cumplieron con los criterios de selección, es decir, 10 cutículas de huevos de gallina sin incubación, 10 cutículas de huevos de gallina con incubación de 18 días, todas las cutículas debían estar íntegras y pasar por el mismo protocolo de descelularización. La muestra final de cutículas fue de (n=20), que se dividieron en dos grupos, el Grupo A conformado con 10 cutículas de huevo sin incubación y descelularizadas, el Grupo B conformado de 10 cutículas con 18 días de incubación. Ambos grupos de huevos estaban libres de patógenos.

En el Grupo A se incluyeron cutículas de huevo de gallina sin incubación, libres de patógenos y que resistieran el proceso de descelularización. Para el Grupo B se seleccionaron cutículas de huevo de gallina con un periodo de incubación de 18 días, libres de patógenos y que resistieran el proceso de descelularización.

### Obtención de las muestras

Los huevos de gallina provenían de la granja para investigación de Aves libres de patógenos específicos S.A de C.V. La obtención de las cutículas de huevo de gallina se realizó en el laboratorio de Biología Celular del Hospital Infantil de México Federico Gómez. La obtención de las cutículas de huevo de gallina sin incubación se realizó con una perforación en el cascarón del huevo y se retiró el contenido interno, se separó el cascarón y se procedió a separar la cutícula de huevo de gallina del cascarón con unas pinzas Adson planas y sin dientes bajo el microscopio para evitar perforaciones. Una vez obtenidas las cutículas se colocaron en viales con agua estéril para después pasar al protocolo de descelularización.

### Método de descelularización

Para este método se siguió el protocolo de descelularización de Mamatha y cols., en 2015, para las cutículas de huevo de gallina sin incubación y con incubación de 18 días, el cual fue el siguiente:

Las muestras de cutícula de huevo de gallina se colocaron en cajas Petri y se lavaron durante 10 minutos a temperatura ambiente con 20 ml de buffer de fosfato salino (PBS) con un pH de 7.4, sobre un agitador orbital (100rpm).



Posteriormente, se retiró el PBS y se agregó isopropanol (20 ml/10 minutos/temperatura ambiente TA). Se eliminó el isopropanol y se procedió a lavar las muestras con PBS (20 ml/2 minutos/TA), se realizó el cambio de PBS 5 veces sobre el agitador orbital, como lo muestra la figura 3. Después de este proceso, las cajas Petri se destaparon y se colocaron dentro de una campana de flujo laminar para la exposición a luz ultravioleta durante 20 minutos. Pasado ese tiempo se procedió a la esterilización de las cajas Petri con las cutículas de huevo de gallina en autoclave (121°C/15 lb /20 minutos), como lo muestra la figura 4. Por último, las membranas se colocaron en viales con agua destilada estéril para su posterior análisis.

Una vez finalizado el protocolo de descelularización se procedió a hacer las pruebas físicas, tracción a las muestras.



Fig 3. Fotografía que muestra las cajas Petri con las muestras de cutículas de huevo de gallina con PBS sobre el agitador orbital.

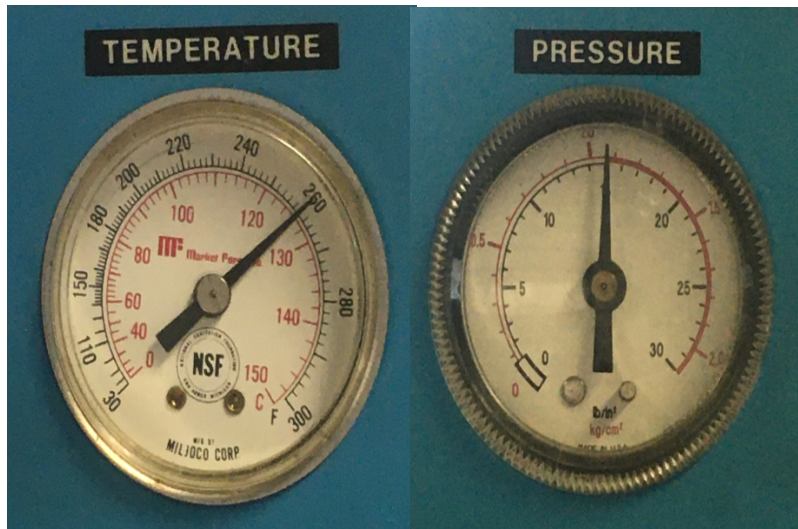


Fig 4. Fotografías que muestran la temperatura 121°C y la presión 15 lb, a la que fueron sometidas las muestras dentro del autoclave para su esterilización.

## Pruebas de resistencia a la tracción

Al inicio se realizaron las pruebas a las cutículas de huevo descelularizadas sin incubación. Cada cutícula se prensó en sus extremos sostenidas por las mordazas en una máquina Instron serie 5567, Bluehill 1, USA, a velocidad de carga de 1 mm por minuto hasta su ruptura. Se obtuvo la carga máxima (kN), tensión máxima (MPa) y el módulo de elasticidad (MPa), como lo muestra la Fig 5.

Posteriormente se realizaron las pruebas de tensión a las cutículas descelularizadas de 18 días. Los datos obtenidos se cuantificaron en el software del equipo series IX INSTRON, versión 8.27.00.

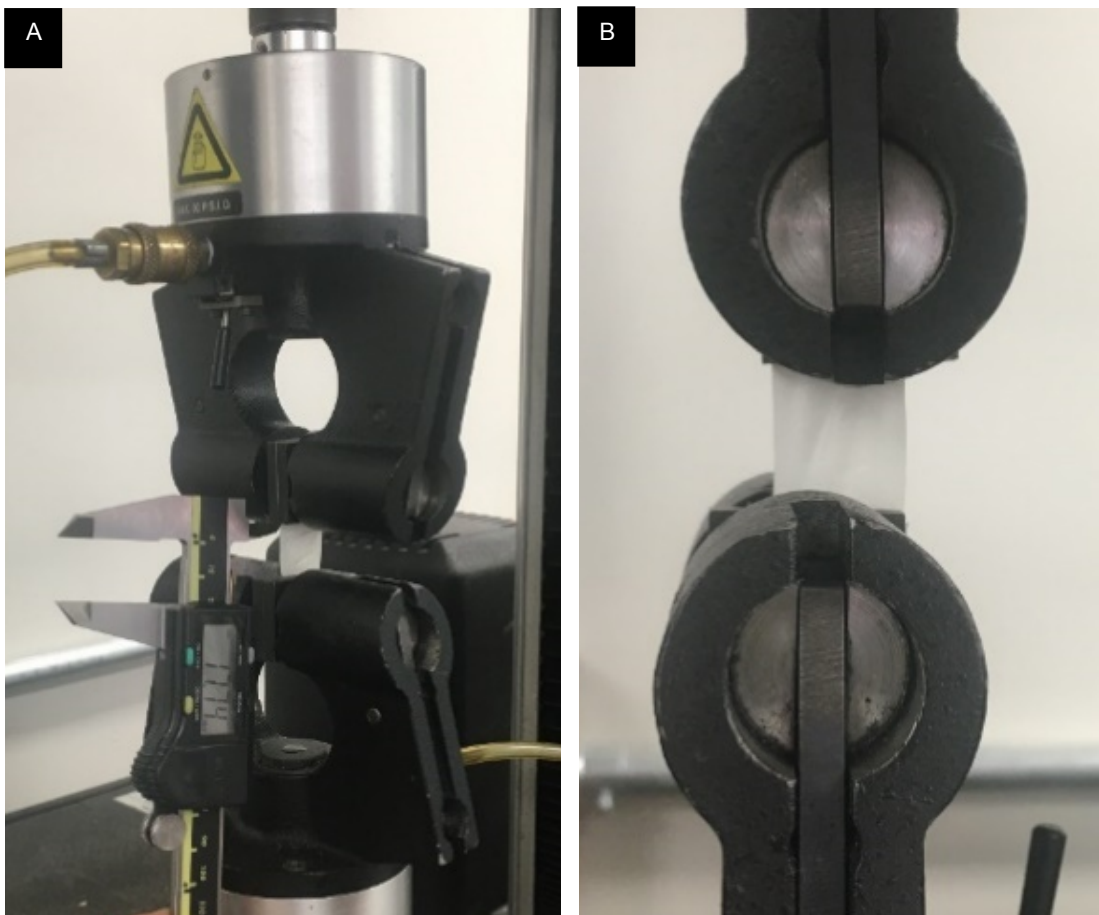


Fig 5. Fotografías que muestran A) Medición de la distancia entre las mordazas del aparato Instron B) Cutícula de huevo de gallina sujeta entre las mordazas de la máquina Instron.

## Resultados

Entre los resultados obtenidos tras la realización de las pruebas físicas a las cutículas descelularizadas de huevo de gallina sin incubación, se obtuvo una media para la tensión máxima de 0.94672 MPa y una media para el módulo elástico de 10.5372 MPa, así como una media de carga máxima de 0.00086 kN, como lo muestra la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de las pruebas de tensión y módulo de elasticidad de las cutículas de huevo de gallina sin incubación. HIMFG, FOUNAM 2020

Muestra	Diámetro (mm)	Espesor (mm)	Distancia entre las mordazas (mm)	Carga máxima (kN)	Tensión máxima (MPa)	Módulo elástico (MPa)
1	18.9	0.06	22.25	0.0011	0.9401	4.883
2	16.68	0.05	19.83	0.0009	1.220	5.377
3	16.71	0.10	15.46	0.0006	0.3648	33.120
4	18.38	0.07	17.32	0.0016	1.2450	2.305
5	15.65	0.05	18.31	0.0008	0.9787	2.901
6	19.12	0.06	21.01	0.0012	1.0610	4.163
7	13.98	0.06	21.66	0.0007	0.8762	4.245
8	14.75	0.05	15.87	0.0006	0.8137	7.018
9	12.60	0.05	22.62	0.0007	1.1620	37.820
10	12.87	0.04	19.04	0.0004	0.8057	3.540
<b>Promedio</b>	15.964	0.059	19.337	0.00086	0.94672	10.5372

Para las cutículas descelularizadas de huevo de gallina de 18 días, las pruebas físicas mostraron una media para la tensión máxima de 0.465 MPa y una media para el módulo elástico de 1.529 MPa, así como una media de carga máxima de 0.00127 kN, como lo muestra la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados de las pruebas de tensión y módulo de elasticidad de las cutículas de huevo de gallina con incubación de 18 días. HIMFG, FOUNAM 2020

Muestra	Diámetro (mm)	Espesor (mm)	Distancia entre las mordazas (mm)	Carga máxima (kN)	Tensión máxima (MPa)	Módulo elástico (MPa)
1	16.34	0.26	11.55	0.0010	0.12	0.4767
2	17.31	0.23	10.35	0.0012	0.7176	2.3240
3	17.85	0.25	12.10	0.0016	0.6061	1.7130
4	20.30	0.21	13.49	0.0007	0.4951	2.5820
5	15.02	0.38	14.86	0.0011	0.1525	0.5479
6	14.43	0.32	15.14	0.0011	0.2299	0.8843
7	14.51	0.23	15.50	0.0017	0.5034	1.3910
8	14.49	0.22	16.52	0.0010	0.3200	1.0350
9	15.20	0.21	17.71	0.0010	0.3285	1.2340
10	14.71	0.25	17.84	0.0023	1.1800	3.1030
<b>Promedio</b>	16.016	0.256	14.506	0.00127	0.465311	1.529

Una vez obtenidos los datos, para la tensión máxima, se realizó una prueba estadística de T student para grupos independientes con un nivel de confianza 95% y  $p=0.002$ , mediante el programa Sigma 2.0. Para el módulo elástico, se hizo una prueba U de Mann Withney, ya que al realizar la prueba de normalidad se obtuvo una  $p\leq 0.001$ , como lo muestra la tabla 3.

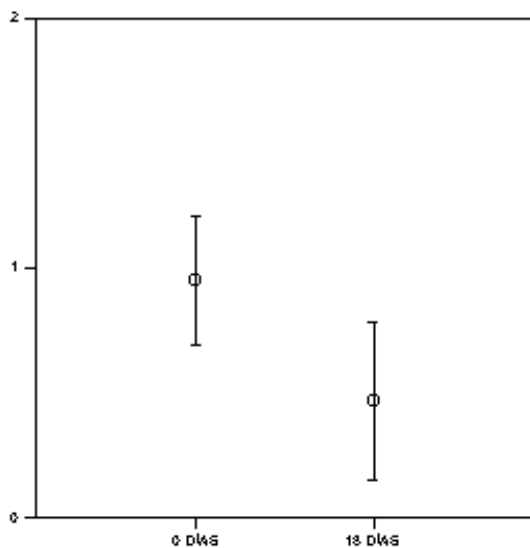
Tabla 3. Comparación de medias de resistencia flexural y módulo de elasticidad entre huevos de diferente incubación.

	Resistencia flexural Media (D.E)	Valor P	Módulo de elasticidad. Media (D.E)	Valor P
	Total =0.71 (0.37)		Total = 6.03 (10.24)	
Huevo sin incubación	0.95 (0.26)	<0.001	10.54 (13.25)	0.023
Huevo con incubación de 18 días	0.43 (0.32)		1.53 (0.89)	

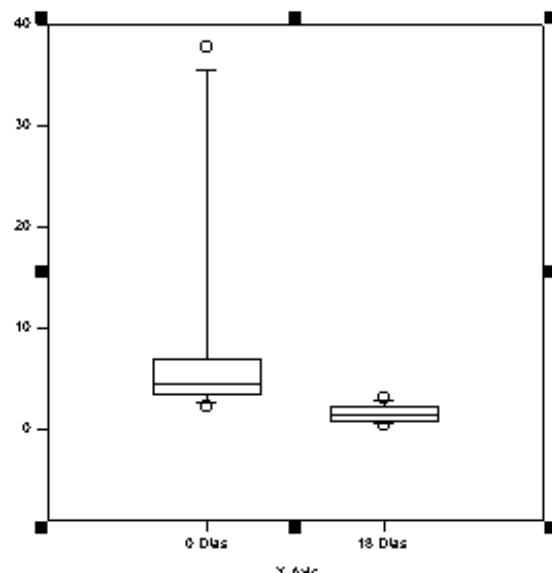
La gráfica 1 compara los rangos y valores para la tensión máxima tanto para cutículas de huevo de gallina sin incubación así como con una incubación de 18 días. Se observan valores mayores para las cutículas sin incubación comparadas con las de 18 días.

La gráfica 2 compara los rangos y valores para el módulo de elasticidad para ambos grupos, en la cual se puede observar que el rango entre valor mínimo y máximo es mucho mayor para el grupo sin incubación, así como los valores, comparados con el grupo con incubación de 18 días.

Gráfica 1. Gráfica de dispersión de la tensión máxima comparativa entre cutículas sin incubación (grupo A) y con incubación de 18 días (grupo B).



Gráfica 2. Gráfica de dispersión comparativa de módulo de elasticidad entre cutículas sin incubación (grupo A) y con incubación de 18 días (grupo B).



## Discusión

El cascarón, así como la cutícula de huevo de gallina se consideraron durante mucho tiempo materiales de desecho y se subestimaron sus diversas aplicaciones. Sin embargo, se ha visto que tiene componentes y propiedades únicas, comenzando con la estructura como está compuesta.

De acuerdo a Pillai 2015, hoy en día, este material ha ganado un interés significativo como una fuente para la síntesis de nuevos materiales de valor agregado al utilizar

estrategias de biotecnología. La cutícula de huevo de gallina ofrece grandes ventajas: es barata, de alta incidencia, no tóxica, ecológica y fácil de manejar.<sup>6</sup>

Diversos estudios como el de Rath en 2016, han demostrado que la cutícula de huevo presenta un tejido poroso entrelazado de proteínas con características especiales como alta porosidad, gran área superficial, buena permeabilidad, alta capacidad de absorción, buena resistencia mecánica, buena estabilidad térmica y flexibilidad. Las características mecánicas que se evaluaron en este estudio, tensión máxima y módulo elástico, para las cutículas de huevo de gallina fueron similares al estudio realizado por Pillai en el 2015, en el cual se observó que mientras mayor tiempo de incubación tuvieran los cascarones de huevo, la membrana interna del huevo tendría mayor diámetro y grosor, lo que conlleva mayor capacidad de resistencia a la tensión y mayor elasticidad. En este estudio, los resultados obtenidos demostraron que las cutículas con incubación de 18 días presentaron mayor resistencia a la tensión.<sup>7</sup>

Por otra parte, Kamegai y col., en 2005 observaron que en niños de 3 a 5 años la fuerza de masticación media fue de 186.2 N en niños y 203.4 N en niñas, mientras que Maeda y col., en 2016 encontraron valores de 212.16 N en este rango de edad. Para Rentes y col., en 2002 el valor medio fue 213.17 N en niños de 3 a 5.5 años con oclusión normal. Los resultados obtenidos en esta investigación, para las pruebas mecánicas de resistencia a la tracción, específicamente el módulo de elasticidad permite verificar que las cutículas descelularizadas de huevo de gallina utilizadas en este estudio podrían ser probadas como andamios para la futura regeneración ósea de fisuras nasoalveolares, debido a que son capaces de resistir las fuerzas de masticación y deglución. Es importante tomar en cuenta que posteriormente se deben realizar las pruebas indicadas por la NOM andamios ya con el cultivo de las células mesenquimales, antes de ser colocadas en seres humanos<sup>13,14</sup>

## Conclusiones

Las cutículas sometidas al protocolo de descelularización no presentaron ADN genómico y las proteínas fueron de alto peso molecular y mantuvieron su matriz extracelular, fue el protocolo más eficiente en cuanto a tiempo y sencillez de elaboración. Además, el proceso de descelularización evitará una respuesta inmune al colocar la cutícula en el huésped.

Se realizaron las pruebas de tensión máxima en cutículas descelularizadas de huevo de gallina sin incubación cuyo resultado fue de 0.46 MPa de fuerza y las que tuvieron incubación de 18 días de 0.94 MPa, por tanto, las cutículas con incubación de 18 días tuvieron mayor resistencia a la tracción con esto se evitará la ruptura de la cutícula, de acuerdo con esto se infiere pudiera soportar el cultivo de células mesenquimales y sus procesos fisiológicos en la ingeniería de tejidos.

Para el módulo de elasticidad los valores obtenidos en las cutículas descelularizadas de huevo de gallina sin incubación fueron de 0.00086 MPa de fuerza y para las cutículas descelularizadas de huevo de gallina con incubación de 18 días fue de 0.0127 MPa, por lo cual se observó que las cutículas con incubación de 18 días tuvieron mayor

elasticidad, por esta razón ayudaría a soportar y acompañar los procesos alimentarios en una primera etapa en el receptor.

Esta membrana además servirá como una barrera biológica entre cavidad oral y la cavidad nasal, al realizar un sellado junto con la palatoplastia, con lo cual se evita la intervención en una segunda área, así como la obtención de autoinjertos óseos.

De acuerdo con la ingeniería de tejidos al formar una barrera, se puede inferir que las células mesenquimales se podrían diferenciar en osteoblastos que promuevan la migración celular para la reparación ósea de la fisura nasopalatina al formar un puente celular.

Aunque la muestra fue pequeña no resultaron diferencias significativas en las pruebas mecánicas, por lo que es una buena alternativa para el soporte celular en la futura inducción ósea.

## **Agradecimientos**

Un especial agradecimiento a la Dra. Concepción Sánchez y al Dr. Ricardo Jaime Cruz del Laboratorio de Investigación en Biología del Desarrollo y Teratogénesis Experimental del HIMFG, así mismo, a la Dra. Juana Paulina Ramírez Ortega, Responsable del área de investigación del Laboratorio de Materiales Dentales de la DEPEL FO UNAM y a la Dra. Patricia Cano Sánchez, del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Química de la UNAM, por el apoyo, disponibilidad, asesoría y los recursos proporcionados para el desarrollo de esta investigación.

## **Referencias bibliográficas**

1. Greenwood HL, Singer PA, Downey GP, Martin DK, Thorsteinsdóttir H, Daar AS. Regenerative medicine and the developing world. *PLoS Med.* 2006;3(9):1496–500.
2. Institutos Nacionales de Salud. Ingeniería de tejidos y medicina regenerativa. NIH Transform Descub en Salud. 2013;3.
3. Serrato D, Nieto R, Aguilera A. Ingeniería de tejidos. Una nueva disciplina en medicina regenerativa. *Investig Cienc.* 2015;23(64):61–9.
4. Estrada C, Paz AC, López LE. Ingeniería Tisular de tejido óseo: consideraciones básicas. *Rev EIA.* 2006;5:93–100.
5. Roseti L, Parisi V, Petretta M, Cavallo C, Desando G, Bartolotti I, et al. Scaffolds for Bone Tissue Engineering: State of the art and new perspectives. *Mater Sci Eng C.* 2017;78:1246–62.
6. Pillai MM, Akshaya TR, Elakkiya V, Gopinathan J, Sahanand KS, Rai BKD, et al. Egg shell membrane-a potential natural scaffold for human meniscal tissue engineering: An in vitro study. *RSC Adv.* 2015;1–8.
7. Baláž M. Eggshell membrane biomaterial as a platform for applications in materials science. *Acta Biomater.* 2014;10(9):3827–43.

8. Ruff KJ, Durham PL, Reilly AO, Long FD. Eggshell membrane hydrolyzates activate NF-  $\kappa$  B in vitro : possible implications for in vivo efficacy. 2015;49–57.
9. Castro H. Evaluación del efecto de la edad de la gallina, de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre la penetración bacteriana en huevo e influencia de la aplicación de recubrimientos de aceite sobre la calidad del huevo durante el almacenamiento. Universidad de Costa Rica; 2017.
10. Secretaria de Salud Estados Unidos Mexicanos. No Title [Internet]. 2018. Available from: <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/2018>
11. González-Ororio CA, Medina-Solís CE, Pontigo-Loyola AP, Casanova-Rosado JF, Escoffié-Ramírez M, Corona-Tabares MG, et al. Estudio ecológico en México (2003-2009) sobre labio y/o paladar hendido y factores sociodemográficos, socioeconómicos y de contaminación asociados. *An Pediatr*. 2011;74(6):377–87.
12. Pons-Bonals A, Pons-Bonals L, Hidalgo-Martínez SM, Sosa-Ferreyra CF. Estudio clínico-epidemiológico en niños con labio paladar hendido en un hospital de segundo nivel. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2017;74(2):107–21.
13. Alfaro P, Ángeles F, Osorno M del C, Núñez J, Romero G. Fuerza de mordida: su importancia en la masticación, su medición y sus condicionantes clínicos. Parte I. *Rev ADM*. 2012;69(3):53–7.
14. Braun S, Hnat W, Freudenthaler J, Marcotte M, Hönigle K, Johnson B. A study of maximum bite force during growth and development. *Angle Orthod*. 1996;66(4):261–4.